

Veterinária e Zootecnia

Vet e Zootec.

2013 dezembro; 20(4): 530-710

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

ISSN Impresso 0102-5716

ISSN Eletrônico 2178-3764

Botucatu - SP – Brasil

Veterinária e Zootecnia

ISSN Impresso 0102-5716
ISSN Eletrônico 2178-3764

VETERINÁRIA E ZOOTECCIA
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
UNESP – Campus de Botucatu
18618-970 – Dist. Rubião Jr. – Botucatu – SP – Brasil
Portal: <http://www.fmvz.unesp.br/rvz>
E-mail: vetzootecnia@fmvz.unesp.br
Tel. +55 14 3880 2094

Publicação trimestral
Solicita-se permuta / *Exchange desired*
Biblioteca do Campus de Botucatu
18618-970 – Distrito de Rubião Júnior – Botucatu – SP – Brasil

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: **ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE**

Veterinária e Zootecnia / Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia. – Vol. 1, n. 1(1985)- . – Botucatu, SP : FMVZ, 1985

Trimestral
Texto em português/inglês/espanhol
Descrição baseada em: Vol. 20, n.1, mar. (2013)
ISSN Impresso 0102-5716
ISSN Eletrônico 2178-3764

1. Medicina veterinária. 2. Zootecnia. I. Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia de Botucatu.

Os artigos publicados na *Revista VETERINÁRIA E ZOOTECCIA* são indexados por:
Lilacs, PERIÓDICA – Índice de Revistas Latinoamericanas em Ciências, Cambridge
Scientific Abstracts, e CAB Abstracts.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Administração Geral da UNESP

Reitor

Prof. Dr. Julio Cezar Durigan

Vice-Reitor

Prof^a. Dr^a. Marilza Vieira Cunha Rudge

Pró-Reitor de Pesquisa

Prof^a Dr^a Maria José Soares Mendes Giannini

Pró-Reitor de Pós-Graduação

Prof. Dr. Eduardo Kokubun

Pró-Reitor de Graduação

Prof. Dr. Laurence Duarte Colvara

Pró-Reitor de Extensão Universitária

Prof^a Dr^a Mariângela Spotti Lopes Fujita

Pró-Reitor de Administração

Prof. Dr. Carlos Antonio Gamero

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Administração da FMVZ

Diretor

Prof. Dr. José Paes de Almeida Nogueira Pinto

Vice-Diretor

Prof^a Dr^a Maria Denise Lopes

Botucatu
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
FMVZ
2013

EXPEDIENTE**Comissão Editorial**

Helio Langoni (Editor chefe)
Márcio Garcia Ribeiro
André Mendes Jorge
Luiz Edivaldo Pezzato

Assessoria Técnica

Editoração Eletrônica: José Luis Barbosa de Souza, Wellington Ricardo Guerra e Maria Paula Toldo Tavares

Bibliotecária: Marluci Betini, Enilze de Souza Nogueira Volpato e Nivaldete Costa Fernandes Cruz.

Revisor – Espanhol: Selene Daniela Babboni (FMVZ – UNESP/Botucatu) e Luis Emiliano Cisneros Alvarez (FMVZ – UNESP/Botucatu)

Secretaria: Apoio STAEPE – Seção Técnica de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Extensão

A Revista **Veterinária e Zootecnia**, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia-UNESP, Campus de Botucatu, publica artigos científicos originais, artigos de revisão bibliográfica, relatos de casos e comunicações curtas, referentes às áreas de Medicina Veterinária e de Zootecnia, com periodicidade trimestral, em português, espanhol, ou inglês, sendo os conceitos e opiniões emitidas, de responsabilidade exclusiva dos autores. Poderá editar e disponibilizar em sua página na internet, suplementos de eventos científicos.

A publicação está condicionada à avaliação preliminar do presidente da Comissão Editorial, que analisa o mérito e os aspectos formais do trabalho, de acordo com a categoria do artigo submetido e normas editoriais estabelecidas. Se adequado, adotando-se o mérito da avaliação por pares, é encaminhado para dois assessores (relatores), de acordo com a área. Os pareceres são mantidos sob sigilo absoluto, não havendo possibilidade de identificação entre autores e pareceristas. Os artigos não publicados são devolvidos.

Os trabalhos devem ser encaminhados pela página da internet:
<http://www.fmvz.unesp.br/rvz>.

Prof. Dr. Helio Langoni

Revista “Veterinária e Zootecnia”

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - UNESP - Botucatu

18618-970 - Dist. Rubião Junior, s/n – SP – Brasil

Corpo Editorial

- Alice Eiko Murakami (UEM/Maringá)
Aristeu Vieira da Silva (UEFS/Feira de Santana)
Antônio Felipe P. F. Wouk (UFPR – Escola de Agronomia e Veterinária)
Benedito Correa (ICB – USP)
Carlos Robles (Instituto Nacional de Tecnologia Agropecuária – Argentina)
Edir Nepomuceno da Silva (FEA – UNICAMP)
Geraldo Heleno Silveira Alves (UFMG – Escola de Veterinária)
Guilherme J. M. Rosa (School of Veterinary Medicine/Madison – Wisconsin – USA)
Hélio Autran de Moraes (Oregon State University - College of Veterinary Medicine - USA)
Italmar Teodorico Navarro (UEL/Londrina)
João Palermo Neto (FMVZ – USP)
José Eduardo P. Santos (University of Florida – USA)
José Luiz Catão Dias (FMVZ – USP)
Juan A. M. Hirose (Centro Nacional de Servicios de Diagnóstico en Salud Animal - México)
Julio César Cambraia Veado (UFMG – Escola de Veterinária)
Leonardo José Richtzenhain (FMVZ – USP)
Luiz Cláudio Lopes Correia da Silva (FMVZ – USP)
Luciano dos Santos Bersot (UFPR/Palotina)
Maria Inácia Corrêa de Sá (Laboratório Nacional de Investigação Veterinária – Portugal)
Maria Julia B. F. Flaminio (Cornell University – Cornell – USA)
Maurício Costa Alves da Silva (UFBA/Salvador)
Ney Luiz Pippi (UFSM/Santa Maria)
Nivaldo da Silva (UFMG – Escola de Veterinária)
Pamela Ruegg (School of Veterinary Medicine/Madison – Wisconsin – USA)
Paulo de Camargo Duarte (Colorado State University – USA)
Paulo Roberto Leme (USP – FZEA – Pirassununga)
Rinaldo Aparecido Mota (UFRPE/Recife)
Roberto Mauricio Carvalho Guedes (UFMG – Escola de Veterinária)
Rogério de Paula Lana (UFV/Viçosa)
Rômulo Cerqueira Leite (UFMG – Escola de Veterinária)
Solange Maria Gennari (FMVZ – USP)
Walter Motta Ferreira (UFMG – Escola de Veterinária)
Wilson Roberto Fernandes (FMVZ – USP)

SUMÁRIO/CONTENTS/SUMARIO

EDITORIAL	538
ARTIGOS DE REVISÃO/REVIEW ARTICLES/ARTÍCULOS DE REVISIÓN	
NÍVEIS ELEVADOS DE CONCENTRADO NA DIETA DE BOVINOS EM CONFINAMENTO / ACCUMULATION OF FORAGE AND ITS PERFORMANCE IN ANIMAL PRODUCTIVITY / LA ACUMULACIÓN DE FORRAJE Y SU RENDIMIENTO EN LA PRODUCTIVIDAD ANIMAL. Mário De Beni Arrigoni, Cyntia Ludovico Martins, Luís Marcelo Nave Sarti, Robson Sfaciotti Barducci Maria Caroline da Silva Franzói, Luiz Carlos Vieira Júnior, Alexandre Perdigão, Felipe Azevedo Ribeiro, Marco Aurélio Factori.....	539
PROTOTECOSE MAMÁRIA. UM PROBLEMA NOS REBANHOS LEITEIROS/ MAMARY PROTOTHECOSIS. A SERIOUS PROBLEM IN DAIRY CATTLE/ PROTOTHECOSIS MAMARIA. UN PROBLEMA EN EL GANADO LECHERO. Helio Langoni, Marcella Zampoli Troncarelli, Guido Gomes Wanderley, Anelise Salina	552
AVALIAÇÃO ULTRASSONOGRÁFICA GÁSTRICA EM PEQUENOS ANIMAIS / GASTRIC SONOGRAPHYC EVALUATION IN SMALL ANIMALS/ EVALUACIÓN ECOGRÁFICA DEL ESTÓMAGO EN PEQUEÑOS ANIMALES. Luciana Carandina da Silva, Alexandra Frey Belotta, Vania Maria Vasconcelos Machado, Luiz Carlos Vulcano.....	567
RELATOS DE CASO/CASE REPORTS/ESTUDIOS DE CASO	
SARCOMA HISTIOCÍTICO EM CÃO: RELATO DE CASO/ HISTIOCYTIC SARCOMA IN DOG - CASE REPORT / SARCOMA HISTIOCÍTICO EN PERRO - RELATO DEL CASO. Ivan F. Charas Santos, José Manuel Mota Cardoso, Célia Shian, Renata Bezerra Marujo, Leticia Fernanda Silva	576
STEPHANOFILARIASIS IN DAIRY CATTLE: THE NEED FOR EARLY DIAGNOSIS AND TREATMENT / ESTEPHANOFILARIOSE EM VACAS LEITEIRAS: A NECESSIDADE DE UM DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO PRECOCE / ESTEPHANOFILARIOSIS EN VACAS LECHERAS: LA NECESIDAD DE UN DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO PRECOZ. Rafael Pazinato, Vanderlei Klauck, Leandro Samia Lopes, Lenita Moura Stefani, Aleksandro Schafer Da Silva.....	582
COMUNICAÇÃO CURTA/SHORT COMMUNICATION/COMUNICACIÓN CURTA	
PREVALÊNCIA DA INFECÇÃO POR <i>Brucella</i> SPP. EM EQUÍDEOS NA MICRORREGIÃO DO BREJO PARAIBANO / PREVALENCE OF <i>Brucella</i> spp. INFECTION IN EQUIDS FROM BREJO PARAIBANO MICROREGION, BRAZIL / PREVALENCIA DE LA INFECCIÓN POR <i>Brucella</i> spp. EN ÉQUIDOS EN LA MICRORREGIÓN DE BREJO PARAIBANO, BRASIL. Ruy Brayner de Oliveira Filho, Karla Campos Malta, Vania Lucia de Assis Santana, Marcília Maria Alves de Souza, Danilo Tancler Stipp, José Wilton Pinheiro Júnior	588
ARTIGOS/ARTICLES/ARTÍCULOS	
ANÁLISE HEMATOLÓGICA E BIOQUÍMICA COMPARATIVA EM SUÍNOS SUBMETIDOS À OBSTRUÇÃO BILIAR EXPERIMENTAL/ HEMATOLOGY AND BIOCHEMISTRY COMPARATIVE ANALYSIS IN SWINES SUBMITTED TO EXPERIMENTAL BILIARY OBSTRUCTION/ ANÁLISIS HEMATOLÓGICO Y BIOQUÍMICO COMPARATIVO EN CERDOS SOMETIDOS A OBSTRUCCIÓN BILIAR EXPERIMENTAL. Aline Gomes de Campos, Edmilson Rodrigo Daneze, Júverson Alves Terra Júnior, Sérgio Renato Macedo Chicote, Rosana Rosa Miranda Côrrea, Alex Augusto da Silva, Sílvia Azevedo Terra.....	592

- AVALIAÇÃO DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE *Ximenia americana* NO PROCESSO CICATRICIAL DE FERIDAS CUTÂNEAS EXPERIMENTAIS EM CAPRINOS/ EVALUATION OF THE HYDROALCOHOLIC EXTRACT OF *Ximenia americana* IN THE CICATRICIAL PROCESS OF EXPERIMENTAL CUTANEOUS WOUNDS IN GOATS/ EVALUACIÓN DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO de *Ximenia americana* EN EL PROCESO DE CICATRIZACIÓN DE HERIDAS CUTÂNEAS EXPERIMENTALES EN CAPRINOS.** Paulo Vinícius Tertuliano Marinho, Pedro Isidro da Nóbrega Neto, Daniel Pedrosa, Angélica Ramalho de Araújo Leite, Syduane Morais Leite Ramos, Antônio Flávio Medeiros Dantas, Bruno Watanabe Minto.....604
- EFEITOS DA NUTRIÇÃO, IDADE A DESMAMA E MASTITE SOBRE A QUALIDADE DO COLOSTRO E LEITE DE OVELHAS/ EFFECTS OF NUTRITION, WEANING, AND MASTITIS AGE ON THE QUALITY OF MILK AND COLOSTRUM FROM EWES/ EFECTOS DE LA NUTRICIÓN, EDAD AL DESTETE Y PRESENCIA DE MASTITIS SOBRE LA CALIDAD DE LA LECHE Y EL CALOSTRO DE OVEJAS.** Simone Fernandes, Edson Ramos de Siqueira, Paulo Francisco Domingues, Guilherme José Guimarães Pilan615
- RETROSPECTIVE STUDY OF 180 DYSPLASTIC DOGS ADMITTED AT THE VETERINARY TEACHING HOSPITAL, UNESP-BOTUCATU/ ESTUDO RETROSPECTIVO DE 180 CÃES COM DISPLASIA COXOFEMORAL ATENDIDOS NO HOSPITAL VETERINÁRIO DA UNESP BOTUCATU/ ESTUDIO RETROSPECTIVO DE 180 PERROS COM DISPLASIA DE CADERA ATENDIDOS EN EL HOSPITAL VETERINARIO DE LA UNESP-BOTUCATU.** Bruno Watanabe Minto, Beatriz Paglerani Monteiro, Cláudia Valéria Seullner Brandão, Carlos Roberto Padovani, Maria Jaqueline Mamprim, Fabrícia Geovânia Fernandes Filgueira.....624
- REPRODUÇÃO DE *Bothrops* spp. (SERPENTES, VIPERIDAE) EM CRIADOURO CONSERVACIONISTA/ REPRODUCTION OF *Bothrops* spp. (SERPENTES, VIPERIDAE) IN CONSERVATION BREEDER/ REPRODUCCIÓN DE *Bothrops* spp. (SERPENTES, VIPERIDAE) EN CRIADERO DE CONSERVACIÓN.** Karina Maria Pereira da Silva, Leticia Ruiz Sueiro, Guilherme Guidolin Galassi, Selma Maria de Almeida-Santos.....632
- AVALIAÇÃO DO TEMPO DE ELIMINAÇÃO DA PLACENTA EM ÉGUAS PURO SANGUE INGLÊS DE DIFERENTES IDADES/ EVALUATION OF PLACENTAL DELIVERY IN TROROUGHBRED MARES IN DIFFERENT AGES/ EVALUACIÓN DEL TIEMPO PARA LA ELIMINACIÓN DE LA PLACENTA EN YEGUAS PURA SANGRE INGLÉS DE DIFERENTES EDADES.** Bruna da Rosa Curcio, Vitória Müller, Verônica La Cruz Bueno, Natane Miranda Saraiva, Ilusca Sampaio Finger, Lorena Soares Feijó, Fernanda Maria Pazinato, Cláudia Haetinger, Carlos Wayne Nogueira.....643
- RANQUEAMENTO/AGRUPAMENTO DO SÊMEN CONGELADO DE CARNEIROS DA RAÇA SANTA INÊS ANALISADAS PELO SISTEMA CASA E SONDAS FLUORESCENTES PELA ANÁLISE ESTATÍSTICA MULTIVARIADA/ RANKING/GROUPING OF SANTA INÊS RAM FROZEN SEMEN ANALYZED BY CASA AND FLUORESCENT PROBES LEAD THROUGH THE MULTIVARIATE STATISTICS ANALYSIS/ CATEGORIZACIÓN DE SEMEN CONGELADO DE CARNEROS SANTA INÉS SOMETIDOS AL ANÁLISIS CASA Y MARCADORES FLUORESCENTES POR MEDIO DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO MULTIVARIADO.** Daniel Bartoli de Sousa, Sony Dimas Bicudo, Hymerson Costa Azevedo, Marciane Silva Maia649
- AVALIAÇÃO FÍSICA E LABORATORIAL DA SÍNDROME CÓLICA DE EQUINOS EM PARQUE DE VAQUEJADA/ PHYSICAL AND LABORATORY EVALUATION OF EQUINE COLIC SYNDROME IN VAQUEJADA PARKS/ EVALUACIÓN FÍSICA Y DE LABORATORIO DEL SÍNDROME DE CÓLICO EQUINO EN ANIMALES DE VAQUEJADA.** Regina Valéria da Cunha Dias, Paula Dias Bevilacqua, José Dantas Ribeiro Filho, José Ivo Ribeiro Júnior, Maria Veronica de Souza658
- SUPLEMENTAÇÃO DO MEIO DE REFRIGERAÇÃO ESPERMÁTICA COM VITAMINA C E CATALASE EM SÊMEN OBTIDO DE CÃES JOVENS E IDOSOS / SUPPLEMENTATION OF VITAMIN C AND CATALASE FOR COOLING YANG AND AGED DOG'S SEMEN/ INCORPORACIÓN DE VITAMINA C Y CATALASA EN LA REFRIGERACIÓN DE SEMEN DE PERROS JÓVENES Y VIEJOS.** Marina Landim Alvarenga, Maria Denise Lopes, Bethania Vieira Lopes, Viviane Helena Chirinéa, Rodrigo Freitas Bittencourt.....673

ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO DA SÍNDROME CÓLICA DE EQUINOS EM PARQUES DE VAQUEJADA NO ESTADO DO RIO GRANDE DO NORTE, BRASIL/ EPIDEMIOLOGICAL STUDY OF EQUINE COLIC SYNDROME IN BRAZILIAN RODEO PARKS IN THE STATE OF RIO GRANDE DO NORTE, BRAZIL/ ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO DEL SÍNDROME CÓLICO EQUINO EN PARQUES DE VAQUEJADA EN LA PROVINCIA RIO GRANDE DO NORTE, BRASIL. Regina Valéria da Cunha Dias, Paula Dias Bevilacqua, José Dantas Ribeiro Filho, José Ivo Ribeiro Júnior, Maria Veronica de Souza683

EDITORIAL

SUSTENTABILIDADE DA PECUÁRIA E INOVAÇÃO TECNOLÓGICA

Novas tendências e novas tecnologias vão surgindo, entretanto, algo relevante ainda se constitui em problema para a humanidade. Falamos em escassez de água e de alimentos: no que se refere à água os ambientalistas e outras autoridades se preocupam cada vez mais com sua escassez no planeta Terra, sendo necessário limitar os padrões de consumo para tentar combater também a escassez dos recursos energéticos. A população cresce em ritmo acelerado e alarmante e os alimentos, com todos os problemas que a agricultura enfrenta, em ritmo menor. O tratado ou teoria populacional de Malthus refere-se ao crescimento da população em progressão geométrica e dos alimentos em progressão aritmética.

Desta forma, deve haver uma gestão direcionada à sustentabilidade da pecuária baseada principalmente na inovação tecnológica para a pecuária sustentável. Este é um desafio da ciência e tecnologia mundial, na tentativa de suprir a demanda crescente por alimentos, fibras e energia considerando-se o aumento populacional.

Como vencer este desafio se enfrentamos mudanças climáticas e a degradação ambiental. Aí se tem o paradigma: produção de forma sustentável, pois se entende que a sustentabilidade não está centrada somente na sustentabilidade ambiental, mas sim na sustentabilidade econômica e social, visando o crescimento que além de preservar o meio ambiente, seja rentável e socialmente inclusivo.

É um desafio para as Áreas de Agrárias e Veterinária e as pesquisas devem ser a base para a aplicação de conhecimentos gerados para a produção de pastagem, animais com melhor genética, mais resistentes as infecções, mais produtivos, com maior produção de leite e carne e com qualidade, inócuos livres de resíduos de antibióticos, pesticidas, etc. Além destes alimentos, também, ovos, mel e todos os seus derivados. A nutracêutica já é uma realidade na produção de suplemento alimentar, suplemento mineral e alimentos funcionais entre outros, de uso humano.

Este número da Revista Veterinária e Zootecnia traz artigos inéditos interessantes. Como artigos de revisão: Níveis elevados de concentrado na dieta de bovinos em confinamento; Prototecose mamária. Um problema nos rebanhos leiteiros; Avaliação ultrassonográfica gástrica em pequenos animais. Os relatos de caso: Sarcoma histiocítico em cão: relato de caso; Stephanofilariasis in dairy cattle: the need for early diagnosis and treatment. Comunicação curta: Prevalência da infecção por *Brucella spp.* em equídeos na microrregião do brejo paraibano. Artigos: Análise hematológica e bioquímica comparativa em suínos submetidos à obstrução biliar experimental; Avaliação do extrato hidroalcoólico de *Ximenia americana* no processo cicatricial de feridas cutâneas experimentais em caprinos; Efeitos da nutrição, idade a desmama e mastite sobre a qualidade do colostro e leite de ovelhas; Retrospective study of 180 dysplastic dogs admitted at the veterinary teaching hospital, UNESP-Botucatu; Reprodução de *Bothrops spp.* (serpentes, viperidae) em criadouro conservacionista; Avaliação do tempo de eliminação da placenta em éguas puro sangue inglês de diferentes idades; Ranqueamento/agrupamento do sêmen congelado de carneiros da raça santa inês analisadas pelo sistema casa e sondas fluorescentes pela análise estatística multivariada; Avaliação física e laboratorial da síndrome cólica de equinos em parque de Vaquejada; Suplementação do meio de refrigeração espermática com vitamina c e catalase em sêmen obtido de cães jovens e idosos; Estudo epidemiológico da síndrome cólica de equinos em parques de Vaquejada no estado do Rio Grande do Norte, Brasil.

Prof. Helio Langoni
Editor-Chefe

NÍVEIS ELEVADOS DE CONCENTRADO NA DIETA DE BOVINOS EM CONFINAMENTO

Mário De Beni Arrigoni¹
Cynthia Ludovico Martins²
Luís Marcelo Nave Sarti³
Robson Sfaciotti Barducci³
Maria Caroline da Silva Franzói³
Luiz Carlos Vieira Júnior³
Alexandre Perdigão³
Felipe Azevedo Ribeiro³
Marco Aurélio Factori⁴

RESUMO

Atualmente, o número de confinamentos de grande porte vem crescendo no país, pois está inteiramente ligado a outros fatores, dentre eles, o expressivo crescimento da produção nacional de grãos, o custo elevado de forragens conservadas, processamento e mão de obra, e questões de operacionalidade, que vêm aumentando o interesse da inclusão de quantidades cada vez maiores de grãos e co-produtos nas rações de bovinos confinados em terminação bem como sua viabilidade de utilização, ditando posteriormente o retorno econômico ao produtor. Assim, o objetivo desta revisão é abordar a relação existente entre a utilização de concentrado e volumoso na dieta para ruminantes, bem como a inclusão de co-produtos e seu efeito no desempenho animal.

Palavras-chave: confinamento, eficiência, gado de corte, co-produtos

ACCUMULATION OF FORAGE AND ITS PERFORMANCE IN ANIMAL PRODUCTIVITY

ABSTRACT

Currently, the number of large feedlots is growing in the country, since it is entirely linked to other factors, including the significant growth of the national grain production, the high cost of conserved forages, processing and labor, and issues of operation, which is increasing interest from the inclusion of larger amounts of grains and by-products in diets for feedlot finishing as well as its feasibility of use, further dictating the economic returns to producers. The objective of this review is to address the relationship between the use of dietary concentrate and forage for ruminants, as well as the inclusion of by-products and their effect on animal performance.

Keywords: feedlot, efficiency, beef cattle, by-products

¹ Prof^o. Adjunto do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal da FMVZ/Unesp/Botucatu-SP

² Profa. Assistente Doutora do Departamento de Produção Animal da FMVZ/Unesp/Botucatu-SP

³ Alunos do Programa de Pós Graduação em Zootecnia da FMVZ/Unesp/Botucatu-SP

⁴ Pos doutorando Dep. Melhoramento e Nutrição Animal - Unesp/Botucatu

LA ACUMULACIÓN DE FORRAJE Y SU RENDIMIENTO EN LA PRODUCTIVIDAD ANIMAL

RESUMEN

En la actualidad, el número de corrales de engorde está creciendo en el país, porque está conectado directamente a otros factores, incluyendo el crecimiento significativo de la producción nacional de granos, el alto costo de los forrajes conservados, procesamiento y mano de obra, y las cuestiones de la operación, que han aumentado el interés de la inclusión de cantidades crecientes de granos y subproductos en las dietas para engorde de bovinos confinados en terminación, así como su viabilidad de uso, además de dictar las ganancias económicas a los productores. El objetivo de esta revisión es abordar la relación entre el uso del concentrado de la dieta de forraje para ruminantes, así como la inclusión de los subproductos y su efecto en el rendimiento de los animales.

Palabras clave: contención, eficiencia, ganado de carne, subproductos

INTRODUÇÃO

Grande parte dos custos da engorda em confinamento é referente à alimentação. Dessa forma, a busca pela máxima eficiência durante a terminação de bovinos confinados é de extrema importância. De maneira geral, grãos de cereais representam a principal fonte de energia em rações de bovinos de corte terminados em confinamento (1). Rações com teores mais altos de grãos propiciam ganho de peso mais rápido, melhor conversão alimentar, carcaças com melhor acabamento e rendimento e menores custos operacionais no confinamento, podendo tornar a atividade mais rentável (2).

Além disso, há um aumento na utilização de co-produtos da indústria alimentícia, o que possibilita uma infinidade de opções na escolha dos ingredientes de determinada dieta, somando-se a questões de sustentabilidade, onde sua utilização colabora como um dreno de potenciais poluentes ao meio ambiente, e também diminuindo a competição com alimentos utilizados na alimentação humana, além da diminuição do custo de produção.

Para tanto, o objetivo desta revisão é abordar a relação existente na utilização de concentrado e volumoso na dieta para ruminantes, bem como a inclusão de co-produtos na dieta e seu efeito no desempenho animal.

Relação entre níveis de alimentos volumosos e concentrados

A ingestão de massa seca é o principal fator que afeta o desempenho animal, influenciando a quantidade total de nutrientes que o animal recebe para o crescimento e desempenho produtivo. A relação de utilização de volumosos e concentrados vai afetar diretamente o consumo dos animais durante a fase de confinamento. Outro fator de grande importância sobre o consumo do alimento é o conhecimento do comportamento alimentar dos bovinos, que, por sua vez, pode ser utilizado pelos produtores com o propósito de melhorar a produtividade do rebanho.

O consumo é função do animal (peso vivo, variação do peso vivo, nível de produção, estado fisiológico, tamanho, interações entre o grupo de indivíduos e aprendizado, entre outros), do alimento (teor de nutrientes, densidade energética, necessidade de mastigação, capacidade de enchimento, palatabilidade, dentre outros) e das condições de alimentação (disponibilidade de alimento, espaço no cocho, tempo de acesso ao alimento e frequência de alimentação) (3). O conhecimento destes fatores apresenta importância econômica quando utilizado por produtores a fim de elevar a produtividade, longevidade produtiva ou saúde dos

animais, podendo este optar por utilização de alimentos volumosos, dependendo da região e disponibilidade.

O consumo de dietas com altos teores de fibra é controlado por fatores físicos, como a taxa de passagem e enchimento ruminal, ao passo que dietas com altos teores de concentrado (alta densidade energética) têm consumo controlado pela demanda energética e por fatores metabólicos (4). A demanda energética do animal define o consumo de dietas de alta densidade calórica, ao passo que a capacidade física do trato gastrointestinal determina o consumo de dietas de baixas qualidade e densidade energética (5). Assim, o ponto ótimo de utilização de alimentos concentrados na ração é variável e tem como fatores determinantes o sexo, a raça, a idade, a qualidade do volumoso e do próprio concentrado (6). Entretanto, a melhoria do nível nutricional pode proporcionar aumento no custo de produção, o que pode tornar a atividade de baixa rentabilidade, dependendo das condições de produção.

Sobre a eficiência na terminação de bovinos de corte em confinamento, o concentrado representa cerca de 70 a 80% do custo da alimentação dos animais, de modo que os alimentos volumosos são importantes para redução dos custos com alimentação, principalmente quando se intensifica o sistema de produção, pois os volumosos de melhor qualidade (de menor custo), que, no caso da silagem, são aqueles com maior teor de grãos na massa ensilada, podem substituir parte dos nutrientes que seriam fornecidos pelo alimento concentrado (de maior custo) (7, 8). Por outro lado, pela manipulação da relação volumoso: concentrado é possível alterar os processos fermentativos e maximizar a eficiência de síntese microbiana, bem como a eficiência de utilização dos nutrientes dietéticos, sendo o aumento dos níveis de concentrado na dieta uma ferramenta para atingir maiores índices de produtividade, desde que fatores como características de fermentação de cada alimento seja respeitada, principalmente no momento da formulação das dietas, evitando problemas como distúrbios metabólicos como a acidose ruminal, podendo levar a possíveis lesões na parede do rúmen e surgimento de abscessos hepáticos (9).

Cerca de 39,4% dos consultores de confinamento administram dietas contendo níveis entre 71 e 80% de concentrados (grãos juntamente com outros tipos de concentrados, como co-produtos) e 42,4 % dos técnicos recomendam dietas com níveis entre 81 e 90% de concentrados (10).

A adequação da relação entre alimentos volumosos e concentrados na dieta está intimamente ligada a fatores relacionados ao animal, ao alimento e a condições de alimentação, cabendo a cada produtor a escolha dos níveis de utilização de acordo com a realidade de cada propriedade, bem como a disponibilidade de alimentos de cada região.

Comportamento ingestivo de acordo com a inclusão dos alimentos na dieta

O entendimento do comportamento ingestivo é de grande importância para estudos com bovinos mantidos em regime de confinamento. Normalmente são utilizadas diferentes dietas, grupos genéticos específicos e uma infinidade de aditivos alimentares, gerando diferentes respostas em ingestão de matéria seca, conversão alimentar e ganho de peso, surgindo a necessidade de melhor entendimento do comportamento alimentar de bovinos confinados, uma vez que este está intimamente relacionado com desempenho técnico e maior retorno econômico (11).

Os ruminantes respondem de forma diferente às dietas ou alimentos e ajustam o comportamento alimentar de acordo com suas necessidades nutricionais, sobretudo de energia. Estudos sobre alimentação animal mostram que os animais podem reconhecer o valor energético dos alimentos e podem avaliar o custo energético de obter alimento. Na possibilidade de escolha, os animais usualmente preferem continuar comendo aqueles alimentos com que estão acostumados. No entanto, a exposição precoce aos tipos de alimentos que podem ser usados mais tarde na vida do animal pode resultar no seu consumo

imediatamente quando necessário. Isto é adaptativo, pois uma amostra muito limitada de alimentos novos permite ao animal aprender, por respostas fisiológicas e sentimentos associados de bem estar ou conforto, se o alimento é bom ou não (12).

Animais em confinamento gastam em torno de uma hora consumindo alimentos ricos em energia, ou até mais de seis horas, para fontes com baixo teor de energia. Da mesma forma, o tempo despendido em ruminação é influenciado pela natureza da dieta e, provavelmente, é proporcional ao teor de parede celular dos volumosos. Assim, quanto maior a participação de alimentos volumosos na dieta, maior será o tempo despendido com ruminação (5). Rações contendo alto teor de fibra em detergente neutro (FDN) promovem redução do consumo de massa seca (MS) total, devido à limitação provocada pela repleção do rúmen-retículo. Por outro lado, rações contendo elevados teores de concentrado e menores níveis de fibra também podem resultar em menor consumo de MS, uma vez que as exigências energéticas dos ruminantes poderão ser atingidas com menores níveis de consumo (13). Trabalhando com dietas com níveis crescentes de concentrado para bezerros holandeses, sem consumo de MS limitado pelo teor de fibra das dietas, verificaram-se tempos despendidos por refeição de 13,24 e 13,43 minutos em média, para os níveis de 45 a 60% de concentrado, respectivamente (14). Já o número médio de refeições ao dia foi 18,25 e 14,75, respectivamente. Desta forma, o consumo de MS poderia ser aumentado com a maior inclusão de FDN na dieta, desde que este não limite fisicamente a ingestão dos animais. A importância de mensurar o comportamento alimentar e a ruminação, a fim de verificar suas implicações sobre o consumo diário de alimentos, fatores ligados também ao bem estar animal foi relatado para vacas leiteiras em clima temperado (15).

O teor de fibra na dieta é positivamente relacionado ao tempo de ruminação e ao tempo de ingestão e o tamanho da partícula é positivamente relacionado com a duração do tempo de ruminação e de mastigação (15, 16). O tempo de ruminação é altamente correlacionado com o consumo de FDN em bovinos (17). Em estudo com bovinos confinados com diferentes graus de sangue Zebu foi relatado que à medida que o nível de concentrado na dieta aumentou e o teor de FDN diminuiu, animais com maior proporção de sangue europeu se mostraram mais eficientes tanto na ruminação da matéria seca quanto do FDN (18). Houve diminuição no tempo de alimentação e tempo de mastigação total dos animais e conseqüente aumento no tempo em ócio com a diminuição dos teores de fibra e aumento na porcentagem de energia das dietas até atingir 85% de concentrado (19). Provavelmente os animais atingiram a saciedade mais rapidamente, o que poderia ser reflexo da maior produção e absorção de ácidos graxos de cadeia curta no rúmen.

Sendo assim, a natureza dos alimentos, caracterizados como volumosos e concentrados, bem como seus níveis de nutrientes, podem influenciar de maneira decisiva no comportamento alimentar dos animais, promovendo efeitos sobre o desempenho e produtividade.

Inclusão de lipídios na dieta visando condicionamento dos animais ao confinamento

Alguns processos, que antecedem o período de confinamento, afetam a condição do animal durante o confinamento e necessitam atenção. Dentre eles, destacam-se o desmame dos animais seguido do período de recria, transporte e entrada ao confinamento. Estes eventos, que podem ocorrer em conjunto ou em um curto período de tempo, levam a alterações fisiológicas, nutricionais e imunológicas que afetam a saúde e o desempenho dos animais no confinamento (20).

O processo de transporte e chegada ao confinamento contribui de maneira decisiva para aumento considerável do estresse nos animais. A maioria dos problemas de saúde com animais recém-chegados ocorrem nas primeiras duas semanas devido ao impacto do estresse sobre o consumo de ração e sobre a imunocompetência animal (21). Há estímulo sobre a

resposta de fase aguda, um componente importante do sistema imune inato mas que foi negativamente associado com taxas de crescimento e ganho de peso em bovinos (22-26).

Estratégias de manejo que impedem e/ou atenuam a resposta de fase aguda têm sido estudadas para melhorar a produtividade e a eficiência dos sistemas de produção de gado de corte (27). A inclusão de ácidos graxos poliinsaturados (PUFA) na dieta tem demonstrado capacidade de modular a resposta imune em animais (26, 28), no entanto, os mecanismos envolvidos neste processo não são compreendidos ainda. A maioria dos PUFA provenientes dos alimentos é extensivamente modificada no rúmen e a adição de sabões de cálcio de ácidos graxos na dieta pode fornecer a proteção desses PUFA da ação de micro-organismos ruminais (29, 30). A suplementação com ácidos graxos poliinsaturados inertes no rúmen, principalmente na fase que antecede o transporte e chegada dos animais ao confinamento, pode ser uma alternativa de manejo nutricional com o objetivo de aumentar as quantidades de ácidos graxos poliinsaturados que chegam ao intestino delgado, proporcionando precursores essenciais para a modulação do sistema imune.

Vários autores investigaram os efeitos da quantidade e do tipo de gordura na dieta sobre as reações imunológicas, e a inclusão de PUFA em dietas têm se mostrado como importante função como modulador imune na célula (28, 31). Os mecanismos pelo quais os AG agem como importantes moduladores da função imune ainda não são totalmente conhecidos, mas aparentemente PUFA podem alterar a produção de mediadores envolvidos na comunicação entre as células do sistema imune pela síntese de eicosanóides, citocinas e óxido nítrico e podem alterar a expressão de moléculas de adesão que estão envolvidas no contato direto entre as células (32, 33).

A suplementação de PUFA pode ser uma alternativa para melhorar parâmetros de saúde e desempenho em confinamento de bovinos em crescimento (34).

A suplementação com gordura poliinsaturada protegida na alimentação de bovinos antes e após o transporte diminuiu as concentrações de proteínas de fase aguda durante 7 dias após a chegada dos animais ao confinamento (26). Além disso, a suplementação com PUFA aumentou as concentrações plasmáticas de ácidos linoléico e linolênico em bovinos, aumentando a disponibilidade para os tecidos (35).

Dietas contendo uma fonte de PUFA protegida no rúmen proporcionou diminuição das concentrações circulantes de proteínas de fase aguda em vacas leiteiras no periparto (36). Foi observado aumento do ganho de peso dos animais suplementados com fonte de gordura poliinsaturada comparado com o tratamento sem gordura (34). Este aumento no ganho diário, segundo os autores, pode ser atribuído, pelo menos em parte, aos efeitos benéficos da suplementação de PUFA na resposta de fase aguda após o transporte e a entrada no confinamento.

Novilhas em pré-condicionamento recebendo dietas com base na forragem e enriquecidas com ácidos graxos poliinsaturados apresentaram redução das concentrações de haptoglobina em relação ao grupo controle num período de oito dias após transporte (26). Outros estudos avaliaram concentrações plasmáticas de proteínas de fase aguda até 28 dias após o transporte dos animais, e constataram respostas de tratamento em três dias ou após este período (37).

Sendo assim, o manejo da dieta antes do embarque pode tornar-se uma prática importante para diminuir a morbidade e mortalidade de bovinos transportados. Em adição, a suplementação de PUFA antes e durante o recebimento dos animais ao confinamento poderá aliviar a resposta de proteínas de fase aguda estimulada pelo transporte e entrada no confinamento e, conseqüentemente, beneficiar o desempenho do animal.

Relação entre concentrado e volumoso e seu impacto sobre a produção de metano

Estudos mais recentes que propõem um inventário nacional de emissões alternativo ao do Ministério de Ciência e Tecnologia indicam que a atividade pecuária é responsável por aproximadamente 11% das emissões de gases de efeito estufa no Brasil. A pesquisa mostra que de 2003 a 2008, a pecuária emitiu cerca de 260 milhões de toneladas (Mton) de gases estufa por ano, ante uma produção total no país de 2.000 a 2.200 milhões de toneladas anuais (38).

Algumas variáveis influenciam a produção de metano em ruminantes. Dentre elas, podemos citar fatores nutricionais, que estão relacionados com a quantidade e tipo de carboidratos na dieta, nível de ingestão de alimento, presença de ionóforos ou lipídios e fatores metabólicos, como a taxa de passagem da digesta, fatores ambientais, manejo dos animais, além de estado fisiológico, tamanho corporal e principalmente a população de micro-organismos ruminais como protozoários e bactérias (39, 40).

Sendo assim, o uso de maiores quantidades de alimentos volumosos ou de alimentos concentrados, levando em conta a qualidade destes, pode apresentar impacto sobre a produção de metano pelos bovinos.

Trabalhando com relações volumoso:concentrado (70:30, 50:50 e 30:70 na matéria seca), de feno de capim *coastcross* de melhor qualidade e pior qualidade, verificou-se que rações com relação volumoso:concentrado de 30:70 resultaram em menores proporções de metano comparando com relações de 50:50 e 70:30 (41). Dessa forma, a relação volumoso:concentrado pode influenciar a fermentação ruminal, onde seus benefícios biológicos podem ser classificados em aumento da eficiência do metabolismo da energia das bactérias ruminais e/ou do animal, alterando a proporção dos ácidos graxos de cadeia curta produzidos no rúmen e diminuição da produção de metano (42, 43).

Em trabalho desenvolvido com bovinos da raça Brahman com fornecimento de três tipos de dietas: feno de baixa qualidade, feno de alta qualidade, ou dieta rica em grãos, notou-se que as dietas à base de volumoso apresentaram perdas energéticas na forma de metano em torno de 10,9%, enquanto que em dietas de grãos apenas 6,7% (44).

O perfil de fermentação exerce um papel de grande importância sobre a emissão de gases como o metano, podendo este variar de alta emissão, caracterizado por uma alta relação acetato:propionato, a uma baixa emissão, caracterizado por uma baixa relação acetato:propionato (45). Em rações ricas em cereais, com coeficiente molar acetato:propionato igual a 1, e rações ricas em forragem, com coeficiente molar acetato:propionato igual a 3, o processo de fermentação poderá formar fonte de metano em quantidades diferentes (46).

O aumento nos níveis de concentrado na dieta dos bovinos pode ser uma estratégia para diminuição na produção de metano. Em bovinos de corte criados em regime de pasto a emissão total de metano durante o período de terminação foi aproximadamente duas vezes maior do que em bovinos confinados, especialmente quando a qualidade da forragem e a produção foram baixos (47).

Assim, a melhoria na qualidade da alimentação, relacionado aos níveis dos alimentos bem como a alteração da microbiota ruminal permitem maior retenção de energia, diminuindo as perdas por metano, o que proporciona melhor desempenho animal e, conseqüentemente, menor produção de metano por unidade de produto (metano/ kg carne, leite, etc.) o que pode ser propiciado por meio de sistemas intensivos de confinamento, bem como em sistemas de produção a pasto onde o manejo da forragem e a utilização de suplementos é otimizada (48).

Contudo, algumas linhas de pesquisa mostram resultados contraditórios. Em níveis crescentes de concentrado na matéria seca de dietas a base de silagem de sorgo, verificou-se que a silagem sem concentrado propiciou uma menor emissão de CH₄ em relação ao peso vivo dos animais, e que a adição de 30% de concentrado à dieta levou a um aumento máximo

das emissões, sugerindo que outras variáveis devem influir no processo de emissão de CH₄ especialmente o consumo e desempenho animal (49).

Com o aumento da maturação da forragem ocorre piora da qualidade, redução de ingestão e maior emissão de metano por unidade de massa de matéria seca ingerida. Em outro estudo utilizando silagem de sorgo corrigida com 1,2% de ureia ou 60% da MS em concentrado, verificou-se que a inclusão de concentrado à dieta, independente do híbrido de sorgo utilizado, propiciou aumento na eficiência de utilização da energia, refletida pela menor perda de metano em relação à ingestão de energia bruta (50).

Algumas ferramentas permitem a redução na emissão do gás metano pela manipulação da fermentação ruminal por meio de diferentes tipos de alimentos. Alguns exemplos são o uso de ionóforos, glicerol, tanino, saponinas, óleos, gorduras, vacinas, anticorpos policlonais, técnicas de manejo de pastagens, melhoramento genético animal e vegetal e sistemas eficientes de produção. Tais ferramentas podem ser utilizadas por parte do produtor, cabendo a este optar pela melhor forma considerando o retorno financeiro. No futuro é possível que produtores comprometidos com a sustentabilidade ambiental, que utilizem estratégias de mitigação, possam ser recompensados com créditos de carbono, isenção de impostos por meio de políticas públicas.

Emprego de co-produtos de sementes oleaginosas na dieta de bovinos e sua contribuição para redução do metano

Segundo estudos recentes na Austrália e Canadá, para cada 1% de acréscimo de gordura na dieta de ruminantes, pode se reduzir em até 6% a quantidade de metano produzido por Kg de matéria seca consumida. Estimativas de inclusão extra de 2% de gordura, pela utilização de tortas ou farelos de oleaginosas, na dieta de bovinos de leite da Austrália, levaria a uma redução de 12% na emissão de metano, o que em termos econômicos em um comércio de abatimento de CO₂, valeria aproximadamente U\$ 30,5 M para a indústria leiteira (51).

Atualmente, as tortas são comumente utilizadas como adubação orgânica, geração de energia (biodiesel) e alimentação animal. Considerando a alimentação animal como o elo entre a produção de biodiesel e a pecuária, a utilização deste co-produto na alimentação de ruminantes visa aumentar a produtividade e gerar menor emissão de gases de efeito estufa pelos animais, gerando créditos de carbono e atendendo ao interesse da iniciativa privada. Contudo, não são conhecidos aumentos na renda por parte do produtor oriundos do mercado de crédito de carbono. Além disso, não há agregação do valor do co-produto torta ou farelo, pois ainda são escassos os conhecimentos sobre suas potencialidades nutricionais e econômicas, salvo exceções como soja, algodão e girassol.

A maioria das tortas ou farelos das oleaginosas que vêm sendo utilizadas para produção de biodiesel no Brasil pode ser utilizada na alimentação animal. Porém devem ser tomadas precauções nas quantidades de inclusão nas dietas, práticas de armazenamento e efeitos tóxicos ou antinutricionais.

Segundo resultados de pesquisa, a substituição total do farelo de soja por tortas de algodão, dendê, mamona e pinhão manso proporcionaram menor produção total de gases e a produção de metano foi significativamente afetada pela inclusão das tortas (52). Ainda segundo os autores, introdução de tortas com elevado teor de gordura nas dietas de ruminantes pode auxiliar na mitigação de metano entérico, e a produção de algumas oleaginosas pode contribuir com o sequestro de carbono pelos solos de Cerrado na recuperação de pastagens, reduzindo a necessidade de desmatamentos.

O teor de gordura (EE) das tortas também varia consideravelmente (3 a 24%) o que pode ser outro benefício para os ruminantes, considerando que a inclusão de óleo na dieta pode auxiliar na mitigação de metano entérico, diminuindo a metanogênese ruminal (51). Mas ainda não está claro se esta redução é a curto ou longo prazo, e se o efeito do óleo sobre a

metanogênese é decorrente do consumo reduzido, efeito inibidor do óleo sobre protozoários ou sobre a redução na digestão de fibra dietética (53).

O teor de fibra é relativamente baixo (20%) o que corrobora em conferir a essas tortas, serem classificadas como alimento concentrado, rico em nutrientes (mínimo de 63% de nutrientes digestíveis totais estimado) de acordo com pesquisas da década de 80 (54, 55).

Uma vez que as produções de metano podem variar com as qualidades e quantidades de alimentos fornecidos e ingeridos pelo animal, nota-se a importância de métodos utilizados no manejo alimentar dos bovinos, buscando alternativas para oferecer melhoria no bem estar a sociedade e a maior utilização deste alimento oferecido.

Diets para confinamento sem utilização de alimentos volumosos

A intensificação dos sistemas de terminação em confinamento passa pela adequação de dietas ausente de fontes de fibra longa. São poucos os estudos no Brasil, tanto sobre o desempenho animal quanto a viabilidade econômica. A prática se caracteriza pela grande praticidade em fornecer aos animais confinados somente dois ingredientes: o milho íntegro (sem triturar) e pellet concentrado protéico, vitamínico e mineral.

Alguns autores indicam que a utilização do grão de milho inteiro pode proporcionar rações de elevada densidade nutricional sem a utilização de fibras provenientes de forragens. Em pesquisa iniciada em 2005, recomendou-se a inclusão de 85% de milho íntegro e 15% de pellet concentrado (56). Neste contexto, aponta como vantagens de dietas sem volumoso, a redução do consumo, por tratar de uma dieta de alta concentração energética, aliado ao alto desempenho em ganho de peso e rendimento de carcaça, que resulta em melhorias na conversão alimentar, com valores entre 135 e 145 kg de matéria seca por 30 kg de peso corporal produzido.

Recentemente, foi testada a inclusão de casca de soja peletizada (0, 15, 30 e 45%) em substituição ao milho inteiro em dieta sem forragem, o que gerou um aumento do consumo e redução da digestibilidade dos nutrientes em bovinos castrados da raça Nelore. Destas, a inclusão de 15% de casca de soja em substituição do milho inteiro da ração proporcionou menor custo do ganho de peso (57).

Em geral, o fornecimento de milho íntegro apresenta melhor conversão alimentar em terneiros quando comparado com os novilhos. Foram observadas eficiência de conversão de 4,2:1 em bezerras submetidas às dietas com dois tipos de grão de milho inteiro (alto oléico e tradicional) e 8:1 em novilhos com as mesmas dietas (58).

Portanto, é de grande relevância considerar a qualidade do milho utilizado, a raça e a categoria animal. Além disso, preconiza-se um período de adaptação em níveis crescentes de volumoso para possibilitar uma melhor condição ruminal para minimizar a ocorrência de distúrbios metabólicos, sendo a utilização de ionóforos neste tipo de dieta fundamental para controlar o consumo e a acidose (58).

Contudo, o emprego de dieta sem volumoso em confinamentos não prejudica no desempenho dos animais, sendo necessário mais estudo para viabilizar o uso desta nova tecnologia.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O produtor rural deve ter meios práticos e eficazes de avaliação para os vários alimentos disponíveis no mercado. Inicialmente são necessários procedimentos que analisem o custo dos nutrientes contidos em cada alimento. Para isso, o princípio básico é que os animais de diversas categorias têm exigências nutricionais, que devem ser atingidas pelos nutrientes contidos nos alimentos disponíveis, ao custo mais baixo possível. Assim, todo e qualquer

sistema torna-se viável, desde que atingidas as exigências do animal e de mercado e, assim, trabalhando com a máxima eficiência possível.

REFERÊNCIAS

1. Santos FAP, Moscardini MC. Substituição de fontes de amido por subprodutos ricos em pectina ou fibra de alta digestibilidade na ração de bovinos confinados. In: Anais do 3º Simposio de Nutrição de Ruminantes; 2007, Botucatu. Botucatu: Grupo Nutrir; 2007. p.35-52.
2. Santos FAP, Martinez JC, Carmo CA, Pedroso AM. Sistemas de alimentação como mecanismos de flexibilidade para a produção de leite - Leite: uma cadeia produtiva em transformação. In: Anais do 4º Congresso Internacional do Leite; 2004, Campo Grande. Juiz de Fora: EMBRAPA; 2004. p.117-62.
3. Mertens DR. Regulation of forage intake. In: Forage quality, evaluation and utilization. Madison: American Society of Agronomy; 1992. p.450-93.
4. National Research Council - NRC. Nutrient requeriment of beef cattle. 7ª ed. Washington: National Academy Press; 1996. p.242.
5. Van Soest PJ. Nutritional ecology of the ruminant. 2nd ed. Ithaca: Cornell University Press; 1994. p.476.
6. Preston TR, Willis MB. Intensive beef production. 2nd ed. Oxford: Pergamon Press; 1974. p.546.
7. Restle J, Vaz F. Confinamento de bovinos definidos e cruzados. In: Lobato JFP, Barcellos JOJ, Kessler AM, editors. Produção de bovinos de corte. Porto Alegre: Edipucrs; 1999. p.141-68.
8. Brondani IL, Alves Filho DC, Bernardes RALC. Silagem de alta qualidade para bovinos. In: Restle J, editor. Eficiência na produção de bovinos de corte. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria; 2000. p.185-204.
9. Russell JB, O'Connor JD, Fox DG, Van Soest PJ, Sniffen CJ. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. 1. Ruminant fermentation. J Anim Sci. 1992;70:3551-61.
10. Oliveira CA, Millen DD. Levantamento sobre as recomendações nutricionais e práticas de manejo adotadas por nutricionistas de bovinos confinados no Brasil [CD-ROM]. In: Anais do 3º Simpósio Internacional de Nutrição de Ruminantes: Rúmen Sustentável e Estratégias de cria e recria: desafios futuros para produção de carne; 2011, Botucatu. Botucatu: Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista; 2011.
11. Millen DD, Pacheco RDL, Arrigoni MDB, Galyen ML, Vasconcelos JT. Feedlot performance and rumen parakeratosis incidence in *Bos indicus* type bullocks fed high grain diets and monensin or polyclonal antibodies preparations against rumen bacteria. J Anim Sci. 2007;85(Suppl 1):552.
12. Grainger C. GIA methane: increasing fat can reduce methane emissions. GIA Newsletter. Rutherglen: Department of Primary Industries; 2008.

13. Gonçalves AL, Lana RP, Rodrigues MT, Vieira RAM, Queiroz AC, Henrique DS. Padrão nictemeral do pH ruminal e comportamento alimentar de cabras leiteiras alimentadas com dietas contendo diferentes relações volumoso:concentrado. *Rev Bras Zootec.* 2001;30:1886-92.
14. Burger PJ, Pereira JC, Queiroz AC, Silva JFC, Valadares Filho SC, Cecon PR, et al. Comportamento ingestivo em bezerros holandeses alimentados com dietas contendo diferentes níveis de concentrado. *Rev Bras Zootec.* 2000;29:236-42.
15. Dado RG, Allen MS. Variation in and relationships among feeding, chewing and drinking variables for lactating dairy caws. *J Dairy Sci.* 1994;77:132.
16. Beauchemin KA, Buchanan-Smith JG. Effects of dietary neutral detergent fiber concentration and supplementary long hay on chewing activities and milk production of dairy cows. *J Dairy Sci.* 1989;72:2288.
17. Weichenthal B, Rush I, Van Pelt B. Dietary management for starting finishing yearlings steers on feed. Lincoln: University Nebraska; 1999. Beef Cattle Report MP, 71.
18. Sarti LMN, Pacheco RDL, Millen DD, Arrigoni MDB, Fossa MV, Matsuhara AS, et al. Evaluation of feeding behavior of young cattle from different genetic groups fed with high concentrate diets with different NDF levels [abstracts]. In: 2007 Joint Annual Meeting; San Antonio. San Antonio/Texas: ASAS. *J Anim Sci.* 2007;85:552-3.
19. Mariani TM. Suplementação de anticorpos policlonais ou monensina sódica sobre o comportamento ingestivo e desempenho de bovinos Brangus e Nelore confinados [dissertação]. Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista; 2010.
20. Loerch SC, Fluharty FL. Physiological changes and digestive capabilities of newly received feedlot cattle. *J Anim Sci.* 1999;77:1113-9.
21. Fluharty FL, Loerch SC. Effects of concentration and source of supplemental fat and protein on performance of newly arrived feedlot steers. *J Anim Sci.* 1997;75:2308-16.
22. Arthington JD, Eichert SD, Kunkle WE, Martins FG. Effect of transportation and commingling on the acute-phase protein response, growth, and feed intake of newly weaned beef calves. *J Anim Sci.* 2003;81:1120-5.
23. Carroll JA, Forsberg NE. Influence of stress and nutrition on cattle immunity. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2007;23:105-49.
24. Qiu X, Arthington JD, Rilley DG, Chase Jr CC, Phillips WA, Coleman SW, et al. Genetic effects on acute phase protein response to the stresses of weaning and transportation in beef calves. *J Anim Sci.* 2007;85:2367-74.
25. Cooke RF, Arthington JD, Austin BR, Yelich JV. Effects of acclimation to handling on performance, reproductive, and physiological responses of Brahman-crossbred heifers. *J Anim Sci.* 2009;87:3403-12.
26. Araujo DB, Cooke RF, Hansen GR, Staples CR, Arthington JD. Effects of rumen-protected polyunsaturated fatty acid supplementation on performance and physiological

- responses of growing cattle following transportation and feedlot entry. *J Anim Sci.* 2010;88:4120-32.
27. Arthington JD, Qiu X, Cooke RF, Vendramini JMB, Araujo DB, Chase Jr CC, et al. Effects of pre-shipment management on measures of stress and performance of beef steers during feedlot receiving. *J Anim Sci.* 2008;86:2016-23.
28. Calder PC, Yaqoob P, Thies F, Wallace FA, Miles EA. Fatty acids and lymphocyte functions. *Br J Nutr.* 2002;87(Suppl 1):S31-48.
29. Palmquist DL, Jenkins TC. Fat in lactation rations: review. *J Dairy Sci.* 1980;63:1-14.
30. Ngidi ME, Loerch SC, Fluharty FL, Palmquist DL. Effects of calcium soaps of long-chain fatty acids on feedlot performance, carcass characteristics and ruminal metabolism of steers. *J Anim Sci.* 1990;68:2555-65.
31. Jolly CA, Jiang YH, Cchapkin RS, McMurray DN. Dietary (n-3) polyunsaturated fatty acids suppress murine lymphoproliferation, interleukin-2 secretion and the formation of dicylglycerol and ceramide. *J Nutr.* 1997;127:37-43.
32. Miles EA, Calder PC. Modulation of immune function by dietary fatty acids. *Proc Nutr Soc.* 1998;57:277-92.
33. Calder PC. Dietary fatty acids and the immune system. *Lipids.* 1999;34:37-140.
34. Cooke RF, Scarpa AB, Nery FM, Cooke FNT, Bohnert DW. Effects of polyunsaturated fatty acid (PUFA) supplementation on forage intake and digestibility in beef cows [Internet]. *Proc West Sec Am Soc Anim Sci.* 2010;61:271-3. Oregon: State University; [cited 2010 Set 09]. Available from: <http://beefcattle.ans.oregonstate.edu>
35. Farran TB, Reinhardt CD, Blasi DA, Minton JE, Elsasser TH, Higgins JJ, et al. Source of dietary lipid may modify the immune response in stressed feeder cattle. *J Anim Sci.* 2008;86:1382-94.
36. Cullnes FC, Staples CR, Bilby TR, Silvestre F, Bartolome J, Sozzi A, et al. Effect of timing of initiation of fat supplementation on milk production, plasma hormones and metabolites, and conception rates of Holstein cows in summer. *J Anim Sci.* 2004;82:308.
37. Arthington JD, Spears JW, Miller DC. The effect of early weaning on feedlot performance and measures of stress in beef calves. *J Anim Sci.* 2005;83:933-9.
38. Cerri CEP, Maia SMF, Galdos MV, Cerri CEP, Feigl BJ, Bernoux M. Emissões de gases do efeito estufa do Brasil: importância da agricultura e pastagem. *Sci Agric.* 2009;66:831-43.
39. Mcallister TA, Okine EK, Mathison GW, Cheng KJ. Dietary, environmental and microbiological aspects of methane production in ruminants. *Can J Anim Sci.* 1996;76:231-43.
40. Primavesi O, Friguetto RTS, Pedreira MS, Lima MA, Berchielli TT, Barbosa PF. Metano entérico de bovinos leiteiros em condições tropicais brasileiras. *Pesqui Agropecu Bras.* 2004;39:277-83.

41. Gastaldi KA. Produção “in vitro” de metano, dióxido de carbono e oxigênio utilizando líquido ruminal de bovinos alimentados com diferentes rações [tese]. Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista; 2008.
42. Perry TW, Beeson WM, Mohler MT. Effect of monensin on beef cattle performance. *J Anim Sci.* 1976;42:761-5.
43. Russell JB, Strobel HJ. Mini-review: the effect of ionophores on ruminal fermentations. *Appl Environ Microbiol.* 1989;55:1-6.
44. Kurihara M, Magner T, Hunter RA, Mccrabb GJ. Methane production and energy partition of cattle in the tropics. *Br J Nutr.* 1999;81:227-34.
45. Johnson KA, Johnson DE. Methane emissions from cattle. *J Anim Sci.* 1995;73:2483-92.
46. Nussio LG, Campos FP, Lima MLM. Metabolismos de carboidratos estruturais. In: *Nutrição de ruminantes.* 2ª ed. Jaboticabal: Funep; 2006. p.183-223.
47. Kirchgebner M, Windischmuller W, Muller HL. Nutritional factors for the quantitative of methane production. In: *International 8th Symposium on Ruminant Physiology*, Engelhardt WV, editor. *Ruminant physiology: digestion, metabolism, growth and reproduction.* Stuttgart: Enke; 1995. p.333-48.
48. Monterio RBNC. Desenvolvimento de um modelo para estimativas da produção de gases de efeito estufa em diferentes sistemas de produção de bovinos de corte [dissertação]. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo; 2009.
49. Berchielli TT, Pedreira MS, Oliveira SG, Primavesi O, Lima MA, Frighetto R. Determinação da produção de metano e pH ruminal em bovinos de corte alimentados com diferentes relações volumoso: concentrado. In: *Anais da 40ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia; 2003, Santa Maria.* Santa Maria/RS: Universidade Federal de Santa Maria, SBZ; 2003.
50. Oliveira SG, Berchielli TT, Pedreira MS, Primavesi O, Frighetto R, Lima MA. Effect of tannin levels in sorghum silage and concentrate supplementation on apparent digestibility and methane emission in beef cattle. *Anim Feed Sci Technol.* 2007;135:236-48.
51. Abdalla AL, Silva Filho JC, Godoi AR, Carmo CA, Eduardo JLP. Utilização de subprodutos da indústria de biodiesel na alimentação de ruminantes. *Rev Bras Zootec.* 2008;37:260-8.
52. Lascano CE, Cárdenas E. Alternatives for methane emission mitigation in livestock systems. *Rev Bras Zootec.* 2010;39 Suppl:175-82.
53. Morrison FB. *Alimentos e alimentação dos animais.* 2ª ed. São Paulo: Edições Melhoramentos; 1966.
54. Kearl LC. *Nutrient requirements of ruminants in developing countries.* Logan, Utah: International Feed Stuffs Institute, Utah State University; 1982. p.45-58.

55. Osório CE. Nutrition for tomorrow. Boi engorda bem com dietas sem volumoso [Internet]. 2010 [acesso em 2011 Nov 29]. Disponível em: <http://www.aprmt.com.br/dicas/dicas.asp?cod=151>
56. Katsuki PA. Avaliação nutricional, desempenho e qualidade da carne de bovinos alimentados com rações sem forragem, com diferentes níveis de substituição do milho inteiro por casca de soja [tese]. Londrina: Universidade Estadual de Londrina; 2009.
57. Depetris GJ, Santini FJ, Pavan E. Efecto del grano de maiz alto en aceite en el sistema de engorde a corral. *Rev Argent Prod Anim.* 2003;23:57.
58. Pordomingo AJ, Galyean ME, Branine ME. Effects of daily and weekly rotations of lasalocid and monensin plus tylosin compared with continuous feeding of each ionophore on daily dry matter intake and digesta kinetics. *Rev Argent Prod Anim.* 1999;19:383-90.

Recebido em: 07/03/12

Aceito em: 24/08/12

PROTOTECOSE MAMÁRIA. UM PROBLEMA NOS REBANHOS LEITEIROS.

Helio Langoni¹
Marcella Zampoli Troncarelli²
Guido Gomes Wanderley²
Anelise Salina²

RESUMO

A mastite bovina é um grande entrave para a pecuária leiteira, pois ocasiona prejuízos sanitários, econômicos e também à saúde pública. Determina perdas na produção de leite, custos com mão-de-obra, honorários profissionais e medicamentos; além de morte ou descarte de animais; possibilidade de veiculação de patógenos causadores de toxi-infecções alimentares; e ainda redução do rendimento industrial para a fabricação de derivados lácteos. Quanto às causas infecciosas de mastites há que se considerar os micro-organismos contagiosos e ambientais, sendo que os primeiros normalmente são transmitidos para os animais durante o processo de ordenha; já os patógenos ambientais infectam os animais predominantemente após a ordenha, quando o esfíncter do teto permanece aberto. Inúmeros micro-organismos podem estar envolvidos na etiologia das mastites, como bactérias, fungos, leveduras e algas. Dentre as algas, destaca-se o gênero *Prototheca*, que determina mastite subclínica ou clínica, sob a forma de surtos, geralmente de curso crônico, que transcorre com elevação da contagem de células somáticas, alterações físico-químicas do leite, e acentuada diminuição da produção leiteira, podendo cessar abruptamente. A presente revisão tem por objetivo apresentar aspectos relacionados às mastites ocasionadas por algas aclorofiladas do gênero *Prototheca*, a importância como patógeno envolvido nas infecções intramamárias, os métodos de diagnóstico e controle.

Palavras-chave: vacas, mastite, alga, *Prototheca*, leite

MAMMARY PROTOTHECOSIS. A SERIOUS PROBLEM IN DAIRY CATTLE

ABSTRACT

Bovine mastitis is a serious problem on dairy farms, causing sanitary and economic losses and public health damages. It determines milk production reduction, high costs with manpower, professional fees, drugs for treatment; and also animals' death or slaughter; possibility of food borne pathogens transmission; and also reduction of milk derivate production rates on industry. As infectious causes of mastitis there are contagious and environmental microorganisms, being the first ones often transmitted to cows during milking process; and the environmental pathogens normally infect animals after milking, when teat sphincters stay opened. Several microorganisms may be enrolled on bovine mastitis etiology, as bacteria, fungi, yeasts and algae. Considering alga, it is important to note the genus *Prototheca*, that determines subclinical or clinical mastitis, under outbreak cases, normally with chronicle course, that progress with high somatic cell counts, milk alterations and intensive milk production losses, with abrupt production stopping. The aim of the present review study is to

¹ Professor Titular e Bolsista PQ-1A-CNPq – Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, FMVZ – UNESP/Botucatu - SP

² Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, Saúde Animal, Saúde Pública Veterinária e Segurança Alimentar, FMVZ – UNESP/Botucatu - SP

discuss *Prototheca* genus algae and its relationship with bovine mastitis; and also its pathogenicity for mammary gland; and aspects of diagnosis and control.

Keywords: cows, mastitis, algae, *Prototheca*, milk

PROTOTECCOSIS MAMARIA. UN PROBLEMA EN EL GANADO LECHERO.

RESUMEN

La mastitis bovina es un gran obstáculo para la ganadería lechera, pues ocasiona perjuicios sanitarios, económicos y también a la salud pública. La mastitis provoca pérdidas en la producción de leche, aumento de costos con mano de obra, honorarios profesionales y medicamentos así como muerte o descarte de animales. Posibilita también la transmisión de patógenos causadores de enfermedades tóxicas alimentarias y la reducción del rendimiento industrial para el preparo de productos derivados de la leche. Con relación a las causas infecciosas de mastitis se deben considerar los micro-organismos contagiosos y ambientales, siendo que los primeros son normalmente transmitidos para los animales durante el proceso de ordeña; mientras que los patógenos ambientales se transmiten predominantemente después de la ordeña, cuando el esfínter de pezón está todavía abierto. Numerosos micro-organismos pueden estar involucrados en la etiología de las mastitis, tales como bacterias, hongos, levaduras y algas. Entre las algas se destaca el género *Prototheca*, que provoca brotes de mastitis subclínica o clínica, generalmente de curso crónico, que se hace evidente por la elevación del conteo de células somáticas, alteraciones físico-químicas de la leche y disminución acentuada de la producción lechera, que puede cesar abruptamente. La presente revisión tiene por objetivo presentar algunos aspectos relacionados a la mastitis ocasionadas por algas aclorofílicas del género *Prototheca*, su importancia como patógeno involucrado en las infecciones intramamarias, su diagnóstico y control.

Palabras-clave: vacas, mastitis, alga, *Prototheca*, leche

INTRODUÇÃO

A mastite é a infecção mais frequente do gado destinado à produção de leite, e que mais onera a pecuária leiteira, tanto em nível de fazenda como para a indústria de laticínios. No primeiro caso, por ocasionar perdas devido à diminuição da produção de leite, custos com mão de obra, honorários profissionais, medicamentos, e morte ou descarte de animais. Referente à indústria de laticínios, há queda na qualidade do produto final e diminuição no rendimento industrial para a fabricação dos subprodutos ou derivados lácteos, devido às alterações na composição do leite.

Caracteriza-se por alterações físicas, químicas e bacteriológicas do leite, e patológicas do tecido glandular mamário. Como transformações físicas destacam-se alteração da coloração, presença de grumos, coágulos, sangue e aumento do número de leucócitos e células de descamação – células somáticas –, enquanto as químicas referem-se às variações quantitativas e/ou qualitativas dos constituintes individuais do leite, como lactose, teor de gordura, proteínas e minerais. As alterações bacteriológicas e patológicas estão relacionadas com os patógenos envolvidos no processo infeccioso.

As alterações patológicas ocorrem em dois níveis, sendo que na mastite clínica pode haver edema, endurecimento da glândula mamária, e alterações das características do leite. Na mastite subclínica não há alterações visíveis no leite, ou palpáveis na glândula mamária (1), sendo seu diagnóstico obtido por testes indiretos, que são baseados na contagem de células somáticas (CCS) presentes no leite, que é um parâmetro de qualidade estabelecido para o

monitoramento da qualidade do leite oferecido para consumo de acordo com a Instrução Normativa IN 62 (2).

Quanto à etiologia infecciosa das mastites há que se considerar os patógenos contagiosos e ambientais, considerando-se múltipla sua etiologia com a citação de 137 micro-organismos (3), destacando-se entre os contagiosos os *Staphylococcus* coagulase positivos (SCP) e os coagulase negativos (SCN), *Streptococcus agalactiae*, *Corynebacterium bovis*, e *Mycoplasma* spp., como também algas aclorofiladas do gênero *Prototheca*, com destaque para *Prototheca zopfii*. Os patógenos ambientais estão relacionados com as situações de grande umidade, presença de matéria orgânica nos ambientes de pré e pós-ordenha, e contaminação de soluções utilizadas como pré e pós-dipping. Neste caso, os principais patógenos envolvidos são os coliformes como *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter* spp. Ainda *Pseudomonas aeruginosa*, fungos e leveduras e não menos importantes diferentes espécies de *Prototheca* spp., que se caracteriza por quadros clínicos severos, de alta transmissibilidade nos rebanhos, e refratários aos tratamentos com antimicrobianos convencionais, devido à formação de granulomas mamários.

Outro aspecto relevante é que alguns destes patógenos, além de interferirem na qualidade do leite, representam perigo ainda maior para o consumidor por se tratarem de agentes de zoonoses pelo consumo do leite contaminado, não fervido ou pasteurizado, a exemplo de *Mycobacterium bovis* e *Brucella abortus* no Brasil (4), e em outros países por *Brucella melitensis*, ou ainda por ação de toxinas de outros micro-organismos, principalmente de *Staphylococcus aureus* e de outros SCN, ocasionando surtos de toxi-infecções alimentares. Especificamente relacionados à prototecose, a sua importância como agente de zoonose foi relatada no Brasil em 1995, a partir da ocorrência de toxi-infecção devido à ingestão de queijo contaminado por *Prototheca zopfii* (5).

A presente revisão tem por objetivo apresentar aspectos relacionados às mastites ocasionadas por algas do gênero *Prototheca*, a importância como patógeno envolvido nas infecções intramamárias, os métodos de diagnóstico e controle.

Caracterização do problema

A literatura assinala para a importância das algas do gênero *Prototheca* spp. na etiologia da mastite bovina, bem como em outros processos infecciosos em humanos e animais, denominados genericamente de prototecose. O gênero *Prototheca* spp. foi proposto por Krüger em 1894 (6) para designar grupo de micro-organismos intracelulares aclorofilados, isolados do látex das plantas. Sua reprodução é assexuada por fissão múltipla, formando endósporos em número variado, que ao atingirem a maturidade exercem pressão sobre a parede da célula-mãe, que se rompe liberando passivamente as denominadas células-filhas. Pela semelhança com leveduras, foram descritas inicialmente como fungos, entretanto, diferem das leveduras pela forma de reprodução, semelhante ao das algas do gênero *Chlorella* (7).

O primeiro autor a relacionar as prototecas com a etiologia das mastites foi Lerche em 1952 (8), na Alemanha, ao relatar surto de mastite, provavelmente por *Prototheca zopfii* e, experimentalmente reproduziu a doença a partir de infecção intramamária, via canal galactóforo. Posteriormente, obteve-se o isolamento de *Prototheca* spp. de 63 amostras de leite, provenientes de 28 vacas, em um total de 372 tetos avaliados (9).

Outros autores (10, 11) relataram a ocorrência de surtos ou casos esporádicos de mastite por *Prototheca* spp. São responsáveis por casos de mastite subclínica e clínica, com resposta inflamatória menos intensa como as ocasionadas por *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. e *Corynebacterium* spp. (9), provocando, entretanto, queda brusca na produção do quarto afetado, com a presença de grumos nos primeiros jatos de leite, nos casos clínicos (12, 13).

Prototheca zopfii foi isolada de casos de mastites em vacas recém-paridas, 24-48 horas pós-parto, que entre dois e oito dias de evolução apresentavam o úbere com um ou mais quartos endurecidos, de difícil ordenha, cujo leite apresentava-se com coágulos brancos de pus (14). Da mesma forma, a sua ocorrência foi notificada a partir do isolamento do leite das vacas, havendo ainda a correlação com a presença de anticorpos séricos anti-*Prototheca zopfii* nos animais infectados (15). Examinando-se o leite de 79 vacas de um único rebanho, *Prototheca zopfii* foi isolada de amostras de leite de 31 animais (16). Estes mesmos pesquisadores isolaram *Prototheca* spp. em 28 (3,6%) dos 787 tanques de expansão de propriedades do leste dos Estados Unidos, sendo 22 casos de *Prototheca zopfii* e seis de *Prototheca moriformis* (16).

Há relato da identificação de *Prototheca zopfii* a partir do leite de vacas com mastite indurativa, que havia apresentado episódios de mastite crônica em lactações anteriores, submetida a tratamento com preparações de cefalosporina de longa duração. No Brasil há a comunicação pessoal do isolamento de *Prototheca zopfii* de um caso de mastite clínica bovina em Campo Grande-MS (17), entretanto, no Brasil, ocorreram as primeiras citações sobre a ocorrência de mastite bovina por *Prototheca* spp. sob a forma de surtos demonstrando a importância destes agentes na etiologia das mastites (19,20). Novos estudos surgiram no país, relatando casos de mastite clínica por *Prototheca* spp. (21-23), além de estudos epidemiológicos referentes a prototecose bovina (18,24).

No México, obteve-se o isolamento de *Prototheca* spp. em dez entre as 230 vacas de um rebanho. Como características marcantes, assinalaram-se a redução de tamanho e aumento da consistência da glândula mamária, sem sinais de inflamação acentuada, sendo, entretanto, marcante a diminuição da produção leiteira dos animais infectados (25).

Outros casos ou estudos referentes à prototecose bovina foram relatados no Brasil (26-37) e em outros países (38-41). Para alguns autores foram considerados como relatos de casos, ou como parte de estudos microbiológicos relacionados à etiologia das mastites, e em algumas situações considerado como patógeno emergente (17).

Aspectos etio-epidemiológicos

Micro-organismos do gênero *Prototheca* estão presentes na natureza, principalmente em ambientes ricos em matéria orgânica (42). São conhecidas cinco espécies: *P. zopfii*, *P. wickerhamii*; *P. ulmea*; *P. stagnora* e *P. blaschkeae* (43), sendo as duas primeiras patogênicas e associadas com doenças nos animais e em humanos (36, 44, 45). Há três tipos de *P. zopfii*, sendo que o tipo II predomina em relação aos demais, na etiologia das mastites (46). São algas unicelulares e se encontram distribuídas mundialmente. Já foram isoladas em água do mar, de lagos e rios; de seiva de árvores, de lama e de secreções e excreções de diferentes espécies animais (42). No seu metabolismo utiliza glicose como fonte de carbono; sais de amônia e proteínas como fonte de nitrogênio, e necessita de oxigênio e tiamina para o crescimento (47, 48).

Reproduzem-se de forma assexuada com septação interna, fenômeno conhecido por endoesporulação. A célula-mãe denomina-se esporângio, semelhante a uma mórula, e forma número variável de endósporos, denominados também de células-filhas, que permanecem no seu interior, envoltos por cápsula trilaminar de esporopolemina, liberando-os ao se romper, reiniciando-se o ciclo com a formação de novos endósporos (47, 49).

O isolamento de *Prototheca* spp. pode ser realizado em meios de ágar sangue ovino 5-8%, onde se desenvolvem colônias que são fenotipicamente pequenas, branco-acinzentadas em 48-72 horas (Figura 1).



Figura 1. Características macroscópicas de colônias de *Prototheca* spp. isoladas em meio ágar sangue ovino 5%, após 72 horas de incubação a 37° C. Notam-se colônias pequenas, branco-acinzentadas, não hemolíticas. Núcleo de Pesquisa em Zoonoses – NUPEMAS, 2012.

Às 24 horas pode se suspeitar do seu isolamento pelo desenvolvimento de colônias diminutas translúcidas, a temperatura de 37° C em condições aeróbicas. O isolamento pode ser facilitado a partir da utilização de meios seletivos como ágar Sabouraud-dextrose (ASD) adicionado de antimicrobianos, como cloranfenicol, na concentração de 100mg/litro de meio e 0,1g/litro de meio de hidrocloreto de tiamina (42), com o desenvolvimento de colônias de coloração branco-dourada de 1-2mm de diâmetro, atingindo às 72-96 horas de incubação 3-6mm de diâmetro, com bordas irregulares e elevadas (Figura 2).

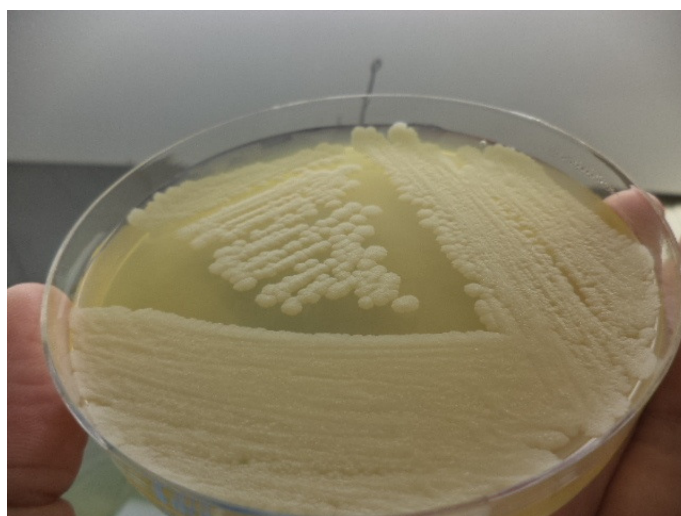


Figura 2. Características macroscópicas de colônias de *Prototheca* spp. isoladas em ágar Sabouraud-dextrose (ASD) acrescido de cloranfenicol, após 72 horas de incubação a 37°C. Notam-se as bordas irregulares e elevadas das colônias, que apresentam coloração branco-dourada. NUPEMAS, 2012.

É possível ainda a utilização de meios de enriquecimento como o meio de PIM – *Prototheca* isolation médium (42) e meio PEM – *Prototheca* isolation enrichment medium (16), com a adição de anti-fúngico 5-fluorocitosina 500mg/190 mL de meio, adicionando-se 1 mL de meio/5 mL de leite em tubos, incubando-se sob agitação a 32°C, por 96 horas, replaqueando-se em meio de ASD como descrito anteriormente, com incubação a 35-37°C por 48 horas.

Características morfológicas podem ser avaliadas pela coloração de Gram ou Panótico (50) e pelo exame a fresco de parte das colônias em 30 μ L de azul de metileno 3%, azul de algodão, tinta da China, ou cristal violeta, entre lâmina e lamínula, com observação dos esporangiósporos em número variável nos esporângios (Figura 3).

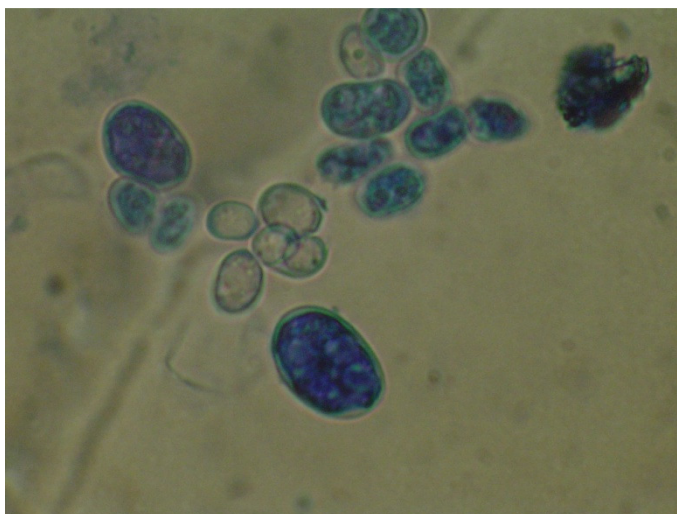


Figura 3. Exame a fresco de isolado de *Prototheca* spp. corado em azul de metileno 3%. Notam-se as células-filhas (esporangiósporos) no interior dos esporângios. Aumento de 1000x. NUPEMAS, 2012.

Os esporangiósporos de *P. wickerhamii* se distribuem centralmente, com aspecto de mórula, flor de margarida ou framboesa (Figura 4). Quando coradas por azul de metileno ou cristal violeta, aparecem sem delimitação de esporangiósporos, como estruturas ovaladas ou globosas. As células de *P. wickerhamii* são esféricas, com 2,5 a 13 μ m de diâmetro e as de *P. zopfii* são esféricas ou ovais com 4,5 a 25 μ m de diâmetro (47).

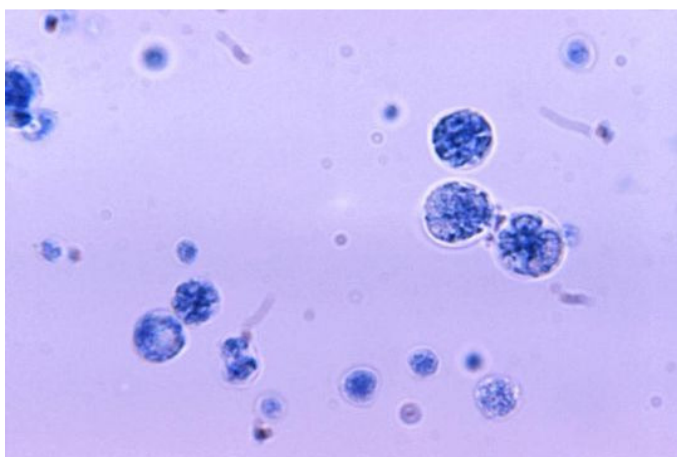


Figura 4. Características microscópicas de *Prototheca wickerhamii* coradas pelo azul de metileno 3%. Imagem de domínio público (Public Health Image Library). <http://eol.org/pages/6652484/overview>

A caracterização bioquímica pode ser realizada utilizando-se testes de assimilação de carboidratos e álcoois. Quanto à fermentação, *P. zopfii* é positiva para glicose, frutose, 2-propanol, acetato (pH 5,0) e glicerol, sendo negativa para lactose, trealose, xilose e manose. *P. wickerhamii* assimila glicose, xilose, dulcitol, rafinose, inositol, melibiose, adonitol, eritritol, propanol, salicina e amino (48).

São consideradas como patógenos ambientais, e ao serem ingeridas pelos animais se disseminam no ambiente a partir das fezes das vacas, bezerros e animais silvestres (51, 52). De maneira geral as principais fontes de disseminação em propriedades leiteiras são os bezerros, vacas em lactação, suínos, cães e gatos. Bezerros alimentados com leite de vacas com mastite por *Prototheca* spp. liberam o agente pelas fezes, pois os esporângios passam livremente pelo trato digestório (53, 54).

A maior incidência de mastites por *Prototheca* spp. ocorre nas primeiras semanas de lactação e principalmente no verão (49), podendo ocorrer em outros períodos, inclusive durante o período seco (28), sob forma de casos esporádicos ou surtos (21). Sob a forma epidêmica deve-se atentar para a correlação da presença do agente com o processo de higienização pré-ordenha, e manutenção dos animais em ambientes com umidade elevada, com acúmulo de lama e fezes (27). A não realização de pós-*dipping*, não utilização da prática de alimentar as vacas pós-ordenha, evitando-se com que se deitem logo após o término da ordenha, momento em que o canal do teto e o esfíncter ainda estão dilatados e abertos, propiciando a penetração do agente presente no ambiente, bem como o alojamento em sistema de *free-stall*, estão relacionados com a ocorrência de mastite por *P. zopfii* (55).

A ocorrência de mastite por este patógeno está também associada em rebanhos nos quais o tratamento intramamário é realizado em condições precárias de higiene pré-tratamento, com falhas na ordenha, como o uso excessivo de água e ausência de um sistema de linha de ordenha, ordenhando-se primeiro animais saudáveis (34). Por outro lado, o agente pode estar ocasionando mastites da mesma forma, em rebanhos onde as condições de manejo não revelam grandes falhas na ordenha e manejo dos animais (39). Deve-se atentar no caso de reposição de animais, pois pode ocorrer a introdução do agente na propriedade a partir de casos crônicos de infecção subclínica ou de casos clínicos não curados em animais que são descartados e comprados por proprietários que não se preocupam previamente com a realização de exames microbiológicos para avaliação da sanidade da glândula mamária, aspecto relevante em um programa de controle de mastites e qualidade do leite produzido na propriedade.

Aspectos clínicos e de patologia

Quanto à apresentação, a mastite por *Prototheca* spp. pode ser subclínica ou clínica, predominantemente como casos crônicos, geralmente sem sinais sistêmicos (49), exceto pela citação de um caso de prototecose disseminada por *P. zopfii* devido à imunossupressão pelo uso prolongado de corticoide e antibióticos para tratamento de retenção placentária e mastite concomitante; havendo provavelmente escape de foco primário de infecção intramamária com disseminação hematogênica para o coração, pulmões, rins, língua e diafragma (56).

A mastite clínica aguda, principalmente sob a forma de surtos, transcorre com acentuada diminuição da produção de leite podendo cessar abruptamente. A secreção láctea se caracteriza pela formação de grumos, flocos ou aspecto seroso com pus ou aquoso (49, 57). A produção de leite reduz acentuadamente como de 20 kg diários para menos de 10 kg diários no intervalo de um mês (36). Nos animais infectados a mastite pode persistir no período seco ou ocorrer novas infecções sem que ocorra regeneração adequada da glândula mamária, o que compromete a próxima lactação (34).

Nos casos clínicos há aumento da consistência do tecido glandular e alterações do leite que se mostra com aspecto aquoso, com grumos de caseína e flocos de fibrina ou pus (21, 58). Nas apresentações subclínicas há diminuição da produção de leite com elevada contagem de células somáticas (CCS) (49), podendo, por outro lado, haver casos de vacas infectadas com CCS baixa, inferior a 200.000 CCS/mL de leite (36, 41, 59). São detectadas alterações na composição do leite com diminuição dos teores de gordura, lactose e sólidos totais,

provavelmente em função da degradação do glicerol e glicose pela lesão do tecido glandular mamário (36, 49).

Como resultado da infecção a partir da penetração do patógeno via ascendente pelo canal do teto e sua colonização, as alterações e lesões inflamatórias se encontram irregularmente distribuídas no parênquima mamário (34, 49). O tecido conjuntivo interalveolar mostra infiltração linfocitária, macrófagos, neutrófilos e eosinófilos (36, 60, 61). Podem ser encontrados no lúmen alveolar neutrófilos e macrófagos com o agente fagocitado, bem como células gigantes (34). Há linfadenite serosa aguda com acentuado infiltrado eosinofílico (61). Nos casos crônicos há focos circunscritos de necrose, proliferação de fibroblastos e atrofia alveolar (34, 36, 49). Associado ao processo proliferativo há a formação de micro-granulomas no parênquima mamário (49).

Diagnóstico

Devem ser avaliados os aspectos do leite pela prova de caneca de fundo negro ou Tamis, bem como o exame físico da glândula mamária, observando-se os sinais da inflamação como calor rubor, edema, dor e textura do parênquima mamário. É imprescindível, entretanto, a cultura microbiológica para isolamento e caracterização do agente (62). Podem ser utilizados meios não seletivos como ágar sangue ovino 5-8% ou seletivos como ágar Sabouraud-dextrose adicionado de 100mg/L de meio de cloranfenicol, como impiediente do crescimento de outros patógenos. Podem ser utilizados ainda os meios de enriquecimento de *Prototheca* como descritos anteriormente.

Podem ser examinadas amostras de leite de cada quarto mamário afetado, bem como do tanque de expansão da propriedade com fins de monitorar a presença do agente na propriedade. Nestes casos é importante a utilização de meios seletivos, considerando-se a ampla variedade de micro-organismos presentes no leite. Características fenotípicas das colônias e caracterização das mesmas já foram descritas anteriormente.

Pode-se lançar mão do diagnóstico citológico, por citologia aspirativa do parênquima mamário com agulha fina, que é uma técnica de baixo custo, não agressiva para o tecido mamário (63), coradas por Giemsa, Gram, Schorr, hematoxilina-eosina, Gridley e Grocott (34), associado ainda ao exame por microscopia eletrônica de varredura (64), e também de histopatologia a partir do exame de cortes histológicos corados por ácido periódico de Schiff (PAS) (49).

Tratamento

Baseando-se nos resultados de testes de suscetibilidade *in vitro* frente a vários antimicrobianos, *P. zopfii* e *P. wickerhamii* mostram resistência à maioria deles (21, 29, 32, 39, 65, 66), de tal forma que as possibilidades de tratamento são limitadas.

A sensibilidade a antifúngicos é também moderada, com resultados na prática controversos (39, 67). Para tratamento humano de casos de prototecose, tem-se lançado mão da utilização de cetoconazol, itraconazol, fluconazol e anfotericina B com melhores resultados para a última (45). Ressalta-se que o êxito no tratamento das mastites está diretamente relacionado com a evolução do processo infeccioso, que se relaciona com o grau de destruição tecidual, e que na maioria dos casos de prototecose mamária trata-se de processo crônico, o que deve influenciar para o insucesso terapêutico.

Tratamentos alternativos foram ensaiados, como a utilização de própolis e extrato de sementes de frutas cítricas (21, 57). A própolis a 10% associada com Dimetilsulfóxido (DMSO) a 20% foi utilizada com base terapêutica para casos de mastite por *Prototheca zopfii*, obtendo-se cura clínica e microbiológica em 84,8% dos tetos tratados (20). A ação do thimerosal foi avaliada *in vitro* (68) e mostrou 100% de cura microbiológica, mas devido às

lesões no tecido secretor, não se recupera a produção de leite do quarto infectado (28, 49). Considerando-se estes aspectos, o baixo número de casos de cura espontânea, a persistência da infecção no período seco e a alta contagiosidade do agente e sua eliminação no ambiente podendo infectar outros animais, sugere-se o descarte do animal na dependência do número de quartos afetados (49, 61), ou a ablação química com produtos como nitrato de prata 0,75% (17), ou infusão intramamária de iodo a 10%, diluído em 100 mL de solução salina (0,85%) estéril (69), evitando-se assim a contaminação ambiental e possibilidade de transmissão para outros tetos do mesmo animal ou de outros animais durante o processo de ordenha.

A formulação de novos fármacos com partículas nanoestruturadas poderá ser uma alternativa para o tratamento no futuro, uma vez que o processo de nanoestruturação tende a determinar novas características físicas e químicas de antimicrobianos, que poderão apresentar melhor eficácia em casos de mastite bovina, assim como menor irritabilidade para a glândula mamária. Sendo assim, poderá ser alcançado o uso mais racional de antimicrobianos, uma vez que tanto o número de doses quanto a concentração poderão ser reduzidos durante o tratamento; além de possibilitar o “rejuvenescimento” de bases farmacêuticas já desgastadas pelo uso contínuo; e ainda menor geração de resíduos em produtos de origem animal (70).

Medidas preventivas e de controle

Tratando-se de patógeno ambiental, o controle é sempre mais difícil, portanto deve-se evitar a introdução do agente no rebanho, controlando-se por meio de exames microbiológicos amostras de leite de todos os tetos de vacas a serem introduzidas no rebanho. O ideal é que se proceda mais de um exame, pois a eliminação do patógeno pode ser intermitente. Recomendam-se três culturas de amostras de leite obtidas diariamente, mantidas sob refrigeração, e homogeneizá-las bem, obtendo-se alíquota de 0,1mL para plaqueamento e pesquisa do agente em meio de ágar Sabouraud-dextrose ou outros meios seletivos. Quando não for possível este procedimento, deve-se estabelecer contrato de compra e venda com cláusula específica (36).

No caso de rebanhos onde se detecta a presença de *Prototheca*, até o momento que se defina o destino dos animais infectados, deve-se ordenhá-los em separado, no final da ordenha, descartando-se o leite ordenhado. De maneira geral, como controle deve-se proceder de forma semelhante no caso das mastites ambientais (34), respeitando-se a ordem na linha de ordenha, ordenhando-se inicialmente vacas sem problemas de mastites e ao final aquelas em tratamento. Observar os aspectos de higiene ambiental e também no processo de ordenha, com limpeza adequada dos tetos e lavagem se necessário, secagem com papel toalha, realização de pré-*dipping* com solução desinfetante adequada e na concentração recomendada pelo fabricante, observando-se que mais de 1/3 do teto fique submerso na solução, garantindo a correta desinfecção. Para tanto, podem ser utilizadas soluções de clorexidina, cloro ou amônia quaternária. Para pós-*dipping*, recomenda-se o iodo glicerinado.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A mastite por *Prototheca* spp., apesar de ocorrer com menor frequência, ocasiona perdas econômicas significativas e pela dificuldade de tratamento, os animais na maioria das vezes devem ser descartados. O fato de ser resistente ao processo de pasteurização (71) e de ter sido isolada de queijo fresco responsável por infecção alimentar humana (72), torna este patógeno um agente relevante na etiologia das mastites e reforçam a importância de um programa de controle baseado inicialmente no cuidado quando da introdução de novos animais no rebanho, o estabelecimento de linhas de ordenha, respeitando-se os preceitos higiênicos e de manejo zoonosológico, incluindo-se a higiene ambiental, e o monitoramento da

ocorrência de mastites por meio de exames como CMT, CCS e exames microbiológicos rotineiros para conhecimento da microbiota presente na propriedade. Resumindo, o controle da prototecose mamária deve incluir a participação dos ordenhadores em atividades de educação sanitária e em saúde para que adotem medidas higiênicas adequadas para o controle, incluindo-se lavagem adequada das mãos e a utilização de luvas durante a ordenha.

REFERÊNCIAS

1. Natzke RP. Elements of mastitis control. *J Dairy Sci.* 1981;64:1431-42.
2. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n.62, de 30 de dezembro de 2011. Aprova os regulamentos técnicos de produção, identidade e qualidade do leite tipo A. *Diário Oficial da União, Brasília (DF), 2011 Dez 30. Sec I.*
3. Wats JL. Etiological agents of bovine mastitis. *Vet Microbiol.* 1988;16:41-66.
4. Guimarães FF, Langoni H. Leite: alimento imprescindível, mas com riscos para a saúde pública. *Vet Zootec.* 2009;16:38-51.
5. Bueno VFF, Mesquita AJ, Dias Filho FC. Prototheca zopfii: importante patógeno na etiologia da mastite bovina no Brasil. *Cienc Anim Bras.* 2006;7:273-83.
6. Krüger W. Kurz Charakteristik einiger niedern Organismen in Saftflüsse from Laubbäume. I. Über einen neuen Pild-typus repräsentiert durch die Gattung Prototheca (P. Moriformis and P. Zopfii). II. Über zwi aus Saftflusses rein gezuchtet Algen. *Hedwigia.* 1894;33:241-6.
7. Sudman M. Protothecosis: a critical review. *Am J Clin Pathol.* 1974;61:10-9.
8. Lerche M. Eine durch Algen (Prototheca) hervorgerufene Mastitis der Kuh. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr.* 1952;65:64-9.
9. Frank N, Ferguson LC, Cross RF, Redman DR. Prototheca, a cause of bovine mastitis. *Am J Vet Res.* 1969;30:1785-94.
10. Goudwaard J. Protothecosis in a cow. *Tijdschr Diergeneeskd.* 1977;102:567-70.
11. Bodenhoff J, Madsen PSM. Bovine protothecosis. A brief report of ten cases. *Acta Pathol Microbiol Scand Sect B.* 1978;86:51-2.
12. Mcdonald JS, Richard JL, Cheville NF. Natural and experimental bovine intramammary infection with Prototheca zopfii. *Am J Vet Res.* 1984;45:592-5.
13. Smith KL, Todhunter PA, Schomberger PS. Environmental mastitis: cause, prevalence, prevention. *J Dairy Sci.* 1985;68:1531-53.
14. Spalton DE. Bovine mastitis caused by Prototheca zopfii: a case study. *Vet Res.* 1985; 116:347-9.

15. Blaschke-Hellmessen NR, Teichmann G, Schuster H, Bergmann V. Untersuchungen zum Nachweis von Antikörpern gegen *Prototheca zopfii* bei Rindern. *Monatsh Veterinärmed.* 1987;42:48-50.
16. Pore RS, Shanan TA, Pore MD, Blauwiekel R. Occurrence of *Prototheca zopfii*, a mastitis pathogen, in milk. *Vet Microbiol.* 1987;15:315-23.
17. Costa EO, Ribeiro AR, Watanabe ET, Garino Jr F, Silva JAB, Junqueira L. Controle de surto de mastite por *Prototheca zopfii* em uma propriedade leiteira. *Napagama.* 1999;2:12-6.
18. Yamamura AAM, Muller EE, Pretto-Giordano LG, Consenza M, Silva PFN, Godoy A. Isolamento de *Prototheca* spp. de vacas com mastite, de leite de tanques de expansão e do ambiente dos animais. *Semina Cienc Agrar.* 2007;28:105-14.
19. Langoni H, Domingues PF, Funari SRC, Dias HLT. Mastite bovina por *Prototheca* sp. In: *Anais do 4º Congresso de Iniciação Científica da Universidade Estadual Paulista; 1992, Araçatuba. Araçatuba: UNESP; 1992. p.92-3.*
20. Langoni H, Domingues PF, Funari SRC, Dias HLT, Mota, RA, Rocha NS, et al. *Prototheca zopfii* e mastite bovina: clínica e terapêutica. In: *Anais do 22º Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária; 1992, Curitiba. Curitiba: CBMV; 1992. p.1250.*
21. Langoni H, Domingues PF, Funari SRC, Dias HLT. *Prototheca zopfii* como agente de mastite bovina: clínica terapêutica. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 1995;45:727-32.
22. Costa EO, Ribeiro AR, Watanabe ET, Pardo RB, Silva JB, Sanches RB. An increased incidence of mastitis caused by *Prototheca* species and *Nocardia* species on a farm in Sao Paulo, Brazil. *Vet Res Commun.* 1996;20:237-41.
23. Brito AF, Vianna LC, Neto BR, Filizzola WR, Ribeiro MG. Mastite bovina por *Prototheca zopfii* no oeste do Estado de São Paulo: relato de caso. In: *Anais do 3º Encontro de Pesquisadores em Mastites; 1999, Botucatu. Botucatu: FMVZ; 1999. p.162.*
24. Costa EO, Carciofi AC, Melville PA, Prada MS, Ribeiro AR, Watanabe E. Epidemiological studies on bovine protothecosis. In: *Proceedings of the 18º Congresso Mondiale di Buiatria; 1994, Bologna. Bologna: Istituto de Clinica Medica Veterinaria; 1994. p.853-5.*
25. Porras AA. Aislamiento de *Prototheca* en un brote de mastitis bovina. In: *Proceedings of the 14º Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias; 1994, Acapulco. Acapulco: Asociacion Panamericana de Ciencias Veterinarias; 1994. p.38.*
26. Langoni H, Domingues PF, Kung DC, Pardo RB, Da Silva AV, Cabral KG, et al. Participation of yeasts, algae and fungi on bovine mastitis. In: *Resumos do Congresso Panamericano de Ciencias Veterinarias; 1996, Campo Grande. Campo Grande: Associação Panamericana de Ciências Veterinárias; 1996.*
27. Costa EO, Carciofi AC, Melville PA, Prada MA, Ribeiro AR, Watanabe ET. Bovine mastitis due to algae of the genus *Prototheca* sp. *Mycopathologia.* 1996;133:85-8.

28. Costa EO, Carciofi AC, Melville PA, Prada MS, Schalch U. Prototheca sp. Outbreak of bovine mastitis. Zentralbl Veterinarmed B. 1996;43:321-4.
29. Vargas AC, Lazzari A, Santurio JM, Alves SH, Ferreira G, Kreutz LC. Isolation of Prototheca zopfii from a case of bovine mastitis in Brazil. Mycopathologia. 1998;142:135-7.
30. Motta RG, Ribeiro MG, Perroti IBM, Motta DG, Domingues PF, Lucas TO, et al. Surto de mastite bovina causada por Arcanobacterium pyogenes. Arq Bras Med Vet Zootec. 2011;63:736-40.
31. Pardo RB, Sturion DJ, Basile JR, Chaves Neto AF, Duarte DDS, Fernandes AA, et al. Levantamento dos agentes etiológicos da mastite bovina na região de Araçatuba (SP). UNOPAR Cient Cienc Biol Saude. 1999;1:25-30.
32. Filippesen LF, Moreira FB, Sakashita AT, Bittencourt DR. Prevalência da mastite bovina causada por Prototheca zopfii em rebanhos leiteiros, na região norte do Paraná. Cienc Rural. 1999;29:87-9.
33. Yamamura AAM, Mettifogo E, Shimada MK. Utilização de ordenhas sucessivas como procedimento para eliminação de infecção por Prototheca spp de casos de mastite clínica bovina (relato de caso). Cienc Agrar. 2000;21:89-91.
34. Corbellini LG, Driemeier D, Cruz C, Dias MM, Ferreiro L. Bovine mastitis due to Prototheca zopfii: clinical, epidemiological and pathological aspects in a Brazilian dairy herd. Trop Anim Health Prod. 2001;33:463-70.
35. Vaz AK, Carneiro DMVF, Dick W, Luciano AM. Mastite bovina por Prototheca spp. em Santa Catarina: relato de caso. Rev Cienc Agroveter. 2005;4:72-5.
36. Bueno VFF, Mesquita AJ, Neves RBS, Souza MA, Ribeiro AR, Nicolau ES, et al. Epidemiological and clinical aspects of the first outbreak of bovine mastitis caused by Prototheca zopfii in Goiás State, Brazil. Mycopathologia. 2006;161:141-5.
37. Amorim RNL, Souza AOG, Lima PM, Bezerra FSB, Alves ND, Feijó FMC. Mastite clínica em bovino causada por Prototheca zopfii no Estado do Ceará. Acta Vet Bras. 2010;4:307-11.
38. Santos VM, Flor L. Isolamento de leveduras em leites de vaca suspeitos de mamites. Rev Port Zootec. 2000;1:79-85.
39. Bexiga R, Cavaco L, Vilela CL. Isolamento de Prototheca zopfii a partir de leite bovino. Rev Port Cienc Vet. 2003;98:33-7.
40. Bexiga R, Cavaco LM, Vilela CL. Mastites subclínicas bovinas na zona do Ribatejo-Oeste. Rev Port Cienc Vet. 2005;100:39-44.
41. Tenhagen BA, Hille A, Schmidt A, Heuwieser W. Shedding patterns and somatic cell counts in milk from quarters chronically infected with Prototheca spp. Dtsch Tierarztl Wochenschr. 2005;112:44-8.

42. Pore RS, Barnett EA, Barnes JR, Walker JD. Prototheca ecology. Mycopathologia. 1983;81:49-62.
43. Roesler U, Möller A, Hensel A, Baumann D, Truyen U. Diversity within the current algal species *Prototheca zopfii*: a proposal for two *Prototheca zopfii* genotypes and description of a novel species. *Prototheca blaschkeae* sp. nov. Int J Syst Evol Microbiol. 2006;56:1419-25.
44. Siqueira AK, Ribeiro MG, Salerno T. Prototecose em animais de companhia e aspectos da doença no homem. Cienc Rural. 2008;38:1794-804.
45. Camboim EKA, Neves PB, Garino Junior F, Medeiros JM, Riet-Correa F. Prototecose: uma doença emergente. Pesqui Vet Bras. 2010;30:94-101.
46. Roesler U, Holger S, Hensel A. Emended phenotypic characterization of *Prototheca zopfii*: a proposal for three biotypes and standards for their identification. Int J Syst Evol Microbiol. 2003;53:1195-9.
47. Pore RS. *Prototheca* taxonomy. Mycopathologia. 1985;90:129-39.
48. Pore RS. *Prototheca*, a yeastlike alga. In: Kurtzman CP, Fell JW, editors. The yeasts - a taxonomic study. New York: Elsevier; 1998. p.883-7.
49. Janosi S, Ratz F, Szigeti G, Kulcsar M, Kerényi J, Lauko T, et al. Review of the microbiological, pathological and clinical aspects of bovine mastitis caused by the alga *Prototheca zopfii*. Vet Q. 2001;23:58-61.
50. Ribeiro MG, Langoni H, Silveira AM, Ruffino SM. Mastite bovina por *Prototheca zopfii*. Relato de caso e revisão de literatura. Biologico. 1998;60:1-7.
51. Costa EO, Melville PA, Ribeiro AR, Watanabe ET, Parolari MC. Epidemiologic study of environmental sources in a *Prototheca zopfii* outbreak of bovine mastitis. Mycopathologia. 1997;137:33-6.
52. Costa EO, Garino Jr F, Ribeiro AR, Watanabe ET, Silva JB, Diniz LS. Participação de animais silvestres na cadeia epidemiológica da mastite bovina por *Prototheca zopfii*. Napgama. 2001;4:6-9.
53. Costa EO, Ribeiro AR, Watanabe ET, Garino Junior F, Silva JAB. Pesquisa de *Prototheca* sp. Em fezes de bezerros de propriedades que utilizavam o leite de animais com mastite no manejo alimentar dos mesmos em comparação com as que não utilizavam. Napgama. 2000;3:20-2.
54. Yamamura AAM, Müller EE, Freire RL, Freitas JC, Giordano LGP, Toledo RS, et al. Fatores de risco associados à mastite bovina causada por *Prototheca zopfii*. Cienc Rural. 2008;38:755-60.
55. Costa EO, Ribeiro AR, Watanabe E, Melville PA. Infectious bovine mastitis caused by environmental organisms. Zentralbl Veterinarmed B. 1998;45:65-71.

56. Taniyama H, Okamoto F, Kurosawa T, Furuoka H, Kaji Y, Matsukawa K. Disseminated protothecosis caused by *Prototheca zopfii* in a cow. *Vet Pathol.* 1994; 31:123-5.
57. Brito MAVP, Veiga VMO. Mastite bovina causada por *Prototheca zopfii*: relato de um caso. *Cienc Rural.* 1997;27:681-4.
58. Gomes MJP, Driemeier D, Ferreira L. Ocorrência de casos de mastite por *Prototheca zopfii* em bovinos, no Rio Grande do Sul. *Napgama.* 1999;2:4-8.
59. Costa EO, Garino Junior F, Watanabe ET, Silva JAB, Ribeiro AR, Horiuti AM. Patógenos de mastite bovina isolados de glândulas mamárias negativas aos testes de Tamis e CMT. *Napgama.* 2001;4:12-5.
60. Benites NR, Melville PA, Guerra JL, Senhorini IL, Costa EO. Estudo de microscopia eletrônica de *Prototheca zopfii* e avaliação histopatológica de glândulas mamárias por ela infectadas. *Napgama.* 1999;2:22-6.
61. Janosi S, Szigeti G, Ratz F, Lauko T, Kerenyi J, Tenk M, et al. *Prototheca zopfii* mastitis in dairy herds under continental climatic conditions. *Vet Q.* 2001;23:80-3.
62. National Mastitis Council. Laboratory handbook on bovine mastitis. Revised edition. Madison: NMC Publications; 1999.
63. Domingues PF, Langoni H, Rocha NS, Padovani CR, Gonzales JAH, Burini CHP. Citologia aspirativa por agulha filha (CAAF) em glândula mamária de vacas com mastite subclínica. In: Anais do 3º Encontro de Pesquisadores em Mastites; 1999, Botucatu. Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia; 1999. p.142.
64. Ribeiro MG, Costa EO, Rocha NS, Domingues PF, Ribeiro AR, Nardi Junior G. Citologia aspirativa com agulha fina e microscopia eletrônica de varredura no diagnóstico de mastite clínica bovina por *Prototheca zopfii*. *Napgama.* 1999;2:15-20.
65. McDonald JS, Richard JL, Anderson AJ. Antimicrobial susceptibility of *Prototheca zopfii* isolated from bovine intramammary infections. *Am J Vet Res.* 1984; 45:1079-80.
66. Buzzini P, Turchetti B, Facelli R, Baudino R, Cavarero F, Mattalia L, et al. First large-scale isolation of *Prototheca zopfii* from milk produced by dairy herds in Italy. *Mycopathologia.* 2004;158:427-30.
67. Tortorano MAP, Dho G, Piccinini R, Dapra V, Viviani MA. In vitro activity of conventional antifungal drugs and natural essences against the yeast-like alga *Prototheca*. *J Antimicrob Chemother.* 2008;61:1312-4.
68. Domingues PF, Langoni H, Neves IR, Chande CG, Listoni FJP. Efeito antimicrobiano in vitro do timerosal. In: Anais do 4º Congresso de Iniciação Científica da UNESP; 1992, Araçatuba. Araçatuba: CBMV; 1992.
69. Mota RA, Sá MEP, Oliveira AAF, Silva LBG, Souza MI. Mastite bovina por *Prototheca zopfii* no Estado de Pernambuco, Brasil. In: Anais do 3º Encontro de Pesquisadores em Mastites; 1999, Botucatu. Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia; 1999. p.162.

70. Brandão HM, Gern JC, Vicentini NM, Pereira MM, Andrade PVD. Nanotecnologia: a próxima revolução na agropecuária. Rev CFMV. 2011;17:61-7.
71. Melville PA, Watanabe ET, Benites NR, Ribeiro AR, Silva JA, Garino Junior F, et al. Evaluation of the susceptibility of *Prototheca zopfii* to milk pasteurization. Mycopathologia. 1999;146:79-82.
72. Costa EO, Melville PA, Ribeiro AR, Watanabe ET. Relato de um caso de consumo de queijo fresco com *Prototheca* spp. Napgama. 1998;1:9-10.

Recebido em: 24/01/2013

Aceito em: 13/03/2013

AVALIAÇÃO ULTRASSONOGRÁFICA GÁSTRICA EM PEQUENOS ANIMAIS

Luciana Carandina da Silva¹

Alexandra Frey Belotta²

Vania Maria Vasconcelos Machado³

Luiz Carlos Vulcano⁴

RESUMO

Na clínica de pequenos animais, frequentemente nos deparamos com doenças que levam à alterações gástricas e intestinais, tais como piometra, pancreatite, insuficiência renal, presença de corpo estranho gástrico ou intestinal, verminoses e doenças virais. A utilização dos exames de imagem como auxílio para a diferenciação destas afecções é essencial. A ultrassonografia apresenta grande valia na avaliação gástrica por permitir a visualização e mensuração da parede e pregas, além de possibilitar a identificação do conteúdo intraluminal. Neste artigo de revisão de literatura descrevemos a técnica ultrassonográfica para avaliação gástrica, assim como seus aspectos normais e as alterações encontradas nas principais doenças que acometem os pequenos animais.

Palavras-chave: ultrassonografia, estômago, cães, gatos

GASTRIC SONOGRAPHIC EVALUATION IN SMALL ANIMAL

ABSTRACT

In small animal clinic, we often faced with diseases that lead to gastric and intestinal changes such as pyometra, pancreatitis, renal failure, presence of gastric or intestinal foreign body, nematode infections and viral diseases. The use of imaging as an aid in the differentiation of these disorders is essential. Ultrasonography has great value in assessing gastric enable visualization and measurement of the wall and folds, and enable the identification of intraluminal content. In this review was describe the sonographic technique for assessing gastric as well as their normal features and changes found in major diseases affecting small animals.

Key words: ultrasound, stomach, dogs, cats

¹ Pós graduanda do Departamento de Reprodução e Radiologia Veterinária da FMVZ/Unesp/Botucatu-SP

² Residente do Departamento de Reprodução e Radiologia Veterinária da FMVZ/Unesp/Botucatu-SP

³ Professora Assistente Doutora do departamento de reprodução e radiologia veterinária da FMVZ/Unesp/Botucatu-SP

⁴ Professor titular do departamento de reprodução e radiologia veterinária da FMVZ/Unesp/Botucatu-SP

EVALUACIÓN ECOGRÁFICA DEL ESTÓMAGO EN PEQUEÑOS ANIMALES

RESUMEN

En la clínica de pequeños animales, es frecuente las enfermedades que conducen a cambios gástricos e intestinales así como piometra, pancreatitis, insuficiencia renal, presencia de cuerpo extraño gástrico ó intestinal, verminosis y enfermedades virales. El uso de imágenes como una asistencia en la diferenciación de estos trastornos es esencial. La ecografía tiene un gran valor en la evaluación gástrica por permitir la visualización y medición de la pared y pliegues, y permiten la identificación de contenido intraluminal. En esta revisión de literatura se describe la técnica ecográfica para evaluación gástrica, así como sus aspectos normales y los cambios encontrados en las principales enfermedades que afectan a los animales pequeños.

Palabras- clave: ultrasonido, estómago, perros, gatos

INTRODUÇÃO

Êmese, anorexia, perda de peso e diarreia, são os principais sinais clínicos demonstrados pelos animais acometidos por uma patologia do trato gastrointestinal (1). Êmese é o sinal predominante e mais consistente de um paciente com doença gástrica, entretanto, muitas doenças de origem não gástricas também podem ocasionar quadros eméticos, tais como intussuscepção, pancreatite aguda, piometra, hiperadrenocorticism, insuficiência renal aguda, entre outras (2).

O diagnóstico de doenças gástricas pode ser obtido com base no histórico, exame físico, avaliação laboratorial e exames de imagem (2). A ultrassonografia é um método de diagnóstico consagrado para a avaliação do trato gastrointestinal, sendo útil como exame complementar para outras modalidades, tais como a radiologia, tomografia computadorizada e ressonância magnética (3). A utilização desse método pode eliminar a necessidade de um exame radiográfico ou tomográfico contrastado em muitos pacientes, devido à possibilidade de avaliação da motilidade gástrica e de identificação da espessura e da arquitetura da parede do estômago. Essa técnica também permite, com menor precisão, a avaliação do conteúdo luminal (4).

Neste artigo de revisão de literatura descrevemos a anatomia gástrica, a técnica de varredura ultrassonográfica, os aspectos ultrassonográficos e as alterações encontradas nas principais doenças que acometem o estômago de pequenos animais.

REVISÃO DE LITERATURA

Anatomia

O estômago é um órgão de formato piriforme irregular (5), posicionado em plano transversal à cavidade abdominal (2). Está localizado entre o esfíncter esofágico caudal e o piloro (2), caudal ao fígado, cranial à silhueta renal esquerda e adjacente ao baço (3). Na porção gástrica esquerda, maior e com aspecto arredondado, estão a região fúndica e o corpo do estômago, enquanto que na região direita, menor, cilíndrica e com direcionamento craniodorsal, está o antro pilórico, (5). Em cães e gatos hípidos, o estômago vazio situa-se cranialmente ao último par de costelas, podendo se estender ligeiramente à face caudal do arco costal (4, 6, 7). A parede do estômago compreende quatro camadas: a mucosa, submucosa, muscular e subserosa/serosa (8, 9). A mucosa e uma parte da submucosa possuem

dobras orientadas paralelamente ao maior eixo do órgão, as quais são denominadas pregas gástricas (10).

Preparo e técnica ultrassonográfica

A avaliação ultrassonográfica gástrica é frequentemente prejudicada pela presença de gases (3). Estes formam artefatos como reverberação, cauda de cometa e sombreamento acústico, podendo estes, produzirem um falso espessamento da parede (11). Ainda que os artefatos existam, a ultrassonografia é muito utilizada para a avaliação do estômago (3).

Na intenção de minimizar os artefatos provenientes do acúmulo de gás no interior do estômago, preconiza-se como preparo prévio, jejum alimentar entre 6 e 12 horas. Ressalta-se que o jejum prolongado em felinos pode ocasionar uma contração do estômago, prejudicando a mensuração da parede gástrica (12, 13).

Previamente à ultrassonografia, deve-se realizar a tricotomia da porção ventral do abdômen e a aplicação de gel acústico sobre a pele (14). O decúbito mais indicado para a avaliação ultrassonográfica gástrica é o dorsal, entretanto, o decúbito lateral (direito ou esquerdo) é o mais utilizado (14). Para a avaliação pilórica, o ideal é o decúbito lateral direito, enquanto que, para a região fúndica, indica-se o decúbito lateral esquerdo (14). O exame ultrassonográfico também pode ser realizado com o animal em posição quadrupedal quando se deseja o deslocamento do fluido intraluminal para a área de interesse (14).

Os transdutores de alta frequência melhoram a resolução da imagem, permitindo a avaliação das camadas da parede gástrica (3, 12, 15). Os transdutores mais recomendados para o exame gástrico são os lineares com a frequência entre 7,5 a 10 MHz (12, 14). As varreduras em planos longitudinais e transversais são necessárias para a avaliação completa do órgão (3, 12, 15).

Ultrassonografia

Ao exame ultrassonográfico, o estômago pode ser facilmente identificado devido ao seu tamanho e à atividade peristáltica regular, além da presença de pregas em sua parede e de conteúdo gasoso em seu interior (14).

O peristaltismo gástrico é de aproximadamente 4 a 5 contrações por minuto, e existem diversos fatores, tais como hormônios gástricos (gastrina, secretina, colecistoquinina e motilina), e inibidores de reflexos colinérgicos, adrenérgicos e noradrenérgicos, que controlam a motilidade gástrica (14).

A imagem ultrassonográfica da parede do estômago em cães e gatos hígdos, incluindo a superfície luminal, compreende cinco regiões de ecogenicidade alternadas (Figura 1) (14, 16). A partir do lúmen, seguem a seguinte ordem: superfície luminal, mucosa, submucosa, muscular e subserosa/serosa (14). As camadas mucosa e muscular são identificadas ao exame ultrassonográfico como hipocogênicas, enquanto que, a superfície luminal, a submucosa e a subserosa/serosa, apresentam-se hiperecogênicas (14, 16).



Figura 1. Imagem ultrassonográfica ilustrando a aspecto normal do estômago, na região fúndica. Nota-se a estratificação em camadas da parede do estômago.

A espessura da parede gástrica em cães varia entre 3 a 5 milímetros, enquanto que, em felinos, essa mensuração é de 2 milímetros entre as pregas e até 4,4 milímetros na região das pregas gástricas (3, 4, 12, 15). O espessamento mural é obtido mensurando-se a distância entre a superfície hiperecótica da mucosa e a camada externa hiperecótica da serosa (17).

Alterações ultrassonográficas gástricas

Estenose pilórica hipertrófica congênita

Caracterizada por hipertrofia da musculatura pilórica, a estenose pilórica hipertrófica, causa estreitamento e alongamento persistentes do canal pilórico (18), com consequente retardo no esvaziamento gástrico (3, 12).

O diagnóstico dessa afecção, que ocorre mais comumente em cães (19), é obtido com base no histórico clínico, entretanto, são necessárias modalidades de imagem para a confirmação do diagnóstico (14). O espessamento circunferencial do esfíncter pilórico, especialmente da camada muscular, é o principal aspecto ultrassonográfico observado nos animais acometidos por essa doença (14).

Gastropatia hipertrófica crônica

É uma doença incomum, frequentemente adquirida, podendo também ser congênita (como a estenose pilórica hipertrófica congênita), caracterizada por espessamento muscular, hipertrofia de mucosa ou hiperplasia do piloro (12, 14, 19).

Em casos de hiperplasia de piloro na gastropatia hipertrófica crônica, observa-se ao exame ultrassonográfico um espessamento circunferencial do piloro, com a estratificação das camadas da parede preservadas, na maioria das vezes (20).

Na hipertrofia de mucosa ou na hiperplasia das glândulas gástricas podem ser observadas massas de distribuição localizada com aspecto polipóide, semelhante às características ultrassonográficas de neoplasias (14).

Corpos estranhos

Uma grande variedade de corpos estranhos pode ser encontrada no estômago de cães e gatos. Ao exame ultrassonográfico, estes são observados como uma interface ecogênica brilhante associada a um sombreamento acústico posterior (14) (Figura 2), independente do tipo de corpo estranho (16).

A identificação de um corpo estranho gastrointestinal de formato irregular é dificultada pela ultrassonografia, a menos que estes ocasionem uma obstrução completa com acúmulo de fluido ou ingesta proximal ao local de obstrução (14). Alguns corpos estranhos com formatos específicos, como bolas, são facilmente identificáveis em um exame ultrassonográfico devido a sua forma característica ou pela interface circular com sombra acústica forte e uniforme (14).

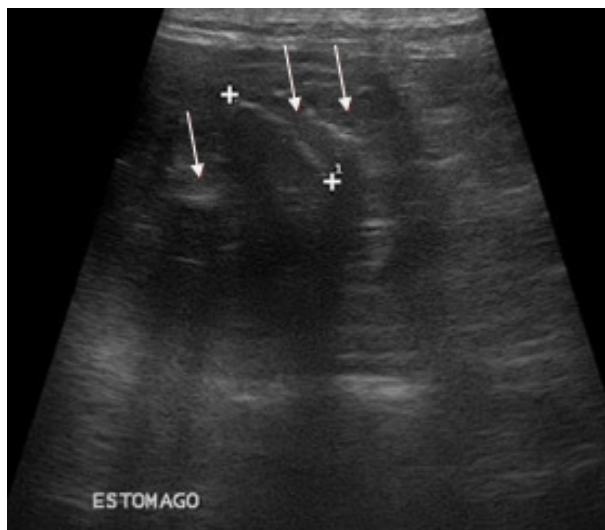


Figura 2. Imagem ultrassonográfica ilustrando entre as setas a presença de três corpos estranhos (fragmentos de ossos). Notar as interfaces ecogênicas com formação de sombra acústica posterior, no interior da cavidade gástrica de um cão. Fonte: FMVZ – UNESP Botucatu (2012).

Doenças inflamatórias

A aparência ultrassonográfica das doenças inflamatórias é variável dependendo do seu tipo, duração e extensão (3, 4, 12). Tipicamente, o principal achado ultrassonográfico é o espessamento de parede superior a 5 milímetros em cães de pequeno porte, 7 milímetros em cães de grande porte e 2 milímetros em gatos (12, 21, 22).

Embora o espessamento da parede seja o achado mais comum em doenças inflamatórias, este não é específico (14, 22). A severidade do espessamento da parede não é suficiente para distinguir processos neoplásicos de inflamatórios (12, 14, 22). A diferenciação entre esses dois processos pode ser determinada por meio da avaliação da distribuição, simetria, extensão do espessamento de parede e a possibilidade de identificação das camadas gástricas (14).

A inflamação é usualmente caracterizada por um espessamento extenso e simétrico da parede, com preservação da estratificação das camadas (Figura 3). Em todo caso, dependendo da severidade do espessamento e da presença ou não de edema ou hemorragia na parede, as camadas podem apresentar uma alteração de ecogenicidade ou um espessamento mais pronunciado (16). Nas gastrites graves, o espessamento da parede pode estar associado a diminuição da ecogenicidade da mesma ou com a visibilização habitual das camadas da parede (16).

Além disso, nas doenças inflamatórias, o aumento nas dimensões das pregas (4) e a diminuição da motilidade gástrica (12, 21, 22) também podem ser identificados por meio do exame ultrassonográfico.



Figura 3. Imagem ultrassonográfica demonstrando um espessamento simétrico e extenso da parede gástrica em um cão, predominantemente da camada muscular. Fonte: FMVZ – UNESP Botucatu (2012).

Ulcerações

Espessamento focal da parede gástrica com ou sem interrupção distinta da camada mucosa é geralmente visibilizado em casos de ulcerações (12, 14). Frequentemente, no local ulcerado visibilizam-se focos hiperecogênicos, os quais representam coágulos sanguíneos e conteúdos gasosos (12, 14). A identificação de úlceras gástricas por meio do exame ultrassonográfico, mesmo com o uso de equipamentos com alta resolução, é difícil, portanto, neste caso, a gastroscopia é o exame mais indicado (12).

Apesar da desvantagem da ultrassonografia na determinação de úlceras gástricas, esta possibilita a identificação de complicações secundárias, tais como perfuração, hemorragia e obstrução (14). A existência de um foco gasoso na parede gástrica espessada, associada como aumento da ecogenicidade da gordura mesentérica adjacente, é altamente sugestiva de peritonite focal, decorrente de uma perfuração por úlcera (14).

Gastropatia urêmica

A gastropatia urêmica é uma afecção descrita comumente em pacientes com uremia crônica (12, 14, 23). As alterações gástricas que podem ser observadas nestes pacientes incluem ulcerações, edema de parede, necrose, mineralização da mucosa e submucosa gástrica e arteriopatia mural (12, 14). Por meio da ultrassonografia, identifica-se o espessamento da parede gástrica com proeminência das pregas (12, 14). Uma região linear hiperecótica na interface lúmen-mucosa, secundária à mineralização gástrica, também podem ser observada nesses animais (12, 14, 23).

Processos neoplásicos

Os processos neoplásicos gástricos são pouco frequentes em cães e gatos (14). Os tumores encontrados na cavidade gástrica são o leiomioma, leiomiossarcoma, carcinoma,

adenocarcinoma e linfoma (2), sendo os dois últimos os de maior ocorrência no cão e no gato, respectivamente (14, 24).

Os locais mais frequentes para ocorrência das neoplasias de estômago são a região antro pilórica e o piloro (12, 25). A avaliação minuciosa dessas regiões é indicada em casos de suspeita de neoplasias (12, 25). Geralmente, a curvatura maior do estômago não é afetada por processos neoplásicos (2).

A ultrassonografia é um método sensível para a detecção de tumores gástricos, entretanto, não permite a tipificação histológica destes tumores (12). As principais alterações ultrassonográficas observadas em paciente acometidos pelos tumores são espessamento de parede, focal ou difuso, em diferentes graus, muitas vezes apresentando irregularidade de superfície, e perda da integridade das camadas e da arquitetura da parede (3, 26). Neoplasias gástricas estão frequentemente associadas a um distúrbio funcional do fluxo gástrico e obstrução mecânica, condições que produzem acúmulo de fluido e favorecem a visibilização da parede gástrica (14).

Os adenocarcinomas gástricos são neoplasias que frequentemente invadem a camada mucosa e se estendem para camada serosa (2). Geralmente envolve uma grande área da parede do estômago, o que impossibilita sua remoção cirúrgica (2). É comum a presença de úlceras como consequência deste tipo de tumor, podendo, dessa forma, ocasionar hematêmese ou melena (2). Essa neoplasia tem como achado sonográfico mais comum o espessamento transmural (10 a 27 milímetros) e a perda da estratificação em camadas da parede (3). Esse espessamento é identificado como uma zona moderadamente ecogênica com a porção mais externa e mais interna circundada por uma linha levemente hiperecótica (12).

Os leiomiomas são tumores benignos e estão usualmente associados ao avanço de idade nos cães (2). Este tipo de tumor geralmente apresenta-se ao exame ultrassonográfico como uma massa homogênea ecogênica e regular (3), de dimensão pequena (14).

O leiomiossarcoma gástrico aparece usualmente como uma massa grande, complexa, de crescimento concêntrico, localizada com frequência na região de antro e, normalmente ulcerada (27).

Os linfomas gástricos caninos e felinos são caracterizados por espessamento uniforme hipocogênico da parede gástrica. Em caninos e felinos é comum a identificação ultrassonográfica de um espessamento transmural da parede do estômago, com decréscimo da ecogenicidade e perda da arquitetura das camadas, redução da motilidade no local afetado e linfadenopatia regional (14).

Os carcinomas gástricos são incomuns em cães e não correspondem nem a 1% de todos os tumores caninos (28). Os achados ultrassonográficos descritos foram espessamento transmural da parede e perda de definição das camadas, que aparecem como uma região moderadamente ecogênica, envolvida por linhas internas e externas pouco ecogênicas (14).

Obstruções gástricas

Obstruções da cavidade gástrica, parciais ou totais, podem ocorrer secundariamente a diversas afecções como estenose pilórica hipertrófica congênita, gastropatia hipertrófica crônica, corpos estranhos, processos neoplásicos e ulcerações (14). Obstruções gástricas por corpos estranhos são muito frequentes em animais, principalmente em cães, devido ao comportamento alimentar (29). Nesses casos, os corpos estranhos detêm a passagem de alimentos, que ficam estacionados, ocasionando uma síndrome oclusiva (30).

Os achados ultrassonográficos observados em casos de obstruções são dilatação gástrica por conteúdo líquido ou gasoso e redução de sua motilidade (14).

CONCLUSÕES

Embora o exame ultrassonográfico do estômago possa ser prejudicado devido à presença de artefatos decorrentes do conteúdo gasoso, é uma modalidade de imagem muito útil na identificação e avaliação de alterações gástricas, as quais estão cada vez mais frequente em cães e gatos. Diferentemente das outras modalidades de exames completos que permitem a avaliação gástrica, como a radiografia contrastada e a endoscopia, a ultrassonografia possibilita a avaliação da estratificação das camadas gástricas, evidenciando doenças cujo os outros exames não seriam capazes de identificar; desta forma, a ultrassonografia gástrica proporciona um diagnóstico preciso de alterações gástricas, fato de suma importância para um tratamento adequado e a completa resolução do quadro clínico do paciente.

REFERÊNCIAS

1. Hard Jr JR. Gastrite crônica. In: Tilley LP, Smith Jr FWK. Consulta veterinária em 5 minutos: espécies canina e felina. 3^oed. Barueri: Manole; 2008. p.620-1.
2. Tams TR. Gastroenterologia de pequenos animais. 2^oed. São Paulo: Rocca; 2005. p.155-75.
3. Penninck DG, Nyland TG, Fisher PE. Ultrasonography of the normal canine gastrointestinal tract. *Vet Radiol Ultrasound*. 1989;30:272-6.
4. Barber DL, Mahaffey MB. The stomach. In: Thrall DE. Textbook of veterinary diagnostic radiology. 3^oed. Philadelphia: W.B. Saunders; 1998. p.520-39.
5. Ellenport CR. Sistema digestivo do carnívoro. In: Getty R. Anatomia dos animais domésticos. 5^oed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2008. p.1445-64.
6. Evans HE. Miller's anatomy of the dog. 3^oed. Philadelphia: W.B. Saunders; 1993.
7. O'Brien TT. Radiographic diagnosis of abdominal disorders in the dog and cat. Philadelphia: Saunders; 1978.
8. Argenzio RA. Motilidade gastrintestinal. Sweenson MJ, Reece WO. In: Dukes Fisiologia dos animais domésticos. 11^oed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1996. p.307-18.
9. Dyce KM, Sack WO, Wensing CJG. Tratado de anatomia veterinária. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1990.
10. Banks WJ. Histologia veterinária aplicada. 2^oed. São Paulo: Manole; 1992.
11. Wilson SR, Burns PN, Wilkinson LM, Simpson DH, Muradali D. Gas at abdominal US: appearance, relevance and analysis and artifacts. *Radiology*. 1999;210:113-23.
12. Froes TR. Ultrassonografia do trato gastrointestinal. In: Carvalho CF. Ultra-sonografia em pequenos animais. São Paulo: Roca; 2004. p.147-64.
13. Froes TR, Iwasaki M. Avaliação ultrasonográfica do trato gastrointestinal em felinos portadores de enfermidades gastrointestinais. *Clin Vet*. 2001;35:24-35.
14. Penninck DG. Trato gastrointestinal. In: Nyland TG, Matton JS. Ultrassom diagnóstico em pequenos animais. 2^oed. São Paulo: Roca; 2004. p.211-34.
15. Newell SM, Graham JP, Roberts GD, Ginn PE, Harrison JM. Sonography of the normal feline gastrointestinal tract. *Vet Radiol Ultrasound*. 1999;40:40-3.
16. Penninck DG. Gastrointestinal tract. In: Penninck DG, d'Anjou MA. *Atlas of small animal ultrasonography*. Ames, Iowa: Blackwell Publishing; 2008. p.281-318.

17. Fleischer AC, Dowling AD, Weinstein ML, James Jr AE. Sonographic patterns of distended fluid filled bowel. *Radiology*. 1979;133:681-5.
18. Ohshiro K, Puri P. Pathogenesis of infantile hypertrophic pyloric stenosis: recent progress. *Pediatr Surg Int*. 1998;13:243-52.
19. Hall JA, Willer RL, Seim HB, Lebel JL, Twedt DC. Gastric emptying of nondigestible radiopaque markers after circumcostal gastropexy in clinically normal dogs and dogs with gastric dilatation-volvulus. *Am J Vet Res*. 1992;53:1961.
20. Bellenger CR, Maddison JE, Macpherson GC, Ilkiw JE. Chronic hypertrophic pyloric gastropathy in 14 dogs. *Aust Vet J*. 1990;67:317-20.
21. Homco LD. Gastrointestinal tract. In: Green RW. *Small animal ultrasound*. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1996. p.149-76.
22. Hudson JA, Mahaffey MB. The gastrointestinal tract. In: Cartee RE, Selcer BA, Hudson JA. *Practical veterinary ultrasound*. Philadelphia: Williams & Wilkins; 1995. p.107-34.
23. Grooters AM, Miyabayashi T, Biller DS, Merryman J. Sonographic appearance of uremic gastropathy in 4 dogs. *Vet Radiol*. 1994;35:35-40.
24. Jubb KVF, Kennedy P, Palmer N. *Pathology of domestic animals*. 3^oed. New York: Academic Press; 1985.
25. Cohen M, Post GS, Wright JC. Gastrointestinal leiomyosarcoma in 14 dogs. *J Vet Intern Med*. 2003;17:107-10.
26. Lamb CR, Grierson J. Ultrasonographic appearance of primary gastric neoplasia in 21 dogs. *J Small Anim Pract*. 1998;39:437-41.
27. Kaser-Hotz B, Hauser B, Arnold P. Ultrasonographic findings in canine gastric neoplasia in 13 patients. *Vet Radiol Ultrasound*. 1996;37:51-6.
28. Scanziani E, Giusti AM, Gualtieri M, Fonda D. Gastric carcinoma in the Belgian Shepherd dog. *J Small Anim Pract*. 1991;32:465-9.
29. Fossum TW. *Cirurgia de pequenos animais*. 3^oed. São Paulo: Roca; 2008.
30. Nelson RW, Couto CG. *Medicina interna de pequenos animais*. 2^oed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001.

Recebido em: 20/03/12

Aceito em: 22/05/13

SARCOMA HISTIOCÍTICO EM CÃO: RELATO DE CASO

Ivan F. Charas Santos¹
José Manuel Mota Cardoso²
Célia Shian³
Renata Bezerra Marujo⁴
Leticia Fernanda Silva⁵

RESUMO

O objetivo do trabalho foi relatar um caso de sarcoma histiocítico localizado na pele e disseminado nos linfonodos submandibulares e retrofaríngeos, em uma cadela castrada, raça Pastor Alemão, 10 anos de idade. Os sinais clínicos apresentados foram tosse, dispneia, nódulo cutâneo, linfomegalia e aumento do diâmetro do pescoço. Foram realizados o eritrograma, leucograma, bioquímica sérica sanguínea, urinálise, exame radiográfico torácico e ultrassonografia abdominal. O resultado do exame citopatológico foi de neoplasia de origem maligna das células redondas. Foi realizada a eutanásia e posteriormente a necropsia, o exame histopatológico e a imuno-histoquímica, confirmando o diagnóstico de sarcoma histiocítico disseminado. As alterações dos exames complementares de diagnóstico não foram conclusivas para um diagnóstico definitivo, diferentemente da associação do exame histopatológico e da imuno-histoquímica que permitiram o resultado conclusivo. A técnica de imuno-histoquímica permitiu estabelecer a origem histiocítica da neoplasia, e as células gigantes observadas no exame foram CD3⁺ e lisozima positivo.

Palavras-chave: neoplasia, células redondas, imuno-histoquímica, pequenos animais

HISTIOCYTIC SARCOMA IN DOG - CASE REPORT**ABSTRACT**

The aim of this study was to report a canine histiocytic sarcoma on skin and submandibular and retropharyngeal lymph nodes in a German Shepherd spayed female dog, ten years old. The clinical signs observed were cough, dyspnea, subcutaneous nodule, lymphomegaly and increase in diameter of the neck. Were performed an erythrogram, leucogram, blood serum biochemistry, urinalysis, chest X rays and abdominal ultrasound. The cytology exam result was rounded cells cancer. The euthanasia was performed and subsequently the necropsy, histopathology exam and immunohistochemistry exam, with the diagnosis of disseminate histiocytic sarcoma. The diagnostic complementary exams changes were not conclusive for a definitive diagnosis, contrary of histopathology and immunohistochemistry exams, which allowed a conclusive result. The immunohistochemistry allowed to establish the tumor histiocytic origin and was observed a CD3⁺ and lysozim positive giant cells.

Keywords: neoplasia, round cells, immunohistochemistry, small animals

¹ Universidade Estadual Paulista-Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Botucatu.SP.Brasil

² Universidade Eduardo Mondlane. Faculdade de Veterinária. Maputo, Moçambique

³ Aluna de graduação do 11º semestre. Universidade Eduardo Mondlane. Faculdade de Veterinária. Maputo, Moçambique

⁴ Médica Veterinária autônoma. São Paulo. Brasil

⁵ Aluna de graduação do 9º semestre. Universidade Estadual Paulista-Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Botucatu.SP.Brasil

SARCOMA HISTIOCÍTICO EN PERRO - RELATO DEL CASO

RESUMEN

El objetivo del estudio fue presentar un caso de sarcoma histiocítico, localizado en la piel y los ganglios linfáticos mandibular y retrofaríngeo, en una perra castrada, raza Pastor Alemán, de 10 años de edad. Los signos clínicos presentados fueron tos, disnea, nódulo subcutáneo, linfomegalia y aumento del diámetro del cuello. Fueran realizados eritrograma, leucograma, bioquímica sérica sanguínea, análisis de orina, radiografía torácica y ecografía abdominal. El resultado del examen citológico fue neoplasia de origen maligna de células redondas. Se llevó a cabo la eutanasia y posteriormente la necropsia, examen histopatológico e inmunohistoquímico confirmando el diagnóstico de sarcoma histiocítico diseminado. Los cambios de los exámenes complementarios no fueron conclusivos para un diagnóstico definitivo, a diferencia de la asociación de lo examen histopatológico y la inmunohistoquímica, que permitió el diagnóstico. La técnica de inmunohistoquímica permitió establecer el origen histiocítico de la neoplasia, y fueron observados en el examen células gigantes positivas a CD3 y lisozima.

Palabras claves: neoplasia, células redondas, inmunohistoquímica, pequeñas especies

INTRODUÇÃO

O sarcoma histiocítico (SH) é um tumor das células redondas comum em cães e raro em gatos (1, 2). A etiologia é desconhecida, bem como os eventos moleculares e genéticos relacionados ao seu desenvolvimento e progressão (1, 3). O SH caracteriza-se pela proliferação maligna de histiócitos da derme, como também acometendo diversos órgãos – forma disseminada - sarcoma histiocítico disseminado (SHD) (4, 5). As doenças proliferativas histiocíticas compreendem três condições principais: o histiocitoma cutâneo, a histiocitose reativa e o complexo sarcoma histiocítico (5). A histiocitose maligna (HM) é, também, uma doença multissistêmica descrita em cães e caracterizada por proliferação neoplásica histiocítica de caráter hereditário (5, 6). A diferenciação entre o HM e a SHD muitas vezes é difícil e atualmente as duas condições têm sido consideradas como SHD, por apresentarem características clinicopatológicas semelhantes (5). Ambas as neoplasias têm um comportamento biológico agressivo, sendo correto realizar o diagnóstico histopatológico antes do tratamento (5).

O SH na pele apresenta-se sob forma de nódulos localizados, principalmente, no focinho, pálpebras, pescoço, escroto e menos comum nos membros (6, 7). Por outro lado, pode ocorrer disseminação para linfonodos, pulmão, baço, rim, fígado, medula óssea, testículos e olhos (6). O diagnóstico é realizado por meio da combinação dos sinais clínicos, da citologia por aspiração com agulha fina (CAAF) e do exame histopatológico (5, 8). No entanto, a imuno-histoquímica é imprescindível na diferenciação dos tumores com características similares, como o linfoma de células gigantes, o sarcoma de célula sinovial, o mastocitoma pouco diferenciado e o histiocitoma maligno fibroso (5, 9, 10). O prognóstico do SHD é sempre reservado devido a sua disseminação (1, 5, 6).

Em virtude dos escassos dados constantes da literatura sobre o SHD, dificultando o diagnóstico correto e precoce devido a sua similaridade clinicopatológica com outras neoplasias, objetiva-se relatar um caso de sarcoma histiocítico disseminado nos linfonodos submandibulares e retrofaríngeos em uma cadela da raça Pastor Alemão, 10 anos de idade atendida no Hospital Veterinário Escola (HVE), Moçambique.

RELATO DO CASO

Foi atendida no HVE, Moçambique, uma cadela castrada, raça Pastor Alemão, 10 anos de idade, com histórico de perda de peso progressiva. Durante o exame físico foi observado tosse, dispneia, nódulo cutâneo de 5 cm de diâmetro na região axilar direita, linfomegalia submandibular e retrofaríngea bilateral e aumento do diâmetro do pescoço devido a presença de uma massa firme. O leucograma evidenciou leucopenia e linfopenia e os exames de bioquímica sérica sanguínea revelaram um aumento da aspartato aminotransferase (AST) e da creatina quinase (CK). No exame radiográfico torácico e ultrassonográfico abdominal não foram observadas quaisquer alterações clínicas dignas de referência. Foi realizada a CAAF dos linfonodos submandibulares e retrofaríngeos, da massa localizada no pescoço e do nódulo cutâneo, sendo observadas ao exame citopatológico abundantes células pleomórficas em mitose, numerosas células arredondadas com núcleos redondos, escasso estroma, cromatina finamente granular, células gigantes com núcleo grande e raros linfócitos, estabelecendo um diagnóstico de neoplasia maligna de células redondas.

Devido ao prognóstico ruim observado no exame citopatológico e o envolvimento sistêmico, foi indicado a eutanásia humanitária e o paciente encaminhado ao Laboratório de Patologia Veterinária (LPV) da Faculdade de Veterinária, Moçambique, para necropsia. Na necropsia foi observado nódulo cutâneo de 5 cm de diâmetro na região axilar direita, consistência firme, cor rosada (Figura 1) e uma massa dura de cor branca envolvendo o esôfago e a traqueia torácica, e unificação da porção cervical do esôfago e da traqueia (Figura 2).



Figura 1. Nódulo cutâneo de 5 cm de diâmetro na região axilar direita de cor rosada (seta preta) em cadela da raça Pastor Alemão, 10 anos de idade, diagnosticada com sarcoma histiocítico disseminado (Arquivo pessoal do autor).

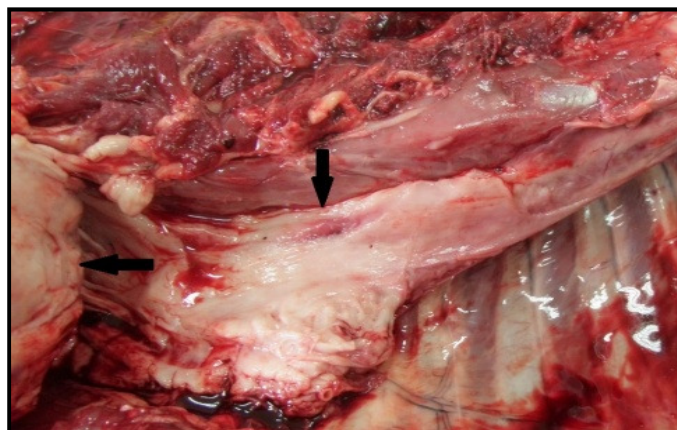


Figura 2. Massa tumoral aderida à parede dorsal do tórax (seta preta) em paciente da raça Pastor Alemão, 10 anos de idade, diagnosticada com sarcoma histiocítico disseminado. (Arquivo pessoal do autor).

Nos linfonodos submandibulares e retrofaríngeos foram observados nódulos com 1 a 3 cm de diâmetro que obliteravam parcialmente a arquitetura nodal. Citologicamente, os nódulos dos linfonodos e o cutâneo, e a massa localizada no esôfago e na traqueia foram caracterizadas por proliferação neoplásica de células redondas, núcleo oval e redondo, cromatina condensada, citoplasma bem delimitado e eosinofílico, células gigantes com núcleo grande e áreas com células pleomórficas em mitose (Figura 3).

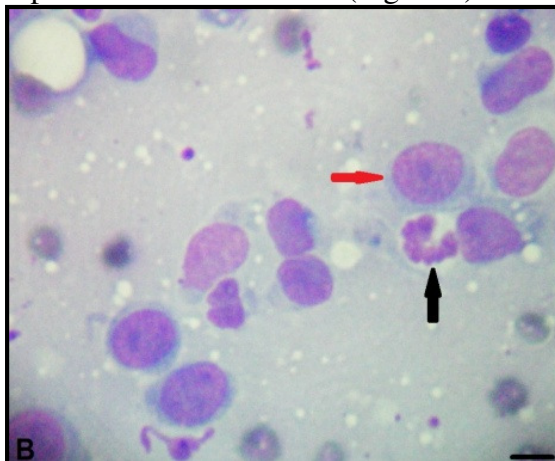


Figura 3. Fotomicrografia ilustrando células neoplásicas com formato redondo, núcleo oval e redondo, cromatina condensada e citoplasma escasso e figuras de mitose (seta preta) e células gigantes com núcleo grande (seta vermelha) em cadela da raça Pastor Alemão, 10 anos de idade, diagnóstico de sarcoma histiocítico disseminado (HE: 40x) [Barra: 100 μ m] (Arquivo pessoal do autor).

Histopatologicamente, foi observada uma invasão celular, escasso estroma, sendo as células polimórficas, com núcleo oval, redondo e/ou excêntrico com cromatina condensada e escasso citoplasma. Paralelamente, foram observadas células gigantes com núcleo grande, lobulado e múltiplo, e células neoplásicas em mitose (Figura 4).

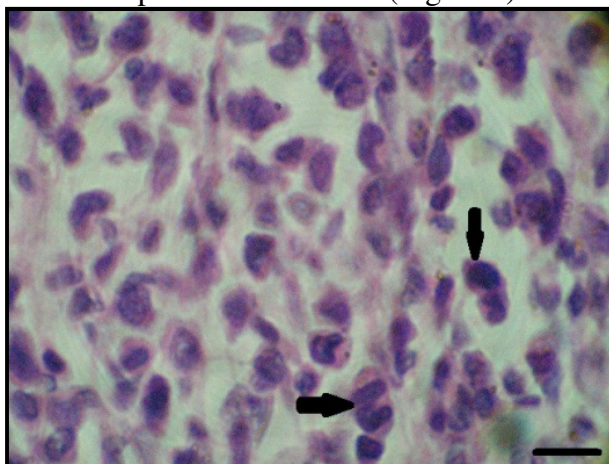


Figura 4. Fotomicrografia ilustrando invasão celular, escasso estroma, células neoplásicas em mitose (setas pretas), em cadela da raça Pastor Alemão, 10 anos de idade, diagnóstico de sarcoma histiocítico disseminado (HE: 40x) [Barra: 100 μ m] (Arquivo pessoal do autor).

A confirmação da origem celular dos nódulos foi realizada utilizando-se a técnica de imuno-histoquímica pelo método da estreptavidina-biotina-peroxidase em cortes de três micrômetros de nódulos dos linfonodos submandibulares e retrofaríngeos e o cutâneo. Foram utilizados os anticorpos anti-pancitoqueratina (Dako, 1:2.000), vimentina (Dako, 1:100), lisozima (Dako, 1:2.000) e a proteína S100 (Dako, 1:5.000). Todas as secções foram submetidas à recuperação antigênica com TRIS-EDTA (pH 9,0) em microondas por 10 minutos, incubadas com os anticorpos primários por uma hora à 37°C e, posteriormente, com o anticorpo secundário biotinilado e o complexo LSAB. A imunorreatividade foi observada

por meio do 2-2' diaminobenzidina (DAB, Sigma-Aldrich) e a contra-coloração utilizada foi a de hematoxilina Harris, utilizando controles positivos e negativos para cada anticorpo. Observou-se a imunomarcção para vimentina e lisozima em todos os órgãos e negatividade para pancitocqueratina.

A reação de imuno-histoquímica para lisozima permitiu definir a origem histiocítica da neoplasia (5, 10). No entanto, a coloração especial de Azul da Prússia revelou pequena quantidade de hemossiderina no citoplasma de algumas células neoplásicas. Apesar da ausência de anemia, as propriedades tintoriais da coloração sugerem que a hemocaterese e a eritrofagocitose poderiam progredir à anemia no presente caso. Segundo Scott, Miller e Griffin (3), os escassos relatos de possíveis SHD em cães com idade superior a oito anos não foram confirmados pelos métodos de diagnóstico de caracterização celular, como a imuno-histoquímica, e provavelmente pode ter-se tratado de linfossarcoma histiocítico ou pseudolinfoma, mas no presente relato de caso foi confirmado pela imuno-histoquímica.

O envolvimento de linfonodos e demais órgãos viscerais é característico do SHD (5, 9). Entretanto, é impossível determinar o órgão que deu origem a neoplasia, e se ocorreu a transformação maligna da forma localizada do sarcoma histiocítico ou da histiocitose reativa (5, 11). Não foi possível realizar uma relação de caráter hereditário de acordo com Fulmer e Mauldin (5), Goldschmidt e Hendrick (6) devido à ausência de informação sobre a ascendência clínica do paciente.

De acordo com Scott, Miller e Griffin (3), Clifford e Skorupski (4), Sousa et al. (7), Peterson e Couto (12), o SHD é comum em animais com idade que varia de dois a 13 anos e a raça Pastor Alemão é a raça mais predisposta à neoplasia, como observado na presente descrição. Apesar de Fulmer e Mauldin (5) afirmarem que o SH é uma neoplasia que acomete principalmente cães da raça Bernese, Rottweilers, Labradores e Golden Retrievers. As características apresentadas pela lesão cutânea nodular concorda com aquelas referidas na literatura (6, 7), porém, a localização no membro torácico não esteve de acordo com os mesmos autores, referenciando que raramente são localizados nos membros, diferentemente da localização no paciente. De acordo com Peterson e Couto (12), os histiocitomas apresentam um tamanho menor que 3 cm de diâmetro, mas no paciente foi observado um diâmetro de 5 cm. Os sinais clínicos da forma sistêmica observados como a tosse e a dispneia foram resultantes da compressão da traqueia pela neoformação ao redor da traqueia e do esôfago, visto que o pulmão não estava comprometido. A leucopenia foi resultado da demanda tecidual excessiva, sendo que o estresse e a dor poderiam ter contribuído para a liberação do cortisol e da adrenalina, induzindo a linfopenia. Por outro lado, a elevação do AST e da CK provavelmente foi consequente às lesões musculares.

A técnica de imuno-histoquímica permitiu estabelecer corretamente a origem histiocítica da neoplasia (5, 12) e as células gigantes observadas no exame foram CD3 negativo e lisozima positivo, sugerindo origem histiocítica (5, 10). A população histiocítica homogênea e a imunomarcção lisozima positiva fortaleceu o diagnóstico de SHD. Os óbitos causados por histiocitomas cutâneos não foram relatados (13), mas segundo Wu (14), em casos de SHD a porcentagem de óbito é elevada.

O exame histopatológico associado à imuno-histoquímica foram definitivos para a obtenção de diagnóstico conclusivo de sarcoma histiocítico. Desta forma, torna-se imprescindível o conhecimento dos sinais clínicos em relação às medidas eficientes de diagnóstico, para que seja realizado o tratamento adequado dependendo do caso. Dentre as medidas destacam-se a combinação dos sinais clínicos, CAAF, o exame histopatológico e imuno-histoquímico.

O relato do caso foi de acordo com os princípios éticos do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal e aprovado pela Comissão de Ética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade Estadual Paulista - Botucatu, com protocolo número 223/2011.

REFERÊNCIAS

1. Vail DM, Withrow SJ. Tumors of the skin and subcutaneous tissues. In: Small animal clinical oncology. 3th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 2001. p.212-6.
2. Affolter VK, Moore PF. Canine cutaneous and systemic histiocytosis: reactive histiocytosis of dermal dendritic cells. *Am J Dermatopathol.* 2000;22:40-8.
3. Scott DW, Miller WH, Griffin CE. Dermatologia dos pequenos animais. 6^a ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 2001.
4. Clifford CA, Skorupski KA. Histiocytosis diseases. In: Withrow SJ, Vail DM. Small animal clinical oncology. 4th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2007. p.342-7.
5. Fulmer AK, Mauldin GE. Canine histiocytic neoplasia: an overview. *Can Vet J.* 2007;48:1041-50.
6. Goldschmidt MH, Hendrick MJ. Tumors of the skin and soft tissues. In: Meuten DJ. Tumors in domestic animals. 2th ed. Iowa State: Ames; 2002. p.175-84.
7. Souza TM, Figuera RA, Irigoyen LF, Barros CSL. Estudo retrospectivo de 761 tumores cutâneos em cães. *Cienc Rural.* 2006;36:555-60.
8. Taylor DN, Dorn CR, Luis OH. Morphologic and biologic characteristics of the canine cutaneous histiocytoma. *Vet Pathol.* 2006;43:646-55.
9. Pessoa MP, Maia FL, De Nard AB, Pessoa HF. Aspectos clínicos, diagnóstico e tratamento dos histiocitomas caninos. *Med Vet.* 2008;2:42-53.
10. Hoinghaus R, Trautwein-Hewicker M, Mischke R. Immunocytochemical differentiation of canine mesenchymal tumors in cytologic imprint preparations. *Vet Clin Pathol.* 2008;37:104-11.
11. Jacobs RM, Messick JB, Valli VE. Tumors of the hemolymphatic system. In: Meuten DJ. Tumors in domestic animals. 4th ed. Iowa State: Press; 2002. p.119-98.
12. Peterson JL, Couto CG. Tumores cutâneos e subcutâneos. In: Bichard SJ, Sherding RG. Clínica de pequenos animais. 2^a ed. São Paulo: Roca; 2003. p.192-204.
13. Huang SC, Chang CL, Huang CH, Chang CC. Histiocytic sarcoma – a case with evenly distributed multinucleated giant cells. *Pathol Res Pract.* 2007;203:683-9.
14. Wu H. Immunohistochemical expression of p27 and p21 in canine cutaneous mast cell tumors and histiocytomas. *Vet Pathol.* 2004;41:296-9.

Recebido em: 25/11/12**Aceito em: 24/04/13**

STEPHANOFILARIASIS IN DAIRY CATTLE: THE NEED FOR EARLY DIAGNOSIS AND TREATMENT

Rafael Pazinato¹
Vanderlei Klauck¹
Leandro Samia Lopes¹
Lenita Moura Stefani¹
Aleksandro Schafer da Silva^{1*}

ABSTRACT

Stephanofilariasis is a disease caused by a nematode, globally widespread, that affects dairy cattle causing skin lesions near the mammary gland. Therefore, the objective of this study was to report the occurrence of an outbreak of stephanofilariasis in dairy cows in a property from Southern Brazil, focusing on the diagnosis and treatment. Stephanofilariasis was suspected based on the appearance and location of the lesion. Skin scrapings and lesion imprints confirmed the clinical suspicion. Since the cows were lactating, treatment was based on topical organophosphate trichlorfon 6% for seven days. Early diagnosis helps to better curative efficacy.

Key-words: cows, *Stephanofilaria* sp, therapy

ESTEPHANOFILARIOSE EM VACAS LEITEIRAS: A NECESSIDADE DE UM DIAGNÓSTICO E TRATAMENTO PRECOCE

RESUMO

Estephanofilariose é uma doença causada por um nematóide, amplamente difundida, que afeta vacas leiteiras, provocando lesões na pele perto da glândula mamária. Portanto, o objetivo deste estudo foi relatar a ocorrência de um surto de estephanofilariose em vacas leiteiras em uma propriedade no Sul do Brasil, com foco no diagnóstico e tratamento. A suspeita de estephanofilariose foi baseada na aparência e localização da lesão. Raspados e *imprints* da lesão confirmou a suspeita clínica, encontrou-se a forma larval. As vacas em lactação receberam um tratamento baseado em organofosfato topico, isto é triclofon 6% durante sete dias. O diagnóstico precoce contribui para uma melhor eficácia curativa.

Palavras chave: vacas, *Stephanofilaria* sp, terapia

ESTEPHANOFILARIOSIS EN VACAS LECHERAS: LA NECESIDAD DE UN DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO PRECOZ

RESUMEN

Estephanofilariosis es una enfermedad causada por un nematodo, generalizada, que afecta las vacas lecheras causando lesiones en la piel cerca de la glándula mamaria. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue describir la ocurrencia de un brote de estephanofilariosis en vacas lecheras en una granja en el sur de Brasil, con un enfoque en el diagnóstico y el tratamiento. La sospecha de estephanofilariosis se basa en la apariencia y localización de la lesión.

¹ Department of Animal Science, Universidade do Estado de Santa Catarina, SC, Brazil - *Corresponding author. Tel.: + 55 55 32208958. E-mail: aleksandro_ss@yahoo.com.br

Raspados y *imprints* de la lesión confirmó la sospecha clínica, se encontró la forma larval. Las vacas lactantes recibieron un tratamiento a base de organofosfato topico, o sea 6% triclorfón durante siete días. El diagnóstico precoz contribuye para una mejor eficacia curativa.

Palabras-clave: vacas, *Stephanofilaria* sp, terapia

INTRODUCTION

Stephanofilariasis is caused by nematodes of the genus *Stephanofilaria*, a chronic disease that occurs in dairy cattle, with prevalence in the summer because it is transmitted by flies (1, 2). In most cases, the clinical diagnosis is through the identification of skin lesions that may vary in size with itching and constant presence of flies, if untreated may continue for years (1), which can cause the onset of mastitis and myiasis. According to the literature, horn flies (*Haematobia irritans*) are intermediate hosts that feed on skin lesions and ingest the microfilariae, and in two to three weeks it develops the third larval stage (infective form), being introduced by bite in the skin of the definitive host, i.e., bovine (3).

Treatment is necessary to prevent the spread of the nematode to the herd, but can be difficult and time consuming, which often makes treatment uneconomical (4). Organophosphates for topical use (5), and association of ivermectin (6) and levamisole (7) are commonly used for treatment.

On farms located in Rio Grande do Sul and Santa Catarina states, veterinarians, animal scientists and agricultural experts have been questioned about the presence of skin lesions in the midline and cranial to the udder that do not get better despite treatment made by producers. The technicians who provided this information also mentioned that approximately 30% of large dairy farms in Southern Brazil have had isolated cases of stephanofilariasis (personal communication), but the occurrence of an outbreak, with various animals affected in the same property at the same period are rare. As a result, the objective of this study was to report an outbreak of stephanofilariasis occurred in dairy cattle in Southern Brazil, with emphasis on diagnosis and treatment.

CASE REPORT

In December 2011 (warm season of the year), on a small farm with Holstein dairy cattle, located in Alegria, Rio Grande do Sul State, Brazil, the owner asked for veterinarian assistance because of the presence of skin lesions (Figure 1A, B) located cranially to the udder of nine lactating cows in a total of 13 animals of the same category. According to the owner the lesion first appeared in one of the cows in November and after 15 days was observed in all other animals. The lesions look like ulcerated wound with crusted and sero-sanguineous exudate in the ventral midline cranially to the udder (Figure 1). Myiasis was observed on five of these cows. Initially, producers used a product with larvicidal, repellent and healing action (Lepecid BR Spray[®]) which eliminated fly larvae. As reported by the owner, all lesions regressed in all animals during treatment, but relapsed a few days after the end of therapy with Lepecid spray.

The clinical diagnosis from the veterinarian was stephanofilariasis based on anamnesis, wound characteristics and high incidence of similar cases in the region. To confirm the diagnosis, the skin was scrapped and imprints were stained with Romanowsky for microscopic observation. Nematode larvae were visualized in the collected material (Figure 1C). A topical treatment based on organophosphate trichlorfon 6%, as suggested by the literature was used (2).

Unaware of the existence of a commercial product specific for treatment of this parasitosis, a handmade mixture was prepared. The active ingredient was mixed with vaseline,

forming a paste for topical use, which was placed over the entire area of the wound once a day (in the morning) for seven consecutive days. In the afternoon, daily treatment with Lepecid BR Spray[®] was maintained for the purpose of healing and repellent. The treatment ended after seven days when the wounds were healing, without secretions and with the central opening substantially closed. By owner's request, the cows were examined again on the tenth day after the treatment, when it was found that three cows had recurrence of the skin lesions due to the presence of secretion. In other animals the wound was fully closed and healed with initial growth of hair in the affected area. For the three animals with recurrence, the same previous treatment was repeated for seven days, which this time had curative efficacy. It is important to point out that this property works with dairy cattle for 15 years, and during this period had no similar cases of this disease.

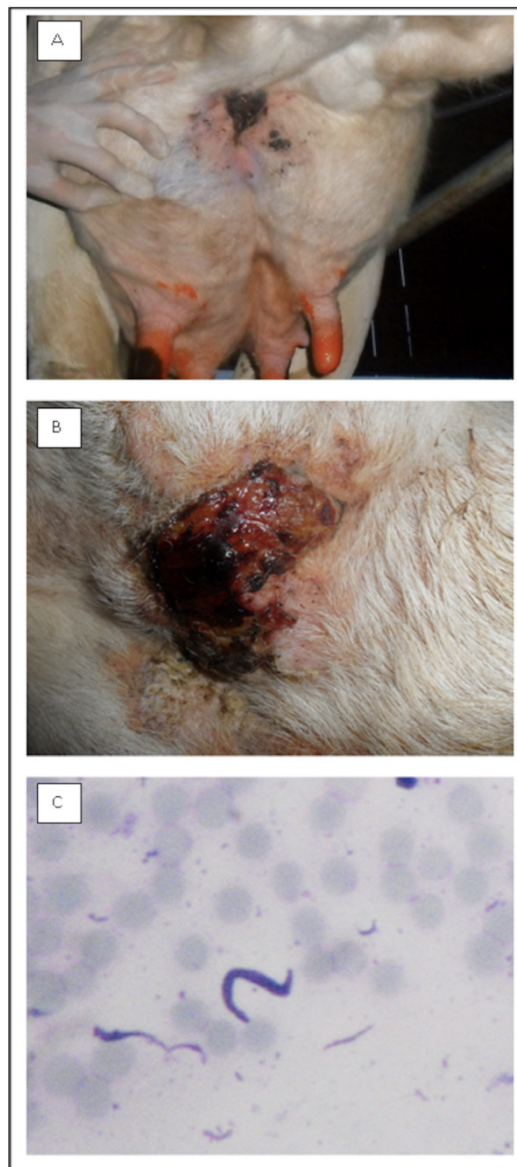


Figure 1. Skin crusty wound with serum-blood exudate located cranially to the udder of a Holstein cow (A and B) and larvae of *Stephanofilaria* sp harvested in imprints and stained with Romanowsky method (40x) (C).

During the clinical examination the presence of immature and adult tick (*Rhipicephalus microplus*) and large numbers of flies were found in the animals. A total of 30 flies were caught and identified as *Haematobia irritans* (n = 17), *Musca domestica* (n = 9) and *Stomoxys calcitrans* (n = 4). The presence of nematode larvae in flies was not investigated.

DISCUSSION AND CONCLUSIONS

This study reports an outbreak of nematode *Stephanofilaria* in 69.2% of dairy cows on a farm in Southern Brazil. According to the literature, this parasite has a wide geographical distribution, but generally the number of infected animals per herd is small. Stephanofilariasis cases in animals (8-10) and humans (11) as well as epidemiological data, diagnosis and treatment have been described by researchers.

The nematode *Stephanofilaria* sp. needs some vector for its spread and transmission, being flies considered a potential vector (3). *H. irritans* and *S. calcitrans* are the main vectors and disseminators of infectious diseases and are bloodsucking ectoparasites of economic importance in Brazil, causing large losses and great economic impact on livestock production. These insects can also be vectors of several pathogens, including helminths *Stephanofilaria* sp. (3, 12). According to researchers the major outbreaks of flies occur in rainy warm seasons in Brazil, as the period from December to March (8), the same period with greater incidence of stephanofilariasis, as was observed in this study. Therefore, we believe that the control of flies would be a way to prevent the spread of disease.

The stephanofilariasis usually occurs in dairy cattle, which is characterized by causing lesions on cranial-ventral region of the mammary gland (10), similar to what was observed in this study. After nematode infection the prepatent period ranges from 3 to 8 weeks (3), subsequent the wound increases progressively. In this study it was found that the size of the injuries varied between measurements described by Miyakawa, Reis and Lisbôa (13), ie, between 0.78 cm² and 44.16 cm². The skin lesions are characteristic of the disease and help in the diagnosis along with the anamnesis (8, 9, 14). Severe itch causes generalized unease with constant licking of the wound, leaving the animals stressed and consequently there is a reduction in milk production, as reported by the owner of this farm.

A study by Miyakawa, Reis and Lisbôa (9) compared two methods in diagnosing Stephanofilariasis from tissue collected by biopsy from the edge of the lesions: histopathologic and direct examination of the sediment of isotonic saline solution in which the tissue remained soaked. The authors found that on direct examination was possible to find the causative agent in all samples examined, unlike the histopathological which did not detected the presence of the parasite. Printing with a glass slide containing wound exudate, followed by staining with Giemsa, can be used in the diagnosis of nematode (15), a method used successfully in the current study.

Controlling flies infestations on cattle would be a prophylactic measure in order to prevent the spread of disease among animals. The treatment of *Stephanofilaria* sp infection has been performed with 5-10% ivermectin and organophosphates (Neguvon ® - Merck Manual). Ivermectin has limited in lactating cows (90.48%) and the treatment cannot be carried out because of the possibility of drug residues in milk (13), which is why this product was not used in this study. The topical use of organophosphates has been an effective treatment option, but time consuming with daily applications. But according to researchers successful treatment often is related to the early diagnosis, when the lesion is still small with isolation of infected animals in order to prevent the spread to other animals (9, 16, 17). A commercial drug with specific indication for this disease could also facilitate its treatment.

Five species of the genus *Stephanofilaria* are associated with skin lesions in cattle, including *S. dedoesi*, *S. stilesi*, *S. kaeli*, *S. assamensis* and *S. okinawaensis* (10), but in Brazil it is not known which species are prevalent, as in this study. In this paper we report an

outbreak of stephanofilaria in dairy cows, confirmed by clinical diagnosis, laboratory and therapeutic. Topical treatment with trichlorfon was 100% effective in curing the disease. Probably the outbreak occurred due to environmental conditions (temperature, humidity and abundance of vectors), and lack of specific immunity against this nematode since this diseases was never reported before on this herd.

REFERENCES

1. Scott DW. Large animal dermatology. Philadelphia: W.B. Saunders; 1988.
2. Taylor SM, Hunter AG, Andrews AH. Ectoparasites, tick and arthropod-borne diseases. In: Andrews AH, Blowey RN, Boyd H, Eddy RG, editors. Bovine medicine: diseases and husbandry of cattle. Ames: Blackwell Publisher; 2004. p.740-77.
3. Hiber CP. Development of stephanofilaria stilesi in the horn fly. J Parasitol. 1966;52:890-8.
4. Novaes AP, Miyashida AY. Estephanofilariose: uma zoonose: vetores e mecanismos de transmissão [Embrapa Instrumentação Agropecuária, 22]. São Carlos: Embrapa; 2006. p.1-11.
5. Patnaik B. Studies on stephanofilaria in orissa: V. treatment and control of "humpsore" in cattle due to Stephanofilaria assamensis. Indian J Anim Sci. 1970;40:167-74.
6. Gill BS, Balakrishnam P, Lumsden GG, Jones PGH. Treatment of stephanofilaria ("earsore") with ivermectin. Vet Parasitol. 1991;40:159-63.
7. Rao BV, Reddy PR, Reddy KS, Patnaik B. On the occurrence of Stephanofilaria assamensis var: bubaliensis in Cuddapaph district: Andhra Pradesh. Indian Vet J. 1979;56:250-1.
8. Miyakawa VI, Reis ACF, Lisbôa JAN. Clinical features and diagnosis of Stephanofilaria in dairy cows. Rev Bras Parasitol Vet. 2008;17:172-4.
9. Miyakawa VI, Reis ACF, Lisbôa JAN. Epidemiological and clinical features of stephanofilaria in dairy cows and diagnosis methods confrontation. Pesqui Vet Bras. 2009;29:887-93.
10. Miyakawa VI, Reis ACF, Lisbôa JAN. Estephanofilariose em bovinos. Semina Cienc Agrar. 2010;31:479-86.
11. Novaes AP, Miyashita AT. Stephanofilaria in humans: occurrence and transmission mechanisms. Rev Soc Bras Med Trop. 2007;40:250-2.
12. Novaes AP, Bagnato VS, Myashida AY, Flores FLE, Kurachi C. Estephanofilariose: uma zoonose [Embrapa Instrumentação Agropecuária, 21]. São Carlos: Embrapa; 2006. p.1-14.
13. Miyakawa VI, Reis ACF, Lisbôa JAN. Aspectos epidemiológicos e clínicos da Estephanofilariose em vacas leiteiras. Arch Vet Sci. 2007;12 Supl:171-2.

14. Gava A, Mezaroba S, Lucioli J, Furlan FH, Traverso SD. Stephanofilariose em bovinos no Estado de Santa Catarina: aspectos clínicos e lesionais. In: Anais do 16º Seminário de Iniciação Científica Ciências Agrárias; 2006, Lages. Lages: UDESC; 2006. p.95.
15. Novaes AP. Estephanofilariose e dermatite nodular ulcerativa em cão: relato de caso. Rev Educ Contin Med Vet Zootec CRMV-SP. 2005;8:93-7.
16. Dies KH, Pritchard J. Bovine Stephanofilarial dermatitis in Alberta. Can Vet J. 1985;26:361-2.
17. Silva LAF, Rabelo RE, Moura MI, Fioravanti MC, Borges LMF, Lima CRO. Aspectos epidemiológicos e tratamento de lesões parasitárias semelhantes a Stephanofilariosisfilariose em vacas lactantes. Semina Cienc Agrar. 2010;31:689-98.

Recebido em: 21/02/13

Aceito em: 04/10/2013

PREVALÊNCIA DA INFECÇÃO POR *Brucella* SPP. EM EQUÍDEOS NA MICRORREGIÃO DO BREJO PARAIBANO

Ruy Brayner de Oliveira Filho¹
Karla Campos Malta²
Vania Lucia de Assis Santana³
Marcília Maria Alves de Souza³
Danilo Tancler Stipp⁴
José Wilton Pinheiro Júnior⁵

RESUMO

Objetivou-se com este estudo determinar a prevalência da infecção por *Brucella* spp. em equídeos no Brejo Paraibano. Foram analisadas 257 amostras em 26 propriedades. Para o diagnóstico utilizou-se o teste do Antígeno Acidificado Tamponado. Das 257 amostras analisadas nenhuma foi reagente. Este é o primeiro estudo a pesquisar anticorpos contra *Brucella* spp. em equídeos nessa microrregião. Apesar de não terem sido diagnosticados animais reagentes e da menor importância epidemiológica em equídeos se comparados aos bovídeos, inquéritos epidemiológicos são necessários para determinar o *status* sorológico nestas espécies, uma vez que as mesmas podem servir como fonte de infecção para outras espécies, incluindo o homem.

Palavras-chave: brucelose, equinos, Paraíba, Brasil

PREVALENCE OF *Brucella* spp. INFECTION IN EQUIDS FROM BREJO PARAIBANO MICROREGION, BRAZIL

ABSTRACT

The objective of this study was to determine the prevalence of *Brucella* spp. infection in equids in Brejo Paraibano microregion. Two hundred fifty-seven equids serum samples of 26 properties were analyzed. For diagnosis, Rose Bengal Test (RBT) was performed. Among the 257 samples analyzed there was no serum reagent. This is the first study that researched *Brucella* spp. antibodies in equids in this microregion. Even with no reagent samples and the lower epidemiological importance of infection in equids, compared with cattle herds, epidemiological investigations are needed to determine the serological status in these species, since they can serve as a source of infection for other species, including man.

Keywords: brucellosis, horses, Paraíba, Brazil

PREVALENCIA DE LA INFECCIÓN POR *Brucella* spp. EN ÉQUIDOS EN LA MICRORREGIÓN DE BREJO PARAIBANO, BRASIL

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue determinar la prevalencia de la infección por *Brucella* spp. en équidos en la microrregión del Brejo Paraibano. Doscientos cincuenta y siete muestras fueron

¹ Médico Veterinário do Departamento de Ciências Veterinárias da Universidade Federal da Paraíba.

² Discente do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal da Paraíba (UFPB), Campus II, Centro de Ciências Agrárias.

³ Setor de Bacteriologia, Laboratório Nacional Agropecuário em Pernambuco, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA/ Lanagro-PE).

⁴ Departamento de Ciências Veterinárias, Universidade Federal da Paraíba (UFPB), Campus II, Centro de Ciências Agrárias.

⁵ Laboratório de Doenças Infecto Contagiosas, Unidade Acadêmica de Garanhuns, Universidade Federal Rural de Pernambuco.

analisadas em 26 propriedades. Se utilizó como prueba diagnóstica la técnica rosa de Bengala. Ninguna de las 257 muestras analizadas fue reactiva. Este es el primer estudio que indagó la presencia de anticuerpos contra *Brucella* spp. en équidos en esta microrregión. A pesar de no haber sido diagnosticados animales reactivos y de la menor relevancia epidemiológica de los équidos en comparación con el ganado bovino, las investigaciones epidemiológicas son necesarias para determinar el status serológico en estas especies, ya que pueden servir como una fuente de infección para otras especies y para el hombre.

Palabras claves: brucelosis, caballos, Paraíba, Brasil

A brucelose é uma doença crônica que, muito embora seja mais frequente e grave nos bovinos, pode acometer também os equídeos. Nessas espécies é causada quase que exclusivamente pela *Brucella abortus* e, eventualmente, pela *Brucella suis*, que invade o organismo do animal pela via digestória com alimentos, água e fômites contaminados por líquidos e restos de abortos de bovinos e, ocasionalmente, de outros cavalos infectados (1). No Brasil os dados existentes em relação à infecção por *Brucella* spp. em equídeos revelam prevalências variando de zero a 88,0% (2-7).

Em função de o Brasil apresentar o maior rebanho de equinos da América Latina, da importância da brucelose para a saúde pública e de não haver relatos desta infecção na microrregião do Brejo Paraibano, objetivou-se com esse estudo determinar a prevalência da infecção por *Brucella* spp. em equídeos na microrregião do Brejo Paraibano.

A microrregião do Brejo Paraibano está inserida na mesorregião do Agreste, e é composta por oito municípios: Alagoa Grande, Alagoa Nova, Areia, Bananeiras, Borborema, Matinhas, Pilões e Serraria (8). Foi realizado um estudo transversal para determinar a prevalência, e o plano amostral foi dividido em dois estágios. No primeiro estágio, foram selecionadas todas as propriedades com criação de dez ou mais equídeos (unidades primárias de amostragem), visto que, são essas propriedades que realmente fazem parte da cadeia produtiva da equideocultura, totalizando 26 propriedades; no segundo, foi sorteado, de forma aleatória, um número pré-estabelecido de equídeos (unidades secundárias de amostragem). A amostra de cada propriedade foi calculada com o auxílio do programa Win Episcopo 2.0. Para compor a amostra do estudo da prevalência foi considerada uma prevalência de 50%, visto que não há dados sobre a ocorrência desta infecção nesta microrregião. Em cada propriedade também foi considerada uma confiança mínima de 95% e erro estatístico de 10%. Desta forma, foram coletadas 257 amostras sanguíneas de equídeos (equinos, asininos e muares) clinicamente saudáveis, de diferentes sexos e finalidade, no período compreendido entre julho e dezembro de 2011.

A escolha das unidades primárias de amostragem foi baseada no cadastro de propriedades rurais com equídeos, da Secretaria de Estado do Desenvolvimento da Agropecuária e da Pesca (SEDAP). A propriedade selecionada que, por motivos vários, não pôde ser visitada, foi substituída por outra, nas proximidades, com as mesmas características de produção. A propriedade selecionada que, no momento da visita, possuía menos que os dez equídeos previstos anteriormente também foi amostrada, e nesse caso foram coletadas amostras de todos os animais.

Em cada propriedade amostrada foi aplicado um questionário epidemiológico com perguntas objetivas, elaborado para obter informações sobre o tipo de exploração e as práticas de manejo empregadas. Apenas um dos oito municípios da microrregião não foi amostrado, pois, segundo o cadastro, não havia propriedades que atendessem ao critério de seleção de pelo menos dez equídeos. Os municípios pesquisados foram: Areia (n=42; 28 equinos, 01 asinino e 13 muares), Serraria (n=13; 09 equinos e 04 muares), Alagoa Grande (n=67; 54 equinos, 02 asininos e 11 muares), Bananeiras (n=108; 93 equinos, 03 asininos e 12 muares),

Pilões (n=3; 03 muares), Borborema (n=7; 04 equinos, 01 asinino e 02 muares) e Alagoa Nova (n=17; 16 equinos e 01 muar).

Os equídeos eram criados a campo, semi-estabulados ou estabulados. Em relação à raça, os animais testados eram sem raça definida (SRD) [152], Quarto-de-milha [15], mestiços de Quarto-de-milha [74] e Manga-larga [16]. Nesta microrregião, os equídeos são utilizados com as finalidades de esporte (vaquejada), reprodução, trabalho ou lazer. As idades dos animais foram agrupadas em três estratos: abaixo de 2,5 anos de idade (animais jovens), entre 2,5 e 11 anos (animais em idade reprodutiva) e acima de 11 anos (animais idosos). Quanto ao sexo 116 eram fêmeas e 141 machos.

As amostras de sangue foram obtidas por venopunção da veia jugular, em tubos com vácuo siliconizados com capacidade para 10 mL. As amostras sanguíneas colhidas foram mantidas em temperatura ambiente até a retração do coágulo sanguíneo, em seguida transportadas sob refrigeração ao laboratório, onde foram centrifugadas, durante 10 minutos, a 900xg. O soro obtido foi transferido para tubos de polipropileno e armazenados a -20°C, até o momento da realização dos testes sorológicos.

Os soros foram analisados por meio do teste do Antígeno Acidificado Tamponado (AAT), de acordo com as normas do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (9).

O projeto foi aprovado no Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal Rural de Pernambuco com a licença nº 036/2012.

Das 257 amostras analisadas, nenhuma foi reagente ao teste do Antígeno Acidificado Tamponado. Este é o primeiro estudo a pesquisar anticorpos anti-*Brucella abortus* em equídeos nessa microrregião do estado da Paraíba. Neste estado, Arruda et al. (7) encontraram 0,6% de equinos reagentes.

A dificuldade em se obter dados precisos para comparar os resultados deste estudo com estudos prévios se deve a diferentes planos amostrais e métodos de diagnóstico utilizados. Outros fatores também podem influenciar nos resultados, tais como: condições ambientais, tipo de criação (extensiva, semi-intensiva e intensiva), fonte de água, presença de sinais clínicos e criação consorciada com outros animais, principalmente bovídeos.

Apesar de nenhum animal reagente ter sido identificado na microrregião do Brejo Paraibano, os equídeos eram mantidos sob condições que podem determinar a infecção desses animais. Entre os animais amostrados, 84,4% eram criados de forma consorciada com bovinos e, em apenas uma propriedade, com suínos.

Nas propriedades de 58,5% dos equídeos que eram criados de forma consorciada com bovinos não era realizada a vacinação contra brucelose em bovinos.

Em 73,1% das propriedades pesquisadas, havia a presença de animais silvestres. A presença dos reservatórios silvestres, a coabitação de espécies animais e a resistência do micro-organismo em condições adversas no ambiente são fatores que favorecem a manutenção do agente no ambiente e em criatórios de animais domésticos, inviabilizando, por vezes, sua erradicação em determinadas regiões ou países (10).

Em relação à prática de biossegurança, observou-se que 69,2% das propriedades não realizavam quarentena ao adquirir animais. A maioria dos animais (99,2%) não era mantida estabulada, o que pode favorecer a transmissão do agente por outras espécies domésticas ou, especialmente, silvestres. Aproximadamente 94,0% dos animais tinham acesso a áreas de pastos alagados, característica esta que pode contribuir para a sobrevivência do micro-organismo no ambiente. Cerca de 90,0% dos animais eram criados em rebanhos abertos, onde a introdução de animais infectados por *Brucella abortus* é mais provável. Em apenas uma propriedade os animais eram procedentes de exposições ou leilões, onde geralmente o controle sanitário é mais rigoroso. Apenas 25,7% dos animais eram criados em propriedades com assistência veterinária. Em menos de 30,0% das propriedades com bovinos era realizado teste para diagnóstico de brucelose nessa espécie.

Apesar de não terem sido diagnosticados animais positivos neste estudo e da menor importância epidemiológica dos equídeos na cadeia epidemiológica da brucelose, inquéritos epidemiológicos são necessários para determinar o *status* sorológico na população equídea da região, uma vez que estas espécies podem ser fontes de infecção para outras espécies, inclusive para o homem. Outro ponto que deve ser destacado é que muitos destes equídeos eram mantidos sob condições de exploração que podem favorecer a transmissão do agente. Caso estes animais sejam criados de forma consorciada com bovídeos, deve-se realizar um controle sanitário adequado, como a vacinação dos bovídeos e testes diagnósticos com certa frequência para identificar os animais infectados.

REFERÊNCIAS

1. Thomassian A. *Enfermidades dos cavalos*. São Paulo: Livraria Varela; 2005.
2. Pacheco G. Brucelose equina no Brasil. *Bol Soc Bras Med Vet*. 1945;14:3-5.
3. Langoni H, Silva AV. Comportamento sorológico de aglutininas anti-Brucella em soro de equídeos. *Rev Bras Med Vet*. 1997;19:85-7.
4. Aguiar DM, Cavalcante GT, Lara MCCSH, Villalobos EMC, Cunha EMS, Okuda LH, et al. Prevalência de anticorpos contra agentes virais e bacterianos em equídeos do Município de Monte Negro, Rondônia, Amazônia Ocidental Brasileira. *Braz J Vet Res Anim Sci*. 2008;45:269-76.
5. Araujo RR, Pena LJ, Pena DA, Dias FM, Moraes MP. Ocorrência de anticorpos anti-Brucella spp. em equídeos da região da Zona da Mata do Estado de Minas Gerais, Brasil. *Arq Inst Biol*. 2009;76:681-4.
6. Carrazza LG, Junqueira YF, Carrazza TG, Oliveira PR, Lima-Ribeiro AMC. Soroepidemiologia da brucelose em equinos de tração em áreas urbanas no município de Uberlândia-MG. *Horiz Cient*. 2010;4(2):1-18.
7. Arruda FR, Silva MH, Soares Filho PM, Campos AC, Azevedo EO. Brucelose equina no Estado da Paraíba. *Med Vet*. 2012;6:7-10.
8. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística [Internet]. Rio de Janeiro; 2012 [acesso 2012 Maio 4]. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>
9. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal – PNCEBT [Manual Técnico]. Brasília: MAPA/SDA/DAS; 2006.
10. Poester FP, Gonçalves VSP, Lage AP. Brucellosis in Brazil. *Vet Microbiol*. 2002;90:55-62.

Recebido em: 01/03/13

Aceito em: 11/03/13

ANÁLISE HEMATOLÓGICA E BIOQUÍMICA COMPARATIVA EM SUÍNOS SUBMETIDOS À OBSTRUÇÃO BILIAR EXPERIMENTAL

Aline Gomes de Campos^{1*}
Edmilson Rodrigo Daneze²
Júverson Alves Terra Júnior³
Sérgio Renato Macedo Chicote¹
Rosana Rosa Miranda Côrrea⁴
Alex Augusto da Silva³
Sílvia Azevedo Terra⁵

RESUMO

Este trabalho objetivou avaliar as alterações hematológicas e bioquímicas decorrentes de obstrução biliar induzida em suínos. Para isso, foram utilizados seis suínos da raça Landrace, com 36 dias de idade, nos quais coletou-se sangue nos momentos pré-obstrução e sete dias após a obstrução induzida do ducto colédoco, sendo a mesma realizada pela colocação videolaparoscópica de um clip metálico de titânio. Assim, a ligadura foi realizada com sucesso em todos os animais, sendo fácil a identificação do colédoco por videolaparoscopia e não ocorrendo dificuldades nos procedimentos. Os sinais clínicos indicativos de icterícia foram evidentes no decorrer dos sete dias de obstrução. A análise hematológica revelou uma diminuição nos níveis do volume corpuscular médio e permitiu identificar alterações na morfologia das hemácias; enquanto que os exames bioquímicos revelaram aumento nos níveis séricos de colesterol, GGT, FA, bilirrubina total e frações e, redução na glicemia. Conclui-se que o suíno representa um bom modelo experimental de obstrução biliar, tendo como características evidentes a hiperbilirrubinúria e o aumento dos níveis normais das enzimas hepatobiliares. A GGT demonstrou-se um marcador de maior sensibilidade e especificidade em suínos quando comparada com a FA.

Palavras-chave: contagem de células sanguíneas, bioquímica, icterícia obstrutiva, colestase extra-hepática, laparoscopia

HEMATOLOGY AND BIOCHEMISTRY COMPARATIVE ANALYSIS IN SWINES SUBMITTED TO EXPERIMENTAL BILIARY OBSTRUCTION

ABSTRACT

This study aimed to evaluate hematological and biochemical changes resulting from biliary obstruction induced in swines. For this, were used six Landrace swines of 36-day-old, blood were collected in the pre-obstruction and seven days after the induced common bile duct obstruction, which was done through the laparoscopic placement of a titanium metal clip. Thus, the ligation was successfully performed in all animals, being easier to identify the laparoscopic common bile duct and not occurring difficult procedures. The clinical signs of

¹ Professor do curso de Medicina Veterinária da Faculdade Dr. Francisco Maeda (FAFRAM/FE), Ituverava-SP.

² Aluno do Programa de Aprimoramento em Medicina Veterinária da FAFRAM/FE, Ituverava-SP.

³ Professor Associado do Departamento de Cirurgia da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), Uberaba-MG.

⁴ Professor Adjunto do Departamento de Patologia Geral da UFTM, Uberaba-MG.

⁵ Professora do curso de Medicina Veterinária da FAFRAM/FE, Ituverava-SP. *In memoriam*.

*Correspondência: Rodovia Jerônimo Nunes Macedo, km 01, Bairro das Acácias, CEP 14500-000, Ituverava-SP. alineplets@yahoo.com.br.

jaundice were evident after seven days of obstruction. The blood analysis revealed a decrease in the levels of mean corpuscular volume and identified changes in the morphology of red blood cells, whereas the biochemical tests revealed increased serum levels of cholesterol, gamma-glutamyltransferase, alkaline phosphatase, total bilirubin and fractions and, reduction in blood glucose. It is concluded that the pig is a good experimental model of biliary obstruction, as having the characteristics evident hiperbilirrubinuria and increased normal levels of hepatobiliary enzymes. The gamma-glutamyl transferase proved to be a marker of greater sensitivity and specificity in pigs when compared with the alkaline phosphatase.

Keywords: blood cell count, biochemistry, jaundice obstructive, cholestasis extrahepatic, laparoscopy

ANÁLISIS HEMATOLÓGICO Y BIOQUÍMICO COMPARATIVO EN CERDOS SOMETIDOS A OBSTRUCCIÓN BILIAR EXPERIMENTAL

RESUMEN

Este estudio tuvo como objetivo evaluar las alteraciones hematológicas y bioquímicas causadas por la obstrucción biliar inducida en cerdos. Para ello, se utilizaron seis cerdos Landrace, con 36 días de edad. Fueron obtenidas muestras sanguíneas antes y siete días después de la obstrucción inducida del conducto biliar, la misma que se logró con la colocación de un clip metálico de titanio a través de laparoscopia. La ligadura se llevó a cabo con éxito en todos los animales. El conducto biliar común fue fácilmente identificado en la videolaparoscopia y no hubo dificultades para la realización del procedimiento. Signos clínicos como la ictericia fueron evidentes durante los siete días de la obstrucción. El análisis de sangre reveló una disminución en el volumen corpuscular medio y cambios en la morfología de los glóbulos rojos, mientras que las pruebas bioquímicas indicaron aumento de los niveles séricos de colesterol, gammaglutamil transferasa, fosfatasa alcalina, bilirrubina total y sus fracciones, y reducción de la glucosa en la sangre. Se concluye que el cerdo es un buen modelo experimental de obstrucción biliar, con características evidentes como hiperbilirrubinuria y aumento de los niveles normales de enzimas hepatobiliares. La gammaglutamil transferasa demostró ser un marcador de mayor sensibilidad y especificidad en los cerdos, en comparación con la fosfatasa alcalina.

Palabras-clave: contaje de células sanguíneas, bioquímica, ictericia obstructiva, colestasis extra-hepática, laparoscopia

INTRODUÇÃO

Existem diversas condições que, em humanos e animais, podem desencadear obstrução biliar intra e/ou extra-hepática com consequente colestase, sendo a coledocolitíase, as neoplasias e as estenoses as que apresentam maior incidência (1, 2).

Nos últimos anos, houve um aumento na incidência de litíase assintomática, fato devido ao aprimoramento dos métodos diagnósticos realizados rotineiramente pelos pacientes e, ao mesmo tempo, ocorreu a difusão da colecistectomia por via laparoscópica (3-5).

O desenvolvimento e evolução da cirurgia laparoscópica como método de tratamento cirúrgico tem estimulado a realização de técnicas operatórias cada vez mais complexas; exigindo, além de amplo conhecimento anatômico, experiência e um processo de aprendizado que visam diminuir a incidência de complicações operatórias. Dessa forma, a execução de trabalhos experimentais em animais permite aprimorar o conhecimento anatômico e capacitar o cirurgião para intervir nas afecções das vias biliares (6, 7).

No sentido de procurar uma reconstrução anatômica e fisiológica mais adequada para as lesões extensas de vias biliares, foi proposto um estudo para reconstrução da via biliar com a interposição de um “tubo” de segmento de jejuno, à semelhança do que foi utilizado por Monti e colaboradores (8, 9) para drenagem continente de neobexiga. Entretanto, torna-se necessário um modelo experimental que possibilite padronizar um procedimento que crie um estado de icterícia obstrutiva mediante ligadura da via biliar extra-hepática, possibilitando o reconhecimento prévio do sítio cirúrgico e indicando a utilização de técnicas específicas para, num segundo momento, propor a reconstrução desta mesma via.

Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo induzir um quadro de icterícia obstrutiva em suínos, pela ligadura no ducto colédoco por meio de cirurgia videolaparoscópica utilizando-se clipe metálico de titânio, onde serão descritas e comparadas as alterações observadas nos animais e nos exames hematológicos e bioquímicos antes e após o procedimento obstrutivo, confirmando, assim, o sucesso do procedimento.

MATERIAL E MÉTODOS

Para a execução desse trabalho foram utilizados seis suínos (*Sus scrofa domestica*) da raça Landrace, com 36 dias de idade, originários da mesma matriz. Tais animais foram acompanhados frequentemente, desde o nascimento até a conclusão do estudo.

Momentos antes do procedimento cirúrgico obstrutivo, sob jejum alimentar e hídrico de seis horas, foram coletados 10 ml de sangue de cada animal. Parte desse sangue foi usada para quantificar os seguintes parâmetros hematológicos: contagem de eritrócitos, hematócrito, hemoglobina, volume corpuscular médio (VCM), concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e *red cell distribution width* (RDW), leucograma (contagem geral e diferenciação entre bastonetes, neutrófilos, linfócitos, monócitos e eosinófilos) e contagem de plaquetas; além da avaliação da morfologia das hemácias presentes no esfregaço sanguíneo. Outra parte foi direcionada a avaliação dos níveis séricos de glicemia, colesterol total, colesterol HDL (*High-Density Lipoprotein*), triglicerídeos, proteína total (PT), aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (FA), gama-glutamiltransferase (GGT), bilirrubina direta (BD), bilirrubina indireta (BI) e bilirrubina total (BT).

Os procedimentos pré-operatórios foram comuns a todos os animais. Na recepção cirúrgica foram sedados com acepromazina (0,2 mg/Kg/IM) e, na sequência, submetidos à tricotomia e antisepsia prévia da região abdominal ventral. A indução anestésica foi baseada na associação de tiletamina e zolazepam (5,0 mg/Kg/IV), sendo administrado também fentanil (0,025 mg/Kg/IV) e sulfato de atropina (0,5 mg/Kg/IV); a manutenção anestésica foi com doses de um terço a metade da dose original do anestésico dissociativo. Durante o procedimento cirúrgico os animais foram suplementados com oxigênio via máscara facial.

O procedimento cirúrgico videolaparoscópico⁶ consistiu numa incisão mediana pré-umbilical de 1,0 cm, pela qual foi inserida agulha de Verres e realizado pneumoperitônio, com pressão intracavitária de 11 mmHg. Em seguida, foram posicionados quatro trocâteres: (1) dois de 5,0 mm, um localizado na região caudal ao rebordo costal direito e outro ao nível da fossa ilíaca direita, (2) e dois de 10,0 mm, um localizado 1,0 cm pré-umbilical e um caudal ao rebordo costal esquerdo. Após inspeção da cavidade abdominal, foram identificadas, isoladas e dissecadas as estruturas peri-hilares hepáticas e realizada a ligadura laparoscópica do colédoco o mais distal possível. Terminado o procedimento de ligadura, foi revisada a cavidade abdominal, desfeito o pneumoperitônio, seguido de laparorráfia com fio de algodão 2-0 e dermorrafia com mononylon 3-0.

⁶ Videolaparoscópio Karl Storz, composto de monitor LCD 15 polegadas, fonte de luz xenon 175 W, insuflador térmico de 30.l e câmara de três chips.

Decorridos sete dias colheu-se nova amostra de 10 ml de sangue para avaliação e comparação e, em seguida, os animais foram encaminhados ao centro cirúrgico (foram utilizados os mesmos protocolos ambulatoriais e anestésicos usados para o procedimento obstrutivo) onde foi realizada laparotomia mediana pré-umbilical para inspeção da cavidade abdominal e desobstrução do fluxo biliar.

Nos períodos pós-operatórios, tanto obstrutivo como desobstrutivo, os animais permaneceram sob cuidados constantes, com acompanhamento da cicatrização das feridas cirúrgicas e administração de anti-inflamatório (Dexametasona, dose de 0,025 mg/Kg/IM/dia), analgésico (Flunixinina meglumina, dose de 2,2 mg/Kg/IM/dia) e antibioticoterapia preventiva (Enrofloxacina, dose de 2,5 mg/Kg/IM/dia).

A análise estatística, para comparação dos valores obtidos nos momentos pré e pós-obstrução, foi realizada utilizando-se o programa *Sigma Stat 2.03*. A verificação da distribuição normal das variáveis foi realizada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov, na qual as variáveis contínuas com distribuição normal foram analisadas pelo teste *t pareado* para amostras dependentes, sendo estas expressas em média e desvio padrão, admitindo-se como nível de significância probabilidade menor de 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS

A ligadura da via biliar principal foi realizada com sucesso em todos os animais desse experimento, com fácil identificação do colédoco pela videolaparoscopia. Foram utilizados somente os portais descritos na metodologia, o que ocorreu sem dificuldades.

Os sinais clínicos mais frequentes, após o procedimento de obstrução biliar, foram hiperbilirrubinúria, icterícia, hipocolia fecal e hepatomegalia à palpação. O peso médio dos animais no dia do procedimento obstrutivo era de 9,17 ($\pm 1,69$) kg, ao término do experimento o peso era de 9,42 ($\pm 2,19$) kg.

No esfregaço sanguíneo foi verificado que as hemácias, no momento pré-obstrução, se encontravam normocíticas e normocrômicas, enquanto no período de pós-obstrução estas se apresentaram com hipocromia, policromasia, microcitose e anisocitose. A análise hematológica revelou uma diminuição significativa nos níveis de VCM e no valor do hematócrito, enquanto que houve aumento no número de neutrófilos; nos demais parâmetros não houve alterações significativas (Tabela 1). Os exames bioquímicos revelaram aumento significativo dos níveis séricos de colesterol, GGT, FA, BD, BI e BT e, redução na glicemia; os demais parâmetros não apresentaram alterações significativas (Tabela 2).

DISCUSSÃO

Utilizou-se o suíno (*Sus scrofa domestica*) como modelo experimental por ser animal com boa possibilidade de padronização e, também, por se tratar de animal tratável, controlável, resistente e de fácil manejo. O suíno é considerado um modelo adequado para as doenças ligadas ao estilo de vida humano, apresentando similaridades como tamanho, estrutura de órgãos internos, padrões alimentares, forma de metabolizar drogas (10-13). Dessa forma, sugerimos a utilização deste animal para diversos experimentos que necessitam de padronização genética e similaridade anatômica e fisiológica.

Utilizou-se a videolaparoscopia por ser a técnica mais empregada e considerada padrão ouro para o acesso e tratamento de afecções das vias biliares (7, 14, 15), principalmente devido ao baixo índice de complicações e vantagens como menor dor pós-operatória, menor tempo de internação, melhores resultados estéticos (16), a despeito de ser invasiva (17, 18). A não ocorrência de dificuldades é associada a maximização das imagens proporcionada pelos monitores de vídeo, permitindo definir o lugar exato de ação, proporcionando intervenções seguras em estruturas vitais (7, 17, 19). Nas condições em que o experimento foi realizado,

aconselhamos o uso, sempre que possível, da técnica de videolaparoscopia para diminuir o trauma pós-operatório, focando apenas no real objetivo do estudo.

Tabela 1. Hemograma completo comparativo de suínos avaliados nos períodos pré e pós-

Parâmetros avaliados	Pré-obstrução	Pós-obstrução	Teste t	
			pareado	p
Eritrócitos ($\times 10^6$) (5,0-8,0/ μ l)*	5,728 \pm 0,280	5,178 \pm 0,746	2,305	0,069
Hemoglobina (10-16 g/dl)*	10,067 \pm 0,524	8,850 \pm 1,086	2,486	0,055
Hematócrito (%) (32-50%)*	33,983 \pm 1,680	29,433 \pm 4,080	2,642	0,046**
HCM (16-220 pg)*	17,583 \pm 0,845	17,167 \pm 0,565	1,697	0,150
VCM (50-68 pg)*	59,383 \pm 2,289	56,850 \pm 1,851	2,985	0,031**
CHCM (30-34 g/dl)*	29,133 \pm 1,325	30,133 \pm 0,869	-1,678	0,154
RDW-SD	34,767 \pm 2,884	33,867 \pm 1,728	0,973	0,375
Leucócitos ($\times 10^3$) (11-12/ μ l)*	15,033 \pm 4,143	15,317 \pm 6,567	-0,0808	0,939
Neutrófilos (3.200-10.000/ μ l)*	6508,833 \pm 2581,490	1089,333 \pm 2314,601	3,629	0,015**
Linfócitos (39-62%)*	51,833 \pm 9,109	48,333 \pm 21,796	0,394	0,709
Monócitos (2-10%)*	3,500 \pm 1,643	5,000 \pm 1,265	-1,419	0,215
Eosinófilos (1-11%)*	1,833 \pm 1,722	1,333 \pm 0,816	0,808	0,456
Plaquetas ($\times 10^3$) (200-800/ μ l)*	584,833 \pm 145,376	794,167 \pm 236,526	-2,108	0,089

obstrução biliar induzida. FAFRAM/FE. Ituverava, 2010.

*Valores de referência dos parâmetros avaliados. **p<0,05.

Tabela 2. Bioquímica sérica comparativa de suínos nos períodos pré e pós-obstrução biliar induzida. FAFRAM/FE. Ituverava, 2010.

Parâmetros avaliados	Pré-obstrução	Pós-obstrução	Teste t	
			pareado	p
Glicemia (85-150 mg/dl)*	126,833 \pm 27,513	99,833 \pm 8,931	2,824	0,037**
Colesterol (36-154 mg/dl)*	52,000 \pm 11,349	78,833 \pm 15,980	2,486	0,001**
HDL	16,333 \pm 3,204	14,500 \pm 4,183	2,642	0,274
Triglicerídeos	33,833 \pm 11,125	62,667 \pm 47,928	1,697	0,177
AST (8,2-21,6 UI/l)*	59,500 \pm 26,334	98,833 \pm 43,879	-2,045	0,096
ALT (31-58 UI/l)*	63,000 \pm 17,956	52,833 \pm 13,949	1,441	0,209
PT (7,4-8,9 g/dl)*	4,717 \pm 0,319	4,750 \pm 0,383	-0,213	0,840
FA (118-395 UI/l)*	337,167 \pm 45,252	323,500 \pm 60,843	1,385	0,225
GGT (10-60 UI/l)*	38,167 \pm 14,552	113,500 \pm 47,970	-3,052	0,028**
BD (0-0,3mg/dl)*	0,0500 \pm 0,0548	1,233 \pm 0,954	-3,108	0,027**
BI (0-0,3mg/dl)*	0,150 \pm 0,0837	1,167 \pm 0,997	-2,577	0,050**
BT (0-0,6mg/dl)*	0,200 \pm 0,126	2,400 \pm 1,919	-2,882	0,035**

*Valores de referência dos parâmetros avaliados. **p<0,05.

Ao analisar os valores hematológicos, verificou-se diferença na morfologia das hemácias, diminuição do hematócrito e do VCM, o que pode ser atribuído à hepatite, ou ao comprometimento renal desses animais, causando alterações na eritropoetina, já que a disfunção hepática pode acarretar modificações na filtração (20, 21) e levar à disfunção renal (22, 23). Existem evidências experimentais de que o fígado exerce função reguladora da função renal (24). Acredita-se que a bilirrubina em níveis elevados compromete além da função hepática, a função endócrina renal, já que este também estava acometido pela icterícia.

Embora a icterícia obstrutiva seja um fator predisponente para infecção no período pós-operatório, não houve diferença significativa na contagem de leucócitos. Sendo que, em animais ictericos, tais infecções podem ser secundárias a repercussões sistêmicas causadas por procedimentos cirúrgicos (25). No entanto, a quantidade de neutrófilos presentes pode ser decorrente do processo inflamatório no tecido hepático decorrente do procedimento cirúrgico, além da resposta a necrose desse tecido. Processos inflamatórios desencadeiam, dentre outros fenômenos, exsudação plasmática e celular, sendo que nas infecções agudas, ocorrem mobilização rápida de células em maturação e seu lançamento na circulação, ainda jovens, ocasionando desvio à esquerda (26, 27). Assim, acredita-se que o intervalo de sete dias, não foi suficiente para desencadear um aumento de leucócitos, já que a icterícia retarda este processo, tendendo este número a se elevar em um período maior.

Ao se avaliar os níveis de glicemia, esta apresentou menor índice no momento pós-obstrução, podendo isso ser decorrente da obstrução biliar, já que alguns autores demonstraram alterações no metabolismo intermediário hepático em casos de icterícia obstrutiva extra-hepática (28). O fígado tem participação importante no metabolismo de glicose, sendo os hepatócitos responsáveis pela normalidade do nível ideal sanguíneo, sendo que, em animais com insuficiência hepática, a glicemia pode estar baixa ou alta (29, 30). Fisiologicamente, quando os níveis de glicose estão baixos, ocorre glicogenólise (31), contudo, devido à menor atividade dos hepatócitos, decorrente da colestase instalada, tal processo pode estar comprometido.

Mesmo não apresentando diferença significativa, houve aumento dos níveis de AST no período pós-obstrução, indicando maior agressão hepática decorrente da associação dos efeitos das substâncias químicas e da colestase. Segundo González e Silva (32), os aumentos de AST podem ser observados em hepatite infecciosa e tóxica, cirrose, obstrução biliar e fígado gorduroso e tem valor diagnóstico de lesão hepática e muscular, pois encontra-se em nível citoplasmático e mitocondrial. Lesões celulares a nível mitocondrial com extravasamento de suas enzimas para o meio extracelular são marcadores de gravidade, correspondendo a morte celular. Na avaliação histopatológica, estes animais apresentaram discreta esteatose e cirrose inicial, o que pode estar relacionado ao aumento do nível de AST.

Os índices de ALT, mesmo estando em menor nível após a obstrução do colédoco, não apresentaram diferença significativa, o que corrobora com autores que demonstraram que em suínos, equinos, bovinos, ovinos e caprinos, a ALT tem pouco valor diagnóstico, uma vez que esta enzima é encontrada em pequenas concentrações no fígado destas espécies (32, 33). Desta forma, sugere-se que a ALT não seja considerada como fator diagnóstico de lesão hepatocelular em suínos.

A FA e a GGT são as enzimas cujo aumento sérico é utilizado para detectar lesão ductal e colestase (30, 34). Crema, Trentini e Llanos (35), ao realizarem ligadura biliar em cães, encontraram níveis séricos médios de FA elevados no decorrer de uma semana. Dias (36), em experimento com 20 dias de obstrução biliar induzida em ratos, descreve que a FA dos animais aumentou gradativamente com o passar dos dias. Em humanos, a FA é um dos marcadores séricos mais sensíveis em casos de obstruções biliares, podendo estar aumentada precocemente em pacientes com obstruções biliares parciais (37) e ser a única anormalidade nas provas de função hepática rotineira (38). Contudo, Willard, Tvedten e Turnwald (39), relatam que nem toda hepatopatia causa um aumento significativo da FA e que, nos casos de necrose hepatocelular em pequenos animais, a sua elevação pode ser transitória, o que pode ter ocorrido com os animais estudados ou, ainda, o tempo do estudo não ter sido suficiente para averiguar sua elevação.

Com relação à avaliação dos níveis de GGT, este mostrou diferença significativa, estando elevada no período pós-obstrutivo. Essa enzima, com exceção das células musculares, encontra-se presente nas demais células do organismo. Contudo, sua maior atividade está nas células do trato biliar e túbulos renais, mas somente aquela de origem hepática é normalmente

encontrada no plasma, pois a de origem renal é excretada na urina (33). Assim sendo, torna-se um marcador muito sensível de doença hepática, apresentando-se alterada em 90% dos casos (34). O aumento da GGT pode ocorrer quando há lesão hepática aguda, provocando aumento sérico imediato na maioria das espécies animais (40), possivelmente em decorrência da liberação de fragmentos de membrana celular devido a ação detergente dos ácidos biliares que não foram excretados normalmente pelos ductos biliares no intestino. No caso de colestase, nota-se aumento de produção, liberação e conseqüente elevação sérica (30). A dilatação dos ductos biliares intra-hepáticos devido à obstrução biliar aumenta os níveis da pressão portal depois dos sinusóides, isso favorece a diminuição do fluxo sanguíneo portal, causando estresse oxidativo e favorecendo a lesão de hepatócitos (36, 41). Fato esse que pode explicar a diferença significativa entre o momento pré e pós-obstrução de GGT dos animais deste experimento, estando este acima dos níveis considerados normais para a espécie durante o período pós-obstrutivo, podendo ser considerado como fator de diagnóstico em suínos.

Em felinos, o perfil sérico da GGT pode ser utilizado no lugar da FA com maior sensibilidade e especificidade (33, 40). Contudo, em ratos, Silva Júnior et al. (42) refere que o nível sérico de GGT é pouco sensível como indicador da colestase extra-hepática e que a enzima ideal para isso é a FA. Em suínos, a elevação sérica da GGT foi encontrada em casos de intoxicação por aflatoxicose (43) ou por fumonisinas (44, 45), que são micotoxinas hepatotóxicas. Assim, mediante os valores de FA e GGT encontrados, acredita-se que a GGT também possa ser de maior valor diagnóstico/prognóstico que a FA em suínos.

Alterações hepatocelulares ou obstruções biliares podem incidir no metabolismo da bilirrubina e provocar hiperbilirrubinemias, por conta da fração conjugada (direta) ou não conjugada (indireta), dependendo da fase metabólica comprometida (30, 34). Assim, níveis elevados de BD geralmente indicam obstrução biliar (46, 47). Dias (36), trabalhando com ratos, descreve que a BD aumentou em todos os animais após 20 dias de obstrução biliar induzida. Nos animais do presente trabalho os níveis séricos da bilirrubina total (BT) e suas frações apresentaram diferença significativa, estando todas elevadas no período pós-operatório (30, 48). Assim, após sete dias de obstrução, os animais desenvolveram a icterícia, com valores elevados e em tempo menor do que referido por outros autores estudando outras espécies animais (41, 49), diminuindo assim o tempo de estudo, apresentando resultados em um tempo menor.

A indução experimental da colestase extra-hepática é um processo que nem sempre tem sucesso (36, 41). Porém, após sete dias de obstrução os animais desenvolveram sinais clínicos compatíveis com os que foram encontrados em outros casos envolvendo colestase em humanos (16, 50, 51), cães (35, 52) e ratos (41, 53), pois o desenvolvimento da icterícia justifica as alterações de coloração de pele e mucosas observadas, pois a bilirrubina em concentrações elevadas deposita-se nos tecidos (52, 54). A coloração característica da urina também é associada ao aumento na concentração de bilirrubina na circulação sanguínea, que é excretada ao passar pelos glomérulos renais, sendo essa alteração indicativa de colestase (30, 55), o que também foi corroborado com os achados deste trabalho.

A elevação das dosagens séricas de BD, BI e BT, assim como da GGT, são comumente encontradas quando há ocorrência de colestase, cujo aumento é induzido pela estase biliar (30, 35), e possuem relevante valor diagnóstico nos doentes com estase biliar com ou sem icterícia (56), inclusive em suínos (57). Contudo, Cunha et al. (56), salientam que a coledocolitíase pode existir em pacientes humanos com níveis persistentemente normais de FA, GGT e de bilirrubinas, principalmente nos casos de grande dilatação coledociana e da vesícula biliar. Gonçalves et al. (58) relataram o caso de um cão com quadro clínico complexo em que os exames bioquímicos séricos, incluindo BT, BD, BI e FA, associado a exames ultrassonográficos, foram fundamentais para o diagnóstico final de colelitíase. Por isso, em casos questionáveis, que necessitem de informações mais acuradas ou para diagnóstico diferencial, os exames laboratoriais devem ser correlacionados com as condições clínicas

apresentadas pelo paciente e com exames de imagem (46, 56, 59), podendo, ainda, em alguns casos, ser solicitada biópsia para avaliação histopatológica (60).

CONCLUSÕES

Nas condições em que o experimento foi conduzido, conclui-se que o estudo laboratorial demonstrou que o procedimento de ligadura da via biliar foi efetivo, produzindo um modelo animal que apresentou os sinais clínicos característicos de icterícia em sete dias. A colestase induzida provocou aumento nos níveis plasmáticos de glicemia, colesterol total, bilirrubina total e suas frações e de gama-glutamilttransferase. Particularmente, a gama-glutamilttransferase demonstrou ser um marcador de maior sensibilidade e especificidade que a fosfatase alcalina em suínos.

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Projeto de pesquisa aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade Dr. Francisco Maeda sob o protocolo nº 19/2008, estando de acordo com os princípios éticos de experimentação animal adotados pelo comitê.

REFERÊNCIAS

1. Carrel T, Lerut J, Niederhauser U, Schweizer W, Blumgart LH. Diagnosis and treatment of traumatic injuries of the duodenum and pancreas: 21 cases. *J Chir.* 1990;127(10):438-44.
2. Dähnert W. Radiologia: manual de revisão. 3ª ed. Rio de Janeiro: Revinter; 2001. p.485-92.
3. Rauws EA, Gouma DJ. Endoscopic and surgical management of bile duct injury after laparoscopic cholecystectomy. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2004;18(5):829-46.
4. Sekido H, Matsuo K, Morioka D, Kunihiro O, Tanaka K, Endo I, et al. Surgical strategy for the management of biliary injury in laparoscopic cholecystectomy. *Hepatogastroenterology.* 2004;51(56):357-61.
5. Schmidt SC, Langrehr JM, Schumacher G, Neuhaus P. Treatment of iatrogenic bile duct lesions from laparoscopic cholecystectomy. *Rozhl Chir.* 2005;84(11):567-72.
6. Hurtado JRE, Goldenberg S, Novo NF, Juliano Y, Escalante RD. Estudo anatômico das vias bilíferas extra-hepáticas no suíno: comparação entre a dissecação convencional e por videolaparoscopia. *Acta Cir Bras.* 1997;12(3):198-205.
7. Machado MAC, Machado MCC. Colecistite crônica claculosa. In: Moraes IN. Tratado de clínica cirúrgica. São Paulo: Roca; 2005. p.1277-83.
8. Monti PR, Carvalho JR, Arap S. The Monti procedure applications and complications. *Urology.* 2000;55(5):616-21.
9. Monti PR, Lara RC, Dutra MA, Carvalho JR. New techniques for construction of efferent conduits based on the mitrofanoff principle. *Urology.* 1997;49(1):112-5.

10. Almond GW. Research applications using pigs. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 1996;12(3):707-16.
11. Heltne JK, Husby P, Koller ME, Lund T. Sampling of interstitial fluid and measurement of colloid osmotic pressure (COPi) in pigs: evaluation of the wick method. *Lab Anim.* 1998;32(4):439-45.
12. Goodrich JA, Lackland DT, Del Signore MJ, Swindle MM. Non-invasive measurement of blood pressures in the Yucatan micropig (*Sus scrofa domestica*), with and without midazolam-induced sedation. *Comp Med.* 2001;51(1):13-5.
13. Mariano M. Minisuíno (minipig) na pesquisa biomédica experimental: o Minipig br1. *Acta Cir Bras.* 2003;18(5):387-91.
14. Silva MHG. Estudo da lesão iatrogênica maior da via biliar na era da colecistectomia videolaparoscópica [dissertação]. São Paulo: Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo; 2001.
15. Goffi FS, Goffi Junior PS, Sorbello AA. Colecistectomia. In: Goffi FS. Técnica cirúrgica: bases anatômicas, fisiopatológicas e técnicas da cirurgia. 4ª ed. São Paulo: Atheneu; 2006. p.691-8.
16. Goldenberg A, Matone J, Gonzalez AM, Torrez FRA. Colecistopatia crônica calculosa. In: Lobo EJ, Lopes Filho GJ, Del Grande JC, Trivino T. Guia de gastrocirurgia. Barueri/SP: Manole; 2008. p.273-93.
17. Goldenberg S, Tonini K, Goldenberg A. A vídeo-cirurgia e a cirurgia experimental. In: Margarido NF, Saad Júnior R, Ceconello I, Martins JL, Paula RA. Videocirurgia. São Paulo: Colégio Brasileiro de Cirurgias; 1994. p.131-8.
18. Zantut LFC. Laparoscopia no diagnóstico do abdome agudo. In: Zilberstein B, Ceconello I, Felix VN, Pinotti HW. Infecção em cirurgia do aparelho digestivo. São Paulo: Robe Editorial; 1994. p.171-81.
19. Engler-Pinto Júnior P, Arab-Fadúl R, Bresciane C, Sobreira R, Souza LJ, Gama-Rodrigues J. Diagnóstico videolaparoscópico de agenesia da vesícula biliar em paciente adulto sintomático. *An Paul Med Cir.* 1996;123(1):29-33.
20. St-Pierre MV, Kullak-Ublick GA, Hagenbuch B, Meier PJ. Transport of bile in hepatic and non-hepatic tissues. *J Exp Biol.* 2001;204(10):1673-86.
21. Denk GU, Cai SY, Chen WS, Lin A, Soroka CJ, Boyer JL. A comparison of gene expression in mouse liver and kidney in obstructive cholestasis utilizing high-density oligonucleotide microarray technology. *World J Gastroenterol.* 2006;12(16):2536-48.
22. Dagher L, Moore K. The hepatorenal syndrome. *Gut.* 2001;49(5):729-37.
23. Cárdenas A. Hepatorenal syndrome: a dreaded complication of end-stage liver disease. *Am J Gastroenterol.* 2005;100(2):460-7.

24. Lang F, Tschernko E, Häussinger D.. Hepatic regulation of renal function. *Exp Physiol.* 1992;77(5):663-73.
25. Lima DX. Efeito da icterícia obstrutiva na morfologia e função renal após nefrectomia em rato [tese]. Belo Horizonte: Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais; 2007.
26. Brasileiro Filho G. *Bogliolo patologia*. 6ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2000.
27. Contran RS, Kumar V, Collins T. *Robbins: patologia estrutural e funcional*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001. p.44-100.
28. Roselino JE, Silva Junior OC, Ceneviva R. Lack of control of liver gluconeogenesis in cholestatic rats with reduced portal blood flow. *Hepatology.* 1992;16(4):1055-60.
29. Coles EH. *Patologia clínica veterinária*. 3ª ed. São Paulo: Manole; 1994. p.185-219.
30. Thrall MA. *Hematologia e bioquímica clínica veterinária*. São Paulo: Roca; 2007.
31. Hardikar W, Suchy FJ. Hepatobiliary function. In: Boron WF, Boulpaep EL. *Medical physiology*. Philadelphia: WB Saunders; 2003. p.975-1002.
32. Gonzalez FHD, Silva SC. *Introdução a bioquímica clínica veterinária*. Porto Alegre: UFRGS; 2006.
33. Kramer JW, Hoffmann WE. Clinical enzymology. In: Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 5ª ed. San Diego: Academic Press; 1997. p.303-25.
34. Jorge SG. Exames laboratoriais [Internet]. Campinas-SP; 2006 [acesso em 2010 Nov 06]. Disponível em: <http://hepcentro.com.br/exames.htm>
35. Crema E, Trentini EA, Llanos JC. Proposal of a new technique for bile duct reconstruction after iatrogenic injury: study in dogs and review of the literature. *Acta Cir Bras.* 2007;22(3):162-7.
36. Dias MA. Alterações histológicas do fígado, do fluxo portal e do óxido nítrico na obstrução/desobstrução biliar [dissertação]. Ribeirão Preto: Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo; 2006.
37. Ahrendt AS, Pitt HA. Vias biliares. In: Townsend CM, Beauchamp RD, Evers BM, Mattox KL. *Tratado de cirurgia: a base biológica da prática cirúrgica moderna*. 17ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2005. p.1597-641.
38. Greenberger NJ, Paumgartner G. Doenças da vesícula biliar e dos ductos biliares. In: Fauci AS, Kasper DL. *Harrison: medicina interna*. 15ª ed. Rio de Janeiro: McGraw Hill; 2001. p.1882-94.
39. Willard M, Tvedten H, Turnwald GH. *Diagnóstico clinicopatológico práctico en los pequeños animales*. Buenos Aires: Inter-Médica; 2004.

40. Center AS, Hornbuckle WE, Hoskins JD. O fígado e o pâncreas. In: Hoskins JD. *Pediatria veterinária: cães e gatos do nascimento aos seis meses*. 2ª ed. Rio de Janeiro: Interlivros; 1997. p.172-204.
41. Prado IB, Santos MHH, Lopasso FP, Iriya K, Laudanna AA. Cholestasis im a murine experimental model: lesions include hepatocyte ischemic necrosis. *Rev Hosp Clin Fac Med Univ São Paulo*. 2003;58(1):27-32.
42. Silva Júnior OC, Coelho AFB, Souza MEJ, Picinato MANC, Franco CFF, Vanni JC, et al. Sensibilidade da fosfatase alcalina e da gama-glutamyltransferase como indicadores da obstrução biliar extra-hepática induzida em ratos. *Medicina (Ribeirão Preto)*. 1993;26(1):41-4.
43. Zlotowski P, Corrêa AMR, Rozza DB, Driemeier D, Mallmann CA, Migliavacca FA. Surto de aflatoxicose em suínos no Estado do Rio Grande do Sul. *Pesqui Vet Bras*. 2004;24(4):207-10.
44. Pozzi CR, Arcano JRP, Arcano Júnior I, Fagundes H, Corrêa B. Aspectos relacionados à ocorrência e mecanismo de ação de fumonisinas. *Cienc Rural*. 2002;32(5):901-7.
45. Leal PC, Cantanhede KL, Silva LM, Bezerra GFB, Viana GMC, Nascimento MDSB. Micotoxinas do *Fusarium* e seu potencial carcinogênico. *NewsLab*. 2005;70:76-88.
46. Doherty GM, Way LW. Trato biliar. In: Way LW, Doherty GM. *Cirurgia: diagnóstico e tratamento*. 11ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004. p.495-519.
47. Teixeira LV. Metabolismo do grupo heme [Internet]. Porto Alegre-RS; 2010 [acesso em 2010 Nov 06].. Disponível em: http://www6.ufrgs.br/favet/lacvet/restrito/pdf/heme_luciele.pdf
48. Meyer DJ, Coles EH, Rich LJ. *Medicina de laboratório veterinária: interpretação e diagnóstico*. São Paulo: Roca; 1995.
49. Jorge GL, Leonardi LS, Boin IFSF, Silva Júnior OC, Escanhoela CAF. Novo modelo experimental de obstrução biliar em ratos Wistar. *Acta Cir Bras*. 2001;16(2):75-81.
50. Aguiar GB, Oliveira CIB, Sousa e Silva Júnior JB, Santos LS, Vieira SC. Lesão iatrogênica de vias biliares. *Rev Col Bras Cir*. 2005;32(2):69-73.
51. Marotta A. Validação do método de mensuração da pressão intravesical como indicador da pressão intra-abdominal durante colecistectomia videolaparoscópica em pacientes adultos portadores de litíase vesicular [dissertação]. São Paulo: Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo; 2006.
52. Rothuizen J. Icterícia. In: Ettinger SJ, Feldman EC. *Tratado de medicina interna veterinária: doenças do cão e do gato*. 5ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004. p.218-20.
53. Tomasich FDS, Dias AA, Simões MLPB, Pacheco AM, Costa PB, Piechnik J. Modelo experimental de icterícia obstrutiva: avaliação por meio da bioimpedância. *Rev Col Bras Cir*. 2006;33(1):15-8.

54. Silva Júnior OC, Ceneviva R, Rizzo CC, Sankarankutty AK, Granato RG, Menegazzo LAG. Alterações hepáticas na icterícia obstrutiva. *Medicina (Ribeirão Preto)*. 1997;30(1):165-72.
55. Garcia-Navarro CEK. Manual de urinálise veterinária. São Paulo: Varela; 2005.
56. Cunha JEM, Bacchella T, Machado MCC, Penteadó S, Jukemura J. Coledocolítíase. In: Gayotto LCC, Alves VAF. Doenças do fígado e vias biliares. São Paulo: Atheneu; 2001. p.1075-86.
57. Melges Júnior AM. Efeitos da drenagem biliodigestiva transpapilar ou extrapapilar sobre o sistema hepatobiliar de cães [dissertação]. São Paulo: Escola Paulista de Medicina, Universidade de São Paulo; 2000.
58. Gonçalves GF, Acco A, Sanches AW, Romagnolli P, Ribeiro EA, Cunha CG. Cálculo biliar em cães: relato de casos. *Arq Cienc Vet Zool Unipar*. 2004;7(2 Supl):32.
59. Nyland TG, Mattoon JS, Herrgesell EJ, Wisner ER. Fígado. In: Nyland TG, Mattoon JS. *Ultra-som diagnóstico em pequenos animais*. 2ª ed. São Paulo: Roca; 2005. p.95-130.
60. Gunderman RB. Fundamentos de radiologia: apresentação clínica, fisiopatologia, técnicas de imagens. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2007.

Recebido em: 16/01/2012

Aceito em: 27/11/2012

AVALIAÇÃO DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE *Ximenia americana* NO PROCESSO CICATRICIAL DE FERIDAS CUTÂNEAS EXPERIMENTAIS EM CAPRINOS

Paulo Vinícius Tertuliano Marinho¹
Pedro Isidro da Nóbrega Neto²
Daniel Pedrosa³
Angélica Ramalho de Araújo Leite⁴
Syduane Moraes Leite Ramos⁵
Antônio Flávio Medeiros Dantas⁶
Bruno Watanabe Minto⁷

RESUMO

Foram utilizados seis caprinos adultos da raça Moxotó, objetivando-se estudar os aspectos morfológicos e histopatológicos do processo cicatricial de feridas cutâneas por segunda intenção. Foram compostos dois grupos experimentais, um constituído pelas feridas cutâneas tratadas com solução de NaCl a 0,9% (grupo controle) e o outro formado pelas feridas tratadas com a pomada de *Ximenia americana* (grupo tratamento). As lesões foram tratadas diariamente, observando-se a evolução de cada ferida quanto à retração centrípeta (7º, 14º, 21º e 28º dias de pós-operatório - DPO) e aspecto macroscópico (1º, 2º, 4º, 6º, 7º, 14º, 21º e 28º DPO). Para avaliação histológica do processo cicatricial, foram realizadas biopsias aos 7º, 14º, 21º e 28º DPO. Cada fragmento foi avaliado quanto à intensidade da reação inflamatória, à presença de tecido de granulação caracterizado pela fibroblasia e neovascularização, ao aspecto das fibras colágenas e ao grau de reepitelização. Finalizado o experimento, a análise estatística revelou poucas variações significativas no estudo comparativo entre os tratamentos. Concluiu-se que a *X. americana* quando usada como forma de pomada utilizando gordura vegetal como veículo, não estimula o processo cicatricial.

Palavras-chave: cicatrização, pele, fitoterápico

EVALUATION OF THE HYDROALCOHOLIC EXTRACT OF *Ximenia americana* IN THE CICATRICIAL PROCESS OF EXPERIMENTAL CUTANEOUS WOUNDS IN GOATS

ABSTRACT

Six Moxotó adults goats were used to study the morphological and histopathological aspects of the cicatricial process of cutaneous wounds for second intention. Were divided into two experimental groups, one consisting of the wounds treated with NaCl 0.9% (control group) and another including the wounds treated with the ointment of *Ximenia americana* (treatment group). The lesions were treated daily, observing the evolution of each wound how much to the centripetal retraction (7th, 14th, 21th and 28th postoperative day - POD) and macroscopic

¹ Médico Veterinário formado pela Universidade Federal de Campina Grande. Atualmente é residente da cirurgia de pequenos animais da UNESP - Jaboticabal, SP. Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária

² Professor de Anestesiologia e Cirurgia Veterinária da Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária, UFCG, Patos-PB

³ Residente de Clínica Médica e Cirúrgica de Grandes Animais, UFCG

⁴ Mestranda em Medicina Veterinária, UFCG

⁵ Médica Veterinária Autônoma

⁶ Professor de Patologia Animal, Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária, UFCG

⁷ Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, FCAV, UNESP-Jaboticabal, SP

aspect (1st, 2nd, 4th, 6th, 7th, 14th, 21th and 28th POD). For histological evaluation of cicatricial process, biopsies were performed at 7th, 14th, 21th and 28th POD. Each fragment was evaluated for intensity of inflammation, the presence of granulation tissue characterized by fibroblasia and neovascularization, the aspect of collagen fibers and degree of reepithelialization. Finished the experiment, statistical analysis did not disclose significant variations in the comparative study between the treatments. It was concluded that the *X. americana* as ointment using vegetal fat as vehicle, does not stimulates the cicatricial process.

Keywords: healing, skin, phytoteraphy

EVALUACIÓN DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO de *Ximena americana* EN EL PROCESO DE CICATRIZACIÓN DE HERIDAS CUTÁNEAS EXPERIMENTALES EN CAPRINOS

RESUMEN

Se utilizaron seis caprinos adultos de la raza Moxotó, con el objetivo de estudiar la morfología y la histopatología del proceso de cicatrización por segunda intención de heridas en la piel. Los animales fueron divididos en dos grupos experimentales, uno compuesto por individuos tratados con una solución de NaCl al 0,9% (grupo control) y el otro formado por individuos tratados con pomada de *Ximena americana* (grupo en tratamiento). Las lesiones fueron tratadas diariamente y se observó la evolución de cada herida por medio de retracción centrípeta (7, 14, 21 y 28 días después de la cirugía - DPO) y evaluación macroscópica (1, 2, 4, 6, 7, 14, 21 y DPO 28). Para la evaluación histológica, se realizaron biopsias a los 7, 14, 21 y 28 DPO. En cada fragmento se evaluó la intensidad de la inflamación y la presencia de tejido de granulación caracterizado por fibroblasia y neovascularización, aspecto de las fibras de colágeno y grado de reepitelización. Después de la finalización del experimento, el análisis estadístico reveló algunas variaciones significativas en el estudio comparativo entre los tratamientos. Se concluyó que la *X. americana* en unguento con aceite vegetal como vehículo, no estimula el proceso de cicatrización.

Palabras clave: cicatrización, piel, fitoterapéutico

INTRODUÇÃO

A pele dos caprinos é um dos principais produtos desta espécie, juntamente com a carne e o leite. As lesões cutâneas, sobretudo as de origem perfuro-cortante, constituem-se afecções comuns, que acarretam processos inflamatórios que podem tornar-se crônicos e resultar em cicatrizes que diminuem a qualidade da pele, além de aumentar os custos para o criador (1). Sendo assim, a viabilização de tratamentos alternativos por meio de fitoterápicos tem conduzido as indústrias farmacêuticas a incessantes pesquisas na descoberta de drogas mais potentes, com o menor número possível de efeitos colaterais, menor quantidade de resíduos e otimizando o processo de cicatrização (2).

A *Ximena americana*, popularmente conhecida como ameixa silvestre, é uma espécie da família Olacacea, cosmopolita tropical, com ocorrência silvestre no Nordeste do Brasil (3). A sua casca, avermelhada e lisa, vem sendo usada para vários fins, tais como tratamento da lepra, malária, cefaléia, infecções da pele, hemorróidas e inflamações das mucosas, além de ser empregada como cicatrizante. A ação cicatrizante relatada na literatura pode ser justificada pela presença de algumas substâncias, como os taninos (4), que são substâncias corantes (avermelhadas) e adstringentes que atuam eliminando a água intracelular e formando um revestimento protetor pela precipitação das proteínas no leito lesionado, pela formação

complexa de tanino-proteína, criando uma camada protetora no leito da ferida, evitando assim a multiplicação bacteriana (5), favorecendo a reparação tecidual pela reestruturação do epitélio, estimulando a angiogênese, diminuindo a permeabilidade e exsudação da ferida e ainda estimulando os miofibroblastos, fundamentais na cicatrização (6).

Apesar do grande e antigo emprego popular, a literatura médica não relata estudos sobre a eficácia do uso tópico da ameixa silvestre em feridas cutâneas em caprinos, o que motivou a realização desta pesquisa. Dessa forma, sendo os caprinos uma espécie onde as lesões cutâneas são muito comuns, tornou-se instigante o estudo dos efeitos terapêuticos dessa planta na aceleração do processo cicatricial, visando sua utilização como mais uma alternativa para o tratamento de feridas.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

Foram utilizados seis caprinos da raça Moxotó, três machos e três fêmeas, adultos, hípidos, pesando $18,5 \pm 2,8$ kg (média \pm desvio padrão). Os animais foram mantidos em um curral coletivo, sendo alimentados com feno de capim tifton (*Cynodon dactylon*) e água *ad libitum*, além de concentrado à base de farelo de milho (100 g/animal/dia).

Extrato hidroalcoólico de *Ximenia americana*

A casca da planta foi triturada manualmente, pesada e homogeneizada. A tintura foi obtida usando 500 mL de álcool de cereais, 500 mL de água destilada e 200 gramas da casca fresca e triturada da ameixa silvestre. Após repouso da maceração por sete dias, em recipiente de vidro tampado e envolto com papel laminado, a solução foi filtrada em funil com gazes e mantida em garrafa de cor escura até o momento do uso.

A pomada foi produzida a partir da adição de 100 ml de tintura de ameixa a 500g de gordura vegetal, estando esta em temperatura ambiente. Em seguida o composto foi homogeneizado até atingir coloração avermelhada e consistência pastosa, característica de pomada, quando então foi armazenada em compartimento de vidro estéril.

Protocolo experimental

Foram produzidas duas feridas, medindo 2 x 2 cm, uma no hemitórax esquerdo e outra no direito, localizadas no terço médio da região torácica na altura do 8° ao 9° espaços intercostais, a cerca de 10 centímetros da linha dorsal. Foram compostos dois grupos experimentais, sendo um constituído pelas feridas cutâneas tratadas com solução de NaCl a 0,9% (grupo controle - GC) e o outro formado pelas feridas tratadas com a pomada de *X. americana* (grupo tratamento - GT).

Aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP), sob protocolo de número 129/2009.

Técnica operatória

Após jejum alimentar por 12 horas os animais foram sedados com xilazina⁸, na dose de 0,2 mg/kg, pela via intramuscular (IM).

Realizou-se tricotomia de cerca de 20 x 15 centímetros, em orientação dorso-ventral, no terço médio de cada hemitórax, iniciando-se a cerca de cinco centímetros ventralmente às

⁸ Xilazin 2% - Syntec do Brasil Ltda.

apófises dorsais das vértebras torácicas. Em seguida foi realizada a anestesia local infiltrativa subcutânea no local da realização da ferida, com lidocaína 1% (lidocaína 2% com vasoconstrictor⁹ diluída com igual volume de solução fisiológica 0,9%), na dose de 0,5 mL/kg, em cada hemitórax.

Os animais foram posicionados em decúbito lateral e a antisepsia do campo operatório foi realizada com iodopovidona 10%¹⁰; realizou-se então a demarcação das dimensões da ferida empregando-se um paquímetro (Figura 1a). Em seguida realizou-se a exérese da pele, pela incisão (Figura 1b) e dissecação do tecido subcutâneo, retirando-se o fragmento cutâneo (Figura 1c) e expondo-se a fáscia muscular (Figura 1d). A hemostasia foi realizada, quando necessário, pelo tamponamento compressivo sobre os vasos capilares utilizando gazes esterilizadas. Em seguida, o mesmo procedimento foi realizado no hemitórax contralateral.

Os animais foram tratados com flunixin meglumine¹¹, na dose de 1 mg/kg, via IM, imediatamente, 24 e 48 horas após a cirurgia.

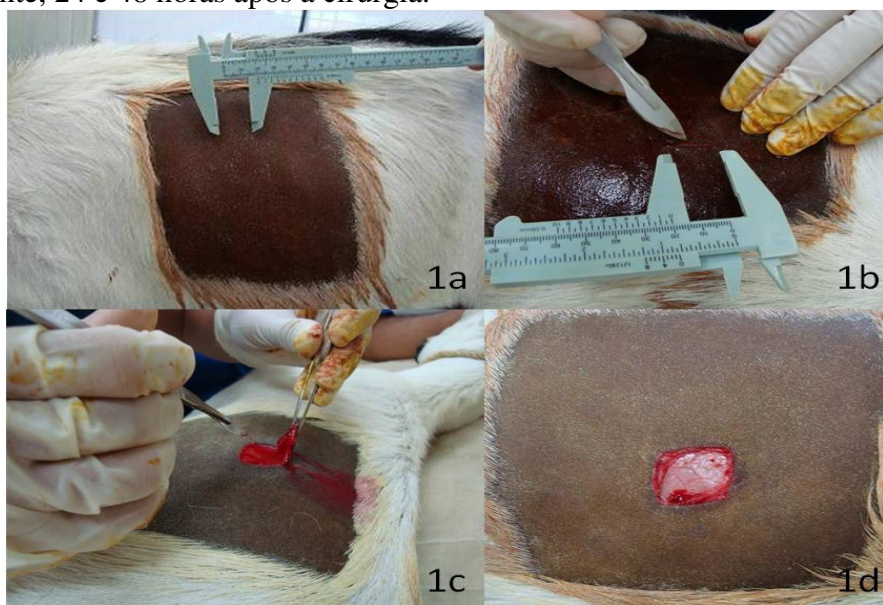


Figura 1. (a) Demarcação do tamanho da ferida; (b) incisão para retirada do flap cutâneo; (c) retirada do flap cutâneo; (d) ferida cutânea com 4 cm² de área.

Tratamento das feridas

A escolha do hemitorax para aplicação dos tratamentos foi realizada ao acaso no primeiro animal operado e de forma alternada nos demais, de modo que os grupos tratamento e controle foram equitativamente distribuídos entre ambas as antimerias (direita e esquerda).

Com o intuito de obterem-se feridas contaminadas, nenhum tratamento tópico foi realizado nas primeiras 24 horas pós-operatórias. Após este período as feridas foram tratadas a cada 24 horas, até a completa cicatrização. Do segundo ao sétimo dia pós-operatório as feridas foram protegidas com gazes contendo os produtos destinados aos tratamentos das mesmas. Ataduras de crepom foram usadas para proteção adicional e fixação das gazes nas feridas. A partir do oitavo dia pós-operatório as feridas de ambos os grupos permaneceram sem curativos oclusivos.

⁹ Anestésico Bravet 2% – Laboratório Bravet Ltda.

¹⁰ Iodopovidona 10% - Icaraí do Brasil Indústria e Comércio Ltda.

¹¹ Desflan 5% - Ouro Fino Saúde Animal Ltda.

Parâmetros avaliados:

Morfometria

A medida das áreas das feridas foi realizada por meio de paquimetria, conforme método preconizado por Prata et al. (7). A partir da mensuração do maior comprimento e da maior largura com o paquímetro, a área atual da ferida foi estabelecida a partir da fórmula: $A_f = C$ (comprimento) x L (largura).

Após a determinação da área foi calculado o percentual de contração (%C) das feridas, pela fórmula descrita por Coelho, Rezende e Tenório (8): $\%C_o = (A_i - A_f / A_i) \times 100$, onde A_i é a área no período inicial (primeiro dia pós-operatório) e A_f é a área mensurada no dia pós-operatório correspondente.

Todas as mensurações de morfometria foram realizadas no 7º (D7), 14º (D14), 21º (D21) e 28º (D28) dias pós-operatórios.

Avaliação macroscópica

A avaliação macroscópica constituiu-se da inspeção das feridas, observando-se a presença ou ausência de edema, secreção, hiperemia, sangramento, dor, tecido de granulação e tecido cicatricial. Estes parâmetros foram avaliados no primeiro (D1), segundo (D2), quarto (D4), sexto (D6), sétimo (D7), décimo quarto (D14), vigésimo primeiro (D21) e vigésimo oitavo (D28) dia pós-operatório, segundo a escala: (0) ausente, (1) mínimo, (2) moderado e (3) intenso.

Avaliação microscópica

Para avaliação histológica do processo cicatricial, foram realizadas biópsias de ambas as feridas experimentais (grupos controle e tratamento), abrangendo o leito e a borda da ferida, no sétimo (D7), 14º (D14), 21º (D21) dias pós-operatórios, alternando o local da punção entre os limites dorsal e ventral e o centro da ferida, respectivamente.

Previamente à realização da biópsia foi realizado bloqueio anestésico local, da mesma forma que o realizado para a cirurgia. Realizou-se tricotomia ao redor da ferida cirúrgica e antissepsia com Iodopovidona 10% e logo após procedeu-se a coleta do material, utilizando um *punch* de seis milímetros de diâmetro. Os fragmentos de pele foram conservados em formol a 10%, fixados, clivados, diafanizados, embebidos em parafina e cortados em micrótomos, na espessura de quatro ou cinco micras. A seguir, as lâminas montadas foram coradas pela técnica de hematoxilina e eosina e analisadas em microscópio óptico. Cada fragmento foi avaliado quanto à intensidade da reação inflamatória, à presença de tecido de granulação caracterizado pela fibroplasia e neovascularização, ao aspecto das fibras colágenas e ao grau de reepitelização. Estes parâmetros foram avaliados de acordo com Santos et al. (9), segundo a escala: (0) ausente, (1) mínimo, (2) moderado, (3) intenso.

Análise estatística

A análise estatística foi realizada em microcomputador, empregando o programa Graphpad InStat. Para análise dos dados de morfometria empregou-se o teste *t* de Student para amostras independentes, com correção de Welch. Os dados das avaliações macro e microscópica foram avaliados pelo teste de Mann-Whitney. Para todos os testes considerou-se $P < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Morfometria

Apesar de haver-se empregado o paquímetro para demarcação das feridas com 4 cm² de área, a área média das feridas criadas, ao primeiro dia de pós-operatório foi de 4,56 cm². O aumento inicial da área da ferida ocorreu devido à retração centrífuga da pele circundante, tal como afirmam Coelho, Rezende e Tenório (8) e Falcão et al. (10), que logo após a retirada de um fragmento cutâneo ocorre um aumento da área lesionada devido à retração das margens da ferida, conseqüente à ação centrífuga das fibras elásticas da pele.

A Figura 2 ilustra a regressão do tamanho das feridas dos grupos controle e tratamento, ao longo dos períodos de avaliação.

No D7 foi verificada uma redução média de 34,6% da área da ferida inicial no GC, enquanto no GT esta redução foi significativamente menor, de 11,6%. A área média do GC foi de 2,98 cm² e do GT foi de 4,03 cm², diferença esta estatisticamente significativa (Tabela 1). Isto pode ser explicado com base na fase pré-exponencial da contratilidade do tecido de granulação, onde as feridas aumentam de tamanho (cerca de 15%) imediatamente após a excisão, devido à tensão externa gerada pelo tecido intacto e na seqüência, a contratilidade do tecido de granulação aumenta lentamente, pois há um aumento da expressão de actina e de fibronectina (11). No GT, esta fase possivelmente foi afetada pelo veículo utilizado para o preparo da pomada, que atuou de forma antagônica na expressão da actina e fibronectina.

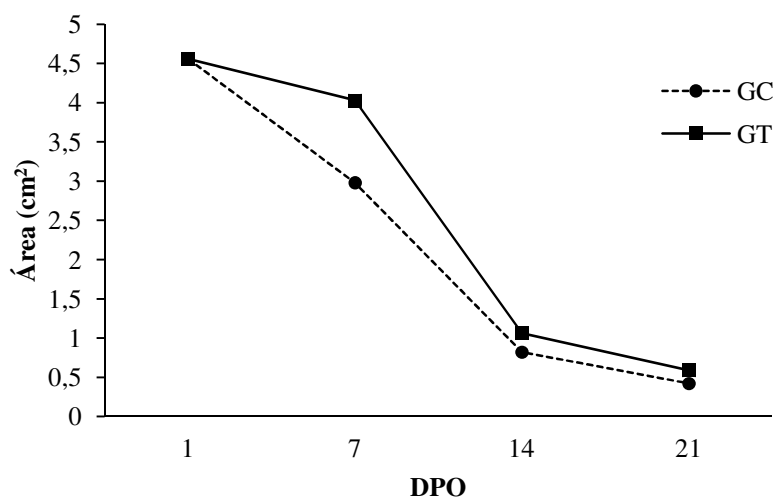


Figura 2. Variação média da área (cm²) de feridas cutâneas de caprinos submetidas a tratamento com solução de NaCl 0,9% (grupo controle – GC) e pomada de ameixa silvestre (*X. americana*) (grupo tratamento – GT), segundo os dias de pós-operatório (DPO).

No D14 não foi constatada diferença significativa entre os grupos quanto às áreas das feridas, que foram de 1,06 cm² no GT e 0,82 cm² no GC, com percentuais de contração de 76,7% no GT e de 82,0% no GC. A epitelização ocorreu de forma normotrófica, tendo ocorrido redução acentuada da área da lesão em todas as feridas em relação ao D7, demonstrando que o mecanismo de contração encontra-se mais intenso neste período (Tabela 1). Na presente avaliação, este período pode ser classificado como o período exponencial da contratilidade da ferida, tendo sido observada grande quantidade de fibroplasia e de tecido de granulação, reconhecidos como facilitadores da contração (11).

Tabela 1. Áreas médias e percentuais médios (\pm desvio padrão) de contração em relação ao tamanho original de feridas cutâneas de caprinos submetidas a tratamento com solução de NaCl 0,9% (grupo controle – GC) ou com pomada de ameixa silvestre (*X. americana*) (grupo tratamento – GT), segundo os dias de pós-operatório (DPO).

Grupo	Dias Pós-Operatório (DPO)					
	1	7	14	21	28	
GC	Área média (cm ²)	4,56 \pm 0,08 ^a	2,98 \pm 0,59 ^b	0,82 \pm 0,17 ^c	0,42 \pm 0,12 ^d	0,30 \pm 0,08 ^d
	% Contração	0,0 \pm 0,0	34,6 \pm 3,10 ^a	82,0 \pm 3,82 ^b	90,8 \pm 2,72 ^c	93,4 \pm 1,96 ^c
GT	Área média (cm ²)	4,56 \pm 0,17 ^a	4,03 \pm 0,78 ^{*a}	1,06 \pm 0,34 ^b	0,59 \pm 0,26 ^c	0,45 \pm 0,25 ^c
	% Contração	0,0 \pm 0,0	11,6 \pm 17,13 ^{*a}	76,7 \pm 7,5 ^b	87,1 \pm 5,90 ^c	90,1 \pm 5,67 ^c

* significativamente diferente do grupo controle, neste momento experimental.

^{a, b, c, d} Sobrescritos diferentes denotam diferenças significativas entre momentos, num mesmo grupo.

Nos D21 e D28 as áreas das feridas de ambos os grupos se equivaleram e foram significativamente menores que as dos demais momentos experimentais, com um percentual de contração entre 87,1 e 93,4% (Tabela 1). Em ambos os grupos as médias de contração das feridas nos momentos D21 e D28 se equivaleram estatisticamente e foram maiores que os demais momentos, embora a amplitude de contração com relação ao D14 tenha sido menor que a detectada entre este e o D7. Este achado mais uma vez comprova a citação de Mott, Clark e Stelljes (11), de que a fase em que ocorre maior redução da ferida cirúrgica é até a segunda semana após a lesão, sendo esta caracterizada pela contração logarítmica com redução acentuada da área da ferida, correspondente ao nível máximo de expressão de actina de músculo liso.

Avaliação macroscópica

Não houve alterações significativas entre os grupos quanto às variáveis edema, secreção, sangramento, dor, tecido cicatricial e tecido de granulação. Quanto à hiperemia, no momento D4 valores significativamente maiores foram observados no grupo tratamento (Tabela 2).

Edema, secreção, sangramento e dor foram observados apenas até o D4, em ambos os grupos (Tabela 2). Estes achados já eram esperados, pois são comuns na fase inflamatória da cicatrização, período inicial do processo, que dura em média de três a cinco dias (12) e caracteriza-se por vasoconstricção e hemostasia transitórias, seguidas por vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular, com extravasamento de fluido para a área lesionada e tecido subcutâneo adjacente à ferida, ocasionando os sinais de calor, rubor, edema e dor (13).

A hiperemia foi observada até o D4 no GT, sendo considerada moderada. No GC foi considerada moderada no D1 e mínima no D2 (Tabela 2). A tendência de maior hiperemia no GT, alcançando significância estatística no D4, pode ser explicada pela alta concentração de tanino presente na ameixa silvestre (4), o qual atua estimulando a angiogênese, dando aspecto hiperêmico ao leito da ferida no início da cicatrização. Esses achados corroboram os resultados descritos por Modolin (14), que cita que nas cicatrizes cutâneas, a coloração passa, gradualmente, do rosado ao esbranquiçado devido à redução da vascularização no tecido.

O tecido cicatricial foi observado em quantidade mínima a partir do D6, no GT, e do D7, no GC, passando a ser considerado moderado a partir do D14 em ambos os grupos (Tabela 2). O tecido de granulação foi observado a partir do D6 no GT, e do D14 no GC. Em ambos os grupos este tecido evoluiu de forma crescente, sendo as médias de D14, D21 e D28 significativamente maiores que as demais, porém iguais entre si (Tabela 2). Este tecido é essencial para a cicatrização, pois carrega fatores de crescimento, como interleucinas e outros elementos que ajudam na reparação das feridas, além de conferir uma barreira protetora contra micro-organismos. Estes eventos aconteceram mais rapidamente no GT quando

comparado com o GC devido, provavelmente, à ação da ameixa silvestre que é rica em tanino, o qual age como adstringente e tem capacidade de coagular albuminas, criando uma camada protetora no leito da ferida, estimulando a granulação (5).

Tabela 2. Valores médios e desvios padrão da avaliação macroscópica de feridas cutâneas de caprinos submetidas a tratamento com solução de NaCl 0,9% (grupo controle - GC) ou com pomada de ameixa silvestre (*X. americana*) (grupo tratamento - GT), segundo a escala: (0) ausente, (1) mínimo, (2) moderado e (3) intenso.

Variável	Grupo	Tempo pós-operatório (dia)							
		1	2	4	6	7	14	21	28
Edema	GC	1,7±0,8 ^a	0,8±0,8 ^a	0,3±0,8 ^b	0,0±0,0 ^b	0,0±0,0 ^b	0,0±0,0 ^b	0,0±0,0 ^b	0,0±0,0 ^b
	GT	1,7±0,8 ^a	0,8±0,8 ^a	0,3±0,5 ^b	0,0±0,0 ^b	0,0±0,0 ^b	0,0±0,0 ^b	0,0±0,0 ^b	0,0±0,0 ^b
Secreção	GC	1,0±0,6 ^a	0,7±0,8 ^a	0,7±0,5 ^a	0,0±0,0 ^a	0,0±0,0 ^a	0,0±0,0 ^a	0,0±0,0 ^a	0,0±0,0 ^a
	GT	0,6±0,5 ^a	0,7±1,0 ^a	0,3±0,8 ^a	0,0±0,0 ^a	0,0±0,0 ^a	0,0±0,0 ^a	0,0±0,0 ^a	0,0±0,0 ^a
Hiperemia	GC	1,8±0,4 ^a	0,8±0,8 ^b	0,3±0,5 ^b	0,0±0,0 ^b	0,0±0,0 ^b	0,0±0,0 ^b	0,0±0,0 ^b	0,0±0,0 ^b
	GT	2,3±0,8 ^a	1,3±0,5 ^b	1,8±1,2 ^{*ab}	0,0±0,0 ^c	0,0±0,0 ^c	0,0±0,0 ^c	0,0±0,0 ^c	0,0±0,0 ^c
Sangramento	GC	0,6±0,8 ^a	0,0±0,0 ^a	0,7±0,8 ^a	0,0±0,0 ^a	0,0±0,0 ^a	0,0±0,0 ^a	0,0±0,0 ^a	0,0±0,0 ^a
	GT	0,3±0,5 ^a	0,0±0,0 ^a	0,2±0,4 ^a	0,0±0,0 ^a	0,0±0,0 ^a	0,0±0,0 ^a	0,0±0,0 ^a	0,0±0,0 ^a
Dor	GC	0,8±1,3 ^a	0,3±0,8 ^a	0,2±0,4 ^a	0,0±0,0 ^a	0,0±0,0 ^a	0,0±0,0 ^a	0,0±0,0 ^a	0,0±0,0 ^a
	GT	1,1±1,3 ^a	0,0±0,0 ^a	0,3±0,8 ^a	0,0±0,0 ^a	0,0±0,0 ^a	0,0±0,0 ^a	0,0±0,0 ^a	0,0±0,0 ^a
Tecido cicatricial	GC	0,0±0,0 ^a	0,0±0,0 ^a	0,0±0,0 ^a	0,0±0,0 ^a	0,8±0,8 ^a	1,7±0,8 ^b	2,0±0,0 ^b	1,8±0,4 ^b
	GT	0,0±0,0 ^a	0,0±0,0 ^a	0,0±0,0 ^a	0,5±0,5 ^a	1,0±0,6 ^{ab}	2,0±0,6 ^c	1,5±0,5 ^{bc}	1,8±0,4 ^c
Tecido de granulação	GC	0,0±0,0 ^a	0,0±0,0 ^a	0,0±0,0 ^a	0,0±0,0 ^a	0,0±0,0 ^a	1,4±0,8 ^b	1,1±0,4 ^b	1,3±0,5 ^b
	GT	0,0±0,0 ^a	0,0±0,0 ^a	0,0±0,0 ^a	0,3±0,5 ^a	0,3±0,5 ^a	2,0±0,6 ^b	1,8±0,4 ^b	1,8±0,4 ^b

*Significativamente diferente do grupo controle, neste momento experimental.

^{a, b, c}Sobrescritos diferentes, denotam diferenças significativas entre momentos, num mesmo grupo.

No D28 as feridas de ambos os grupos apresentaram completa cicatrização com epitelização, formando uma cicatriz que apresentava as características de textura e elasticidade da pele próxima à ferida, correspondendo à fase de maturação da cicatrização, conforme relata Koopmann (15).

Avaliação microscópica

Não foram detectadas diferenças significativas entre os tratamentos em nenhuma das variáveis estudadas na análise histológica (Tabela 3).

Neste estudo, o tecido de granulação foi caracterizado pela proliferação fibroblástica e pela presença de capilares neoformados. A fibroplasia foi observada nos dois grupos já no D7, o que está de acordo com a descrição de Singer e Clark (16), de que por volta do 4º dia de evolução da ferida inicia-se a proliferação de fibroblastos e o brotamento de novos capilares que constituem o tecido de granulação. A fibroplasia permaneceu intensa no D14 e no D21, o que discorda parcialmente do relatado por Stadelmann, Digenis e Tobin (17), que afirmam que a maior proliferação de fibroblastos é no 7º dia pós-operatório, os quais surgem na ferida entre o segundo e terceiro dia de cicatrização, com predominância na primeira semana do processo. Possivelmente esta manutenção de intensa fibroplasia, mesmo 14 e 21 dias após a indução da ferida, deva-se à necessidade de maior formação de tecido de granulação que ainda não tinha atingido a homeostase, pois segundo Mandelbaum, Di Santis e Mandelbaum (18), a fibroplasia é extremamente importante na formação do tecido de granulação.

Tabela 3. Valores médios e desvios padrão da avaliação histológica de feridas cutâneas de caprinos submetidas a tratamento com solução de NaCl 0,9% (grupo controle – GC) ou com pomada de ameixa silvestre (*X. americana*) (grupo tratamento – GT), segundo os dias de pós-operatório (DPO), de acordo com a escala: (0) ausente, (1) mínimo, (2) moderado e (3) intenso.

DPO	Grupo Experimental	Achados histológicos				
		Reação Inflamatória	Tecido de Granulação (Fibroplasia)	Tecido de Granulação (Neovascularização)	Fibras Colágenas	Grau de Reepitelização
7	GC	2,8±0,4	3,0±0,0	1,2±0,4	0,7±0,5	0,0±0,0
	GT	2,7±0,5	2,8±0,4	1,3±0,5	0,3±0,5	0,0±0,0
14	GC	2,3±0,5	2,8±0,4	1,5±0,5	1,2±0,4	0,3±0,5
	GT	2,2±0,4	3,0±0,0	1,3±0,5	0,8±0,8	0,0±0,0
21	GC	1,7±0,5*	3,0±0,0	1,7±0,5	1,5±0,5*	1,0±0,9
	GT	2,2±0,4	3,0±0,0	1,3±0,5	1,3±0,5*	0,3±0,5

* Significativamente diferente do 7º dia pós-cirúrgico

O colágeno é importante em todas as fases da cicatrização da ferida, sendo fundamental na recuperação da força e integridade do tecido cicatricial (19). Durante o período de fibroplasia o colágeno é produzido de forma crescente, continuamente, até aproximadamente 21 dias, quando a homeostase é alcançada e a sua taxa de degradação equilibra-se com a sua síntese. Este fato foi observado no presente experimento, onde a quantidade de fibras colágenas aumentou com o passar dos dias, sendo significativamente maior no D21 que no D7, em ambos os grupos.

Quanto ao grau de reepitelização da ferida, os resultados encontrados em ambos os grupos e em todos os momentos foram considerados abaixo da média quando comparados com o citado por Silva (20), que trabalhando com feridas cutâneas em ratos obteve graus de reepitelização moderado a intenso no 21º dia pós-operatório, observando membrana basal bem definida e queratinização superficial. Medeiros et al. (21) citam que no 21º de evolução da ferida é normal a presença de crosta seca e tecido de cicatrização avançado e até mesmo a completa epitelização. O grau discreto de reepitelização observado neste experimento pode ser justificado pelo fato de as feridas cirúrgicas estarem muito pequenas no D21 e houve a necessidade da realização da biopsia justamente no leito da lesão, possivelmente envolvendo pouco tecido cicatricial de reepitelização, oriundo das bordas da ferida.

CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos neste experimento conclui-se que o emprego da *X. americana*, na forma de pomada, em feridas cutâneas de caprinos não estimula o processo cicatricial.

AGRADECIMENTOS

Ao Laboratório de Patologia Animal do HV/CSTR/UFCG, em especial ao mestrando José Glauco N. de Galiza; à professora Melânia Loureiro Marinho; e aos colegas Jorge Fábio e Jefferson Filgueira.

REFERÊNCIAS

1. Simplicio AA, Wander AE, Leite ER, Lopes EA. A caprino-ovinocultura de corte como alternativa para geração de emprego e renda. Sobral: Embrapa Caprinos e Ovinos; 2004. Documentos, 48.
2. Coelho JM, Antonelli AB, Silva DN, Carvalho TMMB, Pontes ERJC, Odashiro NA. O efeito da sulfadiazina de prata, extrato de ipê-roxo e extrato de barbatimão na cicatrização de feridas cutâneas em ratos. Rev Col Bras Cir. 2010;37:45-51.
3. Matos FJA. Plantas medicinais: guia de seleção e emprego das plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil. Fortaleza: Imprensa Universitária; 2007.
4. Veras AOM, Morais SM. Análise dos constituintes químicos de *Ximenia americana* Linn. In: Anais da 9ª Semana Universitária e Anais do 13º Encontro de Iniciação Científica da Universidade Estadual do Ceará; 2004, Fortaleza. Fortaleza: UECE; 2004.
5. Eurides D. Morfologia e morfometria da reparação tecidual de feridas cutâneas de camundongos tratadas com solução aquosa de barbatimão (*Stryphnodendron barbatiman* Martius). Rev Fac Zootec Vet Agron Uruguaiana. 1996;2/3:30-40.
6. Joshi AR, Joshi K. Indigenous knowledge and uses of medicinal plants by local communities of the Kali Gandaki Watershed Area, Nepal. J Ethnopharmacol. 2000;73: 175-83.
7. Prata MC, Haddad CM, Goldenberg S, Simões MJ, Moura LAR, Trabulsi LR. Uso tópico do açúcar em ferida cutânea: estudo experimental em rato. Acta Cir Bras. 1988;3:43-8.
8. Coelho MCOC, Rezende CMF, Tenório APM. Contração de feridas após cobertura com substitutos temporários de pele. Cienc Rural. 1999;29:297-303.
9. Santos LOM, Simões MLPB, Machado APB, Matisoski Filho GR, Endo PC, Gruen GR, et al. Efeito da somatotropina sobre a cicatrização de feridas cutâneas em ratos. Acta Cir Bras. 2002;17:220-4.
10. Falcão SC, Coelho ARB, Almeida EL, Galdino CAPM. Processo modificado de reprodução e amplificação de imagem para mensuração de área por planimetria: aplicação em feridas planas produzidas em cães, tratadas por curativos oclusivos de pele de rã. Braz J Vet Res Anim Sci. 2001;38:165-9.
11. Mott KJ, Clark DP, Stelljes LS. Regional variation in wound contraction of Mohs surgery defects allowed to heal by second intention. Dermatol Surg. 2003;29:712-22.
12. Hess CT. Tratamento de feridas e úlceras. 4ª ed. Rio de Janeiro: Reichmann e Affonso; 2002.
13. Probst CW. Cicatrização das feridas e regeneração de tecidos específicos. In: Slatter D. Manual de cirurgia veterinária. São Paulo: Manole; 1998. p.66-77.
14. Modolin M. Biologia da cicatrização dos tecidos. In: Melega J, Zanini S, Psillakis J. Cirurgia plástica reparadora e estética. 2ª ed. São Paulo: Medsi; 1992. p.9-25.

15. Koopmann C. Cutaneous wound healing. *Otolaryngol Clin North Am.* 1995;28:835-45.
16. Singer AJ, Clark RA. Cutaneous wound healing. *N Engl J Med.* 1999;341:738-46.
17. Stadelmann WK, Digenis AG, Tobin GR. Physiology and healing dynamics of chronic cutaneous wounds. *Am J Surg.* 1998;176(2 Suppl 1):26-38.
18. Mandelbaum SH, Di Santis EP, Mandelbaum MHS. Cicatrização: conceitos atuais e recursos auxiliares - Parte I. *An Bras Dermatol.* 2003;78:393-410.
19. Adzick NS. Cicatrização da ferida: características biológicas e clínicas. In: Sabiston JR, David C, Lyerly HK. *Tratado de cirurgia: as bases biológicas da prática cirúrgica moderna.* 15ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1999. v.1, p.194-206.
20. Silva DT. *Uso do Ipê-Roxo (Tabebuia avellaneda) na cicatrização de feridas cutâneas em ratos [dissertação].* Bahia: Universidade Federal da Bahia; 2006.
21. Medeiros CA, Dantas FAM, Rocha KFB, Azevedo IM, Jorge Neto J, Fracasso JF, et al. Tratamento de úlcera varicosa e lesões de pele com *Calendula officinalis* e/ou com *Stryphnodendron barbatiman* (vellozo) *martius*. *Rev Cienc Farm.* 2005;17:181-6.

Recebido em: 01/05/2012

Aceito em: 27/02/2013

EFEITOS DA NUTRIÇÃO, IDADE A DESMAMA E MASTITE SOBRE A QUALIDADE DO COLOSTRO E LEITE DE OVELHAS

Simone Fernandes¹
Edson Ramos de Siqueira²
Paulo Francisco Domingues³
Guilherme José Guimarães Pilan⁴

RESUMO

Vinte e nove ovelhas multíparas da raça Santa Inês, todas com o mesmo número de partos foram submetidas, a partir do 5º mês de gestação, a quatro tratamentos, em esquema fatorial 2 X 2 (nível de nutrição e idade à desmama) em delineamento inteiramente casualizado, sendo: 1: dieta composta apenas por silagem; desmama aos 45 dias; 2: dieta composta por silagem e concentrado; desmama aos 45 dias; 3: dieta à base de silagem; desmama aos 70 dias e 4: dieta composta por silagem e concentrado; desmama aos 70 dias. Coletaram-se amostras de colostro após o parto, e nas 24 e 48 horas subsequentes. Foram analisados, no colostro e no leite, os conteúdos de: sólidos totais, proteína, lactose e gordura. Houve efeito de dieta para gordura, proteína e sólidos totais do colostro tendo o grupo alimentado com silagem e concentrado, apresentado menores valores. Na porcentagem de gordura do leite, verificaram-se maiores valores para idade a desmama aos 70 dias (5,51%) do que aos 45 dias (4,32%). A composição química do leite aproximou-se dos valores obtidos para raças especializadas em produção de leite. A mastite subclínica não afetou a qualidade do leite.

Palavras-chave: composição química do leite, imunoglobulinas, ovinos

EFFECTS OF NUTRITION, WEANING AGE, AND MASTITIS ON THE QUALITY OF MILK AND COLOSTRUM FROM EWES

ABSTRACT

Twenty nine multiparae Santa Inês breed ewes, all of them with the same reproductive age, were submitted to four treatments in the last gestation month and during lactation. It was used a factorial design (two nutrition levels and two weaning ages), in the following way: 1: corn silage diet and weaning at the age of 45 days; 2: corn silage plus concentrate diet and weaning at the age of 45 days; 3: corn silage diet and weaning at the age of 70 days; 4: corn silage plus concentrate diet and weaning at the age of 70 days. Milk samples were collected weekly, starting at the second week after parturition, for somatic cell count. The content of protein, fat, lactose and total solids were analyzed in colostrum and milk. There was a diet effect for colostrum protein, fat and total solids. The ewe group fed corn silage plus concentrate presented the minor values. For milk fat percentage the best result was obtained for weaning at 70 days age (5.51%) versus (4.32%) observed at 45 days age. The milk chemical composition was similar to the values obtained by other authors for milk production breeds. The subclinical mastitis did not affect the milk quality.

Key Words: milk chemical composition, immunoglobulin, sheep

¹ Auxiliar Acadêmica do Departamento de Produção Animal - FMVZ- UNESP Botucatu

² Professor do Departamento de Produção Animal - FMVZ - UNESP Botucatu

³ Professor do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública - FMVZ - UNESP Botucatu

⁴ Pós-Graduando em Zootecnia pela FMVZ - Unesp - Botucatu.

EFFECTOS DE LA NUTRICIÓN, EDAD AL DESTETE Y PRESENCIA DE MASTITIS SOBRE LA CALIDAD DE LA LECHE Y EL CALOSTRO DE OVEJAS

RESUMEN

Veintinueve ovejas multíparas de la raza Santa Inés, todas con el mismo número de partos fueron sometidas a cuatro tratamientos a partir del 5° mes de gestación, en un diseño factorial 2 X 2 (nivel de nutrición y edad al destete) y delineamiento enteramente casualizado, siendo: 1: dieta compuesta apenas por ensilado; destete a los 45 días; 2: dieta compuesta por ensilado y concentrado; destete a los 45 días; 3: dieta a base de ensilado; destete a los 70 días y 4: dieta compuesta por ensilado y concentrado; destete a los 70 días. Se colectaron muestras de calostro después del parto, y a las 24 y 48 horas subsiguientes. En el calostro y en la leche fueron analizados, los contenidos de: sólidos totales, proteína, lactosa y grasa. Hubo efecto del alimento para grasa, proteína y sólidos totales del calostro. Así el grupo que era alimentado con ensilado y concentrado presentó valores menores con relación a estos parámetros. En el porcentaje de grasa de la leche se observaron valores mayores a los 70 días (5,51%) que a los 45 días (4,32%) después del destete. La composición química de la leche fue próxima a los valores obtenidos para las razas especializadas en producción de leche. La mastitis sub-clínica no afectó la calidad de la leche.

Palabras-clave: composición química de la leche, inmunoglobulinas, ovinos

INTRODUÇÃO

A importância em pesquisar a produção e a composição do leite ovino deve-se ao fato de representar fonte de nutrientes para os cordeiros, além de sua adequação para a produção de queijos e derivados, de relevância econômica no mercado internacional.

A produção e a composição do leite apresentam altas correlações com o crescimento dos cordeiros recém-nascidos (1), e o colostro, rico em imunoglobulinas, é o principal responsável pela sobrevivência nas primeiras horas de vida (2).

Em pesquisa realizada (3), ovelhas especializadas em produção de carne produziram colostro com maior proporção de imunoglobulinas e menor teor de gordura do que ovelhas leiteiras ($P < 0,05$).

A composição do leite ovino é muito variável, devido aos fatores genéticos e ambientais; e pode ser alterada pela qualidade da dieta, sendo que níveis nutricionais inferiores às necessidades podem diminuir a porcentagem de gordura, proteína e sólidos totais e causar aumento dos valores da lactose (4). Também a mastite pode afetar a composição quantitativa e qualitativa do leite (5); representando, portanto, um importante risco de competitividade no setor econômico da produção (6).

O número de células somáticas aumenta consideravelmente em processos inflamatórios ou patológicos da glândula mamária e provoca no leite uma redução da gordura, da caseína e dos sólidos totais, e um aumento de proteínas (7). Ovelhas sadias tiveram menor porcentagem de proteína no leite do que ovelhas acometidas por mastite ($P < 0,01$), fato explicado pela adição de células sanguíneas ao leite das fêmeas doentes (8).

Os agentes contagiosos são transmitidos fundamentalmente no momento da ordenha ou no ato de mamar do cordeiro. Dentre eles destacam-se: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Corynebacterium* sp (9).

A ocorrência de mastite em ovelhas da raça Santa Inês nos mais variados sistemas de produção, tem sido relatada por criadores e técnicos afetando a produção de leite e a sobrevivência dos cordeiros, principalmente. Este trabalho foi conduzido com o objetivo de submeter ovelhas multíparas da raça Santa Inês a dois níveis de nutrição no pré-parto e

durante a lactação (apenas silagem e silagem mais concentrado), e a duas idades de desmama (45 e 70 dias), para avaliar os efeitos sobre a composição do colostro e do leite, e a concentração de imunoglobulinas. As consequências da mastite subclínica sobre essas variáveis também foram estudadas.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na área de Produção de Ovinos da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, Câmpus de Botucatu, situada a uma latitude de 623 m, tendo como coordenadas geográficas 48° 24' 00'' de latitude sul.

Foram utilizadas 29 ovelhas multíparas da raça Santa Inês, todas com o mesmo número de partos, foram selecionadas após exame clínico, para descartar eventuais problemas de úbere, e divididas por quatro tratamentos, em esquema fatorial 2 x 2 (nível nutricional baixo e alto e duas idades à desmama, 45 e 70 dias), em delineamento inteiramente casualizado, sendo: 1 (n:7): dieta composta por silagem de milho; desmama aos 45 dias; 2 (n:7): dieta composta por silagem de milho e concentrado; desmama aos 45 dias; 3 (n:8): dieta composta por silagem de milho; desmama aos 70 dias; e 4 (n:7): dieta composta por silagem de milho e concentrado; desmama aos 70 dias.

As ovelhas foram confinadas em baias coletivas de 6,60 m² com cama de bagaço de cana, a partir do início do 5º mês de gestação até a desmama, com água e sal mineral à vontade. As dietas dos tratamentos 1 e 3 (nível nutricional baixo) foram compostas por silagem de milho (30,13% MS; 6,81% PB; 29,6% FDA; 60,86% FDN e 28,4% FB), com objetivo de aproximar-se da condição do pasto. Os animais dos tratamentos 2 e 4 (nível nutricional alto) foram alimentados com silagem de milho e concentrado na proporção: 65% de volumoso e 35% de concentrado, (13,4 % de PB, 65 % NDT) (10). O concentrado (Raçãonoel[®]) apresentava os seguintes valores nutricionais: 18 % PB; 2.420,00 Kcal EM; 1,30% Ca; 0,6% P; 14% MM; 0,32 % NNP; 2,50 EE.

Coletaram-se amostras de colostro após o parto, e também nas 24 e 48 horas subseqüentes, estas já consideradas como leite. Amostras de leite foram colhidas semanalmente, a partir da 2ª semana pós-parto, visando a contagem de células somáticas. As contagens de células somáticas foram efetuadas pelo método de Prescott e Breed (11), modificado pelo Subcommittee on Screening Tests National Mastitis Council (12). Foram analisados, tanto no colostro como no leite, os conteúdos de: sólidos totais, proteína, lactose e gordura, conforme metodologia descrita pela AOAC (13). Para identificação de mastite subclínica foi realizado o teste do *California Mastitis Test* - CMT e o exame microbiológico. As amostras de leite positivas ao CMT foram colhidas após a antissepsia do teto com álcool a 70% e, em seguida, encaminhadas ao laboratório do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, Botucatu. No laboratório, realizaram-se cultivos microbiológicos em meios de ágar-sangue ovino 5% e ágar MacConkey, sendo que os micro-organismos isolados foram identificados pelo método de Gram e provas taxonômicas. Em seguida submetidos ao teste de sensibilidade antimicrobiana *in vitro*.

As análises estatísticas dos dados seguiram um modelo fatorial 2 x 2; e os dados foram analisados pelo Sistema de Análise Estatística e Genética – SAEG (14).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Composição química do colostro

Observou-se que não houve efeito da idade à desmama sobre os componentes do leite da ovelha, porém, verificou-se alteração significativa ($P < 0,05$) quanto aos diferentes níveis

nutricionais fornecidos às ovelhas para os componentes gordura, proteína e sólidos totais, quando considerada a média dos três períodos de colheita (Tabela 1), sendo que o grupo alimentado com silagem de milho e concentrado apresentou menores valores, como era esperado, tendo em vista que dietas com maiores teores de fibra propiciam elevação da formação de ácido acético no rúmen, o que resulta em porcentagens mais elevadas de gordura no leite. Ovelhas mantidas na pastagem apresentaram maiores teores de gordura no leite (7,16%) do que aquelas mantidas em confinamento (5,60%), conforme verificado por (15).

Maestá (16) encontrou variação no teor de gordura do colostro de ovelhas mestiças Texel, de 11,5 a 14,87%; valores superiores aos deste estudo, cuja média foi de 9,09 %. Sabe-se que a composição química do colostro modifica-se muito rapidamente e, no caso, não foi possível sempre coletá-lo antes da primeira mamada, ao contrário do trabalho citado.

Os valores protéicos, de gordura e sólidos totais, inicialmente, foram elevados, e diminuíram no decorrer das primeiras 48 horas, não diferindo entre si nos dois últimos momentos. Os valores obtidos para proteína no colostro estão de acordo aos observados por Snowden e Glimp (17) com ovelhas não especializadas em produção de leite, e próximos aos encontrados na literatura, que indica uma variação de 12 a 19,5% (18).

Tabela 1. Médias e desvios padrões de gordura, proteína e sólidos totais (%) do colostro e do leite coletado às 24 e 48 horas pós-parto, em ovelhas submetidas a diferentes níveis nutricionais e idade a desmama.

Item	Período de coleta	Silagem de milho	Silagem de milho + concentrado	Média Geral
Gordura	Colostro	10,53 ± 6,12	7,65 ± 4,45	9,09 ^A ± 5,29
	Leite 24 h pós- parto	5,44 ± 3,16	6,24 ± 3,63	5,84 ^B ± 3,39
	Leite 48 h pós- parto	6,13 ± 3,56	5,45 ± 3,17	5,79 ^B ± 3,37
Média		7,36 ^a ± 4,28	6,44 ^b ± 3,75	
Proteína	Colostro	14,03 ± 4,2	11,90 ± 2,30	12,96 ^A ± 3,89
	Leite 24 h pós- parto	9,79 ± 1,63	7,58 ± 1,87	8,68 ^B ± 2,60
	Leite 48 h pós- parto	9,57 ± 1,83	6,64 ± 1,63	8,10 ^B ± 2,43
Média		11,13 ^a ± 3,39	8,70 ^b ± 2,61	
Sólidos Totais	Colostro	28,25 ^a ± 2,56	23,57 ^b ± 1,86	25,91 ^A ± 2,22
	Leite 24 h pós- parto	20,64 ± 1,33	18,79 ± 1,52	19,73 ^B ± 1,42
	Leite 48 h pós- parto	18,95 ± 1,49	17,19 ± 1,33	18,07 ^B ± 1,41
Média		22,62 ^a ± 5,51	19,84 ^b ± 4,84	

Médias seguidas de letras distintas na linha e na coluna diferem entre si pelo Teste de Tukey (P<0,05)

Imunoglobulinas

Na Tabela 2, pode ser observado as concentrações de imunoglobulinas no colostro e no leite as 24 e 48 horas após o parto. Como não houve efeito de tratamento, os resultados foram agrupados. Não houve efeito de dieta e de idade a desmama na concentração de imunoglobulinas, corroborando com outros pesquisadores que também não encontraram efeito de diferentes níveis nutricionais (19). A raça, a idade da fêmea e o tipo de nascimento podem influenciar a concentração de imunoglobulinas no colostro (20). Já os resultados de Silva et al. (21) mostraram que a produção de colostro se elevou (30%), quando as fêmeas foram alimentadas com alto plano nutricional entre 5 a 10 dias antes do parto.

Observa-se que a concentração de IgG declinou rapidamente, indicando uma maior concentração nas primeiras horas, assim como constataram (15, 22). Esse resultado ressalta a importância dos cordeiros ingerirem o colostro nas primeiras 24 horas após o parto. Mellor e Murray (23) recomendam para cordeiros, a quantidade de 240 mL/kg de peso vivo quando nascerem em ambientes fechados ou 280 mL/kg, se ao ar livre.

Tabela 2. Médias da concentração de imunoglobulinas presentes no leite de ovelhas da raça Santa Inês expressos nos três momentos de colheita após o parto.

	Concentração (mg/dL)
Colostro	5.226.097 ^a
24 horas	947.327 ^b
48 horas	365.011 ^c

Médias seguidas de letras distintas diferem entre si pelo Teste de Tukey (P<0,05)

Composição química do leite

Não houve efeito de valores nutricionais nos teores de gordura, lactose e sólidos totais (Tabela 3). Susin, Loerch e McClure (24) observaram teores totais de gordura similares para ovelhas da raça Polipay alimentadas com dieta rica em grãos e aquelas submetidas à dieta com maior proporção de forragens (P<0,05). Para idade a desmama verificou-se maiores valores (P<0,05) de gordura aos 70 (5,37%) do que aos 45 dias (4,29%), corroborando com Hassan (25), que observou aumento no teor de gordura no decorrer da lactação. Fuertes et al. (26) e Ploumi, Beliebasaki e Triantaphyllidis (27) salientaram a influência do estágio de lactação na composição química do leite. Os valores obtidos foram inferiores aos observados em raças especializadas para produção de leite. Ribeiro, Carvalho e Pérez (28) também com a raça Santa Inês, encontraram o valor de 3,91%, que se elevou para 5,47% quando as ovelhas foram tratadas com ocitocina no momento da ordenha, como realizado no presente estudo.

A porcentagem de lactose está de acordo com o valor médio obtido por Kremer et al. (15) com ovelhas da raça Corriedale, raça mista especializada em produção de lã e carne.

Tabela 3. Médias e desvios padrões das porcentagens de gordura, lactose e sólidos totais do leite de ovelhas Santa Inês submetidas a quatro tratamentos.

Constituintes	Idade à Desmama	Silagem de milho	Silagem de milho + Concentrado	Média Geral
Lactose	45 dias	5,30 ± 0,31	5,27 ± 0,31	5,29 ± 0,31
	70 dias	5,18 ± 0,31	5,28 ± 0,32	5,23 ± 0,31
Média Geral		5,24 ± 0,31	5,27 ± 0,31	5,26 ± 0,31
Gordura	45 dias	4,16 ± 0,89	4,43 ± 1,03	4,29 ^a ± 0,96
	70 dias	5,23 ± 1,15	5,51 ± 1,01	5,37 ^b ± 1,08
Média Geral		4,70 ± 1,02	4,97 ± 1,02	4,83 ± 1,02
Sólidos Totais	45 dias	15,30 ± 9,67	16,15 ± 9,98	15,73 ± 9,82
	70 dias	16,39 ± 10,14	16,30 ± 9,99	16,34 ± 10,06
Média Geral		15,84 ± 9,90	16,23 ± 9,99	16,03 ± 9,94

Médias seguidas de letras distintas na linha e na coluna diferem entre si pelo Teste de Tukey (P<0,05)

Para os valores de proteína do leite (Tabela 4) ocorreu interação (P<0,05) entre dieta e idade a desmama. As ovelhas que receberam dietas de silagem sem concentrado apresentaram maior teor de proteína no leite (4,98%) quando desmamaram aos 70 dias de lactação do que aquelas que desmamaram com 45 dias (4,33%). Lynch et al. (29) verificaram que alta

concentração de proteína na dieta pode elevar a concentração de proteína no leite; no presente estudo os valores protéicos foram maiores no grupo suplementado com concentrado (média de 4,91%).

Tabela 4. Porcentagem de proteína no leite de ovelhas da raça Santa Inês submetidas aos quatro tratamentos.

	Desmama aos 45 dias	Desmama aos 70 dias
Silagem	4,33 ^B	4,98 ^A
Silagem c/ concentrado	4,97 ^A	4,86 ^A
Média Geral	4,65	4,92

Médias seguidas de letras distintas diferem entre si pelo Teste de Tukey (P<0,05)

Os valores médios de proteína (4,78%) e lactose (5,30%) obtidos corroboram os de outros pesquisadores (30) que trabalharam também com a raça Santa Inês, e com dieta de silagem de milho e observaram valores de 4,3 e 5,3%, respectivamente. Já os resultados de gordura (8,4%) e sólidos totais (19,3%) foram mais altos que os deste estudo.

Existem poucos trabalhos relatando a composição química do leite de ovelhas da raça Santa Inês, portanto não há o estabelecimento de um padrão. No entanto, os valores obtidos neste estudo estão muito próximos aos encontrados na literatura, para genótipos especializados em produção de leite, evidenciando o potencial leiteiro dessa raça.

Mastite

No presente estudo, a contagem de células somáticas e o isolamento microbiológico em amostras de leite provenientes de 29 ovelhas, revelaram a ocorrência de mastite subclínica em 11 ovelhas (37,93%). Para comparação dos resultados de contagem de células somáticas foi considerado o valor de $1,0 \times 10^6$ células/mL de leite, conforme citações descritas por (31-33).

A contagem de células somáticas, em média, foi de 1.535.138 células/mL de leite. Esse valor foi considerado alto quando comparado à maioria dos rebanhos leiteiros submetidos a um programa de controle de mastite. Por outro lado, verificou-se que a mastite subclínica não influenciou os valores dos constituintes do leite (P>0,05), contrapondo-se aos resultados publicados por Stefanakis et al. (34) que trabalharam com duas raças de ovinos, a Chios e Karagouniki, na Grécia.

Albenzio et al. (35), pesquisando a ocorrência de mastite em ovelhas da raça Comisana, na Itália, constataram a ocorrência em 17,5% dos animais. Esse resultado é inferior ao observado no presente estudo.

A concentração de imunoglobulinas no colostro e no leite não apresentou associação com as ovelhas que manifestaram mastite subclínica no decorrer do experimento.

No exame microbiológico foram isolados e identificados 94 micro-organismos em cultura pura e em associação, distribuídos da seguinte maneira: *Staphylococcus* sp (n=50; 53,1%), *Streptococcus* sp (n=18; 19,1%), *Corynebacterium* sp (n=11; 11,7%), *Staphylococcus aureus* (n=9; 9,6%), *Proteus* sp (n=3; 3,2%), *Micrococcus* sp (n=1; 1,1%), *Acinetobacter calcoaceticus* (n=1; 1,1%) e *Bacillus* sp (n=1; 1,1%). No teste de sensibilidade *in vitro* aos antimicrobianos, observou-se que florfenicol, gentamicina e cefalexina, apresentaram melhor eficácia frente aos micro-organismos isolados.

CONCLUSÕES

A ocorrência de mastite subclínica não afetou a composição química do leite, e os valores obtidos ficaram próximos àqueles observados nas raças com aptidão para a produção de leite, como a Lacaune e Bergamácia. O resultado observado com relação ao número elevado de células somáticas nas amostras de leite com o isolamento de micro-organismos reforça a importância e a necessidade dos cuidados que se devem ter na prevenção da mastite subclínica em ovelhas da raça Santa Inês.

Não houve efeito da dieta nas porcentagens dos constituintes do leite, entretanto quando a lactação se prolongou por 70 dias obteve-se leite com maior teor de gordura. A mastite subclínica ocorreu independente dos níveis nutricionais e das idades a desmama estabelecidas.

REFERÊNCIAS

1. Silva Sobrinho AG. Criação de ovinos. Jaboticabal: Funep; 2001.
2. Lima AL, Pauletti P, Susin I, Machado-Neto R. Flutuação das variáveis séricas em cabras e estudo comparativo da absorção de anticorpos em cabritos recém-nascidos utilizando colostro bovino e caprino. *Rev Bras Zootec*. 2009;38(11):200-16.
3. Pattinson SE, Thomas EW. The effect of sire breed on colostrum production of crossbred ewes. *Small Rumin Res*. 2004;86(1):47-53.
4. Minola J, Goyenechea J. Praderas e lanares. Montivedeo: Hemisfério Sur; 1972.
5. Silva e Silva N, Silveira JAS, Pinheiro CP, Sousa MG, Oliveira CM, Mendonça CL, et al. Etiologia e perfil de sensibilidade de bactérias isoladas de ovelhas com mastite na região nordeste do estado do Pará. *Pesqui Vet Bras*. 2010;30(12):1043-8.
6. Winter A. Mastitis in ewes. In *Pract*. 2001;23(3):160-3.
7. Winter P, Schilcher F, Fuchs K, Colditz IG. Dynamics of experimentally induced *Staphylococcus epidermidis* mastitis in East Friesian milk ewes. *J Dairy Res*. 2003;70(2):157-64.
8. Santos RA, Mendonça, CL, Afonso JAB, Simão LCV. Aspectos clínicos e características do leite em ovelhas com mastite induzida experimentalmente com *Staphylococcus aureus*. *Pesqui Vet Bras*. 2007;27(1):6-12.
9. Batavani RA, Mortaz E, Falahian K, Dawoodi MA. Study on frequency, etiology and some enzymatic activities of subclinical ovine mastites in Urmia, Iran. *Small Rumin Res*. 2003;50(1):45-50.
10. National Research Council. Nutrient requirements of sheep. Washington: National Academy of Sciences; 1985.
11. Prescott SC, Breed RS. The determination of the number of the body cells in milk by a direct method. *Am J Public Hygiene*. 1910;20(3):663-4.
12. Subcommittee on Screening Tests National Mastitis Council. Direct microscopic somatic cell count in milk. *J Milk Food Technol*. 1968;31(1):350-4.

13. Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis. Arlington: AOAC; 1990.
14. Universidade Federal de Viçosa. SAEG: sistema de análise estatística e genética: versão 9.0. Viçosa; 2005.
15. Kremer R, Rosés L, Rista M, Barbato G, Perdigon F, Herrera V. Machine milk yield and composition of non-dairy Corriedale sheep in Uruguay. *Small Rumin Res.* 1996;19(1):9-14.
16. Maestá SA. Desempenho produtivo, composição química e concentração de IgG do colostro e do leite de ovelhas e cordeiros de corte sob distintos níveis de proteína e energia [tese]. Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista; 2003.
17. Snowden GD, Glimp HA. Influence of breed, number of suckling lambs, and stage of lactation on ewe milk production and lamb growth under range conditions. *J Anim Sci.* 1991;69:923-30.
18. Flaiban KKM, Balarin MRS, Ribeiro ELDA, Castro FAB, Mori RM, Lisboa JAN. Transferência de imunidade passiva em cordeiros cujas mães receberam dietas com diferentes níveis de energia ou proteína no terço final da gestação. In: Anais do 8º Congresso Brasileiro de Buiatria; 2009, Belo Horizonte. Belo Horizonte: Associação Brasileira de Buiatria; 2009.
19. O'Doherty JV, Crosby TF. The effect of diet in late pregnancy on colostrum production and immunoglobulin absorption in sheep. *J Anim Sci.* 1997;64(1):87-96.
20. Gilbert RP, Gaskins CT, Hillers JK, Parker JK, McGuire TC. Genetic and environmental factors affecting immunoglobulin G1 concentrations in ewe colostrum and lamb serum. *J Anim Sci.* 1988;66(4):855-63.
21. Silva DFM, Costa JN, Araújo AL, Costa Neto AO, Almeida MAO, Carvalho VS. Proteinograma sérico de cordeiros mestiços (Santa Inês X Dorper) do nascimento até o desame: efeito do desenvolvimento etário e do monitoramento da ingestão de colostro. *Cienc Anim Bras.* 2010;11(4):794-805.
22. Gilbert RP, Gaskins CT, Hillers JK, Parker JK, McGuire TC. Genetic and environmental factors affecting immunoglobulin G1 concentrations in ewe colostrum and lamb serum. *J Anim Sci.* 1988;66(4):855-63.
23. Mellor DJ, Murray L. Making the most of colostrum at lambing. *Vet Rec.* 1986;118(13):351-3.
24. Susin I, Loerch SC, McClure KE. Effects of feeding a high grain diet at a restricted intake on lactation performance and rebreeding of ewes. *J Anim Sci.* 1995;73(11):3199-205.
25. Hassan HA. Effects of crossing and environmental factors on production and some constituents of milk in Ossimi and Saidi sheep and their crosses with Chios. *Small Rumin Res.* 1995;18(2):165-72.

26. Fuertes JA, Gonzalo C, Carriedo JA, San Primitivo F. Parameters of test day milk yield and milk components for dairy ewes. *J Dairy Sci.* 1998;81(5):1300-7.
27. Ploumi K, Beliebasaki S, Triantaphyllidis G. Some factors affecting daily milk and composition in a flock of Chios ewes. *Small Rumin Res.* 1998;28(1):89-92.
28. Ribeiro LC, Carvalho PHA, Pérez JRO. Interferência do uso de ocitocina na produção e teor de gordura do leite de ovelhas Santa Inês até o desmame. In: Reunião da Sociedade Brasileira de Zootecnia; 2004, Campo Grande. Campo Grande: Sociedade Brasileira de Zootecnia; 2004. p.41-6.
29. Lynch GP, Elsasser TH, Jackson Jr C, Rumsey TS, Camp MJ. Nitrogen metabolism of lactating ewes fed rumen protected methionine and lysine. *J Dairy Sci.* 1991;74(7):2268-76.
30. Susin I, Mendes CQ, Pires AV. Estimativa da produção e composição do leite de ovelhas da raça Santa Inês [Internet]. 2005 [acesso 2005 Jul 06]. Disponível em: <http://www.usp.br/siicusp/11osiicusp/ficha1456.htm>
31. Green TJ. Use of somatic cell counts for detection of subclinical mastitis in ewes. *Vet Rec.* 1984;114(2):43-8.
32. Fthenakis GC, El Masannat ETS, Booth JM, Jones JE. Somatic cell counts of ewe's milk. *Br Vet J.* 1991;147(6):575-81.
33. Fthenakis GC. Prevalence and etiology of subclinical mastitis in ewes of Southern Greece. *Small Rumin Res.* 1994;13(3):293-300.
34. Stefanakis A, Boskos C, Alexopoulos C, Samartzi F. Frequency of subclinical mastitis and observations on somatic cell counts in ewes' milk in northern Greece. *Anim Sci.* 1995;61(1):69-76.
35. Albenzio M, Taibi L, Muscio A, Sevi A. Prevalence and etiology of subclinical mastitis in intensively managed flocks and related changes in the yield and quality of ewe milk. *Small Rumin Res.* 2002;43(3):219-26.

Recebido em: 19/06/2012

Aceito em: 10/04/2013

RETROSPECTIVE STUDY OF 180 DYSPLASTIC DOGS ADMITTED AT THE VETERINARY TEACHING HOSPITAL, UNESP-BOTUCATU

Bruno Watanabe Minto¹
Beatriz Paglerani Monteiro²
Cláudia Valéria Seullner Brandão³
Carlos Roberto Padovani⁴
Maria Jaqueline Mamprim⁵
Fabrícia Geovânia Fernandes Filgueira⁶

ABSTRACT

Hip dysplasia (HD) is one of the most important canine orthopedic disease because of its high occurrence and severe consequences in the quality of life of many dogs. The aim of this study was to evaluate epidemiologically and statistically 180 dysplastic dogs attended at the Veterinary Teaching Hospital, Sao Paulo State University, in a five year period. It was correlated the severity of clinical signs and the HD from radiographs of 120 animals. Sex, body weight and age of animal at time of diagnosis were not a risk factor for severity of HD or clinical signs. More than 50% of the Rottweillers, German Shepherds, Labradors Retrievers and Pit Bulls presented with severe HD. Mean body weight of dogs with severe HD was 34.31kg. From 180 evaluated dogs, 22.22% had osteoarthritis at time of diagnosis. Around 45% of pure breed dogs presented with severe HD versus 27.27% of mix breed dog. A total of 42.11% of clinically asymptomatic dogs had severe radiographic signs of HD. There was no significant correlation between the severity of clinical signs and radiographic lesions.

Keywords: hip dysplasia, dogs, veterinary orthopedics

ESTUDO RETROSPECTIVO DE 180 CÃES COM DISPLASIA COXOFEMORAL ATENDIDOS NO HOSPITAL VETERINÁRIO DA UNESP BOTUCATU

RESUMO

A displasia coxofemoral (DCF) é uma das principais afecções ortopédicas em cães, uma vez que sua ocorrência é alta e afeta diretamente a qualidade de vida de muitos pacientes. A presente pesquisa teve como objetivos avaliar epidemiologicamente 180 cães portadores de DCF, correlacionando os dados estudados e determinando possíveis fatores de risco num período de cinco anos, além de avaliar a correlação entre o grau de severidade dos sinais clínicos e da avaliação radiográfica de 120 animais. Sexo, peso e idade do animal não representaram fator de risco para severidade da DCF ou dos sinais clínicos. Os cães das raças Rottweiler, Pastor Alemão, Labrador Retriever e Pit Bull apresentaram mais de 50% dos representantes com DCF severa. Os cães sem raça definida apresentaram uma distribuição semelhante dentro dos quatro graus de DCF. O peso médio dos cães com DCF severa foi

¹ Cirurgia de Pequenos Animais - Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), Universidade Estadual Paulista - UNESP, Campus Jaboticabal, São Paulo, Brasil.

² Ontário Veterinary College, University of Guelph, Canadá

³ Cirurgia de Pequenos Animais - Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade Estadual Paulista - UNESP, Campus Botucatu, São Paulo

⁴ Instituto de Biociências (IB), FMVZ, UNESP, Campus Botucatu

⁵ Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade Estadual Paulista - UNESP, Campus Botucatu, São Paulo

⁶ Doutoranda do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), Universidade Estadual Paulista - UNESP, Campus Jaboticabal, São Paulo, Brasil

34,31kg. Dos 180 animais avaliados, 22,22% apresentavam sinais de osteoartrose secundária a doença. Um total de 42,11% dos animais assintomáticos apresentaram sinais radiográficos de DCF severa. Não houve correlação estatística entre a severidade dos sinais clínicos e radiográficos.

Palavras-chaves: displasia coxofemoral, cães, ortopedia veterinária

ESTUDIO RETROSPECTIVO DE 180 PERROS COM DISPLASIA DE CADERA ATENDIDOS EN EL HOSPITAL VETERINARIO DE LA UNESP-BOTUCATU

RESUMEN

La displasia de cadera (DC) es una de las más importantes enfermedades ortopédicas de los caninos, debido a su alta ocurrencia y severas consecuencias en la calidad de vida de muchos perros. El objetivo de este estudio fue evaluar epidemiológica y estadísticamente 180 perros con displasia atendidos en el Hospital Veterinario Escuela de la Univ Estadual Paulista, en un período de cinco años. Además, fueron correlacionadas la severidad de los signos clínicos y de los hallazgos radiográficos de 120 animales. Sexo, peso corporal y edad del animal en el momento del diagnóstico no fueron factores de riesgo para la DC o para la presencia de signos clínicos. Más del 50% de los Rottweiler, Pastores Alemanes, Cobradores de Labrador y los denominados "Pit Bull" presentaron DC severa. El peso promedio de los perros con DC severa fue de 34,31kg. De 180 perros evaluados, 22,22% presentaban osteoartritis al momento del diagnóstico. Alrededor de 45% de los perros de raza pura presentaron DC severa versus 27,27% de perros mestizos. Un total de 42% de perros clínicamente asintomáticos tuvieron signos radiográficos severos de DC. No hay correlación significativa entre la severidad del signo clínico y las lesiones radiográficas.

Palabras clave: displasia de cadera, caninos, ortopedia veterinaria

INTRODUCTION

Canine hip dysplasia (HD) is a common inherited trait orthopedic disease (1). It is a genetic disease of high prevalence, debilitating, causing pain, discomfort and decreased lifespan in dogs (2) which is probably more prevalent in large breeds, and the occurrence is also influenced by environmental factors (3). The disease is characterized by an abnormal development of the hip joint causing joint laxity with subluxation or luxation of the femoral head, leading or not to bilateral osteoarthritis. It is still an important cause of chronic pain and it can affect more than 50% of some breed's population (4-8).

Affected dogs present with lameness, bilaterally shortened strides and bunny hopping with exercise intolerance and difficulty rising and climbing stairs. Onset of clinical signs is reported by owners between 3 and 10 months of age and may worsen as the secondary osteoarthritis progresses (5, 9).

Standard ventrodorsal hip-extended radiographs confirm the diagnosis and a grading system is applied. In North America, the Orthopedic Foundation for Animals (OFA) recommends a seven-class classification (excellent, good, fair, borderline, mild, moderate, severe) (10), whereas in continental Europe, the *Fédération Cynologique Internationale* (FCI) recommends a five-grade scale from A to E (4, 5, 11, 12).

As therapeutic options, Oliveira (13) cites physiotherapy, hydrotherapy, use of anti-inflammatory non-steroidal, use of chondroprotective and surgery. Surgical techniques are recommended: triple pelvic osteotomy, arthroplasty excision of femoral head and neck,

pectinealmyectomy, intertrochanteric osteotomy, sinfiodese juvenile pubic, joint denervation (14) and total hip replacement (15).

The purpose of this retrospective study was to evaluate epidemiologic factors associated with HD in 180 dogs and the correlation between the severity of clinical signs and radiographic changes of 120 dogs with HD.

MATERIALS AND METHODS

Medical records of dogs presented to the Veterinary Teaching Hospital of the Sao Paulo State University with standard ventrodorsal hip-extended radiographs confirming hip dysplasia in a five year period were reviewed. Patients were distributed into two study groups. Group 1 (G1) with 180 dogs, and group 2 (G2) with 120.

On G1, epidemiologic data such as age, breed, sex and weight were statistically correlated with the grade of HD at presentation. The disease was graded as transitional, mild, moderate and severe according to Genevois et al. (12).

On G2, 120 dogs with detailed history were selected out of G1. Statistical correlation between severity of clinical signs and severity of HD was evaluated. Clinical signs were graded as asymptomatic, mild, moderate and severe.

All data was submitted to statistical analyses using the appropriate method among Descriptive, Goodman, Kruskal-Wallis, Mann-Whitney, Anova e t-Student methods.

RESULTS

On G1 a true statistical correlation between sex and the development of HD was not observed. Out of 180 dogs, 98 were male and 82 were female. The mean age of dogs with transitional, mild, moderate and severe HD was respectively 36, 64, 60 e 48 months of age.

There was no statistical relationship between body weight and severity of HD. Mean weight of dogs with mild, moderate and severe HD were respectively 34.31kg, 34.21kg e 34.31kg.

Half of the affected females presented with severe HD whereas the other half had the same distribution on grades transitional, mild and moderate. In the male population, 43.88% presented with severe HD and only 8.16% with mild HD. Marked prevalence of severe HD was observed in pure breed dogs (PBD). More than 50% of each breed population such as Rottweiler, Pit Bull Terrier, Labrador Retriever and German Shepherd presented with severe HD (Table 1). About 42% of Labrador Retrievers were evaluated to have severe HD, however 50% of them were asymptomatic. Similar presentation was observed in German Shepherds where 47% presented with severe HD, and 52% had mild clinical signs.

On G2, severe HD was presented by 45% of PBD and 27% of mixed breed dog (MBD), whereas severe clinical signs were presented by 23% of PBD and 31.82% of MBD. The MBD had the same frequency when presenting mild, moderate and severe clinical signs, and only 4.54% were asymptomatic. Rottweillers were the ones with less asymptomatic animals (10.71%). Like in G1, German Shepherds were the most affected by severe HD (47.37%), followed by Rottweiler (46.43%) and Pit Bulls (44.45%). A total of 42.11% of clinically asymptomatic dogs revealed severe radiographic changes. There was no direct correlation between the severity of clinical signs and radiographic changes (Table 2).

Table 1. Distribution of the most affected breeds of dogs with hip dysplasia in a population of 180 dogs (descriptive statistical analysis).

Breed	Hip Dysplasia				Total
	Transitional	Mild	Moderate	Severe	
MBD	n=5 (15.63%)	n=11 (34.38%)	n=7 (21.88%)	n=9 (28.13%)	n=32
Rottweiler	n=4 (8.51%)	n=11 (23.40%)	n=7 (14.89%)	n=25 (53.19%)	n=47
GermanSheperd	n=0 (0.00%)	n=7 (28.00%)	n=4 (16.00%)	n=14 (56.00%)	n=25
Labrador	n=5 (29.41%)	n=2 (11.76%)	n=1 (5.88%)	n=9 (52.94%)	n=17
Pit Bull	n=2 (20.00%)	n=1 (10.00%)	n=2 (20.00%)	n=5 (50.00%)	n=10
Fila Brasileiro	n=0 (0.00%)	n=3 (30.00%)	n=4 (40.00%)	n=3 (30.00%)	n=10
Others	n=5 (12.82%)	n=7 (17.95%)	n=8 (20.51%)	n=19 (48.72%)	n=39

Table 2. Distribution of displastic dogs (G2) according to clinical presentation and radiographic signs (statistical analyses: Goodman Test).

Clinical signs	HD				Total
	Transitional	Mild	Moderate	Severe	
Asymptomatic	n=4 (21.05%)	n=6 (31.58%)	n=1 (5.26%)	n=8 (42.11%)	n=19
Mild	n=4 (9.30%)	n=8 (18.60%)	n=14 (32.56%)	n=17 (39.54%)	n=43
Moderate	n=5 (16.13%)	n=7 (22.58%)	n=8 (25.81%)	n=11 (35.48%)	n=31
Severe	n=2 (7.41%)	n=6 (22.22%)	n=5 (18.52%)	n=14 (51.85%)	n=27

DISCUSSION

A true statistical correlation between sex and the development of HD was not observed here, however, some studies have found both male and female prevalence. Wood et al. (4) and Vieira et al. (2) identified more joint abnormalities in females' hips when compared to males' hips, whereas the results obtained by Maki, Liinamo and Ojala (16) and Rettenmaier et al. (17) agree with the work described herein. These variations could be explained by different pressure of selection over each gender in canine populations by breeding programs (4).

The results obtained from this study represent an earlier age at which animals present for evaluation when compared to other studies. Normally, the interval at which clinical signs are detected and radiographic diagnosis is confirmed is from 48 to 96 months (18). However, being HD a developmental orthopedic disease, lameness or gait abnormalities can develop at 3 to 10 months of age, and from then on, clinical signs may progress and be detected by owners according to the severity of the disease and attention to the animal (18, 19).

Similar interval for body weight was observed by Sallander, Hedhammar and Trogen (20) where mean weight was 34kg for males and 27 kg for females in a group of 160

Labrador Retrievers. No study evaluating the correlation between body condition score and severity of HD is acknowledged by the author; however the evaluation of overfeeding and the development of HD revealed different results. According to Janutta and Hamann and Distl (19), excessive feeding, isolated, may not increase chances of developing the disease but it makes it worse or predisposes it in genetically susceptible animals. Experimental studies revealed that animals that are fed *ad libitum* are at higher risk of developing the disease due to overfeeding (20). This can be explained by the fact that accelerated weight gain may lead to non equal development of soft tissues, resulting in asynchrony of pelvic muscle and skeletal system (9). In general, the nutritional risk factors are related to the excessive calcium intake and electrolyte misbalance and the excessive protein *per se* intake has no negative influence in the skeletal development (21, 22).

Some studies indicate that 35 dog breeds are considered at high risk of developing the disease; however, the frequency of presentation of each breed varies in the different countries and regions (22, 23).

In Brazil, Rottweillers, Labrador Retrievers and German Shepherds are very popular breeds, and therefore, are over represented in this study. The mixed breed dogs, nevertheless, are also over represented. The German Shepherd, which is widely distributed throughout the world, is commonly affected by HD with a prevalence of 50 to 55% of dogs (19) and in this study, were the most affected by severe HD (56%). Vieira et al. (2) evaluated the radiographs of 386 dogs German Shepherd and Labrador Retriever, noting that the first race was associated with lower level of HD compared to the second.

As expected, there was no direct correlation between the severity of clinical signs and radiographic changes. According to Torres, Rocha and Silva (24), a great number of asymptomatic dogs with severe HD is expected. In his study, up to 70% of dogs affected by HD were asymptomatic (Table 2).

The results of this study differ from some data reported in the literature, however, it is to the author's knowledge that such an extensive epidemiologic study has not ever been done in Brazil. In our population, the distribution of the different grades of HD amongst transitional, mild, moderate and severe was 10.83%, 22.5, 23.3 e 41.6% respectively, whereas in a canine French population, the distribution was 35.13%, 30.54%, 25.68% and 8.65% respectively (12). The high incidence of severe HD in the presented canine populations can be explained by the inefficient system of selection of breeding dogs in the country. Due to the severity of the affection and its heritability, there is a need of establishing a more rigid selection process over the breeding canine population in order to decrease its incidence and improve their phenotype (22, 25). A study by Worth, Bridges and Jones (26), followed animals susceptible to HD that were phenotypically selected by the New Zealand Veterinary Association (NZVA) for years, concluded that there was a significant reduction in the angle of the joint laxity and Noberg only for the German Shepherd breed, while for Labrador Retrievers, Golden Retrievers and Rottweillers no reduction in the incidence of HD throughout the study.

Despite several studies, and the fact that the prevalence of the disease overcomes 50% of some breeds' population, the progress in decreasing its incidence is still slow in many countries, which could be explained by errors in diagnostic and by breeders that still use dysplastic animals for reproduction (6, 7, 11).

CONCLUSIONS

Considering the progressive increase of prevalence of the disease, the impact on the dog's quality of life and the amount of money spent by owners every year on medical and surgical treatment, epidemiologic studies are warranted and the work of veterinary doctors along with owners and breeders in order to decrease the incidence of the disease must be based upon solid literature.

In this study, sex, body weight and age were not a risk factor for the severity of HD. The Rottweiler, German Shepherds, Labrador Retrievers and Pit Bull Terrier were the most common breeds affected by severe HD. The severity of radiographic changes does not correspond to the severity of the clinical findings.

REFERENCES

1. Zhu L, Zhang Z, Friedenbergl S, Jung SW, Phavaphutanon J, Vernier-Singer M, et al. The long (and winding) road to gene discovery for canine hip dysplasia. *Vet J.* 2009;181:97-110.
2. Vieira GLT, Torres RCS, Barros GS, Rocha BD, Rezende CMF. Associations among Norberg angle, percentage of femoral head coverage, cortico-medullary index, and femoral inclination angle in dogs with hip dysplasia. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2010;62:1094-101.
3. Ginja MM, Silvestre AM, Colaço J, Gonzalo-Orden JM, Melo-Pinto P, Orden MA, et al. Hip Dysplasia in Estrela mountain dogs – prevalence and genetic trends 1991–2005. *Vet J.* 2008;182:275-82.
4. Wood JLN, Lakhani KH, Dennis R. Heritability and epidemiology of canine hip-dysplasia score in flat-coated retrievers and New found lands in the United Kingdom. *Prev Vet Med.* 2000;46:75-86.
5. Rawson EA, AronsohnMG, Burk RL. Simultaneous bilateral femoral head and neck ostectomy for the treatment of canine hip dysplasia. *J Am Anim Hosp Assoc.* 2005;41:166-70.
6. Todhunter RJ, Mateescu R, Lust G, Burton-Wurster NI, Dykes, NL, Bliss LP, et al. Quantitative trait loci for hip dysplasia in a crossbreed canine pedigree. *Mamm Genome.* 2005;16:720-30.
7. TsaiKL, Murphy KE. Clinical and genetic assessments of hip joint laxity in the Boykin spaniel. *Can J Vet Res.* 2006;70:148-50.
8. Corfield GS, Read RA, Eastley KA, Richardson JL, Robertson ID, Day RE. Assessment of the hip reduction angle for predicting osteoarthritis of the hip in the Labrador Retriever. *Aust Vet J.* 2007;85:212-6.
9. Schulz K. Diseases of the joints. In: Fossum TW. *Small animal surgery.* 3a ed. USA: Willians & Wilkins; 2007. p.1233-46.
10. Keller GG. Hip dysplasia. In: Keller GG. *The use of health databases and selective breeding. A guide for dog and cat breeders and owners.* 5a ed. Columbia: Orthopedic Foundation for Animal; 2006. p.13-34.

11. Verhoeven G, Coopman L, Duchateau JH, Saunders J, VanRyssen B, Van Bree H. Interobserver agreement in the diagnosis of canine hip dysplasia using the standard ventrodorsal hip-extended radiographic method. *J Small Anim Pract.* 2007;48:387-93.
12. Genevois JP, Cachon T, Fau D, Carozzo C, Viguier E, Collard F, et al. Canine hip dysplasia radiographic screening. Prevalence of rotation of the pelvis along its length axis in 7,012 conventional hip extended radiographs. *Vet Comp Orthop Traumatol.* 2007; 20:296-8.
13. Oliveira RCB. Displasia fibrosa do osso temporal: relato de dois casos. *Rev Bras Otorrinolaringol.* 2004;70:695-700.
14. Torres RCS, Ferreira PM, Silva DC. Frequency and asymmetry of dysplasia hip-German Shepherd dogs. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 1999;51:153-6.
15. Minto BM, Brandão CVS, Pereira GJ, Campagnol D, Mamprim MJ, Padovani CR, et al. Modular hybrid total hip arthroplasty. Experimental study in dogs. *Acta Vet Scand.* 2011;53:46-50.
16. Mäki K, Liinamo AE, Ojala M. Estimates of genetic parameters for hip and elbow dysplasia in Finnish Rottweilers. *J Anim Sci.* 2000;78:1141-8.
17. Rettenmaier JL, Keller GG, LattimerJC, Corley EA, Ellersieck MR. Prevalence of canine hip dysplasia in a veterinary teaching hospital population. *Vet Radiol Ultrasound.* 2002;43:313-8.
18. Dassler CL. Canine hip dysplasia: diagnosis and nonsurgical treatment. In: Slatter D. *Textbook of small animal surgery.* 3a ed. Philadelphia: Saunders; 2003. p.2019-29.
19. Janutta V, Hamann H, Distl O. Complex segregation analysis of canine hip dysplasia in German Shepherd dogs. *J Heredity.* 2006;97:13-20.
20. Sallander MH, Hedhammar A, Trogen MEH. Diet, exercise, and weight as risk factors in hip dysplasia and elbow arthrosis in Labrador Retrievers. *J Nutr.* 2006;136:2050-2.
21. Hughes PL. Hip dysplasia in the New Zealand Huntaway and Heading dog. *N Z Vet J.* 2001;49:138-41.
22. LaFond E, Breur GJ, Austin CC. Breed Susceptibility for developmental orthopedic diseases in dogs. *J Am Anim Hosp Assoc.* 2002;38:467-77.
23. Jaeger GT, Larsen L, Soli N, Moe L. Two years follow-up study of the pain-relieving effect of gold bead implantation in dogs with hip-joint arthritis. *Acta Vet Scand.* 2007;49:9-15.
24. Torres RCS, Rocha BD, Silva EF. Frequency of hip dysplasia in dogs breed Labrador Retriever in the State of Minas Gerais. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2001;53:1-3.

25. Hays L, Zhang Z, Mateescu RG, Lust G, Burton-Wurster NI, Todhunter RJ. Quantitative genetics of secondary hip joint osteoarthritis in a Labrador Retriever-Greyhound pedigree. *Am J Vet Res.* 2007;68:35-41.
26. Worth AJ, Bridges JP, Jones G. Trends in the phenotypic hip status of selected breeds of dog as measured by the New Zealand Veterinary Association Hip Dysplasia scheme (1990–2008). *N Z Vet J.* 2011;59:67-74.

Recebido em: 02/04/2013

Aceito em: 17/04/2013

REPRODUÇÃO DE *Bothrops* spp. (SERPENTES, VIPERIDAE) EM CRIADOURO CONSERVACIONISTA

Karina Maria Pereira da Silva¹
Leticia Ruiz Sueiro²
Guilherme Guidolin Galassi³
Selma Maria de Almeida-Santos⁴

RESUMO

A maioria das espécies do gênero *Bothrops* apresenta reprodução sazonal. O período de acasalamento geralmente ocorre no outono e a parturição é observada ao final no verão. Entretanto, há relatos de ampla variação destes aspectos reprodutivos (e.g. época de acasalamento, gestação e nascimento) principalmente em espécies mantidas em cativeiro. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi analisar o ciclo e o comportamento reprodutivo de espécimes do gênero *Bothrops* visando contribuir com o manejo e a conservação *ex situ*. O estudo foi conduzido em um criadouro conservacionista em Americana – São Paulo. A maioria das espécies acasalou entre maio e junho (outono), exceto *B. moojeni*. A duração das cópulas foram de 3 a 5 horas. O período gestacional se estendeu de 4 a 5 meses, considerando a estocagem de esperma, já observada nestas espécies. Os nascimentos ocorreram entre dezembro e fevereiro (verão). A sincronia e a sazonalidade observadas nos eventos reprodutivos na maioria das espécies estudadas comprovam a hipótese de um ciclo reprodutivo conservado para o gênero *Bothrops*.

Palavras-chave: *Bothrops* spp., reprodução, cópula sazonal, nascimentos, cativeiro

REPRODUCTION OF *Bothrops* spp. (SERPENTES, VIPERIDAE) IN CONSERVATION BREEDER

ABSTRACT

Most species of *Bothrops* genus reproduce seasonally. The mating season usually occurs in the autumn and parturition is observed at the end of the summer. However, there are reports of wide variation in these reproductive traits (eg, breeding season, gestation and birth) especially in species kept in captivity. Thus, the aim of this study was to analyze the cycle and reproductive behavior of specimens of the genus *Bothrops* in order to contribute to management and conservation *ex situ*. The study was conducted in a conservation breeder in Americana, São Paulo, Brazil. Most species mated between May to June (autumn), except *B. moojeni*. Mating lasted from 3 to 5 hours. Gestation lasted from 4 to 5 months, according to the sperm storage previously reported for these species. Births occurred between December and February (summer). The synchrony and seasonality observed of the studied species corroborate the hypothesis of a conserved reproductive cycle in the genus *Bothrops*.

Keywords: *Bothrops* spp., reproduction, mating season, births, captivity

¹ Mestranda em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres, pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, FMVZ-USP, Brasil

² Doutora pelo Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, ICB - USP, Brasil

³ Biólogo formado pela Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mequita Filho" Campus de Rio Claro. Proprietário do Criadouro Conservacionista.

⁴ Pesquisadora Científica V do Instituto Butantan do Laboratório de Ecologia e Evolução. Tem experiência na área de Medicina Veterinária, com ênfase em Reprodução Animal, Squamata

REPRODUÇÃO DE *Bothrops* spp. (SERPENTES, VIPERIDAE) EN CRIADERO DE CONSERVACIÓN

RESUMEN

La mayoría de las especies del género *Bothrops* presentan reproducción estacional. La temporada de apareamiento ocurre generalmente en el otoño y el parto se observa al final del verano. Existen datos con relación a una amplia variación en aspectos reproductivos tales como temporada de apareamiento, gestación y parto, sobre todo en las especies que se mantienen en cautiverio. Así, el objetivo de este trabajo fue analizar el ciclo y el comportamiento reproductivo de especímenes del género *Bothrops* con el objetivo de contribuir para el manejo y la conservación *ex situ*. El estudio se realizó en un criadero de conservación en la ciudad de Americana, São Paulo, Brasil. La mayoría de las especies se apareó entre mayo y junio (otoño austral) excepto por *B. moojeni*. La duración de la cópula fue de 3 a 5 horas. La gestación fue de 4 a 5 meses, teniendo en cuenta el almacenamiento de esperma, ya observada en estas especies. Los nacimientos ocurrieron entre diciembre y febrero (verano). La sincronía y la estacionalidad en los eventos reproductivos observados en la mayoría de las especies estudiadas, confirman la hipótesis de un ciclo muy conservador para el género *Bothrops*.

Palabras-clave: *Bothrops* spp., reproducción, la temporada de apareamiento, Nacimientos, cautiverio

INTRODUÇÃO

A conservação *ex-situ* e a conservação *in-situ* são estratégias complementares, que visam à estabilidade de uma população ameaçada e contribui para a caracterização e a diversidade genética dos indivíduos (1, 2). A manutenção e o manejo de espécies em cativeiro pressupõem a integração entre o conhecimento teórico e prático da biologia reprodutiva dos organismos. Além disso, atuam de várias formas na conservação *ex situ* e *in situ* das espécies (1), promovendo o sucesso reprodutivo e fornecendo informações que possibilitam a elucidação da dinâmica e evolução das estratégias reprodutivas (3). Os ciclos reprodutivos em Squamata são classificados em descontínuos (sazonais), contínuos e acíclicos. Nos ciclos descontínuos ou sazonais, as gônadas tornam-se quiescentes por períodos curtos durante o ano, já nos ciclos contínuos as gônadas apresentam uma redução da atividade por um pequeno período do ano e no tipo acíclico, as gônadas ou órgãos acessórios exibem basicamente níveis constantes de atividade durante todo o ano (4).

A maioria das serpentes do gênero *Bothrops* apresenta ciclo reprodutivo sazonal (5-9) e bienal. O período de acasalamento se estende ao longo do outono e a parturição é observada ao final no verão (5).

Algumas serpentes, bem como outros animais ectotérmicos, não se reproduzem até acumularem energia suficiente para custear a reprodução (10, 11), assim, essas espécies são classificadas como “capital breeders” (reprodutores capitais), de acordo com Stearns (12). Dessa forma, em muitas espécies de serpentes, as fêmeas requerem um investimento energético para darem início ao período reprodutivo e em viperídeos o tempo necessário entre um evento reprodutivo e outro, varia entre dois a três anos ou até mais, configurando a bienalidade ou trienalidade dos ciclos (13-15).

Entretanto, espécimes de cativeiro alimentam-se de forma frequente e muitas vezes de forma excessiva, além de não exercerem a atividade de forrageio. Consequentemente, algumas espécies como: *B. alternatus*, *B. neuwiedi* e *B. jararaca* (16-18) podem perder a bienalidade do ciclo em cativeiro. Na natureza, as serpentes podem não se alimentar tão

frequentemente, portanto, a frequência reprodutiva é, em parte, influenciada pela disponibilidade de alimentos e pelo *status* nutricional das fêmeas (12, 19-21).

Observações comportamentais obtidas em cativeiro, indicam cópulas ao longo do ano todo (de fevereiro à dezembro), para *Bothrops jararaca* e os nascimentos ocorrendo nos meses de fevereiro a maio (18). Em *B. neuwiedi* foram registradas cópulas nos meses de abril a julho (17) e os nascimentos entre janeiro e maio (verão-outono) (17). Para *B. moojeni* as cópulas em cativeiro, ocorreram de março a maio (22), e na natureza foi observado no mês de março (23) com parturições observadas entre dezembro e janeiro (7).

Para *Bothrops jararaca* (18), *B. alternatus* (16) e *B. neuwiedi* (17) o ciclo reprodutivo em cativeiro foi anual. No entanto, o ciclo de *B. jararaca* foi descrito como sazonal e bienal em vários estudos (5, 24, 25). Para as outras espécies mais informações são necessárias para a compreensão desta plasticidade dos ciclos reprodutivos.

Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi analisar o ciclo e o comportamento reprodutivo de espécimes do gênero *Bothrops* visando contribuir com o manejo e a conservação de espécies nativas monitoradas em cativeiros.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido em um criadouro conservacionista (registro: 647098, processo IBAMA: 02027.008991/01-79), localizado na cidade de Americana, São Paulo, região centro-leste do estado de São Paulo, sudeste do Brasil (latitude 22°44'21''S; longitude 47°19'53''W), entre abril/2008 à agosto/2009. O clima é tropical com inverno seco, variando a temperatura média entre mínima de 15,3° e máxima de 28,2° e altitude média de 528,5 metros. A temperatura, fotoperíodo e a umidade do criadouro seguiram condições do ambiente natural.

A área do criadouro utilizado neste estudo foi de 10 metros quadrados, no qual os animais são mantidos individualizados, em caixas plásticas transparentes com tampa e travas laterais perfuradas de tamanho - 56,4cm x 38,5cm x 37,1cm, forradas com papelão corrugado ou jornais.

Para a alimentação são oferecidos quinzenalmente, ratos (*Rattus norvegicus*) e camundongos (*Mus musculus*) reproduzidos no próprio criadouro. As presas oferecidas possuem massa equivalente a 20% do peso das serpentes e a água é fornecida *ad libitum*.

Todas as serpentes utilizadas foram monitoradas quanto aos dados biométricos mensalmente, bem como os dados referentes à alimentação, ecdise, fezes e observações comportamentais.

Nesse estudo foram utilizadas as seguintes serpentes: *Bothrops alternatus* (uma fêmea e dois machos), *Bothrops erythromelas* (duas fêmeas e dois machos), *B. jararaca* (uma fêmea e um macho), *B. jararacassu* (duas fêmeas e um macho), *B. leucurus* (uma fêmea e dois machos), *B. moojeni* (duas fêmeas e um macho), *B. pauloensis* (duas fêmeas e dois machos) e *B. neuwiedi* (uma fêmea e dois machos). As serpentes foram observadas quanto aos comportamentos interespecíficos: interações agonísticas (entre machos quando colocados em tríades), corte, acasalamento, gestação e parturição (5). Os comportamentos reprodutivos foram observados, descritos, filmados e fotografados.

A massa relativa da ninhada (MRN) após a parturição foi calculada conforme Shine (26).

RESULTADOS

Muda: As ecdises foram registradas para fêmeas de *B. jararacassu* e *B. erythromelas* na estação reprodutiva (maio), três dias antes de serem colocadas para copular (Fig. 1-B).

Comportamento agonístico: *Bothrops alternatus*, *B. erythromelas*, *B. leucurus* e *B. neuwiedi* que foram colocadas em tríades (uma fêmea e dois machos) não apresentaram comportamento de combate. Entretanto, entre dois machos de *B. pauloensis* foram observadas interações agonísticas (n=3). Sempre que colocados com fêmeas na mesma caixa, os machos erguiam a cabeça e o tronco, chicoteavam várias vezes a cauda e algumas vezes mordiam o oponente na cauda ou na região do pescoço. Todos esses comportamentos eram acompanhados de intenso dardejar de língua. Em seguida os oponentes entrelaçavam-se, debatiam seus corpos e afastavam-se um do outro. Após esses episódios, os machos iniciavam movimentos de corte em direção as fêmeas.

Comportamento de corte e cópula: As espécies *B. erythromelas*, *B. jararaca*, *B. jararacussu*, *B. pauloensis* e *B. neuwiedi*, apresentaram período de comportamento de corte e acasalamento durante o outono e início do inverno (maio a julho). Somente a *B. moojeni* foi observada copulando durante a primavera (outubro).

O comportamento de corte e cópula de todas as espécies basicamente seguiu três fases: perseguição táctil, alinhamento e cópula.

A *Bothrops erythromelas* copulou no dia 20 de maio de 2008, no período da manhã. O comportamento de corte iniciou-se com movimentos da cabeça e intenso dardejar de língua do macho sobre o dorso da fêmea. Posteriormente, o macho realizou tentativas de enrodilhar a cauda na região posterior da fêmea, provavelmente para o pareamento das cloacas. Observou-se também o comportamento de “*cloacal gaping*”, movimento de abertura cloacal e levantamento da cauda, que indica a receptividade da fêmea para a cópula (Figura 1-A).

A *B. jararacussu* copulou na data 01 de jun. de 2008 no período da manhã e início da tarde. Foram observados leves movimentos de ondulações laterais e antero-posteriores do macho no dorso da fêmea (Figura 1-B).

A *B. moojeni* copulou no dia 07 de outubro de 2008 no período noturno. O comportamento de corte evidenciou movimentos de ligeiras vibrações impulsivas da cabeça do macho sobre o dorso da fêmea e a cauda manteve-se sempre enrodilhada na região posterior da fêmea (Figura 1-C).

Duração das cópulas: A média de duração das cópulas foi de 5 horas e 4 minutos (Figura 1; Tabela 1).

Gestação: Como há estocagem de esperma no gênero, foi possível fazer apenas uma estimativa do tempo de gestação que variou de 4 a 5 meses.

Época dos nascimentos: As parturições foram observadas durante o verão (*B. erythromelas*) e inverno (*B. moojeni*). As espécies *B. jararaca*, *B. neuwiedi* e *B. pauloensis*, não tiveram cópulas assistidas, porém tiveram a parturição registrada no verão (dezembro à fevereiro). *B. jararacussu* veio a óbito, antes do nascimento dos filhotes (Tabela 1).

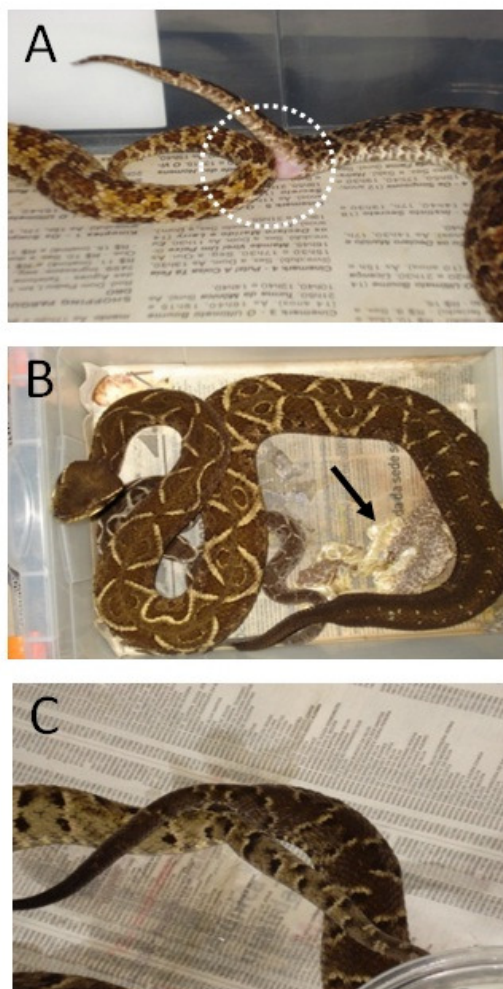


Figura 1. (A) Casal de *B. erythromelas* em cópula, fêmea à direita realizando *cloacal gaping*; (B) casal de *B. jararacussu* em cópula, fêmea à direita; (C) fêmea e macho de *Bothrops moojeni*, com cloacas unidas.

Tabela 1. Número de espécies do gênero *Bothrops*, indicando a data da cópula, duração e época de nascimento dos filhotes.

Espécies:	Data de cópula	Duração (horas)	Data de nascimento de filhotes
<i>B. jararaca</i>	Maio/08	-	04/02/09
<i>B. neuwiedi</i>	Maio/08	-	04/02/09
<i>B. moojeni</i>	Outubro/08	3h e 30 m	05/08/09
<i>B. erythromelas</i> *	Maio/08	5h e 52 m	03/02/09
<i>B. jararacussu</i> *	Junho/08	5h e 10 m	**
<i>B. pauloensis</i>	Maio/08	-	22/12/2008

* Muda de pele

** Fêmea morreu

Ninhadas: O número das ninhadas variou de 04 a 12 filhotes entre as espécies analisadas. Assim, a massa relativa da ninhada (MRN) e o comprimento dos filhotes variaram muito entre as espécies (Figura 2; Tabela 2). Em *B. moojeni* a fêmea pariu cinco atrécicos, sete filhotes, dentre estes, quatro natimortos.

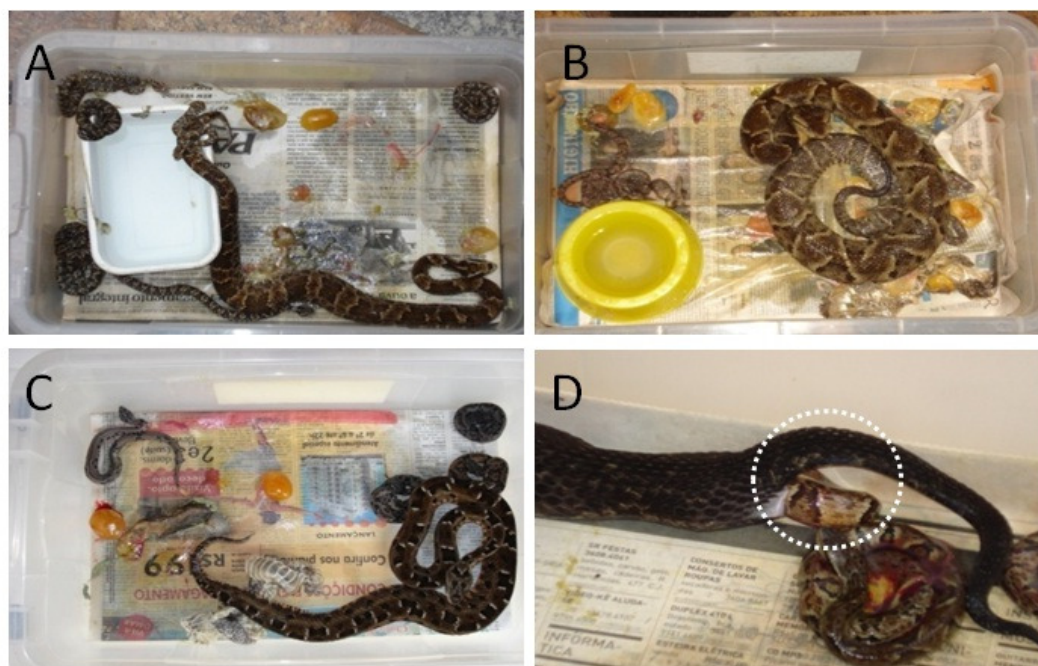


Figura 2. (A) Nascimento dos filhotes de *B. erythromelas*; (B) *B. moojeni*; (C) *B. pauloensis*; (D) *B. jararaca*.

Tabela 2. Ninhadas de *Bothrops* (médias e desvio padrão) da massa, comprimento e número de filhotes.

Ninhadas:	Massa(g)	Comprimento total (cm)	Número de filhotes	MRN*
<i>B. jararaca</i>	13,42 ± 1,5	31,1 ± 1,2	12	0,29
<i>B. moojeni</i>	8,7 ± 4,5	24,5 ± 5,1	07**	0,15
<i>B. erythromelas</i>	6,4 ± 0,5	21,1 ± 0,3	08	0,38

* Massa relativa da ninhada

**05 ovos atrésicos, 03 filhotes vivos, 04 natimortos

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Embora existam variações dos ciclos reprodutivos em algumas serpentes, (27) o padrão reprodutivo para a maioria das espécies do gênero *Bothrops*, é sazonal, apresentando uma fase ativa de crescimento folicular, acasalamento e gestação em um ano e uma fase de parturição seguida de quiescência folicular em outro ano, caracterizando um ciclo bienal (5, 25, 28).

O padrão de cópula outonal, estocagem de esperma no inverno, ovulação, fertilização na primavera e parturição no verão asseguram condições climáticas propícias para a fêmea durante a gestação. Dessa forma, altas temperaturas propiciam maior disponibilidade de alimento (presas ectotérmicas) para os filhotes após o nascimento no verão (entre janeiro e março) (13, 29).

A ecdise é observada frequentemente no período reprodutivo (vitelogênese secundária) (30), pois a gordura abdominal é transformada em vitelo durante esta fase. Essa transformação é mediada pela vitelogenina (proteína precursora do vitelo) e então ocorre a deposição de vitelo nos folículos via corrente sanguínea. A vitelogenina é também utilizada para a sinalização do estro, quando as fêmeas liberam partículas de feromônio no ar para atrair os machos na época da cópula (30-34). A ecdise provavelmente permite uma maior dissipação do feromônio entre as escamas. Tal fato explica as mudas observadas em *B. erythromelas* e *B. jararacussu* no período que antecede ao acasalamento. Outro evidente comportamento de

receptividade reprodutiva por parte das fêmeas é o *cloacal gaping*, no qual a fêmea expõe a abertura cloacal com movimentos da cauda (35, 36), como observado em *B. erythromelas* antes da ocorrência da cópula (Figura 1-A).

O comportamento de corte realizado pelas espécies observadas (*B. erythromelas*, *B. jararacussu* e *B. moojeni*) seguiu o mesmo repertório descrito por Gillingham (37) no qual os machos utilizam pistas químicas (feromônios) deixados pela fêmea para reconhecê-la e localizá-la (34). Embora o repertório comportamental tenha sido monitorado, não foi possível cronometrar o tempo gasto pelos machos durante a corte, o que impossibilita comparações entre outras espécies.

Nem sempre é fácil visualizar o comportamento de cópula em cativeiro, embora em muitas ocasiões, sejam observados vestígios de acasalamento (e.x., sangue deixado pela fêmea ou esperma deixado pelo macho). Entretanto, tais indicativos ou mesmo a cópula não garantem o sucesso da fertilização ou da prole, pois a fertilização pode não ocorrer e a fêmea pode abortar por vários motivos e até mesmo liberar ovos atrésicos (inférteis) provavelmente em função das limitações imposta pelo cativeiro, como já foi observado em outros estudos (38, 39).

O acasalamento em serpentes pode durar de 30 minutos a diversas horas (40, 41). As cópulas aqui observadas foram de 3 a 5 horas coincidindo com os dados observados na natureza (41). Não foi possível observar rituais de combate que ocorrem geralmente em períodos de acasalamentos (42-44), no entanto, foram observados comportamentos agonísticos e interações agressivas entre os espécimes *B. pauloensis*, sugerindo que tal comportamento, até então não relatado, pode fazer parte do repertório reprodutivo para esta espécie.

O período de acasalamento (outono) observado para *B. erythromelas*, *B. jararaca*, *B. jararacussu*, *B. pauloensis* e *B. neuwiedi* foi compatível com as estratégias de acasalamento adotadas pelo gênero, pois todas as serpentes que copularam, provavelmente estocaram espermatozoides ao longo do inverno, ficaram prenhes e tiveram filhotes no verão. Tais fatos vêm a corroborar a hipótese de que a época de acasalamento, e época de nascimentos de filhotes é conservada para as espécies do gênero (5, 6, 45, 46). Caso não ocorresse a estocagem de esperma, e levando-se em conta a época de cópula assistida (maio/ junho), teríamos em torno de nove a dez meses de gestação, o que certamente não ocorre em serpentes (4, 47).

No entanto, um padrão diferenciado foi observado em *B. moojeni* (cópula durante a primavera), pois a parturição foi observada no final do inverno (agosto), quase um ano após a cópula. Nesse caso, é provável que a fêmea tenha estocado o esperma no trato reprodutivo até a época da finalização da vitelogênese em maio (outono) do ano seguinte, sugerindo que as condições do cativeiro podem ter influenciado a mudança temporal do ciclo.

A fecundidade dos espécimes aqui analisados como, *B. jararaca*, *B. erythromelas*, *B. neuwiedi* e *B. pauloensis*, corrobora com dados já descritos na literatura (Tabela 2). A ninhada de *B. jararaca* geralmente é composta de 12 a 22 filhotes (5, 45). *Bothrops erythromelas* tem em média 11 filhotes (46), em espécimes da natureza o número de embriões nos ovidutos variou de 2 a 13 (48).

B. neuwiedi e *B. pauloensis*, apresentaram ninhadas de 4 filhotes. Essa baixa fecundidade para estes espécimes é característica do grupo *neuwiedi*, estando diretamente correlacionado com o tamanho e massa da mãe (6, 8), pois de acordo com Shine (43), quanto maior o comprimento da fêmea maior será sua fecundidade (38, 49).

B. moojeni tem em média 16 filhotes (7). No entanto, a *B. moojeni* aqui estudada, teve uma baixa fecundidade, com um grande número de ovos atrésicos e natimortos. Estes resultados podem estar relacionados com o período de cópula observado fora do padrão (outubro), ocasionando uma gestação durante o outono e inverno, período no qual as temperaturas são mais baixas, podendo, portanto ter influenciado o desenvolvimento

embrionário (8, 50). As altas temperaturas no período gestacional podem proporcionar um melhor desenvolvimento embrionário e pode reduzir os índices de anormalidades (8), além de acelerar a embriogênese e diminuir o período de incubação (51).

A massa relativa da ninhada (MRN), nas espécies *B. jararaca* e *B. erythromelas* seguiu a média de 0,3 (Tabela 2). Este índice foi encontrado para a maioria dos viperídeos vivíparos em cativeiro e em vida livre (5, 26, 47).

Dessa forma, os ciclos reprodutivos da maioria das espécies aqui analisadas, seguem o mesmo padrão reprodutivo: cópulas outonais, provável estocagem de esperma ao longo do inverno e parturição no verão.

Porém, há indícios de que as condições de cativeiro podem ser permissivas às variações das estratégias reprodutivas (3, 52) e do ciclo, como foi ressaltado em *B. moojeni*, na qual foram observadas cópula, parturição e fecundidade em épocas diferentes do já estabelecido para a espécie (7, 22).

Por outro lado, provavelmente, as condições de cativeiro (e.x., temperatura, alimentação) promoveram tal plasticidade, uma vez que, a determinação do “timing” reprodutivo e do tamanho da ninhada está relacionada com a frequência alimentar das serpentes (11, 53, 54). Entretanto, mais informações são necessárias para a compreensão dessa plasticidade, no grupo atrox, a qual pertence a espécie *Bothrops moojeni*.

Assim sendo, os dados obtidos acerca da biologia reprodutiva das espécies do gênero *Bothrops* neste trabalho poderão contribuir sobremaneira para futuros estudos que visem a conservação de espécies.

REFERÊNCIAS

1. Cullen JR, Rudran R, Valladares-Padua C. Métodos de estudos em biologia da conservação e manejo da vida silvestre. Curitiba: UFPR; 2003.
2. Adania CH, Silva JCR, Hashimoto CY, Santos EF. Studbook dos grandes felinos brasileiros: registro genealógico da onçapintada (*Panthera onça*) e suçuarana (*Puma concolor*) em cativeiro. Jundiaí: Livraria e Editora Conceito; 2005.
3. Watts PC, Buley KR, Sanderson S, Boardman W, Ciofi C, Gibson R. Parthenogenesis in Komodo dragons. *Nature*. 2006;444:21-8.
4. Mathies T. Reproductive cycles of tropical snakes. In: Aldridge RD, Sever DM. Reproductive biology and phylogeny of snakes. Enfield, New Hampshire: Science Publishers; 2011. p.511-50.
5. Almeida-Santos SM, Salomão MG. Reproduction in neotropical pitvipers, with emphasis on species of the genus *Bothrops*. In: Schuett GW, Hoggren M, Douglas ME, Greeme HW, editors. Biology of the vipers. Carmel Indiana: Eagle Mountain; 2002. p.445-62.
6. Valdujo PH, Nogueira CC, Martins M. Ecology of *Bothrops neuwiedi pauloensis* (Serpentes: Viperidae: Crotalinae) in the Brazilian Cerrado. *J Herpetol*. 2002;36:169-76.
7. Nogueira C, Sawaya RJ, Martins M. Ecology of *Bothrops moojeni* (serpentes: Viperidae: Crotalinae) in the Brazilian Cerrado. *J Herpetol*. 2003;37:653-9.
8. Hartmann MT, Marques OAV, Almeida-Santos SM. Reproductive biology of the southern Brazilian pitviper *Bothrops neuwiedi pubescens* (Serpentes, Viperidae). *Amphib Reptilia*. 2004;25:77-85.

9. Monteiro C, Montgomery CE, Spina F, Sawaya RJ, Martins M. Feeding, reproduction, and morphology of *Bothrops mattogrossensis* (Serpentes, Viperidae, Crotalinae) in the Brazilian pantanal. *J Herpetol.* 2006;40:408-13.
10. Aubret F, Bonnet X, Shine R, Lourdais O. Fat is sexy for females but not males: the influence of body reserves on reproduction in snakes (*Vipera aspis*). *Horm Behav.* 2002;42:135-47.
11. Bonnet X. In the evolution of semelparity. In: Aldridge RD, Sever DM. *Reproductive biology and phylogeny of snakes*. Enfield, New Hampshire: Science Publishers; 2011. p.645-74.
12. Stearns SC. *The evolution of life histories*. Oxford: University Press; 1992.
13. Almeida-Santos SM. Modelos reprodutivos em serpentes: estocagem de esperma e placentação em *Crotalus durissus* e *Bothrops jararaca* (serpentes: Viperidae) [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo; 2005.
14. Kasperoviczus KN. *Biologia reprodutiva da jararaca Ilhoa, Bothrops insularis, (Serpentes: Viperidae) da Ilha da Queimada Grande, São Paulo [dissertação]*. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo; 2009.
15. Barros VA, Sueiro LR, Almeida-Santos SM. Reproductive biology of the neotropical rattlesnake (*Crotalus durissus*) from northeastern Brazil: a test of phylogenetic conservatism of reproductive patterns. *Herpetol J.* 2012;22:97-104.
16. Pezzano V. Reproduction of *Bothrops alternatus* (Dumèril, Bibron & Dumèril, 1854) in captivity. *Litt Serp.* 1986;6:13-8.
17. Alves MLM, Leitão-de-Araujo M, Caberloni E. Atividade reprodutiva de *Bothrops neuwiedi* em cativeiro (Serpentes, Viperidae). *Iheringia Ser Zool.* 1998;84:185-91.
18. Alves MLM, Araujo ML, Witt AA. Aspectos da biologia reprodutiva de *Bothrops jararaca* em cativeiro (Serpentes, Viperidae). *Iheringia Ser Zool.* 2000;89:187-92.
19. Blem CR. Biennial reproduction in snakes: an alternative hypothesis. *Copeia.* 1982;(4):961-3.
20. Derickson WK. Lipid storage and utilization in reptiles. *Am Zool.* 1976;16:711-23.
21. Aldridge RD, Duvall D. Evolution of the mating season in the pitvipers of North America. *Herpetol Monogr.* 2002;16:1-25.
22. Leloup P. Observations sur La reproduction de *Bothrops moojeni* hogue en captivite. *Acta Zool Pathol Antverp.* 1975;62:173-201.
23. Zacariotti RL, Zimak TF, Valle RR. *Bothrops moojeni* (Brazilian lancehead): mating. *Herpetol Bull.* 2011;115:33-4.
24. Janeiro-Cinquini TRF, Leinz FF. Ovarian cycle of the snake *Bothrops jararaca*. *Mem Inst Butantan.* 1993;55:33-6.

25. Almeida-Santos SM, Orsi AM. Ciclo reprodutivo de *Crotalus durissus* e *Bothrops jararaca* (Serpentes, Viperidae): morfologia e função dos ovidutos. *Rev Bras Reprod Anim.* 2002;26:109-12.
26. Shine R. "Costs" of reproduction in reptiles. *Oecologia.* 1980;46:92-100.
27. Seigel RA, Ford NB. Phenotypic plasticity in reproductive traits: geographical variation in plasticity in a viviparous snake. *Funct Ecol.* 2001;15:36-42.
28. Almeida-Santos SM, Laporta-Ferreira IL, Antoniazzi MM, Jared C. Sperm storage in males of the snake *Crotalus durissus terrificus* (Crotalinae: Viperidae) in southeastern Brazil. *Comp Biochem Physiol.* 2004;139:169-74.
29. Almeida-Santos SM, Salomao MG. Long term sperm storage in the female neotropical rattlesnake *Crotalus durissus terrificus* (Viperidae: Crotalidae), The Herpetological Society of Japan. *Jpn J Herpetol.* 1997;17:46-52.
30. Marques OAV, Almeida-Santos SM, Rodrigues M, Camargo R. Mating and reproductive cycle in the neotropical colubrid snake *Chironius bicarinatus*. *South Am J Herpetol.* 2009;4:76-80.
31. Klauber LM. Rattlesnakes their habits, life histories, and influence on mankind. Berkeley: University of California Press; 1972.
32. Crews D. Gamete production, sex hormone secretion and mating behaviour uncoupled. *Horm Beh.* 1984;18:22-8.
33. Mason RT. Pheromones reptilian. In: Gans C, Crews D. *Biology of the reptilian: physiology e hormones, brain, and behavior.* Chicago: The University of Chicago Press; 1992. p.115-65.
34. Shine R, Mason RT. An airborne sex pheromone in snakes. *Biol Lett.* 2012;8:183-5.
35. Carpenter CC. Communication and displays of snakes. *Am Zool.* 1977;17:217-23.
36. Almeida-Santos SM, Salomão MG, Peneti EA, Sena PS, Guimaraes ES. Predatory combat and tail wrestling in hierarchical contests of the neotropical Rattlesnakes *Crotalus durissus terrificus* (Serpentes: Viperidae). *Amphib Reptilia.* 1999;20:88-96.
37. Gillingham JC. Social behavior. In: Seigel RA, Collins JT, Novak SS. *Snakes: Ecology and evolutionary biology.* New York: McMillan Publishing Company; 1987. p.184-209.
38. Janeiro-Cinquini TRF. Capacidade reprodutiva de *Bothrops jararaca* (Serpentes, Viperidae). *Iheringia Ser Zool.* 2004;94:429-31.
39. Taylor EN, DeNardo D. Reproductive ecology of western diamond-backed rattlesnakes (*Crotalus atrox*) in the Sonoran Desert. *Copeia.* 2005;(1):152-8.
40. Coborn J. *The atlas of snakes of the world: reproduction and propagation.* Neptune City: T.F.H. Publications; 1991.

41. Luiselli L. The mating strategy of the European adder, *Vipera berus*. *Acta Oecol.* 1995;16:375-88.
42. Shine R. Sexual size dimorphism and male combat in snakes. *Oecologia.* 1978;33:269-78.
43. Shine R. Sexual size dimorphism in snakes revisited. *Copeia.* 1994(2):326-46.
44. Almeida-Santos SM, Marques OAV. Male-male ritual combat in the colubrid snake *Chironius bicarinatus* from the Atlantic Forest, southeastern Brazil. *Amphib Reptilia.* 2002;23:528-33.
45. Sazima I. Natural history of the Jararaca Pitviper, *Bothrops jararaca*, in southeastern Brazil. In: Campbell JA, Brodie ED. *Biology of the pitvipers.* Tyler, Texas: Selva Publications; 1992. p.202-4.
46. Lira-da-Silva RJ, Casais-e-Silva LL, Queiroz IB, Nunes TB. Contribuição à biologia de serpentes da Bahia, Brasil. L víviparas. *Rev Bras Zool.* 1994;11:187-93.
47. Seigel RA, Ford NB. Reproductive ecology. In: Seigel RA, Collins JT, Novak SS. *Snakes: ecology and evolutionary biology.* New York: MacGraw-Hill Publishing Company; 1987. p.210-43.
48. Barros VA. *Biologia reprodutiva de três espécies de serpentes da Família Viperidae da região neotropical [dissertação].* São José do Rio Preto: Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista; 2011.
49. Scartozzoni RR, Almeida-Santos SM. *Helicops Leopardinus* (Water snake): reproduction. *Herpetol Bull.* 2006;97:39-40.
50. Lourdais O, Shine R, Bonnet X, Guillon M, Naulleau G. Climate affects embryonic development in a viviparous snake, *Vipera aspis*. *Oikos.* 2004;104:551-60.
51. Hubert J. Embryology of the squamata. In: Gans C, Billet F. *Biology of the reptilia.* New York: Wiley and Sons; 1985. v.15, p.1-55.
52. Krohmer RW, Grassman M, Crews D. Annual reproductive cycle in the male red-sided garter snake, *Thamnophis sirtalis parietalis*: field and laboratory studies. *Gen Comp Endocrinol.* 1987;68:64-75.
53. Santos X, Llorente GA, Feriche M, Pleguezuelos JM, Casals F, Sostoa A. Food availability induces geographic variation in reproductive timing of an aquatic oviparous snake (*Natrix maura*). *Amphib Reptilia.* 2005;26:183-91.
54. Bronokowiski AM, Arnold SJ. The evolutionary ecology of life history variation in the garter snake *Thamnophis elegans*. *Ecology.* 1999;80:2314-25.

Recebido em: 14/02/2013

Aceito em: 07/05/2013

AVALIAÇÃO DO TEMPO DE ELIMINAÇÃO DA PLACENTA EM ÉGUAS PURO SANGUE INGLÊS DE DIFERENTES IDADES

Bruna da Rosa Curcio¹
Vitória Müller
Verônica La Cruz Bueno
Natane Miranda Saraiva
Ilusca Sampaio Finger
Lorena Soares Feijó
Fernanda Maria Pazinato
Cláudia Haetinger
Carlos Wayne Nogueira

RESUMO

A placenta da égua é um órgão transitório, responsável por trocas metabólicas entre a mãe e o concepto. A expulsão da placenta usualmente ocorre de 30-90 minutos após o nascimento do potro. Este estudo tem como objetivo relacionar a idade e o número de partos de 270 éguas da raça Puro Sangue Inglês (PSI) com o tempo que estas levaram para eliminar suas placentas. Os dados coletados são referentes a éguas de um criatório de Puro Sangue Inglês da região de Bagé/RS. As éguas foram categorizadas em 3 grupos de idade (Grupo I, 3 a 7 anos, n=113; Grupo II, 8 a 14 anos, n=129; Grupo III, 15 anos ou mais, n= 30) e de acordo com o número de partos em 2 grupos (Primíparas, n=46 e Multíparas, n=221). O tempo médio de eliminação da placenta foi de 47,8min, sendo que no Grupo I foi de 50,8min, no Grupo II de 46,5min e no Grupo III de 42,4min. Nas éguas primíparas o tempo médio para eliminação da placenta foi de 42,7min, enquanto que para éguas multíparas foi de 48,9min. Não houve diferença no tempo de eliminação da placenta entre os grupos ($p>0,05$). As variáveis idade e número de partos não interferiram no tempo de eliminação da placenta, não sendo observada interação entre essas duas variáveis. Conclui-se que a idade e o número de partos destas não apresentaram efeito no tempo de eliminação da placenta em éguas PSI da região de Bagé/RS.

Palavras Chave: obstetrícia equina, primíparas, multíparas, partos

EVALUATION OF PLACENTAL DELIVERY IN THOROUGHBRED MARES IN DIFFERENT AGES

ABSTRACT

The mare's placenta is a transitory organ responsible for metabolic exchange between mother and fetus. The expulsion of the placenta usually occurs 30-90 minutes after foal's birth. This study aims to relate the age and number of foaling of 270 Thoroughbred mares with the time they took to eliminate their placentas. The data collected from a Thoroughbred breeding farm in Bagé/RS. The mares were divided according age in three groups (Group I, 3-7years old, n=113; Group II, 8-14 years old, n=129; Group III, aging 5 years or more, n=30) and according to the number of foaling in two groups (Primiparous, n=46; Multiparous, n=221). The mean of time elimination of the placenta was 47.8 min, Group I was 50.8 min, Group II 46.5 min and 42.4 min for Group III. In primiparous mares the average time from delivery of the placenta was 42.7 min, while for multiparous mares was 48.9 min. There was not difference in the time of placenta delivery between the groups ($p>0.05$). The age and number

¹ Faculdade de Veterinária – UFPel/RS - Brasil

of births did not affect in the time of removal of the placenta, and no observed interaction between these two variables. Concludes that the age of mares and the number of these foaling showed no effect at the time of delivery of the placenta in Thoroughbred mares.

Key words: equine obstetrics, primiparous, multiparous, foaling

EVALUACIÓN DEL TIEMPO PARA LA ELIMINACIÓN DE LA PLACENTA EN YEGUAS PURA SANGRE INGLÉS DE DIFERENTES EDADES

RESUMEN

La placenta de la yegua es un órgano transitorio, responsable por el intercambio metabólico entre la madre y el feto. La expulsión de la placenta ocurre generalmente 30-90 minutos (min) después del nacimiento del potro. Este estudio tiene como objetivo relacionar la edad y el número de nacimientos de 270 yeguas de raza Pura Sangre Inglés (PSI) con el tiempo que llevaron para eliminar las placentas. Los datos obtenidos se refieren a yeguas de un criadero de Pura Sangre Inglés de la región de Bagé / RS. Las yeguas fueron divididos en tres grupos de acuerdo a la edad (Grupo I, 3-7 años, n = 113; Grupo II, 8 a 14 años, n = 129, Grupo III, 15 años o más, n = 30) y de acuerdo al número de nacimientos en dos grupos (Primíparas, n = 46; Multíparas, n = 221). La media total de eliminación de la placenta fue de 47,8 minutos. En el Grupo I fue de 50,8 minutos en el grupo II 46,5 minutos y 42,4 minutos para el Grupo III. En las yeguas primíparas el tiempo medio para la eliminación de la placenta fue de 42,7 minutos, mientras que para las yeguas multíparas fue de 48,9 minutos. No hubo diferencia en el momento de la eliminación de la placenta entre los grupos ($p > 0,05$). La edad y el número de nacimientos no interfirieron en el momento de la eliminación de la placenta, no siendo observada interacción entre estas dos variables. De ello se concluye que la edad de las yeguas y el número de partos, no tiene ningún efecto en el tiempo de eliminación de la placenta.

Palabras clave: obstetricia equina, primíparas, multíparas, nacimiento

INTRODUÇÃO

A placenta da égua é um órgão transitório responsável por trocas metabólicas entre a mãe e concepto. É composta por uma porção fetal, derivada do córion, e outra materna, derivada de modificações do endométrio. Devido as características morfofuncionais, a placenta equina é classificada como epiteliocorial difusa, microcotiledonária e adecídua (1). A placenta é um órgão fundamental na relação materno-fetal, e deve ser considerada como um reflexo das condições nutricionais, metabólica, endócrina e vascular materna, além de ser indicativa da condição clínica e metabólica do neonato (2, 3).

A expulsão das membranas fetais constitui o terceiro estágio do parto e, normalmente, ocorre de 30-90 minutos após o parto. Após a expulsão do potro e ruptura do cordão umbilical, ocorre colapso dos vasos da placenta e subsequente encolhimento das vilosidades coriônicas, o que associado ao peso da membrana amniótica é suficiente para promover a separação do alantocóron da parede uterina. As contrações uterinas também contribuem para a eliminação da placenta, iniciam nos ápices dos cornos uterinos e progridem em direção à cérvix, reduzindo o tamanho do útero e o volume de sangue circulante no endométrio (4).

A retenção das membranas fetais é definida como a falha total ou parcial no processo de expulsão da placenta após a expulsão do potro (4). O padrão fisiológico que determina o tempo em que esse processo se resolva é variável. Na maioria das raças se até três horas após o parto a placenta não for liberada, esta é considerada retida (4-6). Não existem estudos que definam estes valores para éguas da raça Puro Sangre Inglês.

A permanência da placenta no lúmen uterino pode causar endometrite e metrite, atrasando a involução do órgão durante o puerpério. Caso a fêmea não receba tratamento apropriado existe um alto risco de contaminação bacteriana, provocando redução na fertilidade, endotoxemia, septicemia, laminite e até mesmo óbito (7, 8).

A retenção da placenta possui prevalência de 6-54%, sendo essa variação relacionada principalmente com a raça das éguas. Ocorre com maior frequência em casos de aborto, gestação prolongada, gestação gemelar, distocia e cesariana (7, 9, 10).

Este estudo tem como objetivo avaliar a influência da idade e do número de partos no tempo de eliminação da placenta em éguas da raça Puro Sangue Inglês (PSI). Além de comparar os índices de retenção de placenta de acordo com os grupos de idade das éguas.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram acompanhados 270 partos eutócicos, em um criatório de equinos Puro Sangue Inglês na região de Bagé/RS, no período de 2009 à 2011. As éguas eram mantidas a campo com suplementação de ração balanceada, com garantia de 12% de proteína e 27,5 mCal de energia digestível. Submetidas à desverminação a cada 90 dias e vacinação, conforme calendário adequado, contra tétano, rinopneumonite, influenza e encefalomielite. No mês em que o parto estava previsto, as mesmas eram estabuladas durante a noite com consumo *ad libitum* de feno de alfafa e água.

As éguas foram acompanhadas durante todas as etapas do parto, até o momento da eliminação completa da placenta, sem intervenção terapêutica ou manual (Figura 1). Éguas que permaneceram com a placenta por um período superior a 120 minutos foram consideradas com retenção de placenta, conforme descrito por Allen (11) e Finger et al. (12).

Para análise estatística as variáveis independente foram categorizadas: Idade em três níveis (Grupo I de 3 a 7 anos, n=113; Grupo II de 8 anos a 14 anos, n=129 e Grupo III de 15 anos ou mais, n=30) e número de partos em dois níveis (éguas Primíparas, n=46 e éguas Multíparas, n=221). Realizada estatística descritiva (média, desvio padrão-DP e erro padrão da média-EP) e análise de variância para avaliação do efeito das variáveis independentes, idade e número de partos, sobre o tempo de eliminação de placenta. Para a comparação entre as médias foi realizado o teste de Tukey. Para comparação do índice de retenção de placenta entre os grupos de idade foi utilizado teste de qui-quadrado. Os dados foram analisados no programa Statistix[®] 9.0 (Analytical Software, 2008).



Figura 1. Égua PSI durante a terceira etapa do parto.

RESULTADOS

O tempo médio de eliminação da placenta obtido no total das éguas avaliadas foi de 47,8 minutos (DP+52, EP+3,05). A estatística descritiva dos resultados obtidos dos grupos de égua, de acordo com a idade, estão demonstrados na Tabela 1. Nas éguas primíparas o tempo médio para eliminação da placenta foi de 42,7 min (DP+38, EP+5,75), enquanto que para éguas múltíparas foi de 48,9 min (DP+52, EP+3,74).

Não houve diferença no tempo de eliminação das membranas fetais entre éguas primíparas e múltíparas. As variáveis idade e número de partos não interferiram no tempo de eliminação da placenta, não sendo observada interação entre elas.

A média de tempo de eliminação para as éguas consideradas com retenção de placenta foi de 220 minutos, com valor mínimo de 120 e máximo de 525 minutos. Foi observada retenção de placenta em 4,8% (n=13) das éguas. O índice de retenção de placenta entre os grupos de idade não demonstrou diferença ($p>0,05$), sendo de 6,29% (n=7) para o Grupo I; 3,88% (n=5) para o Grupo II e 3,33% (n=1) para o Grupo III.

Tabela 1. Tempo de eliminação (min) da placenta de éguas PSI, de acordo com o grupo de idades

Grupo idade	N	Média	DP	EP
I	113	50,8 ^a	64,14	6,03
II	129	46,5 ^a	39,63	3,48
III	30	42,4 ^a	26,25	4,79

^aLetras iguais na coluna demonstram que não foi identificada diferença entre as médias ($p>0,05$)

DISCUSSÃO

O presente estudo demonstrou que a idade das éguas não interferiu no tempo de eliminação da placenta. Foi observada diferença de apenas 8,4 minutos (Tabela 1) entre as médias de tempo de eliminação de placenta de éguas do grupo I (3-5 anos) para o grupo III (≥ 15 anos). O número de partos (éguas primíparas e múltíparas) também não interferiu no tempo de eliminação das membranas fetais. A análise de somente partos eutócicos no presente estudo, permite sugerir um valor de 47,8 minutos como a média padrão fisiológica para a eliminação da placenta de éguas PSI, independente da idade e número de partos. Uma vez que o processo de maturação dos microcotilédones placentários parece ser o evento primordial para a ocorrência da separação entre as vilosidades coriônicas e as criptas endometriais e assim, do processo de expulsão da placenta durante o terceiro estágio do parto (4).

Foi observado um baixo índice de retenção de placenta (4,8%) no presente estudo, não sendo constatada diferença entre os grupos de idade das éguas. Esse resultado é similar ao descrito em estudo retrospectivo em éguas da raça Standardbred (6), o qual avaliou 3456 partos, em quatro grupos de idade (< 6 anos, ≥ 6 anos à 10 anos, ≥ 11 anos à 15 anos e > 16 anos), não encontrando diferença nos índices de retenção. Éguas da raça Friesian apresentam altas taxas de retenção de placenta (54%), sendo que com idades de até 4 e mais de 17 anos demonstraram uma tendência a menores índices de retenção de placenta do que éguas entre 5-17 anos de idade (5). Nessa raça foi comprovada uma reduzida concentração de cálcio sérico nas éguas que apresentaram retenção de placenta, o que não é descrito para éguas de raças de tração leve. Mais estudos são necessários para esclarecimento do perfil metabólico das éguas PSI com retenção de placenta. Vacas mais velhas e com maior número de partos apresentam maior incidência de retenção de placenta, devido a predisposição a quadros de atonia uterina (13). Em equinos essa relação não foi estabelecida até o presente momento.

Segundo Allen (11) o período de eliminação das membranas fetais deve ser de até 90 minutos. Assim, considerado o quadro de “retenção de placenta” quando as éguas permaneceram com os envoltório retidos por um período superior a 120 minutos. Sendo esse período inferior de 180 minutos, descrito pela maioria dos autores (4, 8, 9). A escolha de 120 minutos foi realizada devido a rotina obstétrica dos haras de PSI na região de Bagé/RS. Sendo que a partir desse período de permanência da placenta retida é realizada a abordagem terapêutica para o tratamento do quadro. No presente estudo não foram observados quadros clínicos secundário a retenção das membranas fetais, como metrite tóxica, endotoxemia e laminite (4, 7, 8). A rápida intervenção reduz os riscos de prolongar o período de retenção, reduzindo também os efeitos indesejáveis na sanidade reprodutiva no cio subsequente das éguas (6).

No presente estudo, o baixo índice de retenção de placenta, assim como o sucesso na manipulação e tratamento dos casos que ocorreram também é resultado do manejo adequado no momento do parto, garantindo as condições de higiene na manipulação e identificação precoce do problema, como o descrito por Provencher et al. (6).

CONCLUSÕES

A idade e o número de partos das éguas não apresentaram efeito no tempo de eliminação da placenta em éguas da raça Puro Sangue Inglês na região de Bagé/RS. Foi observado um baixo índice de retenção de placenta (4,8%) na população estudada, não sendo observada diferença desses índices de acordo com o grupo de idade das éguas.

ASPECTOS ÉTICOS

Dados provenientes do Projeto “*Estudo reprodutivo retrospectivo e prospectivo e sua relação com o desenvolvimento gestacional e período neonatal em criatórios de equinos da região sul*”, aprovado pela Comissão de Ética e Experimentação Animal da UFPel em 18 de dezembro de 2010, sob o código 5810.

REFERÊNCIAS

1. Curcio BR, Lins LA, Nogueira CEW. Parto. In: Nogueira CEW, Lins LA. Neonatologia e pediatria equina. Pelotas: Editora e Gráfica Universitária da UFPel; 2010. v.1, p.59-89.
2. Allen WR, Wilsher S, Turnbull C, Stewart F, Ousey J, Rosedale PD, et al. Influence of maternal size on placental, fetal and postnatal growth in the horse. I. Development in utero. *Reproduction*. 2002;123:445-53.
3. Lins LA, Finger IS, Fernandes CG, Curcio BR, Corrêa MN, Nogueira CEW. Resposta clínica e metabólica de potros neonatos em relação aos achados histopatológicos da placenta na égua. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 2012;64:1436-41.
4. Troedsson MHT. Fetal membrane retention and toxic metritis. In: *Proceedings of the Annual Conference of Society for Theriogenology*; 2000, Madison. Madison: Society of Theriogenology; 2000. p.113-8.
5. Sevinga M, Barkema HW, Stryhn H, Hesselink JW. Retained placenta in fresian mares: incidence and potencial risk factors with special emphasis on gestation length. *Theriogenology*. 2004;61:851-9.

6. Provencher R, Threlfall WR, Murdick PW, Wearly K. Retained fetal membranes in the mare: a retrospective study. *Can Vet J.* 1988;29:903-10.
7. Blanchard TL, Macpherson ML. Postparturient abnormalities. In: Samper JC, Pycock JF, McKinnon AO. *Current therapy in equine reproduction.* United States of America: Saunders; 2007. p.465-75.
8. Leblanc M. Common peripartum problems in the mare. *J Equine Vet Sci.* 2008; 28:709-15.
9. Frazer GS. Postpartum complications in the mare. Part 1: Conditions affecting the uterus. *Equine Vet Educ.* 2002;5:41-9.
10. Turner RM. Post-partum problems: the top ten list. In: *Proceedings of the 53rd Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners; 2007, Orlando.* Orlando, Florida: AAEP; 2007. p.306-19.
11. Allen WR. The physiology of later pregnancy in the mare. In: *Proceedings of the Annual Conference of Society for Theriogenology; Texas.* Texas: Society of Theriogenology; 2000. p.3-15.
12. Finger IS, Curcio BR, Lins LA, Frey Jr F, Nogueira CEW. Assistência ao parto em equinos. *Rev Bras Med Vet Equina.* 2010;5(30):32-5.
13. Erb RE, Hinze PM, Gildow EM, Morrison RA. Retained fetal membranes: the effect on prolificacy of dairy cattle. *J Am Vet Med Assoc.* 1958;133:489-96.

Recebido em: 05/09/2012

Aceito em: 18/09/2013

RANQUEAMENTO/AGRUPAMENTO DO SÊMEN CONGELADO DE CARNEIROS DA RAÇA SANTA INÊS ANALISADAS PELO SISTEMA CASA E SONDAS FLUORESCENTES PELA ANÁLISE ESTATÍSTICA MULTIVARIADA

Daniel Bartoli de Sousa¹
Sony Dimas Bicudo²
Hymerson Costa Azevedo²
Marciane Silva Maia²

RESUMO

O processo de criopreservação acarreta uma série de alterações resultando em uma marcante redução da fertilidade. Buscam-se novas formas de avaliação do movimento espermático, tais como a análise das sub-populações espermáticas pelo sistema CASA. Sondas fluorescentes vêm sendo estudadas para avaliação da integridade do espermatozóide, fornecendo informações adicionais sobre sua funcionalidade. Tem-se como objetivo otimizar o emprego do sistema CASA em combinação de sondas fluorescentes como nova forma de avaliação dos parâmetros qualitativos do sêmen congelado de ovinos. Em vinte e seis partidas de sêmen congelado procederam-se as avaliações CASA e Teste MITO. Utilizou-se a análise fatorial com método de rotação VARIMAX e análise de agrupamentos com método de Ward. Para análise optou-se por considerar a cinética individual de cada espermatozóide, ampliando o universo amostral de 26 médias para 5834 espermatozoides. Quanto as sondas fluorescentes, teste MITO, houve a classificação das amostras em oito categorias. Com a técnica exploratória multivariada houve a redução da dimensionalidade obtendo-se três fatores: fator F1, interpretado com um fator relacionado à progressividade do movimento; fator F2, representa um fator de deslocamento espermático sem considerar a direção do movimento; fator F3, diz respeito à energia disponível/ disponibilizada para a movimentação espermática. Houve a determinação dos escores dos coeficientes dos fatores, agrupando as amostras em 9 sub-populações, com características qualitativas distintas. Com o uso da análise estatística multivariada do sêmen congelado ovino foi possível determinar no sistema CASA diferenças fisiológicas e cinemáticas das sub-populações associada a combinação de sondas fluorescentes, havendo analogia entre parâmetros do sistema CASA e teste MITO.

Palavras chave: sub-população espermática, criopreservação do sêmen de carneiros, análise computadorizada do movimento espermático (CASA), atividade mitocondrial, sondas fluorescentes

RANKING/GROUPING OF SANTA INÊS RAM FROZEN SEMEN ANALYZED BY CASA AND FLUORESCENT PROBES LEAD THROUGH THE MULTIVARIATE STATISTICS ANALYSIS

ABSTRACT

The cryopreservation process causes several alterations in semen quality, reducing fertility. New evaluations of sperm motility have been searched, such as the sperm subpopulations analysis by computer-assisted motility assessments (CASA). Fluorescent probes have been studied to evaluate spermatozoon integrity, supplying functional information of the

¹ Prof. Aux. Morfologia Veterinária, Universidade Federal de Goiás - Campus Jataí.

² Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu, FMVZ - UNESP Botucatu.

spermatozoa. The aim of this study was to optimize the CASA system in combination with fluorescent probes as a new method of evaluation of the qualitative parameters of the frozen semen of rams. Twenty-six frozen semen samples were evaluated by CASA and MITO Test. The cluster analysis was used with the VARIMAX rotation method and the grouping analysis was performed with Ward's method. The individual kinetics of each spermatozoon was considered for the analysis, extending samples from 26 averages to 5834 spermatozoa. For the MITO test, the samples were grouped into eight categories. The multivariate exploring technique pointed out reduction of the dimensionality, leading to three factors: F1 factor interpreted as a factor related to the forward movement; F2 factor represents a factor of sperm displacement without considering the movement direction; F3 factor means the energy available for the sperm displacement. The determination of score coefficients of the factors was determined by grouping the samples into 9 subpopulations, with distinct qualitative characteristics. With the use of the multivariate statistics analysis of the frozen semen of the rams, it was possible to determine physiological and kinematics differences of the subpopulations associated to the fluorescent probes in the CASA system, with correlations between the CASA system and the MITO test.

Keywords: sperm subpopulation, cryopreservation of ram semen, computer-assisted semen motility analysis (CASA), mitochondrial activity, fluorescent probes

CATEGORIZACIÓN DE SEMEN CONGELADO DE CARNEROS SANTA INÉS SOMETIDOS AL ANÁLISIS CASA Y MARCADORES FLUORESCENTES POR MEDIO DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO MULTIVARIADO.

RESUMEN

El proceso de criopreservación causa una serie de alteraciones en la calidad del semen que lleva a una importante reducción de la fertilidad. Se han buscado nuevas maneras de evaluación del movimiento del espermatozoide, como por ejemplo el análisis de las subpoblaciones de espermatozoide mediante evaluación computarizada de la motilidad, CASA. Los marcadores fluorescentes han sido estudiados para la evaluación de la integridad del espermatozoide, proporcionando información adicional con relación a la función espermática. El objetivo de este trabajo fue optimizar la utilización del sistema CASA en combinación con marcadores fluorescentes como un nuevo método de evaluación de los parámetros cualitativos del semen congelado de carneros. Veintiséis muestras fueron evaluadas por los métodos CASA y MITO. Fue utilizado el sistema de rotación VARIMAX y el método de WARD para análisis de las categorías. Para el examen fue considerada la cinética de cada espermatozoide, ampliando el universo muestral de 26 para 5834 espermatozoides. Con relación a los marcadores fluorescentes y el método MITO, las muestras fueron agrupadas en ocho categorías. Con la técnica exploratoria multivariada hubo reducción de la dimensión a tres factores: factor F1, explicado por un factor relacionado con el movimiento progresivo; factor F2, que representa un factor de dislocación del espermatozoide sin juzgar la dirección del movimiento; factor F3, que significa la energía disponible para la dislocación del espermatozoide. Se determinaron los valores para las clasificaciones, creando 9 subpoblaciones de muestras, con características cualitativas distintas. Con el uso del análisis estadístico multivariado del semen congelado de carnero, fue posible determinar, por el método CASA, diferenciaciones fisiológicas y cinemáticas de las subpoblaciones asociada a las combinaciones de sondas fluorescentes, lo que mostró analogía entre los métodos CASA y MITO.

Palabras clave: subpoblación de esperma, criopreservación del semen de carnero, análisis computadorizada del movimiento de los espermatozoides (CASA), actividad mitocondrial, marcadores fluorescentes

INTRODUÇÃO

A criopreservação do sêmen há muito tem sido vista como uma forma de beneficiar a reprodução dos animais de importância agropecuária, além de ser reconhecida como uma ferramenta para a preservação de espécies em perigo de extinção e de auxiliar em programas de infertilidade humana. Entretanto, o processo de criopreservação acarreta uma série de alterações resultando em uma marcante redução da fertilidade (1).

Nos últimos anos, houve uma evolução nas formas de visualização e avaliação do movimento espermático. Os sistemas de análise computadorizado do movimento espermático (CASA), que representam a terceira geração de equipamentos com essa finalidade, propiciaram um salto na maneira de compreender a célula espermática, possibilitando o acompanhamento de uma grande variedade de parâmetros associados à cinética espermática (2). Este tipo de análise não determina somente a motilidade, mas também quantifica características específicas do movimento espermático podendo ainda determinar a presença e a cinética das sub-populações de espermatozoides constituintes da amostra (3, 4).

Contudo ainda há uma subutilização desses sistemas, considerando-se a forma de explorar suas informações fornecidas pelo sistema CASA (4). Esse é um problema existente no sistema CASA, onde o grande número de parâmetros fornecidos, na maioria das vezes, está altamente correlacionado. Isto torna difícil uma avaliação objetiva de quais parâmetros poderiam explicar acuradamente o movimento espermático (4). Entretanto, a quantidade de dados gerados pelo sistema CASA pode ser simplificada, tornando a análise mais informativa. O CASA também foi designado para detectar grupos com grande afinidade de dados, não sendo desprezada sua distribuição na amostra (5).

Com essa nova forma de registro da avaliação pode-se verificar a cinética individual dos espermatozoides, ampliando o conjunto de informações para um grande conjunto de variáveis. Tal ideia vem ganhando espaço na análise de dados dos experimentos com espermatozoides (2-7).

O emprego de sondas fluorescentes vem sendo estudado buscando-se a avaliação da integridade do espermatozoide. Apesar do alto custo, elas podem fornecer informações adicionais da funcionalidade dos espermatozoides. Uma variedade de sondas tem sido utilizadas na análise dos diferentes componentes celulares. Alguns laboratórios empregaram uma combinação de sondas fluorescentes específicas para os diversos domínios espermáticos, estimando a qualidade do sêmen (8).

OBJETIVO

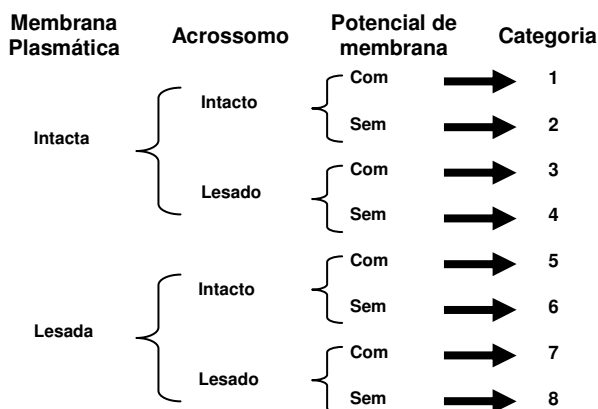
Frente a isso, tem se como objetivo otimizar o emprego do sistema de análise computadorizada do movimento espermático pela cinética das sub-populações de espermatozoides em combinação de sondas fluorescentes como parâmetro qualitativo do sêmen congelado de carneiros.

MATERIAL E MÉTODOS

Em vinte e seis partidas de sêmen congelado, pertencentes a 26 carneiros da raça Santa Inês procederam-se as avaliações utilizando-se:

1) Análise Computadorizada do Movimento Espermático³ (CASA), conforme *setup* recomendado pelo fabricante, dos parâmetros Motilidade Total (%) MT; Motilidade Progressiva (%) MP; Velocidade de Trajeto ($\mu\text{m/s}$) VAP; Velocidade Progressiva ($\mu\text{m/s}$) VSL; Velocidade Curvilinear ($\mu\text{m/s}$) VCL; Amplitude Lateral da Cabeça (μm) ALH; Frequência de Batimentos (Hz) BCF; Retilinearidade (%) STR; Linearidade (%) LIN e Elongação (%) ELONG, segundo Sousa (9).

2) Associação das sondas iodeto de propídeo, aglutinina de *Pisum sativum* conjugada com o isotiocianato de fluoresceína (FITC-PSA) e Mito Tracker Green FM– Teste MITO (10) adaptação.



A metodologia estatística utilizada foi análise Exploratória de Dados, Estatísticas Descritiva, Gráficos e Técnicas Multivariadas: Análise Fatorial com método de rotação VARIMAX e Análise de Agrupamentos com método de Ward. O software estatístico empregado foi o Minitab, versão 14.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após as descongelações, as amostras foram analisadas pelo sistema CASA sendo verificados valores médios, desvios padrão e amplitude de variação dos parâmetros avaliados conforme a Tabela 1.

Para análise dos resultados fornecidos pelo sistema CASA, optou-se por considerar a cinética de cada espermatozóide individualmente. Desta forma, utilizou-se o espermatozóide como variável ampliando o universo amostral de 26 médias para 5834 espermatozoides analisados separadamente quanto aos parâmetros de sua cinética e trajetória.

Vários estudos similares ocorreram em outras espécies: sêmen fresco de cachacos e de gazelas e congelado de gazelas (3, 5); sêmen refrigerado de cachacos (11) e sêmen canino fresco e congelado (12).

Segundo esses autores, apesar de muitos estudos já publicados utilizarem o sistema CASA, alguns resultados mostraram-se desapontadores ou pouco informativos, provavelmente devido a uma análise inapropriada dos dados, os quais são apresentados apenas como médias \pm desvios ou erros padrão, baseando essa análise em uma avaliação paramétrica.

Abaigar et al. (3) valorizaram a avaliação baseada na distribuição bimodal e com alto desvio associada com marcantes extensões dos dados, o que reflete a presença de subpopulações na amostra global. Essas extensões tendem a mascarar os efeitos do tratamento se os parâmetros forem examinados individualmente, devido ao desvio padrão alto não permitir sua detecção por testes baseados apenas na variância.

3 HTMA-IVOS 12.3 – Hamilton Research - Beverly, MA, USA

Quanto às sondas fluorescentes, determinou-se a classificação do sêmen congelado dos carneiros pelo emprego do teste MITO dentro das oito categorias (Tabela 2).

Tabela 1. Valores médios, desvios padrão e amplitude de variação dos parâmetros da cinética espermática avaliados no sistema computadorizado de análise do sêmen CASA – HTM-IVOS (versão 12,3) das amostras de sêmen congelado de carneiros (n=26)

Parâmetros	Média	Desvio padrão	Amplitude de variação
MT (%)	47,3	22,9	5,0 – 90,0
MP (%)	19,5	13,5	0 – 53,0
VCL (µm/s)	166,3	30,4	82,1 – 225,4
VAP (µm/s)	103,4	27,9	39,6 – 150,8
VSL (µm/s)	82,4	27,2	23,3 – 130,8
ALH (m/s)	6,5	2,1	0 – 9,1
BCF (Hz)	34,5	2,8	28,1 – 39,3
STR (%)	70,0	6,0	60,0 – 83,0
LIN (%)	45,5	8,8	28,0 – 60,0

MT - Motilidade total; MP - Motilidade progressiva; VCL - Velocidade de deslocamento real dos espermatozoides; VAP - Velocidade curvilínea sobre um trajeto uniforme desprezando-se o deslocamento lateral da célula espermática; VSL - Velocidade retilínea considerando-se a trajetória espermática uma reta; ALH - Deslocamento lateral de cabeça; BCF - Frequência de batimento; LIN - Linearidade; STR - Índice retilíneo do movimento espermático

Tabela 2. Categorização geral do sêmen congelado de carneiros determinada pela teste MITO

Categoria	Número do carneiro
1	-
2	14, 18, 19, 20, 21, 23, 24, 25, 26
3	-
4	-
5	1, 2, 6, 9, 11, 12, 15, 17
6	7, 10, 13, 22
7	3, 4, 5, 8
8	16

1. Membrana plasmática intacta, acossomo intacto e com potencial de membrana mitocondrial; 2. Membrana plasmática intacta, acossomo intacto e sem potencial de membrana mitocondrial; 3. Membrana plasmática intacta, acossomo lesado e com potencial de membrana mitocondrial; 4. Membrana plasmática intacta, acossomo lesado e sem potencial de membrana mitocondrial; 5. Membrana plasmática lesada, acossomo intacto e com potencial de membrana mitocondrial; 6. Membrana plasmática lesada, acossomo intacto e sem potencial de membrana mitocondrial; 7. Membrana plasmática lesada, acossomo lesado e com potencial de membrana mitocondrial; 8. Membrana plasmática lesada, acossomo lesado e sem potencial de membrana mitocondrial.

Com a técnica exploratória multivariada de dados conhecida como Análise Fatorial houve a redução da dimensionalidade dos dados. Seguindo os critérios das raízes latentes maiores que 1 (F1: 4,6; F2: 2,50 e F3: 1,38) e também a porcentagem da variabilidade total dos dados explicada pelos fatores, optou-se por utilizar como dimensionalidade final aquela dada por três fatores com 79% de explicação da variabilidade total (Tabela 3).

As cargas do primeiro fator F1 são positivas e têm valores altos para as variáveis VAP, VSL, STR e LIN, que foi interpretado como um fator relacionado à progressividade do movimento. Para o segundo fator F2, as cargas com sinal negativo, associam as variáveis VCL, ALH e MT, que representam um fator de deslocamento espermático sem considerar a direção do movimento. Para o terceiro fator F3, estão associadas as variáveis BCF, MITO e ELONG, cuja interpretação diz respeito à energia disponível/disponibilizada para a movimentação espermática. A partir desse dado foi realizada a determinação dos escores dos coeficientes dos fatores considerando as variáveis, permitindo determinar a seguir essa relação para cada carneiro, agrupado-os.

Após a redução de dimensionalidade dez para dimensionalidade três, a distribuição dos indivíduos pode ser visualizada pela aplicação de análise de agrupamento, dendrograma, conforme a Figura 1.

Tabela 3. Cargas fatoriais e comunalidade, por variável, para fatores não rotacionados e fatores rotacionados pelo método VARIMAX e, variação porcentual explicada por meio de cada fator e total.

Variável	Fatorial não rotacionado			Fatorial rotacionado			Comunalidade
	F1	F2	F3	F1 rot	F2 rot	F3 rot	
VAP	0,98	0,11	-0,11	0,89	-0,40	0,19	98 %
VSL	0,98	0,14	-0,04	0,88	-0,37	0,25	98 %
VCL	0,64	-0,59	-0,29	0,30	-0,85	-0,12	84 %
ALH	0,12	-0,77	-0,27	-0,22	-0,75	-0,27	69 %
BCF	-0,33	0,17	-0,76	0,03	0,24	-0,82	73 %
STR	0,27	0,52	-0,46	0,90	0,09	-0,22	88 %
LIN	0,64	0,62	0,01	0,83	0,21	0,24	79 %
ELONG	-0,35	-0,43	-0,57	-0,34	-0,25	-0,67	62 %
MITO	-0,38	0,65	-0,29	0,10	0,72	-0,34	64 %
MT	0,73	-0,48	0,10	0,32	-0,77	0,28	78 %
Variância Explicada	34 %	29 %	16 %				79 %

VAP - Velocidade curvilínea sobre um trajeto uniforme desprezando-se o deslocamento lateral da célula espermática; VSL - Velocidade retilínea considerando-se a trajetória espermática uma reta; VCL - Velocidade de deslocamento real dos espermatozoides; ALH - Deslocamento lateral de cabeça; BCF - Frequência de batimento; LIN - Linearidade; STR - Índice retilíneo do movimento espermático; MT - Motilidade total

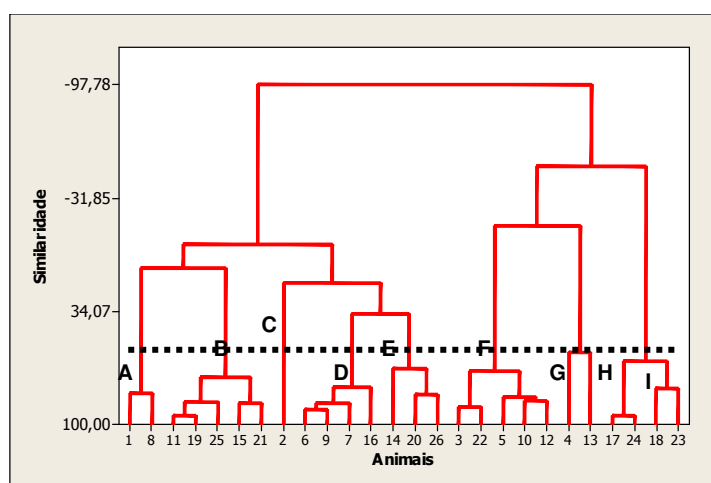


Figura 1. Dendrograma, representação gráfica do processo de agrupamento hierárquico das amostras de sêmen congelado de 26 carneiros da raça Santa Inês, baseado na variabilidade existente, com valor de similaridade máxima igual a 100,00.

Abaigar et al. (3) e Abaigar et al. (5) utilizaram raciocínio semelhante para o agrupamento das populações de espermatozoides frescos de cachacos e gazelas e congelados de gazelas, determinando as sub-populações específicas das amostras. Não houve nessa análise interesse em determinar de qual animal se originaram os espermatozoides, o que não ocorreu em nossa avaliação, visto que as fontes geradoras das amostras de sêmen congelado dos carneiros é que se buscou agrupar.

O sêmen congelado dos carneiros 2, 4 e 13 foi muito diferente do restante dos animais. Desta maneira, abaixo do nível de similaridade dos animais 4 e 13 traçou-se uma linha

horizontal de corte, obtendo assim a formação de 9 grupos distintos denominados A, B, C, D, E, F, G, H, e I.

As amostras provenientes dos animais 2, 4 e 13 formam grupos unitários. Para a amostra do animal número 2 (grupo C), foram encontrados valores baixos nos três fatores. No material dos animais 4 (grupo G) e 13 (grupo H) encontramos valores baixos em progressividade do movimento e disponibilidade de energia, porém apresentam bom deslocamento. As amostras de sêmen congelado dos animais 2, 4 e 13 foram consideradas como *outliers*, fato freqüentemente verificado na literatura.

Para os carneiros 1 e 8 (grupo A), encontramos os melhores valores de energia porém fraco em progressividade e mediano em deslocamento. No grupo constituído pelas amostras 11, 19, 25, 15 e 21 (grupo B) encontramos bons valores de progressividade e valores de mediano para baixo em deslocamento e disponibilidade de energia. Para os grupos 6, 7, 9 e 16 (grupo D) verificam-se baixos valores em energia disponível e progressividade e valores medianos em deslocamento espermático. O grupo dos animais 14, 20 e 26 (grupo E) apresenta baixos valores de energia disponível e deslocamento, sendo o carneiro 14 fraco em direção, e os demais animais com valores medianos para progressividade. Os grupos 3, 5, 10, 12 e 22 (grupo F) apresentaram altos valores de progressividade e deslocamento, porém valores ruins em disponibilidade de energia.

Em estudo com sêmen de cães (8), foi levantada a hipótese de que os agrupamentos possuidores dos maiores valores de velocidade e com movimento mais progressivo, seriam considerados os com maior potencial para a fertilização.

O grupo dos animais 17, 18, 23 e 24 (grupo I) apresenta em seu material alto valor para progressividade, de mediano para baixo em deslocamento e fracos em energia disponível.

Abaigar et al. (3) obtiveram três agrupamentos dos espermatozoides frescos de cachacos sendo que no grupo 1 foram verificados espermatozoides com alto movimento progressivo (alto VSL) e vigorosa ação flagelar (alto BCF). No grupo 2, espermatozoides com movimento ativo (alto VCL) mas com redução significativa da progressão (baixo VSL e alto ALH). No grupo 3 houve provavelmente células lentas e degeneradas devido a todos os parâmetros dos grupos 1 e 2 estarem baixos. Em um estudo com o sêmen refrigerado de cachacos foram verificadas três sub-populações, sendo em uma delas os espermatozoides mais rápidos, com baixa linearidade. Na outra sub-população, foram agrupados 90% dos espermatozoides, sendo estes caracterizados por baixa velocidade, alta progressividade, movimento pouco ondulante, sendo o valor de BCF similar as demais sub-populações. A terceira sub-população não apresentou movimento linear (alto ALH), contudo as células possuíam alto valor de VAP, indicando espermatozoides muito ativos (12).

CONCLUSÕES

Avaliações clássicas dos dados do sistema CASA mostram que a distribuição normal raramente é encontrada. Distribuições bimodais e distorcidas geralmente ocorrem em conjunto com marcantes amplitudes de variação as quais refletem a presença de sub-populações distintas dentro da amostra.

Tais amplitudes tendem a mascarar os efeitos de tratamento se os parâmetros analisados forem avaliados individualmente devido aos desvios padrão serem muito altos para permitir sua detecção pelos testes estatísticos. Esse problema é causado parcialmente pela existência de sub-populações onde mesmo que algumas possam ser afetadas pelo tratamento, outras não respondem podendo confundir as tentativas de análise por interferirem nas médias.

Apesar de não ser ainda muito empregado, o método de análise multivariada das sub-populações espermáticas evidenciou aspectos interessantes dos experimentos, situação não constatada com a análise estatística “clássica” baseada em médias (13).

Com o uso da análise estatística multivariada do sêmen congelado ovino, foi possível determinar no sistema de análise computadorizada do sêmen que o parâmetro da cinética espermática BCF (frequência de batimentos) expressa analogia com as características obtidas na avaliação em microscopia epifluorescente com o teste MITO.

A identificação das diferenças fisiológicas e cinemáticas das sub-populações associada a combinação de sondas fluorescentes na avaliação da fertilidade do sêmen congelado dos carneiros poderá auxiliar na discussão de fatores que limitam a fertilidade do sêmen congelado de ovinos.

Diante do exposto, abre-se uma nova perspectiva da avaliação da cinética espermática, visto que a detecção e a compreensão das sub-populações poderá fornecer importantes resultados para a monitorização dos espermatozoides, principalmente quando associada a testes de fertilidade. Desconsiderar a existência e, principalmente, os efeitos biológicos da presença das sub-populações espermáticas nos resultados médios torna-se temerário devido a imprecisões na obtenção de resposta aos estímulos propostos nos ensaios de criopreservação do sêmen.

REFERÊNCIAS

1. Watson PF. The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. *Anim Reprod Sci.* 2000;60-61:481-92.
2. Amann RP, Katz DF. Reflections on CASA after 25 years. *J Androl.* 2004;25:317-25.
3. Abaigar T, Holt WV, Harrison RAP, Del Barrio G. Sperm subpopulations in boar (*Sus Scrofa*) and Gazelle (*Gazella dama mhorr*) semen as revealed by pattern analysis of computer-assisted motility assessments. *Biol Reprod.* 1999;60:32-41.
4. Quintero-Moreno A, Miró J, Teresa Rigau A, Rodríguez-Gil JE. Identification of sperm subpopulations with specific motility characteristics in stallion ejaculates. *Theriogenology.* 2003;59:1973-90.
5. Abaigar T, Cano M, Pickard AR, Holt WV. Use of computer-assisted sperm motility assessment and multivariate pattern analysis to characterize quality in Mohor gazelles (*Gazella dama mhorr*): effects of body weight, electroejaculation technique and short-term semen storage. *Reproduction.* 2001;122:265-73.
6. Verstegen J, Iguer-Ouada M, Onclin K. Computer assisted semen analyzers in andrology research and veterinary practice. *Theriogenology.* 2002;57:149-79.
7. Mortimer ST, Maxwell WC. Effect of medium on kinematics of frozen-thawed ram spermatozoa. *Reproduction.* 2004;127:285-91.
8. Meseguer M, Garrido N, Martínez-Conejero JA, Simón C, Pellicer A, Remohí J. Relationship between standard semen parameters, calcium, cholesterol contents, and mitochondrial activity in ejaculated spermatozoa from fertile and infertile males. *J Assist Reprod Genet.* 2004;21:445-51.
9. Sousa DB. Viabilidade do sistema Equitainer[®] na refrigeração do sêmen ovino avaliado pelas análises computadorizada, de microscopia epifluorescente e inseminação artificial [dissertação]. Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista; 2002.

10. Celeghini ECC. Efeitos da criopreservação do sêmen bovino sobre as membranas plasmáticas, acrossomal e mitocondrial e estrutura de cromatina dos espermatozoides utilizando sondas fluorescentes [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo; 2005.
11. Quintero-Moreno A, Teresa Rigau A, Rodríguez-Gil JE. Regression analyses and motile sperm subpopulation structure study as improving tools in boar semen quality analysis. *Theriogenology*. 2004;61:673-90.
12. Nuñez-Martínez I, Moran JM, Peña FJ. A three-step statistical procedure to identify sperm kinematic subpopulations in canine ejaculates: changes after cryopreservation. *Reprod Domest Anim*. 2006;41:408-15.
13. Martinez-Pastor F, Garcia-Macias V, Alvarez M, Herraez P, Anel L, Paz P. Sperm subpopulation in Iberian Red deer epididymal sperm and their changes through the cryopreservation process. *Biol Reprod*. 2005;72:316-27.

Recebido em: 15/08/2012

Aceito em: 04/10/2013

AVALIAÇÃO FÍSICA E LABORATORIAL DA SÍNDROME CÓLICA DE EQUINOS EM PARQUE DE VAQUEJADA

Regina Valéria da Cunha Dias¹
Paula Dias Bevilacqua²
José Dantas Ribeiro Filho³
José Ivo Ribeiro Júnior⁴
Maria Veronica de Souza³

RESUMO

O objetivo desse estudo foi investigar a etiologia da síndrome cólica em equinos participantes de eventos de vaquejada do Estado do Rio Grande do Norte (Brasil), assim como avaliar a evolução de variáveis físicas e bioquímicas. De forma complementar, determinar os limites de referência de algumas dessas variáveis. Foram utilizados equinos de ambos os sexos, diferentes raças, inscritos nas provas de vaquejadas. Todos os animais que apresentaram quadro de síndrome cólica durante o evento foram submetidos a exame físico e laboratorial. O exame físico consistiu de avaliação das frequências cardíaca (FC) e respiratória (FR), do tempo de enchimento capilar (TEC), da coloração das mucosas, grau de hidratação e da motilidade intestinal. Variáveis bioquímicas foram avaliadas no plasma (fibrinogênio) ou no soro (proteínas totais, albumina, creatinina e magnésio). Os dados quantitativos obtidos antes e durante o quadro de síndrome cólica foram comparados mediante utilização do teste t para amostras pareadas, já os qualitativos foram analisados de forma descritiva mediante utilização da média aritmética, porcentagem e coeficiente de variação. Dois mil e sessenta e um equinos foram acompanhados durante 15 eventos de vaquejada, mas apenas 13 apresentaram o quadro de síndrome cólica. Ocorreu importante alteração nas variáveis FC ($p < 0,01$), FR ($p = 0,003$) e TEC ($p < 0,01$) após o surgimento do quadro de síndrome cólica. Não houve diferença nas médias das variáveis bioquímicas avaliadas antes e durante a síndrome. Em nove (69,3%) equinos a causa da cólica foi compactação de cólon maior, e nos demais (30,7%) distensão gástrica. Apesar de a síndrome cólica acarretar rápidas alterações em variáveis físicas, o diagnóstico precoce, e o rápido início da terapia nos casos de compactação e distensão gástrica podem fazer com que variáveis bioquímicas permaneçam próximas ou dentro do limite de normalidade nas primeiras horas de iniciado o quadro da síndrome.

Palavras-chave: abdômen agudo, variáveis físicas e bioquímicas, atividade equestre

PHYSICAL AND LABORATORY EVALUATION OF EQUINE COLIC SYNDROME IN VAQUEJADA PARKS

ABSTRACT

This study was conducted to investigate the etiology of colic syndrome in horses participating in vaquejada events in the state of Rio Grande do Norte (Brazil), as well as to assess the evolution of physical and biochemical variables. In addition, determine the reference limits of some of these variables. Horses of both sexes, from different breeds and enrolled in vaquejada

¹ Profa. do Departamento de Ciências Animais, área de Clínica de Grandes Animais, Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), BR 110, km 47, s/n, 59625-900, Mossoró, RN.

² Profa. Departamento de Veterinária Área de Epidemiologia, Universidade Federal de Viçosa, Campus Universitário, s/n, 36570-000 - Viçosa, MG. Brasil

³ Prof(a). do Departamento de Veterinária, Área de Clínica Médica de Grandes Animais, Universidade Federal de Viçosa, Campus Universitário, s/n, 36570-000 - Viçosa, MG.

⁴ Prof. do Departamento de Estatística, Universidade Federal de Viçosa, Campus Universitário, s/n, 36570-000 - Viçosa,

competitions. All animals which presented clinical signs of colic syndrome during the event were subjected to physical and laboratory evaluation. The physical examination consisted of evaluation of heart (HR) and respiratory rates (RR), capillary refill time (CRT), mucous membrane color, degree of hydration and intestinal motility. Biochemical variables were evaluated in plasma (fibrinogen) or in serum (total proteins, albumin, creatinine, and magnesium). Quantitative data were compared before and during the colic syndrome episode by using t test for paired samples, and the qualitative data were analyzed descriptively by using the arithmetic mean, percentage and coefficient of variation. Two thousand and sixty-one horses were monitored during 15 events of vaquejada, but only 13 presented a colic syndrome episode. There was an important change in the variables HR ($p<0.01$), RR ($p=0.003$) e CRT ($p<0.01$) after the onset of the colic syndrome. There were no differences in values of biochemical variables assessed before and during the syndrome. In 9 (69.3%) horses the cause of equine colic was impaction of the large colon, and in the other (30.7%) gastric distension. Although colic syndrome cause rapid changes in physical variables, early diagnosis and fast initiation of therapy in cases of impaction and gastric distension can make biochemical variables remain within or close to the reference limits in the early hours of the start of the syndrome episode.

Keywords: acute abdomen, physical and biochemical variables, equestrian activity, horses

EVALUACIÓN FÍSICA Y DE LABORATORIO DEL SÍNDROME DE CÓLICO EQUINO EN ANIMALES DE VAQUEJADA

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue investigar la etiología del cólico en los caballos que participan en eventos de vaquejada en el Estado de Rio Grande do Norte (Brasil), evaluar la evolución de variables físicas y bioquímicas y determinar los límites de referencia de algunas de esas variables. Fueron utilizados caballos de ambos los sexos y diferentes razas, inscritos en actividades de vaquejada. Todos los animales que presentaron signos de síndrome de cólico durante el evento fueron sometidos a examen físico y de laboratorio. El examen físico consistió en la evaluación de la frecuencia cardíaca (FC) y respiratoria (FR), del tiempo de llenado capilar (TLLC), del color de las mucosas, grado de hidratación y de la motilidad intestinal. Variables bioquímicas fueron evaluadas en el plasma (fibrinógeno) o en el suero (proteínas totales, albúmina, creatinina y magnesio). Los datos cuantitativos obtenidos antes y durante el cuadro de síndrome cólico fueron comparados utilizando el examen de t para muestras emparejadas. Ya los datos cualitativos fueron analizados descriptivamente utilizando la media aritmética, porcentaje y el coeficiente de variación. Dos mil sesenta y un caballos fueron evaluados durante 15 eventos de vaquejada, pero sólo 13 presentaron cuadro de cólico. Ocurrieron cambios importantes en las variables FC ($p<0,01$), FR ($p=0,003$) y TLC ($p<0,01$) después de la aparición del cólico. No hubo diferencia en los valores medios de las variables bioquímicas evaluados antes y durante el síndrome. En nueve (69,3%) caballos, la causa del cólico fue la compactación en el colon mayor, y en el resto (30,7%) de los animales, distensión gástrica. A pesar de que el cólico causa rápidos cambios en las variables físicas, el diagnóstico precoz y rápida iniciación de la terapia en casos de compactación y distensión gástrica pueden mantener las variables bioquímicas cerca o dentro del rango normal en las primeras horas del síndrome.

Palabras clave: abdomen agudo, variables físicas y bioquímicas, actividad ecuestre

INTRODUÇÃO

No Brasil a vaquejada movimentada cerca de 250 milhões de reais por ano (1), sendo uma atividade equestre bastante praticada na região Nordeste. Durante as competições de vaquejada, que podem durar até cinco dias, os equinos são frequentemente submetidos a situações indesejáveis como poluição sonora, exposição a temperaturas elevadas no ambiente, contato com animais desconhecidos e de outras espécies, manejo alimentar diferente do praticado na propriedade, além de outros que podem estressar os animais e favorecer o aparecimento de afecções, como por exemplo, a síndrome cólica (2).

A espécie equina apresenta predisposição a alterações morfofisiológicas graves, responsáveis por dor abdominal (3). Apesar da relativa facilidade na identificação de um equino com a síndrome cólica, determinar a origem da dor e os fatores que levam ao quadro clínico pode ser difícil. De acordo com Laranjeira e Almeida (4), a multiplicidade das causas, a complexidade dos casos clínicos e o alto índice de insucesso nos tratamentos, principalmente daqueles que demandam procedimentos cirúrgicos, são apenas algumas das dificuldades na resolução positiva dos casos. Diante desse fato, é fundamental a realização detalhada do exame físico do equino com síndrome cólica, que deve iniciar com a observação do animal, atentando para a atitude e manifestações de dor, seguindo com o grau de hidratação, auscultação cardíaca, respiratória e abdominal, além da avaliação da coloração das mucosas e da perfusão tecidual.

Equinos revelam o quadro de desconforto abdominal agudo mediante a mimetização de alguns gestos. A intensidade da dor pode ser classificada como discreta, moderada e intensa (4, 5), sendo considerada como discreta quando o animal escava o solo, olha constantemente para a região abdominal, dobra o lábio superior (reflexo de Flehmen), boceja e range os dentes repetidamente; moderada quando o animal deita e levanta constantemente, escoicea ou morde o abdômen, e intensa quando deita e levanta vigorosamente, assim como quando apresenta sudorese excessiva e automutilação (4, 6).

O grau de desidratação deve ser estimado devido ao sequestro de líquidos para o lúmen intestinal, agravado por problemas cardiovasculares decorrentes da insuficiência circulatória periférica, assim como pelo refluxo (7, 8). Alterações na frequência cardíaca (FC) são normalmente observadas e são decorrentes da dor e de alterações cardiovasculares devido à hipovolemia e toxemia. A FC auxilia na avaliação da gravidade da lesão (9). Já a frequência respiratória (FR) pode estar aumentada devido à excitação, dor, choque, compensação do equilíbrio ácido-base (acidose metabólica), distensão do estômago, ceco ou cólon. A redução no valor dessa variável pode ocorrer nos casos de extrema depressão do sistema nervoso central devido à toxemia, além de situações de alcalose devido à perda de cloretos no refluxo gástrico (7, 10).

Quanto à auscultação abdominal, o aumento da intensidade e frequência dos sons intestinais pode estar associado à cólica espasmódica, irritações no intestino, fase inicial de um processo obstrutivo, mas também pode estar indicando uma melhora do quadro (7). Já a redução da intensidade e frequência dos sons, ou mesmo a atonia, pode estar associada a processos estrangulantes ou íleo (10). Nas compactações, pode-se auscultar o som de “pings”, resultante da presença de gás e líquido, mesmo sem motilidade intestinal progressiva (8).

A coloração das mucosas é um indicador do estado circulatório e da toxemia. No início dos processos estrangulantes e não estrangulantes, as mucosas se mantêm dentro da normalidade, ou seja, rosa pálidas, mas dependendo da gravidade da afecção, grau de desidratação, endotoxemia e hipóxia, podem variar de vermelha a cianótica, como resultado de congestão vascular periférica ou choque endotoxêmico, respectivamente (5, 7, 10, 11). Em geral, quanto mais grave for a síndrome cólica, mais alterado estiver o quadro circulatório e mais endotoxinas estiverem sendo liberadas para a circulação, mais intensas serão as

alterações na coloração das mucosas (7). O tempo de enchimento capilar (TEC) é outra variável para avaliação do sistema cardiovascular, pois conforme a endotoxemia se agrava, citocinas são liberadas. Nessa fase, ocorre vasodilatação (choque hipotensivo) que compromete a perfusão periférica, aumentando o TEC (9).

Alterações bioquímicas como hipomagnesemia são descritas como possíveis de serem observadas em equinos com abdômen agudo podendo ser decorrente de hipoproteinemia e hipoalbuminemia, devido à correlação direta entre proteína e esse íon (12, 13). Com a instalação do processo inflamatório, a determinação da concentração de fibrinogênio é importante na avaliação cardiovascular (14), auxiliando na escolha do tratamento e de sua monitorização (15). Apesar de hiperfibrinogenemia ($> 0,4$ g/dL) ocorrer nos quadros acompanhados de processo inflamatório, a hipofibrinogenemia, apesar de rara, pode ser observada em animais com coagulação intravascular disseminada e falência múltipla dos órgãos (9). Outro achado importante em pacientes com síndrome cólica é a azotemia pré-renal causada pela hipovolemia gerada pela desidratação, que leva à diminuição do fluxo sanguíneo renal e à diminuição da taxa de filtração glomerular (3, 16).

Os valores de referências que a maioria dos clínicos e cirurgiões brasileiros considera para variáveis físicas e bioquímicas são aquelas obtidas a partir de pesquisas realizadas em outros países. Entretanto, não a dúvida de que o ideal seria realizar comparações com parâmetros obtidos em equinos de raças semelhantes, e que desenvolvem determinada atividade física. O objetivo desse estudo foi verificar a etiologia dos casos de síndrome cólica em equinos participantes em eventos de vaquejada realizadas no Estado do Rio Grande do Norte (Brasil); descrever a ocorrência de alterações manifestadas nas variáveis físicas e bioquímicas desses animais, assim como determinar os limites de referências de algumas dessas variáveis para animais que desenvolvem essa atividade equestre.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado em eventos de vaquejada ocorridos no Estado do Rio Grande do Norte (Brasil), escolhidos a partir de registros disponibilizados nos sites www.vaquejada.com.br e www.portalvaquejadas.com.br, e que ocorreram no período entre agosto de 2009 a abril de 2010. Os eventos foram escolhidos de acordo com a concordância de participação do proprietário, localização (facilidade de acesso) e dimensão do evento. Desse modo, foram visitados 15 eventos de vaquejada em 12 parques particulares, localizados em sete municípios no Estado do Rio Grande do Norte.

Participaram nos eventos um total de 2.061 equinos, sendo 1.433 machos e 628 fêmeas, com idade entre 1,4 e 30 ($8,2 \pm 3,5$) anos, de diferentes raças [Quarto de Milha (62,0%), Paint Horse (4,0%), mestiços (31,5%) e outras (2,5% - Appaloosa, Árabe, Puro sangue inglês ou Crioulo)]. Do total de 2.061 equinos acompanhados, 13 animais apresentaram episódios de síndrome cólica durante a permanência nos parques de vaquejada.

De forma a cumprir os objetivos propostos, todos os animais que compareceram aos eventos selecionados foram submetidos à avaliação física e, quando permitido pelos proprietários ou responsáveis pelos equinos, foi realizada coleta de sangue para determinação dos valores das variáveis bioquímicas: proteínas séricas totais, magnésio (Mg), creatinina, fibrinogênio e albumina. Com o surgimento do quadro clínico de síndrome cólica, os 13 animais acometidos foram submetidos a exame físico e amostras de sangue foram coletadas para determinação das variáveis bioquímicas anteriormente mencionadas.

O diagnóstico de síndrome cólica se baseou na verificação de variáveis já amplamente descritas na literatura científica (7, 10), sendo avaliados FC, FR, TEC, coloração das mucosas, grau de hidratação, auscultação da motilidade intestinal e grau de dor. Todos os animais foram submetidos à palpação retal e a passagem de sonda nasogástrica. Para a avaliação da

coloração das mucosas, foi utilizada a classificação que considera as categorias rosa pálida, rosada, pálida, vermelha, ictérica e cianótica, sendo considerada como normal a coloração rosa pálida ou rosada (5, 12). O grau de dor foi classificado em discreto, moderado e intenso, baseado nas mímicas exibidas pelos animais durante o episódio da afecção (5). A motilidade intestinal, classificada como hipomotilidade, hiperomotilidade ou atonia abdominal (5, 15), foi determinada mediante auscultação da intensidade e frequência dos borborigmos nos planos anatômicos direito e esquerdo (fossa paralombar e região ventral do abdômen). Os valores de normalidade das variáveis FC, FR e TEC, utilizados como referência, foram definidos a partir de dados obtidos a partir de 2.048 animais de vaquejada.

Após a identificação dos casos de síndrome cólica, foram obtidas informações a partir da aplicação de um questionário, com questões referentes ao manejo durante a vaquejada (fornecimento de concentrado e volumoso, fonte e frequência do fornecimento de água, vacinação, vermifugação, casqueamento, ferrageamento e atividade física), transporte, e do quadro clínico apresentado (anamnese, histórico anterior de síndrome cólica e realização de mudanças na alimentação nos últimos 15 dias que antecederam o problema).

Amostras de sangue foram obtidas por punção da veia jugular, após antissepsia local com álcool iodado. Tubos vacutainer (0,5 mL de anticoagulante e 4,5 mL de sangue total) com 3,8% de citrato de sódio (0,199 mol/L) foram utilizados para obtenção do plasma. Adicionalmente, outros 10 mL de sangue total foram obtidos em tubo vacutainer sem anticoagulante para obtenção de soro. As amostras de plasma foram homogeneizadas e centrifugadas a 1.752 g durante 10 minutos, para determinação do fibrinogênio. Já as amostras de soro foram homogeneizadas e centrifugadas a 1.752 g durante 10 minutos para determinação das variáveis proteínas totais, magnésio, creatinina e albumina. Na sequência, alíquotas de plasma e soro foram acondicionadas em eppendorf e congeladas a -20°C até posterior análise. As variáveis proteínas séricas totais (método de Biureto), magnésio (método de Mann Hoe), creatinina (método de cinética colorimétrica), albumina (método de verde de Bromocresol) foram quantificadas em aparelho automático, mediante a utilização de kits bioquímicos e o fibrinogênio (método de precipitação em $56-58^{\circ}\text{C}$) por refratometria. Da mesma forma que realizado para as variáveis físicas, os valores de normalidade para essas variáveis, utilizados como referência, foram obtidos a partir de dados determinados em 2.048 animais de vaquejada.

Valores de normalidade foram definidos para variáveis físicas (FC, FR e TEC) e bioquímicas (proteínas séricas totais, magnésio, creatinina, albumina e fibrinogênio) obtidas a partir dos resultados determinados nos 2.048 animais presentes nos parques de vaquejada, excetuando-se aqueles que durante os eventos apresentaram síndrome cólica, uma vez que já poderiam estar ocorrendo alterações nessas variáveis.

As variáveis qualitativas foram analisadas de forma descritiva mediante utilização da média aritmética, porcentagem e do coeficiente de variação. Os dados referentes a variáveis quantitativas foram analisados por meio do cálculo de medidas de posição (média, mediana, quartis 25% e 75%, limite superior e limite inferior) e de dispersão (desvio padrão, coeficiente de variação, variância, amplitude total, desvio interquartilico) e apresentadas em tabelas e gráficos do tipo Box-plot. Para os animais que apresentaram síndrome cólica durante o evento, os valores médios das variáveis, antes e durante o episódio de cólica, foram comparados utilizando o teste t para amostras pareadas. Todas as análises foram realizadas considerando um nível de significância de 5%. O teste t para amostras pareadas e os gráficos Box-plot foram realizados pelo programa Minitab, versão 16, 2010 (<http://www.minitab.com/products/minitab>, State College, PA), já os dados para as análises descritivas foram processados no programa Excel, versão 2007 (Microsoft Office®, Microsoft).

RESULTADOS

O período de tempo em que os animais permaneceram nos parques de vaquejada variou entre 5 a 7 dias. Dos casos de síndrome cólica acompanhados, sete (54,0%) ocorrerem em machos e seis em fêmeas (46,0%), com idade entre 3 e 19 ($8,1\pm 4,2$) anos, peso entre 300 e 450 ($389\pm 49,0$) kg e das raças Quarto de milha (69,0%), Paint horse (15,5%) ou os animais eram mestiços (15,5%). Dos 13 animais que apresentaram síndrome cólica, dois (15,3%) haviam sido transportados em horário quente do dia e logo após a alimentação. Ao chegarem ao parque, os equinos foram conduzidos a tanques comunitários para beber água e tomar banho. Na sequência, foram colocados em pequenos cercados, onde permaneceram durante todo o evento.

No parque o concentrado era fornecido em cochos suspensos de madeira ou borracha em períodos de repouso dos animais. Entretanto, quatro (30,7%) proprietários disponibilizavam o alimento imediatamente antes das corridas. Um dos animais acometido possuía o hábito de derrubar o concentrado no chão e consumi-lo diretamente no solo. A água era fornecida em baldes ou tonéis dispostos nos próprios caminhões, ou os animais eram levados aos tanques comunitários dos parques de vaquejada. Em um dos parques, onde aconteceram duas vaquejadas de grande dimensão, foi constatado que a água era de má qualidade, evidenciada macroscopicamente pelo aspecto, cor e odor, assim como pela relutância dos animais em bebê-la, de forma que vários proprietários compraram água de caminhões-pipa para fornecer aos animais durante sua permanência no parque.

Os resultados referentes aos valores de normalidades definidos para as variáveis físicas (FC, FR e TEC) e bioquímicas (proteínas séricas totais, magnésio, creatinina, albumina e fibrinogênio), dos 2.048 animais presentes nos parques de vaquejada estão apresentados nos Tabelas 1 e 2. Os valores para FC, FR e TEC foram 36-52 ($42\pm 5,0$) bpm, 12-28 ($20\pm 6,2$) resp/min e 1-2 ($2,0\pm 0,2$) segundos, respectivamente. A dispersão dos dados pode ser observada na Figura 1. Para as variáveis bioquímicas foram observados para proteína total, albumina, fibrinogênio, creatinina e magnésio valores de 5,0-8,0 ($6,2\pm 0,7$) g/dL, 2,5-3,8 ($2,7\pm 0,3$) g/dL, 1,0-4,8 ($3,3\pm 1,0$) g/dL, 1,2-2,0 ($1,6\pm 0,2$) mg/dL e 1,2-3,0 ($2,3\pm 0,6$) mg/dL, respectivamente. A dispersão dos resultados está apresentada na Figura 2.

Os equinos com quadro de síndrome cólica receberam atendimento imediato, após solicitação do responsável. Os tratamentos realizados pelos veterinários plantonistas nos eventos envolveram lavagem gástrica, hidratação intravenosa e administração de analgésicos e anti-inflamatórios não esteroides. Os resultados referentes à avaliação física individual estão resumidos na Tabela 3. Houve importante alteração nas variáveis FC ($p<0,01$), FR ($p=0,003$) e TEC ($p<0,01$). Antes do episódio de cólica, os valores médios dessas variáveis foram 42,2 bpm, 27,0 resp/min, e 1,8 segundos, respectivamente. Após iniciado o quadro clínico, esses valores foram 54,3 bpm, 39,3 resp/min e 2,9 segundos, respectivamente.

Inicialmente as mucosas de nove animais se apresentaram rosadas (69,3%) e nos demais rosa pálidas (30,7%). Com o surgimento do quadro de síndrome cólica todos os equinos apresentaram a coloração rosada, que permaneceu até a remissão do quadro clínico. A alteração na coloração da mucosa antes e após o episódio de cólica foi significativa ($p=0,03$). Nove equinos (69,3%) apresentaram dor moderada e quatro (30,7%) discreta. Quanto à auscultação abdominal, quatro (30,7%) apresentaram hipomotilidade cecal e os demais hipomotilidade do cólon maior. Os achados físicos foram compatíveis com compactação do cólon maior ($n=9$, 69,3%) e distensão gástrica ($n=4$, 30,7%), que foram confirmados pela palpação retal e observação das características das fezes ou pela passagem de sonda nasogástrica, respectivamente.

Os resultados referentes aos valores individuais no que se refere às variáveis bioquímicas dos animais que apresentaram síndrome cólica durante a sua estadia nos parques de vaquejada estão apresentados no Tabela 4. Antes do episódio de cólica os valores médios de proteína total, albumina, fibrinogênio, creatinina e magnésio foram de 6,9g/dL, 2,6g/dL, 3,3g/dL, 1,6mg/dL e 2,0mg/dL, respectivamente. Após iniciado o quadro de síndrome cólica, esses valores foram de 6,9g/dL, 2,6g/dL, 3,4g/dL, 1,7mg/dL e 2,1mg/dL, respectivamente. Diferentemente do que ocorreu com as variáveis físicas, não houve diferença ($p>0,05$) entre as médias dos dados dos valores das características bioquímicas avaliadas antes e após o surgimento do quadro de cólica.

DISCUSSÃO

A avaliação da distribuição dos dados na população sadia estudada, referentes às variáveis físicas revelou homogeneidade (pelo coeficiente de variação) da distribuição dos dados, com concentração dos mesmos em torno da mediana. Os valores de referência observados nos equinos para FC foram superiores aos descritos por Loving (6), entretanto os encontrados para FR e TEC foram semelhantes aos relatados por Loving (6), Southwood (9) e Lehuby (17). Os maiores valores de FC podem ter sido provocados pelo estresse ambiental (2, 18). Na análise das variáveis bioquímicas, os valores de creatinina e proteína total apresentavam distribuição mais homogênea, com concentração em torno da mediana. Por outro lado, os valores de albumina, fibrinogênio e magnésio, apesar de apresentarem homogeneidade, demonstraram maior dispersão. Os valores de referência obtidos para todas as variáveis bioquímicas avaliadas foram semelhantes aos descritos por Kaneko et al. (19).

Tabela 1. Estatística descritiva dos dados das variáveis físicas obtidas de 2.048 equinos utilizados nas provas de vaquejada

Variáveis	FC (bpm)	FR (resp/min)	TEC (seg)
Valores mínimos e máximos	36-52	12-28	1-2
Média±Desvio padrão	42±5,0	20±6,2	2,0±0,2
Coeficiente de variação	12,0	31,4	10,6
Mediana	40	20	2
Amplitude total	16	16	1
Primeiro quartil 25%	38	14	2
Terceiro quartil 75%	44	26	2
Desvio interquartilico	6	12	0,0
Variância	25,5	39,4	0,0
Erro padrão	0,1	0,1	0,0

Apesar do pequeno número de equinos acometidos com o quadro de síndrome cólica, foi possível avaliar vários pontos críticos no histórico dos animais, que atuando isoladamente ou em conjunto, podem ter contribuído para o surgimento dos casos clínicos. Como exemplos associados à síndrome cólica (20, 21), destacam-se o transporte em horários quentes do dia, o baixo consumo de água devido à demora na reposição ou a má qualidade da mesma, ingestão

de concentrado antes da atividade física, estresse devido a mudança de ambiente e o confinamento.

Tabela 2. Estatística descritiva dos dados das variáveis bioquímicas obtidas de 2.048 equinos utilizados nas provas de vaquejada

Variáveis	Creatinina (mg/dL)	Proteína (g/dL)	Albumina (g/dL)	Fibrinogênio (g/L)	Magnésio (mg/dL)
Valores mínimos e máximos	1,2-2,0	5,0-8,0	2,5-3,8	1,0-4,8	1,2-3,0
Média±Desvio padrão	1,6±0,20	6,2±0,7	2,77±0,3	3,38±1,0	2,3±0,6
Coeficiente de variação	13,4	12,2	11,4	30,5	26,9
Mediana	1,5	6,2	2,7	4,0	2,5
Amplitude total	0,7	3,0	1,3	3,8	1,8
Primeiro quartil 25%	1,4	5,6	2,5	2,7	1,8
Terceiro quartil 75%	1,7	6,7	2,9	4,0	3,0
Desvio interquartilício	0,3	1,1	0,4	1,3	1,1
Variância	0,0	0,5	0,1	1,0	0,4
Erro padrão	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

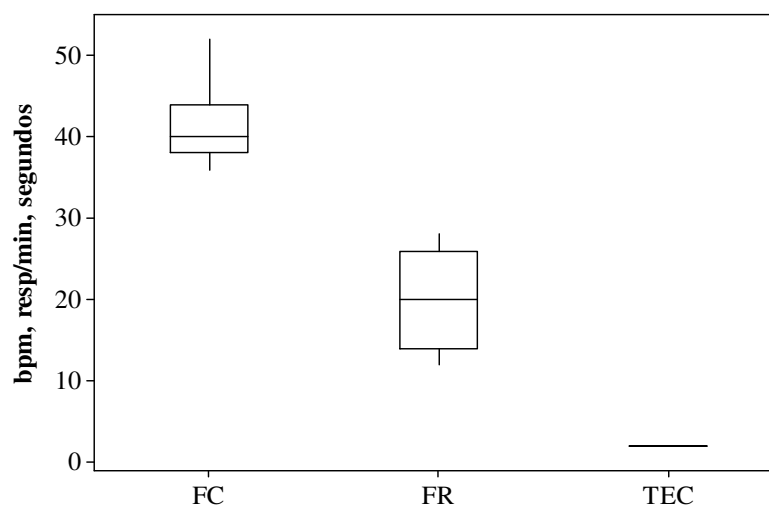


Figura 1. Distribuição das variáveis frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR) e tempo de enchimento capilar (TEC) em equinos de vaquejada. A linha no interior dos boxes corresponde a 50% dos dados (mediana); as linhas que delimitam os boxes na parte superior e inferior correspondem ao percentil 75% e 25%, respectivamente. Os limites das linhas externas aos boxes indicam os valores máximos e mínimos.

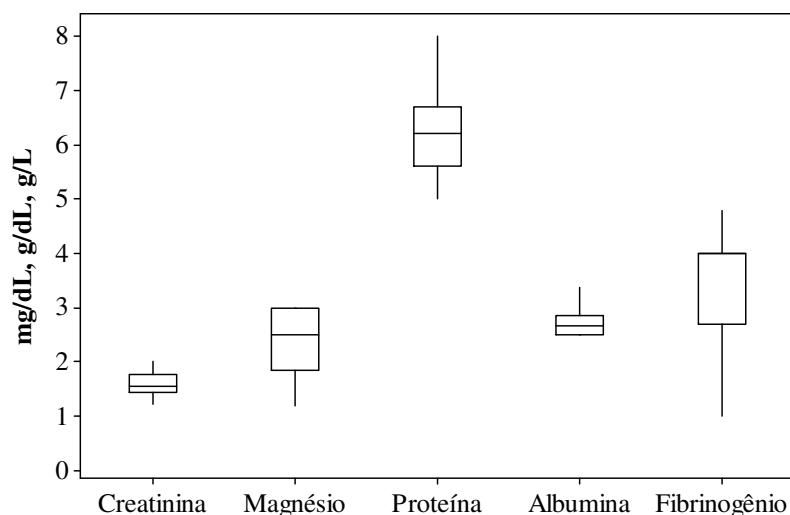


Figura 2. Distribuição das variáveis creatinina, proteína total, albumina, fibrinogênio e magnésio em equinos de vaquejada. A linha no interior dos boxes corresponde a 50% dos dados (mediana); as linhas que delimitam os boxes na parte superior e inferior correspondem ao percentil 75% e 25%, respectivamente. Os limites das linhas externas aos boxes indicam os valores máximos e mínimos.

Tabela 3. Valores individuais, média e desvio padrão de frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR), e tempo de enchimento capilar (TEC) em treze equinos de vaquejada, obtidos antes e durante o episódio de síndrome cólica

Animais	Episódio de cólica					
	Variáveis					
	FC (bpm/min)		FR (resp/min)		TEC (seg)	
	Antes	Durante	Antes	Durante	Antes	Durante
1	32	47	23	26	1	2
2	59↑	59↑	40↑	40↑	2	3↑
3	44	58↑	16	46↑	2	3↑
4	38	60↑	29↑	46↑	2	3↑
5	40	48	16	40↑	2	3↑
6	40	54↑	32↑	32↑	1	3↑
7	40	48	24	30↑	2	3↑
8	36	60↑	32↑	36↑	2	3↑
9	44	56↑	28	48↑	2	3↑
10	44	52	24	48↑	2	3↑
11	40	48	28	24	2	3↑
12	48	60↑	24	52↑	2	3↑
13	44	56↑	36↑	44↑	2	3↑
Média±DP	42,2±6,5	54,3±5,1*	27,1±7,0	39,4± 9,1*	1,8±0,3	2,9±0,2*
CV	15,40	9,50	25,90	23,00	20,30	9,50

* $p < 0,05$. As setas refletem o aumento (↑) ou diminuição (↓) do valor das variáveis em função dos limites de referência para equinos de vaquejada. DP = desvio padrão.

Tabela 4. Valores individuais, média e desvio padrão das variáveis proteínas totais, albumina, fibrinogênio, creatinina e magnésio em treze equinos de vaquejada, antes e durante o episódio de síndrome cólica

Animais	Proteínas totais (g/dL)		Albumina (g/dL)		Fibrinogênio (g/L)		Creatinina (mg/dL)		Magnésio (mg/dL)	
	Antes	Durante	Antes	Durante	Antes	Durante	Antes	Durante	Antes	Durante
1	7,5	7,3	2,5	2,8	2,6	3	1,5	1,4	1,7	2
2	6,4	6,5	2,3↓	3	3,1	3	1,2	1,7	1,5	2
3	7,4	7,3	2,4↓	2,7	4	4,2	2,0↑	1,7	2,7	3
4	6	6,1	2,8	2,7	2,9	2,3	2,0↑	1,5	2,7	1,5
5	7,3	7	2,8	2,2↓	4,4	4,1	1,8	1,7	1,7	1,4
6	7,8	8	3,1	2,2↓	4,6	4,4	1,4	1,6	1,5	1,7
7	6,8	7	2,8	2,5	2,7	2,2	1,5	2,1	1,7	2
8	7	7,1	2,7	2,1↓	3,9	4	1,6	2,1	1,7	2
9	6,5	6,7	2,5	1,9↓	2,2	2,5	1,7	1,7	2	2,8
10	6	6,2	2,4↓	3,1	3,1	3	1,6	1,4	1,9	1,6
11	6,2	6,3	2,4↓	2,9	2,1	3	1,7	1,5	2,7	2,6
12	7,8	8	2,7	3,1	4,8	4,7	1,0↓	2,2	1,9	3
13	7	7,2	2,6	3	3,6	3,8	1,4	1,2	2,6	2,7
Média±DP	6,9±0,6	6,9±0,6	2,6±0,2	2,6±0,4	3,3±0,9	3,4±0,8	1,6±0,2	1,7±0,3	2,0±0,4	2,1±0,5
CV	9,3	8,7	8,8	15,3	26,6	24,6	17,9	17,4	22,3	25,5

As setas refletem o aumento (↑) ou diminuição (↓) do valor das variáveis em função dos limites de referência para animais de vaquejada. DP = desvio padrão; CV = coeficiente de variação.

A distribuição dos casos de síndrome cólica foi muito semelhante entre machos e fêmeas, ainda que na população estudada, o número total de machos presentes nos eventos foi superior ao dobro da quantidade de fêmeas. Para demonstrar maior risco da síndrome em um determinado sexo é preciso calcular a incidência da afecção em machos e fêmeas e realizar comparações. Estudo não revelou associação entre a síndrome e o sexo dos animais (22).

A maior frequência da síndrome cólica em animais da raça Quarto de Milha foi devido ao fato dessa raça ser a mais comumente utilizada para as atividades de vaquejada, já que exige esforço físico de alta intensidade, de curta duração com rápida largada e mudança de direção, além de paradas abruptas (1). Mariz et al. (23) estudaram a ascendência genealógica de equinos dessa raça usados durante competições de vaquejada, e observaram que, na maioria das vezes, os equinos utilizados na atividade são produtos do acasalamento entre animais de tipos produtivos de trabalho e corrida. Estudo epidemiológico transversal realizado por Dias (24) em animais de vaquejada não apontou a variável raça como associada à cólica.

A má qualidade da água, determinada macroscopicamente, com conseqüente baixa ingestão pelo animal, esteve provavelmente envolvida nos seis casos de síndrome cólica devido à compactação do cólon maior. Nos demais, a ingestão de areia (n=1) e o transporte (n=2) foram os prováveis fatores implicados. Já o fornecimento de concentrado momentos antes da corrida ou o aumento de sua quantidade resultou em dilatação gástrica nos outros quatro animais. De acordo com Samaille (25) e Kaya, Sommerfeld-Stur e Iben (26), a ocorrência de síndrome cólica aumenta quando a água é de má qualidade ou é oferecida em quantidades restritas, levando a uma ingestão diária inferior à necessária, que é de 2 a 3 litros/kg MS para um animal de 500 kg (27). Temperatura e umidade ambientais, idade e intensidade da atividade física podem aumentar esses valores até 10 litros/kg MS, devido a

maior perda de água corporal, principalmente pela sudorese (28). A redução na ingestão de água acarreta desidratação da digesta, e aliada ou não a uma dieta rica em fibras de baixa digestibilidade favorece o surgimento da cólica por compactação do intestino grosso (4, 8, 29).

O envolvimento do transporte com a ocorrência de síndrome cólica já foi descrito por alguns pesquisadores (20, 30), principalmente se realizado 24 horas antes do quadro (30). No presente estudo, o sinal de abdômen agudo relacionado com o transporte foi manifestado em até 2 horas após a chegada dos dois animais acometidos ao parque, que viajaram sem realizar paradas de descanso, em horários quentes do dia e após se alimentarem. A associação do transporte com alterações simultâneas no manejo, confinamento, jejum hídrico e alimentar pode favorecer ainda mais o aparecimento da síndrome (20).

A gravidade da dor apresentada pelo animal depende da duração da afecção, do temperamento do animal e da medicação previamente administrada. A dor manifestada pelos equinos foi decorrente da distensão, acúmulo de gases, mas também da ansiedade, característica de situações de menor gravidade, onde o equino suporta a sensação dolorosa e apresenta apenas desconforto abdominal (7, 31). Apesar dos processos estrangulantes e íleo serem possíveis causas da hipomotilidade (31), a redução da frequência dos borborigmos verificada nos animais do presente estudo esteve associada à distensão e a compactação, já que as alterações nas demais variáveis clínicas não foram demasiadamente graves.

Em um animal que apresentou síndrome cólica, o valor da FC já estava acima (59 bpm) do considerado como fisiológico para equinos de vaquejada. Ainda que aumentos discretos sejam esperados devido ao estresse (18), alterações nessa variável também são frequentemente decorrentes da dor e de alterações cardiovasculares devido à hipovolemia, toxemia (9, 17) e liberação de mediadores inflamatórios (32). Uma vez iniciado o quadro de cólica, houve um importante aumento nessa variável em sete animais. De acordo com White (33), existe associação entre FC e a gravidade do quadro clínico de cólica, mas o valor dessa variável clínica pode estar próximo do normal na fase inicial da síndrome. Portanto, levando em consideração apenas os valores de FC apresentados pelos animais, a gravidade da síndrome variou de discreta a moderada (6, 17, 34), já que todos os casos evoluíram para melhora do quadro. Por outro lado, é importante destacar que esses animais foram tratados com analgésicos, o que pode, em parte, ter mascarado o agravamento do quadro. Entretanto, é amplamente conhecido que cólicas graves, particularmente as cirúrgicas, não respondem ou respondem de forma muito superficial a analgésicos não esteroidais.

À exceção de cinco (38,5%) animais, os valores de FR estiveram dentro do considerado como fisiológico para equinos de vaquejada (valores obtidos no presente estudo) antes do início do quadro de síndrome cólica. Elevações fisiológicas podem ocorrer de forma discreta em consequência do estresse (18), assim como da atividade física (2), e de alteração na umidade e temperatura do ambiente (6, 28). Após iniciado o quadro de abdômen agudo, os valores se mantiveram elevados. Esse aumento pode ser devido a vários fatores como excitação, dor, choque, acidose metabólica e distensão do estômago, ceco ou cólon (17, 31). Pedrosa (11) menciona que valores superiores a 30 resp/min estão associados à dor de moderada a intensa, enquanto que Lehuby (17) relata que FR entre 20 e 40 resp/min são características de cólica de discreta a moderada gravidade. No presente estudo, o aumento dessa variável acima dos valores de referência (12 a 28 resp/min) foi possivelmente devido ao quadro de dor discreta a moderada, assim como pela distensão visceral, ainda que com evolução satisfatória. Adicionalmente, o estresse pode ter agravado a alteração.

O tempo de enchimento capilar reflete o estado circulatório do organismo animal, servindo para estimar a volemia e o débito cardíaco. Todos os animais apresentavam valores de TEC dentro da normalidade para equinos de vaquejada (até dois segundos), antes de apresentarem sinal clínico de síndrome cólica. Uma vez iniciado o quadro, apenas um equino

manteve o valor dentro dos limites de referência. O aumento observado em 12/13 (92,3%) animais, possivelmente indica circulação periférica comprometida, hipovolemia ou perda de líquido do espaço intravascular (9, 17). O pronto atendimento dos equinos foi fundamental para evitar o agravamento do quadro, já que o diagnóstico acurado e a adequada terapia instituída favorecem o prognóstico da síndrome (9, 33).

A coloração das mucosas é um indicador do estado circulatório e da toxemia. Tanto no início dos processos não estrangulantes quanto dos estrangulantes, as mucosas podem se apresentar rosa pálidas, mas dependendo da gravidade do quadro, grau de desidratação, endotoxemia e hipóxia, podem evoluir até cianóticas (4, 7, 31). A alteração na coloração das mucosas de rosa pálidas para rosadas sugere um quadro de melhor prognóstico, já que quanto maior for a alteração circulatória, mais alterada estará essa coloração (7).

Os valores da variável proteína total e da albumina podem revelar desidratação e hemoconcentração no equino com síndrome cólica (35), sendo importante no prognóstico da afecção, particularmente dos casos cirúrgicos (36). Todos os valores das proteínas séricas totais estiveram dentro da normalidade (5,0-8,0g/dL), após o início do quadro, além disso, não foram observadas alterações no grau de desidratação dos pacientes. Já a concentração da albumina se encontrava dentro dos limites de referência (2,5-3,8g/dL) ou discretamente abaixo (4/13, 30,7%), o que pode estar associado a perda para o trato gastrointestinal (37). O fibrinogênio é uma importante glicoproteína de fase aguda, produzida em quantidade elevada pelo fígado durante afecções inflamatórias e infecciosas (15). Aumento moderado no valor dessa variável pode ser indicativo de alguma alteração recente, enquanto concentrações mais elevadas apontam para alterações graves e avançadas (37). Ainda que seja frequente o aumento de discreto a moderado na concentração dessa proteína nos quadros iniciais de cólica, em decorrência da resposta inflamatória de fase aguda (35), no presente estudo os valores de fibrinogênio se encontravam dentro da normalidade (1,0 a 4,8 g/L) para animais de vaquejada, tanto antes quanto depois de iniciado o quadro de síndrome cólica.

Antes e depois do episódio de síndrome cólica, a creatinina permaneceu dentro ou um pouco acima dos valores de normalidade (1,2-2,0 mg/dL). Segundo Groover et al. (38), em animais com afecções gastrointestinais primárias, a elevação dos valores de creatinina sugere hipovolemia ou disfunção renal, e o prognóstico de animais cuja azotemia é resolvida dentro de 72 horas de tratamento é mais favorável do que daqueles com azotemia persistente. Nenhum dos equinos apresentou desidratação clínica, mas a discreta elevação do TEC e dos valores de creatinina são indicativos do início de hipovolemia.

Quanto à variável magnésio, à exceção dos três equinos com discreta elevação da concentração, a maioria dos animais apresentou valores de magnésio dentro dos limites de normalidade (1,2-3,0 mg/dL) tanto antes quanto depois de iniciado o quadro de síndrome cólica. Quando intensa, a hipermagnesemia é mais preocupante do que a redução desse íon, já que de acordo com Dukti e White (39), está comumente associada à redução na taxa de sobrevivência dos equinos, em decorrência da desidratação e do desequilíbrio ácido-base (16).

Outras variáveis como lactato, glicose, cálcio iônico (iCa^{2+}) são importantes na avaliação do equino com síndrome cólica, já que se considera como frequente a observação de elevação nos valores de lactato, especialmente em animais com acidose metabólica (40) e níveis altos de glicose associados a existência de lesões cirúrgicas, o que geralmente indica a presença de segmentos intestinais gravemente comprometidos (41). O iCa^{2+} é importante na manutenção da função visceral e da vascular da musculatura lisa; hipocalcemia pode retardar o retorno da motilidade intestinal normal e da resposta vascular (42). No presente estudo, essas variáveis seriam mensuradas, mas por problemas no armazenamento das amostras, não foi possível determinar seus valores.

Apesar de algumas variáveis bioquímicas não se apresentarem dentro dos limites de referência após iniciado o quadro de síndrome cólica, não foram observadas alterações

significativas quando as amostras foram comparadas antes e depois de iniciado o quadro, provavelmente devido à discreta gravidade dos casos, rapidez no diagnóstico e introdução da terapia intensiva, como também pelo fato das amostras de sangue terem sido obtidas no início do quadro clínico, não havendo tempo suficiente para a manifestação de alterações.

CONCLUSÕES

A determinação de valores de referência para variáveis físicas e bioquímicas em animais manejados no Brasil é fundamental para veterinários que atuam na clínica prática, pois comumente são utilizados como referência aqueles definidos para animais criados em outros países ou em diferentes regiões geográficas.

Ainda que a síndrome cólica possa acarretar alterações importantes em variáveis físicas e bioquímicas como proteínas totais, albumina, fibrinogênio, magnésio e creatinina, essas podem se manter próximas ou dentro dos limites de normalidade em animais com compactação e distensão gástrica, se a afecção for diagnosticada precocemente e se essas variáveis forem mensuradas na fase inicial do quadro clínico.

Essa pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa (DVT/UFV) em 31 de julho de 2008.

REFERÊNCIAS

1. Rostellato C. Valeu boi! Desempenho do cavalo é decisivo na prova. *Horse Bus*. 2008; 16:20-4.
2. Lopes KRF, Batista JS, Dias RVC, Soto-Blanco B. Influência das competições de vaquejada sobre os parâmetros indicadores de estresse em equinos. *Cienc Anim Bras*. 2009;10:538-43.
3. Di Fillipo PA, Santana AE, Pereira GT. Equilíbrio ácido-base e hidroeletrolítico em equinos com cólica. *Cienc Rural*. 2008;38:1003-9.
4. Laranjeira PVEH, Almeida FQ. Síndrome cólica em equinos: ocorrência e fatores de risco. *Rev Cienc Vida*. 2008;28:64-78.
5. Melo UP. Enema em equinos saudáveis: avaliação clínica e laboratorial [dissertação]. Belo Horizonte: Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais; 2007.
6. Loving NS. Surviving colic. *Horse*. 2003;11:52-62.
7. Baxter GM. The steps in assessing a colicky horse. *Vet Med*. 2009;87:1012-8.
8. Plummer AE. Impactions of the small and large intestines. *Vet Clin North Am Equine Pract*. 2009;25:317-27.
9. Southwood LL. Acute abdomen. *Clin Tech Equine Pract*. 2006;5:112-26.
10. Singer ER, Barnes J, Saxby F, Murray JK. Injuries in the event horse: training versus competition. *Vet J*. 2008;175:76-81.
11. Pedrosa ARPAA. Cólicas em equinos: tratamento médico vs cirúrgico: critérios de decisão [dissertação]. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa; 2008.
12. García-López JM, Provost PJ, Rush JE. Prevalence and prognostic importance of hypomagnesemia and hypocalcemia in horses that have colic surgery. *Am J Vet Res*. 2001;62:7-11.

13. Navarro M, Monreal L, Segura D, Armengou L, Añor S. A comparison of traditional and quantitative analysis of acid-base and electrolyte imbalances in horses with gastrointestinal disorders. *J Vet Intern Med.* 2005;19:871-7.
14. Ihler CF, Venger JL, Skjerve E. Evaluation of clinical and laboratory variables as prognostic indicators in hospitalized gastrointestinal colic horses. *Acta Vet Scand.* 2004;45:109-18.
15. Souza MV, Souza PC, Rodrigues BL, Ribeiro Júnior JI, Cordeiro RR. Concentração do fibrinogênio no plasma sanguíneo de equinos da raça Mangalarga Marchador por diferentes métodos. *Ceres.* 2006;53:382-6.
16. Alves GES, Ribeiro Filho JD, Oliveira HP, Abreu JMG. Tratamento da compactação experimental do cólon maior em equinos: resultados de laboratório e exames bioquímicos. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2005;57:281-7.
17. Lehuby S. Relevância do exame clínico inicial de cavalos com cólica no estabelecimento de um diagnóstico médico e na determinação da opção terapêutica [dissertação]. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa; 2011.
18. Stull CS, Rodiek AV. Physiological responses of horses to 24 hours of transportation using a commercial van during summer conditions. *J Anim Sci.* 2000;78:1458-66.
19. Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML. Appendix I SI units. In: *Clinical biochemistry of domestic animals.* 6th ed. Amsterdam: Academic Press; 2008. p.916.
20. Archer DC, Proudman CJ. Epidemiological clues to preventing colic. *Vet J.* 2006;172:29-39.
21. Cox R, Proudman CJ, Trawford AF, Burden F, Pinchbeck GL. Epidemiology of impaction colic in donkeys in the UK. *BMC Vet Res.* 2007;3:1-11.
22. Reeves MJ, Salman MD, Smith G. Risk factors for equine acute abdominal disease (colic): Results from a multi-centre casecontrol study. *Prev Vet Med.* 1996;26:285-301.
23. Mariz TMA, Lima CB, Oliveira MP, Caetano TF, Escodro PB, Parente HN, et al. Ascendência genealógica de equinos Quarto de Milha em competições de vaquejada – Animais de puxar. *Rev Bras Med Vet.* 2012;43:8-12.
24. Dias RVC. Síndrome cólica de equinos em parques de vaquejada no estado do Rio Grande do Norte, Brasil [tese]. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa; 2012.
25. Samaille JP. Cólicas em equinos: o que sabemos e o que não sabemos. *Hora Vet.* 2006;25:42-4.
26. Kaya G, Sommerfeld-Stur I, Iben C. Risk factors of colic in horses in Austria. *J Anim Physiol Anim Nutr.* 2009;93:339-49.
27. Nutrient Requirements of Horses. Committee on Nutrient Requirements of Horses. National Research Council. National Academics Press. 6th ed. Washington: NRC; 2007.
28. Paludo GR, Mcmanus C, Melo RQ, Cardoso AG, Mello FPS, Moreira M, et al. Efeito do estresse térmico e do exercício sobre parâmetros fisiológicos de cavalos do exército brasileiro. *Rev Bras Zootec.* 2002;31:1130-42.
29. Hudson JM, Cohen ND, Gibbs PG, Thompson JA. Feeding practices associated with colic in horses. *J Am Vet Med Assoc.* 2001;219:1419-25.

30. Hillyer MH, Taylor FG, Proudman CJ, Edwards GB, Smith JE, French NP. Case control study to identify risk factors for simple colonic obstruction and distension colic in horses. *Equine Vet J.* 2002;34:455-63.
31. Singer ER, Smith MA. Examination of the horse with colic: is it medical or surgical? *Equine Vet Educ.* 2002;14:87-96.
32. Gruys E, Obwolo MJ, Toussaint MJM. Diagnostic significance of the major acute phase proteins in veterinary clinical chemistry: a review. *Vet Bull.* 1994;64:1009-18.
33. White NA. Colic: prevalence, risk factors and prevention. In: *Proceedings of the 11th Annual Resort Symposium of the American Association of Equine Practitioners; 2009, Vail, Colorado: AAEP; 2009.* p.11.
34. Ferreira C, Palhares MS, Melo UP, Gheller VA, Braga CE. Cólicas por compactação em equinos: etiopatogenia, diagnóstico e tratamento. *Acta Vet Bras.* 2009;3:117-26.
35. Orsini JA. A fresh look at the processo f arriving at a clinical prognosis. 2. Colic. *J Equine Vet Sci.* 2011;31:370-8.
36. Voigt A, Saulez MN, Donnellan CM, Gummow B. Causes of gastrointestinal colic at an equine referral hospital in South Africa (1998-2007). *J S Afr Vet Assoc.* 2009;80:192-8.
37. Fernandes CS. Fatores de prognóstico da cólica em equinos [dissertação]. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa; 2009.
38. Groover ES, Woolums AR, Cole DJ, LeRoy BE. Risk factors associated with renal insufficiency in horses with primary gastrointestinal diseases: 26 cases. *J Am Vet Med Assoc.* 1994;228:572-7.
39. Dukti S, White NA. Prognosticating equine colic. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 2009;25:217-31.
40. Nappert G, Johnson PJ. Determination of the acid-base status in 50 horses admitted with colic between December 1998 and May 1999. *Can Vet J.* 2001;42:703-7.
41. Hollis AR, Boston RC, Corley KTT. Blood glucose in horses with acute abdominal disease. *J Vet Intern Med.* 2008;21:1099-103.
42. Seahorn JL, Seahorn TL. Fluid therapy in horses with gastrointestinal disease. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 2003;9:665-79.

Recebido em: 21/01/13

Aceito em: 30/10/2013

SUPLEMENTAÇÃO DO MEIO DE REFRIGERAÇÃO ESPERMÁTICA COM VITAMINA C E CATALASE EM SÊMEN OBTIDO DE CÃES JOVENS E IDOSOS*

Marina Landim Alvarenga¹
Bethânia Vieira Lopes¹
Viviane Helena Chirinéa¹
Rodrigo Freitas Bittencourt²
Maria Denise Lopes¹

RESUMO

O uso de sêmen refrigerado é uma boa opção na rotina clínica de inseminação, sendo um método prático e barato que permite melhor preservação da fertilidade quando comparado ao sêmen congelado. Contudo, o período de sobrevivência dos espermatozoides é curto. A adição de moléculas antioxidantes ao meio de diluição pode reduzir o estresse oxidativo durante o armazenamento e assim melhorar sua qualidade. O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito da adição da catalase e vitamina C ao diluente sobre a qualidade do sêmen canino refrigerado. Para isso foram utilizados cinco cães com idade variando de 2 a 5 anos, e cinco com mais de sete anos. O sêmen foi colhido e dividido em três amostras para a refrigeração nos meios controle (sem adição de antioxidante), com adição de vitamina C e com adição de catalase. Antes e após a refrigeração as amostras foram analisadas através do sistema computadorizado CASA, da análise da morfologia espermática e da integridade das membranas plasmática e acrossomal. No presente trabalho a única variável que se beneficiou da ação dos antioxidantes foi à integridade do acrossomo nas amostras de sêmen resfriado obtidas de animais idosos. Além disso, neste mesmo grupo a concentração de catalase utilizada parece ter tido um efeito deletério sobre parâmetros da motilidade espermática. Estes resultados reforçam a evidência de variações individuais na resposta a refrigeração espermática e indicam a necessidade de um maior número de estudos envolvendo animais com idades diferentes.

Palavras chave: antioxidante, sêmen refrigerado, cão

SUPPLEMENTATION OF VITAMIN C AND CATALASE FOR COOLING YANG AND AGED DOG'S SEMEN

ABSTRACT

The use of cooled semen is an option for clinical practice, since it's a practical and inexpensive method, which allows a good preservation of fertility. However, spermatozoa stored under refrigeration conditions become aged, losing fertilizing capacity. The addition of antioxidant molecules to cooling extenders could reduce oxidative stress during storage improving semen quality. The goal of this study was to analyze the effects of the addition of catalase and vitamin C over the quality of refrigerated semen. Semen from five dogs aging between 2 to 5 years and five with more than 7 years was used. After collection the ejaculates were divided into three samples, one diluted in the cooling extender (control without antioxidant), another diluted in the extender with vitamin C, and the last with extender with catalase. Before and after cooling all samples were analyzed by Computer Assisted

* Financiamento Fapesp

¹ Departamento de reprodução animal e radiologia veterinária, FMVZ- UNESP, Botucatu, SP

² Centro de estudos em reprodução animal e biotecnológicas, UNIME, Salvador, BA m_alvarenga@hotmail.com

Semen Analysis (CASA), sperm morphology and analysis of the plasmatic and acrosomal membrane integrity. In this study the only variable that has benefited from the action of antioxidants was the acrosome integrity in cooled samples obtained from aged animals. In addition, in this same group the concentration of catalase used seems to have had a deleterious effect on sperm motility parameters. These results provide additional evidence of individual variations in response to cooling suggesting the need for a larger number of studies involving experimental animals of different ages.

Keywords: antioxidant, cooled semen, dog

INCORPORACIÓN DE VITAMINA C Y CATALASA EN LA REFRIGERACIÓN DE SEMEN DE PERROS JÓVENES Y VIEJOS

RESUMEN

El interés en las técnicas de preservación de los espermatozoides y de la inseminación artificial ha crecido mucho en todo el mundo. La utilización del semen refrigerado es una opción para el uso en la rutina clínica, ya que es un método práctico, más barato, que preserva mejor la fertilidad y con el cual la inseminación puede ser hecha por la vía transvaginal. La principal desventaja del uso del semen refrigerado es el corto período de supervivencia de los espermatozoides, siendo necesaria la utilización de la muestra en aproximadamente 4,9 días después de la colecta. La incorporación de moléculas antioxidantes en el diluyente de semen refrigerado podría reducir el impacto del estrés oxidativo durante el proceso de almacenamiento espermático y así mejorar la calidad del semen, propiciando un mayor tiempo de supervivencia de los espermatozoides y la disminución de la dosis de inseminación. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la incorporación de la catalasa y de la vitamina C en el diluyente sobre la calidad del semen refrigerado de perros y comparar estos antioxidantes, enzimáticos o no (catalasa x vitamina C), en la calidad de semen refrigerado de perros. Para esto fueron utilizados 10 perros, cinco de ellos con edad entre 2 y 5 años (jóvenes) y cinco con más de siete años (mayores). El semen fue colectado por manipulación digital del pene, en embudo de plástico, acoplado en un tubo plástico graduado. El semen de todos los animales fue analizado utilizando la prueba hipoosmótica, marcadores fluorescentes, sistema computadorizado CASA, análisis de la morfología espermática e integridad acrosomal. Después, el semen fue dividido en tres muestras con el fin de ser sometidas a refrigeración a 5°C por 96 horas en los medios de refrigeración control (sin incorporación de antioxidante), con incorporación de vitamina C y con adición de catalasa. Después de este período de refrigeración los análisis fueron repetidos en todas las muestras. Los resultados fueron evaluados por el análisis de variancia y las diferencias fueron verificadas por la prueba de Tukey, siendo el nivel de significancia adoptado de 5%. Los resultados obtenidos demuestran que la única variable que fue beneficiada por la acción de los antioxidantes fue la integridad acrosómica. Se concluye que los oxidantes vitamina C y catalasa no actuaron positivamente en el proceso de refrigeración de semen de perros jóvenes y mayores.

Palabras clave: antioxidantes, semen refrigerado, perro

REVISÃO DE LITERATURA

A técnica de inseminação artificial (AI) em cães pode ser utilizada como um meio alternativo à cobertura natural. Para sua realização deve-se coletar, analisar e preservar o sêmen. O interesse nas técnicas de preservação da célula espermática e de IA em cães vem crescendo e novas tecnologias estão sendo estudadas em todo mundo (1).

Sabe-se que o uso de sêmen congelado para a IA permite a preservação dos gametas por tempo ilimitado e possibilita, com isso, a multiplicação de potenciais genéticos valiosos. Contudo, em cães, a taxa de prenhes após a IA usando sêmen congelado é insatisfatória. Além disto, a inseminação com sêmen congelado é um procedimento sofisticado e necessita de técnicas e equipamentos específicos, uma vez que a deposição de sêmen deve ser intrauterina (1).

O uso de sêmen refrigerado seria, portanto, uma boa opção para a aplicação clínica, já que possui menor custo, é um método prático, permitindo melhor preservação da fertilidade e realização da inseminação via transvaginal. A limitação para o seu uso é o curto tempo de sobrevivência dos espermatozoides armazenados(2). As maneiras existentes para prolongar essa sobrevivência seriam a utilização de meios diluentes adequados, que ofereçam energia, manutenção do pH e osmolaridade, proteção da integridade do acrossomo e membrana plasmática e diminuição do metabolismo dos espermatozoides através do armazenamento à temperatura de 4 a 5 °C. Contudo, a fertilidade do sêmen refrigerado só é mantida por 12 a 24 horas (2), necessitando assim de estudos para desenvolver um método que preserve o sêmen por 4 a 5 dias, a fim de possibilitar um período de transporte prolongado.

Um dos obstáculos a ser contornado seria a peroxidação lipídica a qual os espermatozoides são submetidos durante o processo de refrigeração e armazenamento. O início e propagação da peroxidação lipídica são mediados pelos radicais livres, os quais são definidos como qualquer átomo, grupo atômico ou molécula que possui um elétron não pareado, ocupando uma orbita externa. Estas substâncias recebem o nome de espécie reativa de oxigênio (ROS) e quando em contato com os ácidos decosaheptaenóicos presentes na membrana espermática dão início a chamada cascata de peroxidação que causa perda de fluidez da membrana e da capacidade de regular a concentração intracelular de íons envolvidos no controle da homeostase espermática (3).

As espécies reativas de oxigênio (ROS) presentes no ejaculado são produzidas pelos espermatozoides e por leucócitos (4,5). Contudo, os espermatozoides submetidos à refrigeração e armazenamento se tornam envelhecidos e tendem a sofrer a peroxidação lipídica, perdendo assim, algumas características principais para a manutenção da sua capacidade fertilizante.

As ROS podem causar, diretamente, a peroxidação lipídica, levando a queda na motilidade espermática e danos protéicos e de ácido nucléico levando a apoptose e a morte celular (6-8); ou indiretamente, causar estresse oxidativo devido à destruição dos antioxidantes citoplasmáticos. Apesar disso, pequenas quantidades de ROS são necessárias para a capacitação espermática (9) e processo de hiperativação (6, 10), sendo portanto, fundamentais durante a fertilização.

As enzimas antioxidantes produzidas pelo organismo como a superóxido desmutase, a catalase e a glutatiónperoxidase são antioxidantes preventivos, por eliminarem as ROS envolvidas na iniciação das reações em cadeia. A catalase é a enzima que irá catalisar diretamente a decomposição do H₂O₂ ao oxigênio no estado fundamental (11). O ácido ascórbico (vitamina C) é um antioxidante não enzimático, que tem sido usado pela sua ação protetora contra o radical peroxil e também por proteger e regenerar a atividade da superóxido desmutase e do tocoferol (vitamina E). As propriedades antioxidantes do ácido ascórbico

permitem proteger as membranas celulares, proteínas, DNA e lipídios dos danos que as ROS podem causar (12).

Com isso, sugere-se que a adição de moléculas antioxidantes no meio de diluição do sêmen refrigerado reduziria o impacto do estresse oxidativo durante o processo de armazenamento espermático e assim melhoraria a qualidade do sêmen, propiciando um maior tempo de sobrevivência dos espermatozoides e diminuição da dose inseminante do sêmen refrigerado (13).

OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da adição da catalase e da vitamina C ao meio diluente sobre a qualidade do sêmen refrigerado de cães jovens e idosos.

MATERIAL E MÉTODOS

Preparação dos meios diluentes

Foram preparados três meios diluentes a base de gema de ovo para a refrigeração do sêmen, sendo eles, um meio controle (sem antioxidante), um meio com adição de 1mM de vitamina C e outro com adição de 300U/ml decatalase. Após a preparação os meios foram armazenados em freezer e aquecidos em banho-maria a 37°C no momento da diluição do sêmen.

Coleta do sêmen

Foi realizada a coleta do sêmen de 10 cães, 5 jovens (2 a 5 anos) e 5 idosos (mais de 7 anos). O sêmen foi colhido no próprio criatório e transportado imediatamente até o Laboratório de Reprodução de Pequenos Animais e Silvestres (REPAS), para análises e processamento.

Após a limpeza do prepúcio com uso de uma compressa, o sêmen foi colhido por manipulação digital do pênis, na ausência de uma fêmea no estro, em funil plástico, acoplado a um tubo plástico graduado. O transporte foi realizado em uma garrafa térmica com água aquecida (35°C) e protegido da luz.

A primeira fração do sêmen foi desprezada, e a segunda e terceira fração foram utilizadas para as análises morfofuncionais e processamento.

Análise do sêmen

A morfologia espermática foi avaliada através da confecção de esfregaços em lâminas, coradas pelo método de Karras modificado. A avaliação da integridade das membranas plasmáticas foi realizada através da utilização de sondas fluorescentes.

A análise funcional do sêmen foi realizada pela avaliação da motilidade, vigor espermático, concentração espermática e teste hiposmótico. A motilidade e vigor espermático do sêmen foram avaliados colocando-se uma gota de sêmen em uma lâmina aquecida a 38°C e recobrimo com uma lamínula para a observação em microscópio de contraste de fase. O resultado foi expresso em porcentagem (0 a 100%) para espermatozoides com movimento progressivo e um escore de 0 a 5 para o vigor. O teste hiposmótico constituiu em misturar 0,1ml de sêmen em 0,9ml de solução hiposmótica (150 mOsmol) e 0,1 ml de sêmen em 0,9ml de solução isosmótica (300 mOsmol), o resultado foi dado em porcentagem pela subtração dos espermatozoides com cauda enrolada na solução hiposmótica dos espermatozoides com cauda enrolada na solução isosmótica.

A concentração espermática, assim como as análises dos parâmetros espermáticos relacionados à cinética do movimento foram avaliadas através do sistema computadorizado CASA.

Após essas análises, o restante do sêmen foi diluído 1:1 em meio controle, dividido em três frascos e submetido à centrifugação. O sobrenadante foi descartado e os pellets foram ressuspensos utilizando o meio controle, o meio com vitamina C e o meio com catalase, um em cada frasco. As amostras foram submetidas à refrigeração a 5°C por 96 horas e as análises foram repetidas.

Foram comparados os parâmetros dos três grupos de tratamento dos cães jovens e idosos separadamente e entre os grupos (jovens e idosos).

Os resultados foram avaliados pela análise de variância e as diferenças foram verificadas pelo Teste de Tukey, sendo o nível de significância adotado de 5%.

RESULTADOS

Tabela1. Média e desvio padrão das análises de morfologia e integridade estrutural dos espermatozoides frescos (T0) e refrigerados (T96) obtidos de animais jovens e idosos.

Análise	Jovens				Idosos			
	T0	T96- Controle	T96- Vit. C	T96- Catalase	T0	T96- Controle	T96- Vit. C	T96- Catalase
Teste Hiposmótico (%)	81,8 ± 10,66 _a	69,8 ± 15,35 _a	69,6 ± 12,38 _a	69,0 ± 11,83 _a	55,0 ± 33,53 _a	45,4 ± 22,86 _a	45,2 ± 29,74 _a	44,0 ± 31,26 _a
Fluorescência (%)	89,4 ± 6,62 _a	72,2 ± 18,39 _a	78,8 ± 14,11 _a	71,8 ± 24,03 _a	81,4 ± 8,9 _a	68,6 ± 9,5 _a	67,4 ± 6,58 _a	75,2 ± 10,08 _a
Defeitos Maiores (%)	4,6 ± 5,6 _a	5,0 ± 3,53 _a	4,0 ± 4,58 _a	4,0 ± 4,36 _a	20,8 ± 15,06 _a	27,4 ± 17,85 _a	21,2 ± 18,32 _a	27,2 ± 14,67 _a
Defeitos Menores (%)	6,4 ± 4,5 _a	6,4 ± 4,5 _a	8,2 ± 4,2 _a	7,4 ± 1,34 _a	11,8 ± 8,26 _a	6,2 ± 4,87 _a	20,4 ± 22,85 _a	28,6 ± 19,91 _a
Integridade de Acrossomo (%)	99,8 ± 0,45 _a	99,0 ± 1,0 _{ab}	99,6 ± 0,89 _{ab}	97,6 ± 3,78 _{ab}	98,2 ± 1,79 _{ab}	94,6 ± 1,82 _b	95,4 ± 2,88 _{ab}	94,8 ± 4,32 _{ab}

Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem entre si a P < 0,05 pelo teste de Tukey

Tabela 2. Média e desvio padrão da motilidade e cinética dos espermatozoides frescos (T0) e refrigerados (T96) obtidos de animais jovens e idosos.

Análise	Jovens				Idosos			
	T0	T96- Controle	T96- Vit. C	T96- Catalase	T0	T96- Controle	T96- Vit. C	T96- Catalase
Motilidade Total (%)	85,6 ± 8,99 _a	87,2 ± 7,82 _a	76,0 ± 14,81 _a	84,2 ± 6,72 _a	79,2 ± 13,86 _a	77,6 ± 12,26 _a	62,4 ± 20,84 _a	62,6 ± 19,94 _a
Motilidade Progressiva (%)	70,8 ± 11,03 _{ab}	75,8 ± 12,27 _a	60,8 ± 17,55 _{ab}	71,0 ± 6,52 _{ab}	61,6 ± 16,65 _{ab}	62,2 ± 9,88 _{ab}	45,6 ± 25,18 _{ab}	42,6 ± 16,83 _b
VAP (µm/s)	124,1 ± 18,01 _a	111,96 ± 17,46 _{ab}	106,82 ± 23,44 _{ab}	108,62 ± 14,57 _{ab}	121,34 ± 28,01 _{ab}	103,48 ± 12,41 _{ab}	88,9 ± 19,39 _{ab}	84,24 ± 9,73 _b
VSL (µm/s)	110,68 ± 17,82 _a	100,2 ± 17,42 _a	92,9 ± 20,48 _a	96,52 ± 13,6 _a	106,1 ± 27,67 _a	90,4 ± 9,08 _a	77,86 ± 16,77 _a	75,14 ± 9,21 _a
VCL (µm/s)	155,64 ± 25,12 _a	138,54 ± 20,41 _a	146,5 ± 41,32 _a	136,78 ± 19,91 _a	164,02 ± 20,91 _a	135,8 ± 22,28 _a	124,98 ± 26,28 _a	112,76 ± 15,47 _a
Área (µm²)	5,26 ± 0,95 _{ac}	4,2 ± 0,24 _b	4,2 ± 0,4 _b	4,36 ± 0,36 _{ab}	5,56 ± 0,11 _c	4,48 ± 0,34 _{ab}	4,52 ± 0,53 _{ab}	4,28 ± 0,44 _{ab}
Rápidos (%)	80,8 ± 11,92 _a	83,0 ± 11,51 _a	68,4 ± 19,94 _{ab}	78,2 ± 6,87 _{ab}	72,2 ± 16,53 _{ab}	70,4 ± 13,24 _{ab}	50,6 ± 28,39 _{ab}	46,0 ± 18,12 _b

Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem entre si a $P < 0,05$ pelo teste de Tukey

DISCUSSÃO

A análise dos defeitos maiores e menores dos espermatozoides frescos e congelados de cães com idades diferentes mostrou similaridades entre os grupos (Tabela 1). Da mesma forma, não foram observadas diferenças entre a porcentagem de espermatozoides com membrana plasmática intacta, tanto através do teste hiposmótico, como através da análise com sondas fluorescentes (Tabela 1). Entretanto, quando a integridade acrossomal foi avaliada, observou-se que espermatozoides de animais idosos quando submetidos à refrigeração na ausência de antioxidantes apresentavam uma maior porcentagem de lesão acrossomal em comparação com o controle fresco de animais jovens (Tabela 1). Quando os antioxidantes foram adicionados à amostra de sêmen essa diferença desapareceu (Tabela 1).

No presente experimento os parâmetros de motilidade e cinética espermática foram avaliados através da análise computadorizada (CASA). A motilidade total foi semelhante entre os grupos estudados, não se observando efeito da idade dos animais ou do protocolo de refrigeração (Tabela 2). Entretanto, observou-se uma menor motilidade progressiva nas amostras de sêmen de animais idosos resfriadas com catalase em comparação ao sêmen de animais jovens resfriado sem adição de antioxidantes (Tabela 2). Da mesma forma, as amostras obtidas de animais idosos e refrigeradas com catalase tiveram uma menor velocidade média (VAP) em comparação ao controle fresco de animais jovens.

Quando comparado separadamente os grupos de animais, de acordo com a idade observou-se que o único parâmetro que apresentou diferença significativa entre as análises do sêmen no grupo dos animais jovens foi a área de cabeça (Tabela 2). Nesse parâmetro o sêmen fresco apresentou resultados significativamente superiores em relação ao controle refrigerado e ao sêmen refrigerado com antioxidantes.

Da mesma forma, no grupo dos animais idosos (Tabela 2), o único parâmetro que apresentou diferença significativa entre as amostras foi, novamente, a área de cabeça, onde o sêmen fresco foi significativamente superior em relação ao controle refrigerado, ao sêmen refrigerado com antioxidantes.

Todas as amostras de sêmen coletadas apresentaram boa qualidade, não diferindo de acordo com a idade do animal. De fato, não é esperado que ocorra diminuição da motilidade espermática de acordo com a idade dos animais (14, 15). Da mesma forma a patologia

espermática não é afetada (16) ou até diminui com o aumento da idade (17). Estes resultados foram confirmados no presente experimento, uma vez que a porcentagem de espermatozoides apresentando defeitos maiores e menores não foi diferente entre os grupos de animais estudados.

É esperado que o resfriamento espermático leve a uma deteriorização do sêmen. Esta deteriorização passa a ser evidente após 12 a 24 horas de armazenagem sendo constante e gradual (2). Este efeito, entretanto, não foi observado no presente experimento, tanto em animais jovens como em idosos. As análises de integridade de membrana, realizadas após 96 horas de resfriamento, demonstraram similaridades entre os resultados, tanto na avaliação do teste hiposmótico, como das sondas fluorescentes.

A integridade da membrana acrossomal também não foi afetada pelo resfriamento quando foram analisados isoladamente os animais jovens. Por outro lado, foi observada uma diminuição significativa da integridade da membrana acrossomal em espermatozoides de animais idosos submetidos a refrigeração, em comparação com o sêmen fresco de animais jovens. Este aumento da lesão acrossomal foi revertido pela adição das substâncias antioxidantes indicando um efeito benéfico das mesmas. Estes achados concordam com aqueles descritos por Maxwell e Strojanov(18) que demonstraram um efeito positivo da catalase sobre a preservação das membranas espermáticas em sêmen ovino resfriado a 5°C. Uma explicação para isso é o fato dos antioxidantes restaurarem o equilíbrio entre a quantidade de ROS produzido e eliminado preservando a integridade metabólica e estrutural das células (19).

Entretanto vale ressaltar que no presente experimento os efeitos benéficos da adição de antioxidantes foram pouco evidente. A adição de antioxidantes a meios de congelamento de sêmen tem se mostrado eficiente para proteção das membranas e da motilidade espermática (20). Entretanto, seu uso em sistemas de refrigeração espermática ainda é controverso. Este efeito contraditório parece estar associado a diferenças na peroxidação lipídica entre as espécies, relacionado, principalmente a variações na constituição da membrana espermática e na concentração de antioxidantes do plasma seminal. Além disso, o insulto oxidativo provavelmente afeta as diferentes estruturas espermáticas de forma diversa ressaltando as variações entre espécies, e indivíduos (21). Adicionalmente Bucak e Tekin(22) ressaltam que a estabilização da membrana por outros componentes do meio de resfriamento, como por exemplo, a gema de ovo, é mais efetiva na proteção contra os efeitos do abaixamento da temperatura do que os antioxidantes.

Tanto no grupo de animais jovens como idosos, a área da cabeça espermática foi significativamente maior quando o sêmen foi analisado fresco. Este resultado indica que o processo de refrigeração talvez tenha influenciado a área de cabeça dos espermatozoides por alterar o estado de hidratação das células. A osmolaridade do meio utilizado para a refrigeração foi de 279 mmosm o que é semelhante fisiológica para o sêmen de cão (280/300 mmOsm). Apesar de durante a refrigeração o dano criobiológico imposto às células ser muito menor que o da congelamento, danos osmóticos podem ocorrer. Além disso, o longo tempo de armazenamento do sêmen resfriado pode ter ressaltado essa alteração pois nestas condições, a membrana espermática, está sujeita a uma reestruturação durante a mudança de fase dos fosfolipídios (22).

Quando comparamos os grupos dos animais jovens com os dos idosos, observamos que a motilidade progressiva e o VAP do sêmen dos animais idosos refrigerado com adição de catalase apresentou o pior resultado. Este resultado concorda parcialmente com o obtido por Camara et al. (23) que observou uma menor motilidade do sêmen resfriado de carneiros tratado com 400U/mL em comparação com o uso de 100 a 200U/mL de catalase. Trabalhos realizados com equinos e bovinos, também não tiveram resultados positivos com a adição de catalase no meio de refrigeração (24-26). Além disso, Beccaglia et al. (27) também mostraram

que a adição de catalase nas concentrações de 150 UI/ml e 450 UI/ml não influenciou positivamente a qualidade do sêmen de cães refrigerado por 4 dias a 5°C. Contudo, Michael et al. (28) relataram que a adição de catalase na concentração de 100UI/ml afetou positivamente a qualidade do sêmen canino refrigerado por 72h. No presente experimento somente foi testada a concentração de 300u/mL e esta pode ter apresentado um efeito tóxico particularmente evidente nas amostras de sêmen dos animais idosos.

A vitamina C não apresentou efeito sobre o sêmen de nenhum dos grupos. Este resultado é semelhante ao relatado por Aurich et al. (24), Ball et al. (25) e Michael et al. (28). Além disto, Michael et al.(28)concluíram que concentrações superiores a 1 mM de vitamina C influenciaram negativamente a qualidade do sêmen de cães refrigerado a 4°C. Estes resultados são opostos aos relatados em humanos, onde a deficiência de vitamina C foi associada ao aumento de anormalidades espermáticas e diminuição da motilidade. Contudo, os cães, diferentemente dos humanos, produzem quantidade adequada de vitamina C para suprir suas necessidades metabólicas (29).

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste experimento não demonstram ação evidente dos antioxidantes sobre a qualidade do sêmen canino resfriado. Entretanto, o sêmen obtido de animais idosos se mostrou mais sensível ao tratamento, uma vez que única variável que se beneficiou da ação dos antioxidantes foi a integridade de acrossomo nas amostras de sêmen resfriado obtidas de animais idosos. Da mesma forma, neste mesmo grupo a concentração de catalase utilizada parece ter tido um efeito deletério sobre parâmetros da motilidade espermática. Estes resultados reforçam as variações individuais na resposta a refrigeração espermática e indicam a necessidade de um maior número de estudos envolvendo animais com idades diferentes.

AGRADECIMENTO

Apoio financeiro FAPESP.

REFERÊNCIAS

1. Johnston SD, Kustritz MVR, Olson PNS. Canine and feline theriogenology. Philadelphia: Ray Kersey; 2001.
2. Linde-Forsberg C. Artificial insemination with fresh, chilled extended, and frozen-thawed semen in the dog. *Semin Vet Med Surg Small Anim.* 1995;10:48-58.
3. Aitken RJ, Krausz C. Oxidative stress, DNA damage and the Y chromosome. *Reproduction.* 2001;122:497-506.
4. Calamera JC, Fernandez PJ, Buffone MG, Acosta AA, Doncel GF. Effects of long-term in vitro incubation of human spermatozoa: functional parameters and catalase effect. *Andrologia.* 2001;33:79-86.
5. Griveau JF, Le Lannou D. Reactive oxygen species and human spermatozoa: physiology and pathology. *Int J Androl.* 1997;20:61-9.
6. Agarwal A, Prabakaran S, Allamaneni S. What an andrologist/urologist should know about free radicals and why. *Urology.* 2006;67:2-8.

7. Kovalski NN, De Lamirande E, Gagnon C. Reactive oxygen species generated by human neutrophils inhibit sperm motility: protective effect of seminal plasma and scavengers. *FertilSteril.* 1992;58:809-16.
8. Moustafa MH, Sharma RK, Thornton J, Mascha E, Abdel-hafez MA, Thomas AJ, et al. Relationship between ROS production, apoptosis and DNA denaturation in spermatozoa from patients examined for infertility. *Hum Reprod.* 2004;19:129-38.
9. Saleh RA, Agarwal A. Oxidative stress and male infertility: from research bench to clinical practise. *J Androl.* 2002;23:737-52.
10. Aitken RJ, Fisher H. Reactive Oxygen Species generation and human spermatozoa: the balance of benefit and risk. *Bioessays.* 1994;16:259-67.
11. Bustamante Filho IC. Estresse oxidativo na criopreservação do sêmen equino [dissertação]. Porto Alegre: Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul;2006.
12. Luck MR, Jeyaseelan I, Sholes RA. Minireview ascorbic acid and fertility. *BiolReprod.* 1995;52:262-6.
13. Linde-Forsberg C. Achieving canine pregnancy by using frozen or chilled extended semen. *Vet Clin North Am.* 1991;21:545-51.
14. Diarra MS, Pare JP, Roy G. Genetic and environmental factors affecting semen quality of young Holstein bulls. *Can J Anim Sci.* 1997;77:77-85.
15. Mathevon M, Buhr MM, Dekkers JCM. Environmental, management and genetic factors affecting semen production in Holstein bulls. *J Dairy Sci.* 1998;81:3321-30.
16. Chandler JE, Adkinson RW, Hay GM, Crain RL. Environmental and genetic sources of variation for seminal quality in mature Holstein bulls. *J Dairy Sci.* 1985;68:1270-9.
17. Soderquist L, Janson L, Haard M, Einarsson S. Influence of season, age, breed and some other factors on the variation in sperm morphological abnormalities in Swedish dairy AI bulls. *AnimReprod Sci.* 1996;44:91-8.
18. Maxwell WMC, Stojanov T. Liquid storage of ram semen in the absence or presence of some antioxidants. *ReprodFertil Dev.* 1996;8:1013-20.
19. De Lamirande E, Gagnon C. Impact of reactive oxygen species on spermatozoa: a balancing act between beneficial and detrimental effects. *HumReprod.* 1995;10:15-21.
20. Bucak MN, Atessahim A, Yüce A. Effect of anti-oxidants and oxidative stress parameters on ram semen after the freezing-thawing process. *SmallRumin Res.* 2008;75:128-34.
21. Peña FJ, Johannisson A, Wallgren M, Rodriguez Martinez H. Antioxidant supplementation in vitro improves boar sperm motility and mitochondrial membrane potential after cryopreservation of different fractions of the ejaculate. *AnimReprod Sci.* 2003;78:85-98.

22. Bucak MN, Tekin N. Protective effect of taurine, glutathione and trehalose on the liquid storage of ram semen. *Small Rumin Res.* 2007;73:103-8.
23. Câmara DR, Mello-Pinto MMC, Pinto LC, Brasil OO, Nunes JF, Guerra MMP. Effects of reduced glutathione and catalase on the kinematics and membrane functionality of sperm during liquid storage of ram semen. *Small Rumin Res.* 2011;100:44-9.
24. Aurich JE, Schonherr U, Hoppe H, Aurich C. Effects of antioxidants on motility and membrane integrity of chilled-stored stallion semen. *Theriogenology.* 1997;48:185-92.
25. Ball BA, Medina V, Gravance CG, Baumber J. Effect of antioxidants on preservation of motility, viability and acrosomal integrity of equine spermatozoa during storage at 5°C. *Theriogenology.* 2001;56:577-89.
26. Lindemann CB, O'Brien JA, Giblin FJ. An investigation of the effectiveness of certain antioxidants in preserving the motility of reactivated bull sperm models. *Biol Reprod.* 1988;38:114-20.
27. Beccaglia M, Anastasi P, Chigioni S, Luvoni GC. Tris-lecithin extender supplemented with antioxidant catalase for chilling of canine semen. In: Proceedings of the 6th International Symposium on Canine and Feline Reproduction and Proceedings of the 6th Biennial Congress European Veterinary Society for Small Animal Reproduction; 2008, Vienna. Vienna: EVSSAR; 2008.
28. Michael AJ, Alexopoulos C, Pontiki EA, Hadjipavlou-Litina DJ, Saratsis P, Ververidis HN, et al. Effect of antioxidant supplementation in semen extenders on semen quality and reactive oxygen species of chilled canine spermatozoa. *Anim Reprod Sci.* 2008;112:119-35.
29. Earle KE. Antioxidant nutrients: their role in a healthy diet. *Vet Int.* 2000;12:2-7.

Recebido em: 14/04/2013

Aceito em: 07/11/2013

ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO DA SÍNDROME CÓLICA DE EQUINOS EM PARQUES DE VAQUEJADA NO ESTADO DO RIO GRANDE DO NORTE, BRASIL

Regina Valéria da Cunha Dias¹
José Dantas Ribeiro Filho²
Paula Dias Bevilacqua
José Ivo Ribeiro Júnior³
Maria Veronica de Souza

RESUMO

O objetivo desse estudo foi investigar fatores de risco relacionados com a síndrome cólica equina em animais inscritos em provas de vaquejadas do Estado do Rio Grande do Norte, Brasil. Foi utilizada uma população-alvo de 2.061 equinos de ambos os sexos, com idade entre 485 e 10.950 ($2.978,6 \pm 1.262,0$) dias. Foram realizados dois estudos epidemiológicos relacionados à síndrome cólica equina, sendo um de delineamento transversal e outro caso-controle. A variável 'histórico de cólica' foi identificada como fator de risco à síndrome cólica pelo estudo transversal. Já as variáveis 'histórico de claudicação' e 'período de tempo que o animal apresentou o problema locomotor' foram identificadas pelo estudo caso-controle. Se não existe histórico anterior de cólica ou de claudicação, dificilmente o equino de vaquejada apresentará a síndrome durante a sua permanência em parques. Os resultados obtidos no presente estudo indicam que estão sendo adequadas as medidas preventivas utilizadas para evitar a síndrome em animais que atuam nessa atividade equestre. Por outro lado, novas precauções necessitam ser implementadas nas propriedades e parques para reduzir ainda mais a incidência da síndrome cólica.

Palavras-chave: cólica, gastroenterologia equina, abdômen agudo, atividade equestre

EPIDEMIOLOGICAL STUDY OF EQUINE COLIC SYNDROME IN BRAZILIAN RODEO PARKS IN THE STATE OF RIO GRANDE DO NORTE, BRAZIL

ABSTRACT

The objective of this work was to investigate the risk factors associated with equine colic syndrome in animals participating in Brazilian rodeo ("vaquejada") competitions in the state of Rio Grande do Norte, Brazil. A target population of 2,061 horses of both sexes, with ages between 485 and 10,950 ($2,978.6 \pm 1,262.0$) days was used. Two epidemiological studies related to equine colic syndrome were carried out, one being a cross-sectional design study and the other a control-case study. The variable 'history of colic' was identified as a risk factor for equine colic syndrome in the cross-sectional study, while the variables 'history of lameness' and 'period of time during which the animal presented a locomotor problem' were identified in the control-case study. If there is no previous history of colic or lameness, the rodeo horse will hardly present this syndrome during its stay in parks. The results obtained in this study show that the measures being applied to prevent this syndrome in animals participating in this equestrian activity are adequate. On the other hand, new precautions must be implemented in properties and parks to further reduce the incidence of equine colic syndrome.

Keywords: colic, equine-gastroenterology, acute abdomen, equestrian activity

¹ Departamento de Ciências Animais, Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA)

² Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Viçosa (UFV)

³ Departamento de Estatística, Universidade Federal de Viçosa (UFV)

ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO DEL SÍNDROME CÓLICO EQUINO EN PARQUES DE VAQUEJADA EN LA PROVINCIA RIO GRANDE DO NORTE, BRASIL

RESUMEN

La finalidad de ese estudio fue investigar los factores de riesgo asociados con el síndrome cólico equino en animales inscriptos en pruebas de *vaquejada* del estado de Rio Grande do Norte, Brasil. Se utilizó una población de 2.061 caballos de ambos los sexos, con edades comprendidas entre 485 y 10.950 ($2.978,6 \pm 1.262,0$) días. Fueron realizados dos estudios epidemiológicos relacionados con el síndrome cólico equino, siendo un estudio de delineamiento transversal y otro caso-control. La variable 'histórico de cólico' fue identificado como un factor de riesgo para el síndrome cólico por el estudio transversal. Por otra parte, las variables 'histórico de cojera' y período de tiempo que el animal presento el problema locomotor' fueron identificados por el estudio caso-control. Si no hay antecedentes de histórico de cólico o de cojera, el caballo de *vaquejada* difícilmente presentará el síndrome durante su estancia en los parques. Los resultados obtenidos en este estudio indican que se están utilizando las medidas preventivas adecuadas para evitar el síndrome en animales que se dedican a esa actividad ecuestre. Sin embargo, nuevas precauciones deben de ser aplicadas en las propiedades y parques para reducir aún más la incidencia del síndrome cólico.

Palabras clave: cólico, gastroenterología equina, abdomen agudo, actividad ecuestre

INTRODUÇÃO

A *vaquejada* é uma atividade equestre popular na região Nordeste do Brasil, particularmente no Estado do Rio Grande do Norte, que possui uma população equina de aproximadamente 43.111 animais (1). Estima-se que, no Brasil, mais de dez mil animais sejam utilizados para *vaquejadas*, que movimentam cerca de 250 milhões de reais por ano no Brasil (2). As competições podem durar até quatro dias, sendo uma prática estressante, mesmo para equinos com adequado condicionamento físico, sendo, inclusive, observada a ocorrência de síndrome cólica nesses animais, possivelmente associada a fatores de risco relacionados com o manejo realizado na propriedade ou nos parques durante os eventos.

Os fatores de risco relacionados à síndrome cólica mais comumente estudados são o sexo, a idade e a raça, que são intrínsecos aos animais, porém seus efeitos são considerados confundidores por vários autores (3-6). Aspectos como histórico de cólica, mudanças no manejo (alimentação, estabulação, vermifugação, dentre outros) e na atividade física têm sido associados com a afecção (3-4, 7-11) devendo, portanto, ser melhor estudados. Na realidade, na maioria das vezes, esses fatores de risco estão comumente correlacionados entre si, sendo difícil isolar um único fator ou aqueles associados a definições específicas dessa síndrome (por exemplo: espasmódica, gasosa, decorrente de úlcera gástrica, compactação, colite, encarceramento, lipoma estrangulante etc.).

A prevalência e a real importância da síndrome cólica para a população equina utilizada em *vaquejadas*, assim como para a população nacional, permanecem desconhecidas. A maioria dos estudos epidemiológicos disponível sobre a síndrome foi realizada nos Estados Unidos (3-4, 8, 12-15). Em um desses estudos, Traub-Dargatz et al. (14), acompanhando uma população de 21.820 animais entre 1998 e 1999, mediante a utilização de levantamento de dados obtidos por meio do Sistema Nacional de Monitoramento da Saúde Animal (NAHMS, EUA), estimaram a incidência anual de casos da síndrome em 4,2 cólicas para cada 100 equinos/ano, com letalidade de 11%, sendo que 1,4% do total resultaram em cirurgia. No Brasil, a maioria das pesquisas desenvolvidas envolve animais de hípicas, hospitais

veterinários e unidades militares, com populações-alvo e ambientes geográficos diferentes, o que dificulta a extrapolação dos resultados para outras localidades e populações de equídeos.

Embora a etiopatogenia desse agravo seja relativamente bem estabelecida, a diversidade de condições predisponentes e determinantes é bastante controversa (16, 17), a utilização de estudos epidemiológicos é adequada para testar a hipótese da relação entre exposição ao fator de risco e desenvolvimento da afecção (5, 18). Nesse sentido, o objetivo desse estudo foi pesquisar os fatores de risco associados à síndrome cólica equina em animais utilizados em parques de vaquejada no Estado do Rio Grande do Norte (Brasil), além de fornecer dados para o controle da afecção nos parques de vaquejada.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado em eventos de vaquejada no Estado do Rio Grande do Norte (Brasil), escolhidos a partir de registros disponibilizados nos sites www.vaquejada.com.br e www.portalvaquejadas.com.br, que ocorreram no período de agosto de 2009 a abril de 2010. Durante esse período, foram realizadas 29 vaquejadas.

Os parques/eventos visitados eram propriedades particulares, abertas ao público com ingressos pagos. Foram escolhidos de acordo com a concordância de participação do proprietário, localização (facilidade de acesso, considerando o estado de conservação das vias ou estradas de acesso) e dimensão do evento (dada pelos valores da premiação e número de inscrições). Assim, foram visitados 15 eventos de vaquejada, em 12 parques, localizados em sete municípios no Estado do Rio Grande do Norte, conforme descrito na Tabela 1. Para a inclusão do animal na pesquisa, houve a concordância dos respectivos proprietários. A dimensão da vaquejada foi considerada como pequena, média ou grande, quando o número de animais inscritos foi inferior a 370, entre 371 e 580, ou superior a 581, respectivamente.

Tabela 1. Classificação dos eventos de vaquejada avaliados no Estado do Rio Grande do Norte (Brasil), agosto de 2009 a abril de 2010

Parques	Nº animais inscritos ⁽¹⁾	Nº animais presentes nas provas(1)	Classificação da prova (dimensão)	Valor da premiação (R\$)
1	480	146	Média	23.000,00
2	370	80	Pequena	12.000,00
3	620	201	Grande	30.000,00
4	642	110	Grande	20.000,00
5	66	49	Pequena	6.500,00
6	1.010	261	Grande	140.000,00
7	450	80	Média	18.000,00
8	480	86	Média	22.000,00
9	680	179	Grande	110.000,00
10	519	113	Média	21.000,00
11	100	44	Pequena	7.000,00
12	580	109	Média	30.000,00
13	467	179	Média	53.000,00
14	958	337	Grande	140.000,00
15	116	87	Pequena	8.000,00

NOTA: (1) A diferença entre o número de animais inscritos e presentes nas provas de vaquejada é devido ao fato de que cada participante pode adquirir mais de uma inscrição para participar das provas. Dessa forma, existem animais que são inscritos várias vezes na mesma vaquejada.

Um total de 2.061 equinos de ambos os sexos foram incluídos no estudo. Para investigar os fatores de risco da síndrome cólica, foram realizados dois estudos epidemiológicos, sendo um de delineamento transversal e outro caso-controle aninhado ao estudo transversal. Para o estudo transversal, a amostragem incluiu todos os animais inscritos nos 15 eventos visitados,

cujos proprietários concordaram com a pesquisa. Aos proprietários ou responsáveis pelos animais foi aplicado questionário e os animais foram acompanhados durante todo o evento com a finalidade de identificação do quadro de síndrome cólica. Para o estudo caso-controle, a amostragem dos animais partiu dos questionários preenchidos no estudo transversal. O grupo caso foi definido como 'equinos presentes nos parques de vaquejada com histórico de síndrome cólica nos últimos seis meses' e o grupo controle como 'animais presentes nos parques de vaquejada que não possuíam relatos de síndrome cólica'.

Para coleta de informações referentes às variáveis relacionadas com as características do animal (raça, sexo e idade), ao manejo (sistema de criação, alimentação, vacinação, vermifugação, casqueamento, ferrageamento, atividade física semanal, período de tempo que o animal se encontrava na propriedade), histórico de cólica (se apresentou o quadro, tempo de ocorrência e possível etiologia) e histórico de claudicação (se apresentou o quadro, tempo de ocorrência e possível etiologia). Com relação à alimentação, foram obtidas informações a respeito da quantidade, composição e frequência do fornecimento do concentrado (ração e farelo) e do volumoso. Também foram obtidos dados sobre a suplementação mineral, assim como, informações sobre o fornecimento e origem da água ingerida pelos equinos. As questões apontadas no questionário envolveram temas descritos na literatura como fatores de risco potenciais à síndrome cólica, abrangendo informações referentes à propriedade, ao evento e ao animal.

Após a identificação dos casos de síndrome cólica, realizada mediante verificação de variáveis descritas pela literatura científica (19, 20), como avaliação da frequência cardíaca, frequência respiratória, tempo de enchimento capilar, coloração das mucosas, grau de hidratação, auscultação da motilidade intestinal e do grau de dor, foram obtidas informações a partir da aplicação de um segundo questionário, com questões referentes ao manejo durante a vaquejada (fornecimento de concentrado e volumoso, fonte e frequência do fornecimento de água, vacinação, vermifugação, casqueamento, ferrageamento e atividade física), histórico de claudicação e do quadro clínico apresentado (anamnese, histórico anterior de síndrome cólica e realização de mudanças na alimentação nos últimos 15 dias que antecederam o problema).

A síndrome foi caracterizada pelo surgimento de dor abdominal aguda, manifestada pelo desconforto (o animal dirige o seu olhar constantemente para a região abdominal, e deita/levanta com frequência), ausência, diminuição ou aumento do número de defecação e aumento do diâmetro abdominal (17, 19, 21, 22). A seleção dos controles também considerou o pareamento por sexo, idade e raça do animal selecionado como caso, uma vez que são variáveis confundidoras (3-5). Cada caso foi pareado com um controle e esse foi selecionado por sorteio simples entre os questionários obtidos no estudo transversal envolvendo os animais presentes na mesma vaquejada em que se encontrava o animal caso com relato da síndrome nos últimos seis meses. A Tabela 2 apresenta com detalhes os atributos considerados para cada uma das variáveis avaliadas nos estudos transversal e caso-controle.

Após seleção, os estagiários foram treinados para aplicação do questionário e realização de exame físico dos animais, conforme descrito pela literatura (19, 20, 22). Durante esse exame foram avaliadas variáveis comumente utilizadas na clínica médica veterinária para exames de rotina (frequência cardíaca, frequência respiratória, coloração de mucosas, tempo de enchimento capilar, grau de hidratação e da motilidade intestinal). Também foram realizadas reuniões para que os diversos itens relacionados aos questionários fossem discutidos e esclarecidos. Não foram realizados esclarecimentos sobre a síndrome cólica, sendo recomendado que todos se concentrassem nas questões associadas aos questionários.

O convite para participar da pesquisa foi feito ao proprietário ou responsável pelo animal, informado que o estudo envolvia a avaliação de aspectos clínicos e de manejo dos animais, não referindo especificamente à avaliação do agravo de interesse de estudo.

Tabela 2. Atributos determinados em função das diversas variáveis avaliadas no estudo transversal e caso-controle

Variáveis: atributos

1. Sexo: macho ou fêmea.
2. Idade (dias): 485|-| 1.460; 1.461|-| 1.825; 1.826|-| 2.190; 2.191|-| 2.555; 2.556|-| 3.100; 3.101|-| 3.650; > 3.650.
3. Raça: Quarto de Milha; Paint Horse; mestiça; outras (Appaloosa, Árabe, Puro Sangue Inglês e Crioulo).
4. Histórico de cólica (dias): não ou sim (1|-| 30; 31|-| 90; 91|-| 180; > 180).
5. Causas da cólica: problemas gástricos; mudanças na alimentação; alimento de má qualidade; aerofagia; cólica cirúrgica.
6. Histórico de claudicação (dias): não ou sim (1|-| 120; > 120).
7. Causas da claudicação: lesão no casco; outras etiologias (tendinopatia, traumatismo, distensão muscular, entorse e artrite).
8. Distância percorrida durante o transporte (km): 0; 1|-| 100; 101|-| 400; > 400.
9. Período tempo do transporte (minutos): 0; 1|-| 60; 61|-| 210; > 210.
10. Número de paradas para descanso do animal durante o transporte : 0; 1; > 1.
11. Número de equinos na propriedade: 1|-|2; 3|-|4; 5|-|6; > 6.
12. Período de tempo em que o animal se encontrava na propriedade (dias): 2|-|365; 366|-| 1.095; 1.096|-| 2.190; >2.190.
13. Período de tempo de criação da espécie equina (dias): 150|-| 1.460; 1.461|-| 3.285; 3.286|-| 4.745; 4.746|-| 8.395; > 8.395.
14. Sistema de criação: intensivo; semi-intensivo; extensivo.
15. Período de tempo de permanência em baia (minutos): 0|-| 540; 541|-| 660; > 660.
16. Fonte de água: cocho; outra (baldes, tonéis).
17. Frequência do fornecimento de água/dia: à vontade ou fracionada em 2 a 5 vezes.
18. Vermifugação (dias): não ou sim (15|-| 30; 31|-| 60; 61|-| 90; >90).
19. Última vermifugação realizada (dias): 1|-| 19; 20|-| 39; 40|-| 60; > 60.
20. Vacinação: não ou sim (raiva, tétano, encefalomielite, influenza).
21. Casqueamento: não ou sim.
22. Ferrageamento: não ou sim.
23. Fornecimento de ração: não ou sim.
24. Quantidade de ração fornecida (g/dia): 800|-| 3.000; 3.001|-| 6.000; > 6.000.
25. Frequência de fornecimento de ração/dia: 1|-| 2; > 2.
26. Fornecimento de farelo: não ou sim.
27. Tipo de farelo fornecido: milho; milho e trigo; outros (associação de dois ou mais ingredientes: trigo; milho, soja, aveia e sorgo).
28. Quantidade de farelo fornecida (g/dia): 100|-| 2.500; 2.501|-| 4.000; 4.001|-| 6.000; > 6.000.
29. Frequência do fornecimento de farelo/dia: 1|-| 2; > 2.
30. Fornecimento de volumoso: não ou sim.
31. Tipos de volumoso fornecido: Brachiaria humidicola; feno de Cynodon sp.; Pennisetum purpureum; feno de Cynodon sp. e B. humidicola; outros (associação de dois ou mais volumosos descritos a seguir: feno de Cynodon sp., P. purpureum, pasto nativo; B. humidicola, Medicago sativa, palha de milho, Coast cross; Cynodon dactylon; Paspalum conspersum; B. arrecta; Andropogon gayanus; Sorghum bicolor, Stachys lanata; Digitaria decumbens; Aristida adscensionis, além de Daucus carota).
32. Frequência do fornecimento de volumoso/dia: à vontade; 1|-| 2; 3|-|6.

Continua.

Tabela 2. Atributos determinados em função das diversas variáveis avaliadas no estudo transversal e caso-controle (continuação)

Variáveis: atributos

33. Fornecimento de sal mineral: não ou sim.
 34. Quantidade de sal mineral fornecida (g/dia): 3l-| 30; 31l-| 60; > 60.
 35. Frequência do fornecimento de sal mineral/dia: à vontade; 1l-| 2; 3l-|4.
 36. Mudanças na alimentação: não ou sim.
 37. Fornecimento de suplementos: não ou sim.
 38. Frequência do fornecimento de suplemento/dia: 1; 2; > 2.
 39. Realização de atividade física: não; sim (treino de vaquejada; exercício a passo; caminhada e treino de vaquejada); outras (associação de duas ou mais atividades físicas descritas a seguir: exercício a passo, galope, natação e treino de vaquejada).
 40. Período de tempo realizando atividade física diária (minutos): 10l-|60; 61l-|180; > 180.
-

Nas provas de vaquejada são comuns caminhões com vários animais pertencentes a diferentes proprietários; tratadores que são contratados para irem somente a uma determinada prova; tratadores responsáveis por vários animais, assim como proprietários que desconhecem o manejo praticado na propriedade. Para superar esse problema, durante a abordagem dos proprietários ou responsáveis, efetuada na chegada dos equinos aos eventos, perguntava-se sobre a pessoa mais apta a responder sobre os questionamentos referentes aos animais e à propriedade.

Análise descritiva da amostra foi realizada a partir do cálculo de média e desvio padrão para as variáveis quantitativas e cálculo de proporções para as variáveis qualitativas. No estudo transversal foi realizada análise univariada, por regressão logística binária, para examinar a associação entre os dados e a ocorrência do agravo, e estimadas as razões de chances com respectivos intervalos com 95% de confiança. Tendo em vista que o tamanho da amostra não foi definido previamente, foi realizado o cálculo do poder do teste, mediante a utilização do Sampsiz Project (23), sendo considerado $\alpha = 0,05$. No estudo do caso-controle pareado foi utilizado o teste de McNemar, com o objetivo de comparar o grupo caso com o grupo controle em relação a cada uma das variáveis categóricas. As variáveis identificadas como relacionadas a risco de cólica no teste McNemar foram avaliadas por regressão logística condicional cuja finalidade foi averiguar as diferenças de frequências das variáveis entre duas amostras pareadas, além de identificar fatores modificadores de efeito, limitando a ação das variáveis de confusão. A ocorrência de cólica (grupo caso) foi identificada como 1 e a ausência (grupo controle) como 0. Os dados para as análises descritivas, assim como o banco de dados do estudo caso-controle pareado foram processados no programa Excel, versão 2007 (Microsoft Office®, Microsoft). A regressão logística binária foi processada no software Minitab versão 16, 2010 (<http://www.minitab.com/products/minitab>, State College, PA). O teste de McNemar foi realizado no software Graphpad, versão 2005 (<http://www.graphpad.com/quickcalcs/McNemar1.cfm>, GraphPad Software, CA). A regressão logística condicional foi processada no software SPSS, versão 20, 2011 (www.ibm.com/software/analytics/spss, IBM, NY).

RESULTADOS

Análise descritiva da amostra - Dos 2.061 equinos avaliados, 69,5% eram machos e 30,5% fêmeas, com idade entre 485 e 10.950 (2.978,6±1.262,0) dias. A raça Quarto de Milha (62,0%) foi a mais frequente. Os demais animais eram mestiços (31,5%), Paint Horse (4,0%) ou de outras raças (2,5% - Appaloosa, Árabe, Puro Sangue Inglês ou Crioulo).

Do total de animais avaliados, 323 (15,5%) já tinham vivenciado algum episódio de síndrome cólica, entre um e 2.190 (média e desvio padrão: 357,1±412,1) dias, porém apenas

19 (6%) proprietários ou responsáveis souberam responder sobre a possível etiologia da síndrome (problemas gástricos, alimentos de má qualidade, aerofagia e cólica cirúrgica). Não havia histórico de alterações na dieta para 1.971 (95,6%) animais nos últimos quinze dias que precederam a entrevista.

Dos equinos acompanhados, 705 (34,2%) possuíam histórico de claudicação, ocorrida entre um e 3.650 (média e desvio padrão: 241,0±360,0) dias, porém apenas 144 (20,5%) proprietários ou responsáveis souberam esclarecer a possível etiologia da claudicação (lesão de casco, tendinopatia, traumatismo, distensão muscular, entorse e artrite).

Sessenta e dois (3,0%) animais eram criados em baias no próprio parque e os demais viajaram entre 1 e 4.000 (média e desvio padrão: 167,3±273,5) km, sendo que 1.004 (49,5%) animais viajaram até 100 km para participar das provas de vaquejada. As viagens duraram entre 5 e 8.640 (195,2±460,0) minutos, sendo que a maioria (90%) foi realizada sem nenhuma parada para descanso dos animais.

Um total de 1.105 animais (53,6%) eram criados em regime semi-intensivo com acesso a piquetes, permanecendo na baía por um período acima de 11 horas/dia (59,3%). O número de equinos criados nas propriedades variou entre um e mais de 6 (6,8±14,5) animais, e os equinos avaliados se encontravam na propriedade entre 2 e mais de 2.190 (1.286,3±1.107,1) dias. Finalmente, os proprietários já eram criadores da espécie equina entre 150 e mais de 8.395 (6.058,1±4.037,3) dias.

Do total de animais acompanhados, 64 (3,0%) não haviam sido vermifugados, sendo a variação na frequência de vermifugação de 15 a 30 dias (25,2%), 31 a 60 dias (25,0%), 61 a 90 dias (27,0%) e acima de 90 dias (19,3%). A última vermifugação havia sido realizada, em média, nos últimos 46 dias antes do evento equestre. No que se refere à vacinação, 1.840 animais (90,3%) eram vacinados regularmente contra raiva, tétano, encefalomielite e influenza, e 199 equinos (9,7%) não recebiam nenhum tipo de vacina. Os proprietários ou responsáveis pelos demais animais (n=22, 1,0%) não souberam responder sobre o protocolo de vacinação. A maioria dos animais (96,0%) era casqueada regularmente, ou seja, a cada 40 a 45 dias, mas 76,30% dos animais não se encontravam ferrados. Os equinos (98,4%) eram exercitados diariamente, durante um período médio de 97 minutos, sendo o exercício a passo, associado (16,0%) ou não (22,5%) a treino de vaquejada (11,5%), a atividade mais praticada, além de treinamento específico para vaquejada, associado (12,0%) ou não (11,5%) à natação, exercício a passo e/ou galope.

Com respeito ao fornecimento de concentrados, 1.845 animais (89,5%) consumiam ração industrializada e 752 (36,5%) eram alimentados com farelo produzido na propriedade. Não houve associação entre consumo, quantidade e frequência de ingestão da ração e do farelo com a síndrome cólica. O consumo de ração comercial era, em média, de 6,0 kg/dia, dividido em uma a duas (22,5%) porções/dia, sendo, na maioria dos casos, fornecida em três ou mais (77,5%) refeições. Quanto ao farelo, este era fornecido uma a duas (57,7%) vezes ao dia, numa quantidade de aproximadamente 5,0 kg/dia. Outros animais recebiam o alimento em mais de duas (42,3%) refeições, sendo o farelo mais utilizado, a associação de milho e trigo (60%), seguido por farelo de milho (21,0%), além de outros tipos (19,0% - trigo, milho, soja, aveia e sorgo).

Tanto nas propriedades como nos parques, a maioria dos equinos (99,7%) recebia volumoso, sendo esse consumido à vontade (76,2%), em uma quantidade entre um e 50 kg (média de 16,8 kg/dia). A *Brachiaria humidicola* (23,5%) e o feno de *Cynodon* sp. (16,5%) foram os capins mais frequentemente fornecidos. O sal mineral era fornecido regularmente a 1.691 animais (82,0%), sendo que na maioria das vezes à vontade (71,0%), em uma quantidade média de 95 g/dia. Além disso, 1.079 equinos (52,5%) não recebiam nenhum tipo de suplemento alimentar. Nas propriedades, a água era fornecida à vontade (98,5%) em cochos presentes nas baias (99,0%). Nas demais, a água era fornecida em baldes ou tonéis. Já

nos parques de vaquejada, a água era disponibilizada em baldes ou tonéis nos caminhões ou os animais eram levados aos tanques comunitários.

Estudo transversal - Dos 2.061 equinos incluídos no estudo, um total de 111 animais (5,4%) possuía histórico de cólica nos últimos seis meses. Entretanto, apenas 13 equinos (0,6%; IC95%: 0,3-1,1) foram incluídos no estudo transversal, já que foram os únicos que apresentaram quadro clínico da síndrome durante os eventos. Assim, a probabilidade de um animal apresentar a síndrome durante as provas de vaquejada foi de apenas 0,6%.

Os equinos com histórico de cólica possuíam 3,4 mais chances (IC95%: 1,1-10,4, $p=0,02$) de apresentar um novo episódio da afecção do que aqueles que nunca haviam apresentado o quadro. Não foram observadas diferenças com relação às variáveis: transporte, número de equinos na propriedade, período de tempo que o equino se encontrava na propriedade, período de tempo que os proprietários criavam equinos, vermifugação, vacinação, casqueamento, ferrageamento, atividade física realizada, sistema de criação e o manejo hídrico e alimentar a que os animais eram submetidos.

Estudo caso-controle - Nessa etapa foram considerados todos os animais que estavam de acordo com a definição de caso, e o tamanho do grupo controle foi estimado em referência ao grupo caso numa relação de 1:1. Durante as visitas às provas de vaquejada, ocorreram 111 casos de síndrome cólica, com respectivos 111 controles, totalizando 222 indivíduos. Considerando-se $\alpha =0,05$ e razão de chance mínima detectável de 2,2, foi obtido um poder de teste de 80%, com 28% de expostos entre os controles e 48,3% de probabilidade de ocorrência de pares discordantes. A utilização do teste McNemar e da regressão logística condicional revelaram diferenças ($p<0,01$) entre os grupos nas variáveis 'histórico de claudicação' e 'período de tempo de ocorrência da claudicação', cujas frequências e razões de chances estão apresentadas nas Tabelas 3, 4 e 5. Equinos com histórico anterior de claudicação possuíam 2,3 mais chances de desenvolver o quadro de cólica. Adicionalmente, a possibilidade dessa ocorrência aumentou com a proximidade do dia em que ocorreu o problema locomotor. Mais especificamente, animais que haviam apresentado claudicação até 120 dias apresentaram 3,4 mais chances de desenvolverem o episódio de cólica.

Conforme ocorreu no estudo transversal, as variáveis transporte, número de equinos na propriedade, período de tempo que o equino se encontrava na propriedade, período de tempo que os proprietários criavam equinos, vermifugação, vacinação, casqueamento, ferrageamento, atividade física realizada, sistema de criação e o manejo hídrico e alimentar não influenciaram no aparecimento do quadro de cólica nos animais estudados.

Tabela 3. Frequência de ocorrência de histórico de claudicação em animais que apresentaram ou não síndrome cólica no estudo caso controle pareado

Variável	Número de positivos (%)	
	Cólica	Sem Cólica
Histórico de claudicação		
Sim	54 (7,6%)	36 (5,0%)
Não	57 (4,2%)	75 (5,5%)
Histórico de claudicação (dias)		
1-120	21 (11,8%)	9 (5,0%)
> 120	18 (11,4%)	11 (7,0%)
Não apresentaram claudicação	57 (4,2%)	75 (5,5%)

Tabela 4. Fatores de risco a síndrome cólica em equinos de vaquejada, identificados no estudo caso-controle pareado

Variável	Casos (%) (1)	Controles (%) (1)	p-valor	Razão de chances (IC95%)(2)
Histórico de claudicação				
Sim	33 (4,6%)	15 (21,0%)	0,01	2,2 (1,1-4,3)
Não	15 (1,0%)	33 (2,4%)	0,01	0,45 (0,2-0,8)
Histórico de claudicação (dias)				
1-120	17 (9,5%)	5 (2,8%)	0,01	3,4 (1,2-11,8)
> 120	15 (9,5%)	8 (5,1%)	0,21	1,8 (0,7-5,1)
Não apresentaram claudicação	15 (1,0%)	33 (2,4%)	0,01	0,4 (0,2-0,8)

NOTA: (1) Pares discordantes; (2) Intervalo com 95% de confiança.

Tabela 5. Análise de regressão logística condicional de fatores de risco a síndrome cólica em equinos de vaquejada, identificados no estudo caso-controle pareado

Variável	B	χ^2 Wald	p-valor	Razão de chances (IC95%) (1)
Histórico de claudicação	0,8	6,5	0,01	2,3 (1,2-4,5)
Histórico de claudicação (dias)	0,7	7,5	0,00	2,1 (1,2-3,6)

NOTA: (1) Intervalo com 95% de confiança.

DISCUSSÃO

O poder do teste encontrado no presente estudo esteve dentro dos valores usualmente aceitos em estudos epidemiológicos (80-90%), com maiores chances de detectar uma real diferença entre os tratamentos, ou seja, detectar diferenças se elas realmente existirem (24). Além disso, o valor de β adotado (20%), torna o estudo mais conservador, pois aumenta a probabilidade de detectar um efeito quando ele ocorrer, sem prejuízo para o teste de hipóteses. O aumento do tamanho da amostra ou do número de controles para aumentar ainda mais o poder do teste pode ser considerado em estudos posteriores.

A execução da avaliação individualizada e observacional utilizada no estudo transversal foi bastante trabalhosa, já que todos os proprietários ou responsáveis pelos animais presentes nos parques participaram do primeiro questionário. Ressaltamos que esse tipo de investigação exige o envolvimento de uma equipe de trabalho qualificada e treinada de forma que a coleta de dados ocorra em tempo adequado e de forma homogênea.

A probabilidade de um animal apresentar cólica durante as provas de vaquejada foi de 0,6% (IC95%: 0,3-1,1). Outras pesquisas revelaram incidências superiores às encontradas no presente estudo, sendo de 4,2% [Traub-dargatz et al. (14) – estudo retrospectivo na população de equinos dos Estados Unidos], 12% [Laranjeira et al. (25) – estudo retrospectivo com equinos de unidades militares no Rio de Janeiro, Brasil] e 15,8% [Higuchi (26) – estudo retrospectivo com apólices de seguro para equinos no Japão]. As diferenças verificadas, provavelmente podem ser explicadas pelos delineamentos diferentes utilizados nos estudos. Em nosso caso, o valor encontrado pode ser decorrente do pouco tempo de permanência dos animais nos parques de vaquejada o que, conseqüentemente, influencia a probabilidade de se observar a ocorrência de casos desse agravo. Entretanto, apesar do resultado encontrado expressar uma probabilidade baixa, a mesma tem elevada precisão (IC95%: 0,3-1,1), adicionalmente, é importante considerar que mesmo pequenas probabilidades são significativas, dado o efeito grave que a síndrome cólica causa nos animais acometidos.

Na análise descritiva dos 2.061 animais, ficou evidenciada a predominância de animais do sexo masculino, o que se deve provavelmente ao aspecto cultural (machos mais ágeis e resistentes, sendo assim mais indicados para as provas de vaquejadas) ou mesmo pode ser decorrente do maior desenvolvimento muscular presente nos machos, que, conforme mencionado por Cohen, Gibbs e Woods (4), favorece a utilização dos equinos em atividades esportivas. Já a maior frequência da raça Quarto de Milha está associada ao tipo de esforço físico a que os animais de vaquejada são submetidos, que é de alta intensidade, curta duração com rápida largada e mudança de direção, além de paradas abruptas (2), de forma que essa é uma raça ideal para executar tal atividade. Mariz et al. (27) estudaram a ascendência genealógica de equinos dessa raça usados durante as competições de vaquejada realizadas pela Associação Brasileira de Criadores de Quarto de Milha. De acordo com os autores, na maioria das vezes, os equinos utilizados na atividade são produtos do acasalamento entre animais de tipos produtivos de trabalho e corrida.

A administração de vermífugos e vacinas foi bastante frequente. As vacinas mais comumente administradas foram contra raiva, tétano, encefalomielite e influenza. A redução de casos de cólica após vermifugação é relatada por Reeves, Salman e Smith (3). Porém, outros autores não encontraram essa associação (28, 29).

Os equinos eram exercitados diariamente, durante um período médio de 97 minutos, sendo o exercício a passo, associado ou não a treino de vaquejada, as atividades mais praticadas. Cohen, Gibbs e Woods (4) relataram aumento do risco de cólica em equinos que são exercitados. Animais que praticam atividade física excessiva ou prolongada estão sempre trabalhando no seu limite e, conseqüentemente, submetidos a estresse constante, que pode ser agravado na época das competições de vaquejada.

Apesar de inúmeros fatores serem mencionados como de risco à síndrome cólica, no presente estudo apenas algumas variáveis foram identificadas como relacionadas com a afecção. Considerando a amostra, 15,5% dos animais apresentavam histórico anterior do agravo. Esse achado pode estar relacionado, em parte, ao sistema de manejo semi-intensivo adotado na maioria das propriedades, o que permite maior acompanhamento dos animais pelos proprietários ou responsáveis, facilitando a detecção dos casos. Conforme demonstrado no estudo transversal, o histórico anterior de cólica é um importante fator de risco para a ocorrência de um novo episódio da síndrome, com valores de 3,4 mais chances (IC95%: 1,1-10,4). Essa predisposição a recidiva foi relatada em outros estudos realizados em equinos (3, 4, 8, 16, 18, 30, 31).

Estudos revelaram razão de chances semelhantes ou superiores às encontradas no presente estudo, sendo publicados valores de 3,9 [Cohen, Gibbs e Woods (4) - estudo caso-controle envolvendo 2.060 equinos atendidos em hospital veterinário do Texas, USA - IC95%: 2,6-5,9, $p < 0,001$], 6,8 [Cox et al. (30) - estudo caso controle retrospectivo em muare mantidos em fazenda beneficente do Reino Unido - IC95%: 1,6-27,9, $p < 0,001$] e de 10,2 [Hillyer et al. (18) - estudo caso-controle retrospectivo em equinos atendidos em dois hospitais veterinários do Reino Unido - IC95%: 2,1-49,0, $p < 0,001$].

Outras possibilidades de recidiva são mencionadas como resultante de predisposição individual (8), da formação de aderências e estreitamentos de vísceras após ocorrência de cólica cirúrgica (4, 29), assim como da diminuição de neurônios do plexo mioentérico na flexura pélvica e cólon dorsal direito, o que pode ocasionar obstrução crônica do cólon, com conseqüente alteração na motilidade intestinal (11). A exceção das aderências e dos estreitamentos viscerais mencionados por White (11), já que nenhum animal possuía histórico anterior de cólica cirúrgica, nenhuma das demais possibilidades mencionadas pode ser descartada como fatores predisponentes para o aparecimento dos episódios de cólica nos animais do presente estudo. No entanto, é importante destacar que conforme mencionado por Cohen, Gibbs e Woods (4), o histórico anterior da afecção não auxilia na identificação da causa da síndrome. Entretanto, essa possibilidade de associação de um episódio anterior com

um quadro subsequente da afecção é uma informação importante para veterinários, proprietários e, principalmente, para aqueles que manejam os animais. A falta de esclarecimentos possibilita a permanência dos fatores de risco na propriedade.

A maioria (65,8%) dos equinos acompanhados não possuía histórico de claudicação e a ocorrência do problema locomotor havia ocorrido em média 240 dias antes. É provável que esse seja o motivo pelo qual 79,5% dos proprietários/responsáveis não recordavam a possível etiologia da claudicação. Essa falta de informação é prejudicial a um estudo epidemiológico. Conforme destacam Singer et al. (32), proprietários deveriam manter atualizados todos os históricos clínicos dos equinos atletas, evitando assim, a ausência de informação sobre o diagnóstico definitivo das afecções previamente apresentadas.

A relação entre claudicação e episódios de síndrome cólica, revelada no estudo caso-controle, também já havia sido mencionada em diferentes estudos realizados em equídeos (8, 18, 30, 33). Cox et al. (30) estudando fatores de risco para a síndrome cólica por compactação em asininos encontraram 2,2 mais chances (IC95%: 1,3-4,9) da ocorrência do quadro em animais com problemas locomotores. Hillyer et al. (18) descreveram quatro semanas após o surgimento de afecções músculo-esqueléticas como um período de alto risco para surgimento da afecção. O presente estudo revelou razão de chances de 2,1 para o aparecimento de cólica, em animais que apresentaram problemas locomotores, sendo que esta passou para 3,4 quando estes problemas ocorreram até 120 dias antes do episódio da síndrome. A redução da quantidade de exercícios em decorrência da afecção locomotora aumenta o tempo de estabulação, que associado a mudanças alimentares, pode predispor ao quadro de abdômen agudo. Adicionalmente, conforme mencionado pela literatura científica, animais que pastam livremente produzem de forma contínua grandes quantidades de saliva rica em bicarbonato, em resposta ao processo de mastigação, que é um importante efeito tamponante ao ácido gástrico (34-37), e que pode evitar o aparecimento de úlceras. Por outro lado, existem relatos de que a prevalência da severidade da úlcera não difere significativamente entre equinos totalmente estabulados, de animais mantidos parcialmente estabulados, ou a pasto (38).

A úlcera gástrica nos equinos é multifatorial e frequentemente assintomática (39, 40), sendo a administração de anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) (41, 42), fármacos comumente empregados em equinos com afecções do sistema locomotor, uma das possíveis causas. A lesão gástrica é normalmente associada a altas doses ou frequente administração dos AINEs (43). Entretanto, doses terapêuticas também podem causar úlceras na espécie. A hipótese mais amplamente aceita para a associação entre AINEs e úlceras gástricas é a inibição de cicloxigenases, a qual bloqueia a conversão do ácido araquidônico em prostaglandinas (44, 45). O efeito vasodilatador fisiológico das prostaglandinas (particularmente da PGE₂) na mucosa do estômago gera um sistema de tampão pelo bicarbonato, o qual atenua a ação corrosiva do ácido clorídrico presente nas secreções gástricas (40, 45, 46). Finalmente, o estresse decorrente do confinamento e aplicação de medicamentos é um aspecto que deve ser considerado no aparecimento da cólica (35, 39, 44). Vatisistas et al. (41) estudaram o estresse em 30 equinos Puro Sangue Inglês (PSI) adultos, e sugeriram que a exposição a um novo ambiente, transporte, contenção física, anestesia e sondagem nasoesofágica são situações que podem aumentar a concentração de cortisol sérico. Sabe-se que a elevação dos níveis de corticosteróides endógenos resultantes do estresse pode inibir a síntese das prostaglandinas (34, 40), previamente mencionadas.

As afecções locomotoras (lesões de casco, tendinopatia, traumatismo, distensão muscular, entorse e artrite), identificadas durante o estudo epidemiológico, podem estar relacionadas com erros no manejo dos animais na propriedade, como a ausência de limpeza diária da baia, não utilização de ferraduras, atividade física diária muito intensa ou prolongada, entre outros. A maioria dos animais (76,3%) não estava utilizando ferradura, que é um instrumento que protege o casco. Medidas preventivas devem ser tomadas para a redução da

frequência desses problemas locomotores e, conseqüentemente, do fator de risco 'histórico anterior de claudicação.

O achado mais surpreendente nos estudos epidemiológicos foi a ausência de associação entre cólica e a variável consumo de ração comercial, que foi em média de 6 kg/dia, para animais pesando entre 300 e 450 kg. Por se tratarem de equinos atletas, já era esperado maior consumo de fonte energética, como as rações industrializadas. Estudo realizado por Tinker et al. (8) revelou que animais alimentados com mais de 2,5 kg de concentrado/dia apresentam 4,8 mais chances (IC95%: 1,4-16,6) de desenvolverem cólica. Outras pesquisas demonstraram que equinos alimentados com mais de 5 kg de concentrados/dia possuem 6,3 mais chances (IC95%: 1,8-22,0) de desenvolverem a síndrome (5, 6, 8, 33). Por outro lado, ainda que a ingestão excessiva de ração industrializada seja considerada fator de risco para a síndrome cólica (5, 8), existem estudos que não revelaram essa associação (47, 48), conforme constatado nos animais de vaquejada. A razão para a ausência de associação entre essa variável e a afecção pode ser devido ao fornecimento fracionado do alimento, já que a maioria dos animais recebia o total de ração dividido em três ou mais refeições. Adicionalmente, muitas das informações disponíveis a respeito da relação entre dieta e síndrome cólica são baseadas em hipóteses ou extrapolações de dados experimentais que não foram corroborados com observações epidemiológicas, como a realizada no presente estudo.

Apesar das precauções adotadas, no presente estudo ocorreram vieses de informação (sobre a exposição aos fatores de risco ou no surgimento do quadro de síndrome cólica) e de memória, já que a informação é retrospectiva e, portanto, dependente da memória. A definição de cólica como dor abdominal aguda pode ser uma fonte de viés de informação na interpretação dos resultados (8) e pode influenciar na identificação de fatores de risco, pois, segundo Gonçalves, Jullian e Leblond (5), alguns fatores estão diretamente relacionados com as diversas definições utilizadas para a síndrome (úlceras gástricas, colite, compactação, lipoma estrangulante, etc), apesar de existirem fatores de risco comuns a todos os tipos da síndrome (3). Por outro lado, conforme mencionado por Tinker et al. (8), se fosse utilizada uma definição mais específica do quadro de cólica, como por exemplo, cólica por compactação ou devido a duodeno-jejunitis proximal, poderia haver limitação do estudo a um número ainda menor de casos clínicos e isso não estaria indicado em uma abordagem inicial de uma população-alvo.

A resposta ao segundo questionário, após a ocorrência dos casos da afecção nos eventos, foi realizada pela mesma pessoa que respondeu ao primeiro questionário, além do veterinário responsável pelo atendimento do caso clínico. Portanto, a aplicação do segundo questionário foi mais demorada, podendo ter ocorrido viés de informação (5, 49), pelo fato do respondente poder ter sido mais cuidadoso em caracterizar a forma de manejo adotada (possíveis fatores predisponentes à síndrome), uma vez que o caso de cólica era recente. Esse mesmo tipo de viés foi identificado por Reeves, Salman e Smith (3) e Tinker et al. (8) que mencionaram que os proprietários de animais com quadros da síndrome se tornam mais participativos, na esperança de serem beneficiados pela pesquisa, de forma a identificar falhas no manejo, e obter as recomendações que possam reduzir a casuística na propriedade.

Viés de memória, comumente observado quando se aplicam questionários (5, 49), ocorreu durante os questionamentos relacionados com a vermifugação, onde a maioria dos proprietários ou responsáveis recordava da última administração do vermífugo, mas não da frequência e base farmacológica do produto utilizado. Esse fato também pode ter ocorrido em outras questões, como frequência de casqueamento e ferrageamento. Esse viés foi constatado por Trotz-Williams et al. (50) no estudo caso-controle realizado com a finalidade de avaliar a ocorrência de *Anoplocephala perfoliata* em equinos em Ontário, Canadá. Diferentemente do presente estudo, que foi presencial, os autores utilizaram questionários que foram enviados a veterinários. De acordo com alguns autores (5, 49, 50), essa forma não presencial de obtenção de informação é ainda mais sujeita a vieses.

O viés de memória quanto ao desfecho (síndrome cólica) também poderia estar presente, porém essa afecção é um acontecimento marcante, além disso, o manejo dos equinos era principalmente do tipo semi-intensivo, com os animais alocados em baias durante o dia e soltos no período da noite, o que certamente facilitou a observação dos sinais de episódio de cólica. Por outro lado, o viés poderia estar presente quanto ao tempo exato da apresentação do quadro e não se o ‘animal apresentou ou não’ a afecção.

CONCLUSÕES

Caso não exista histórico anterior de cólica ou de claudicação, o risco de ocorrência da afecção nos eventos de vaquejada é baixo. O fato das variáveis relacionadas ao manejo alimentar e sanitário dos animais não estarem associadas à ocorrência de cólica, sugere que as atividades preconizadas pelos proprietários e tratadores não aumentam o risco de ocorrência da afecção, devendo ser mantidas. Por outro lado, os fatores de risco identificados permitirão que outras medidas de prevenção sejam implementadas nas propriedades e parques. É necessário aperfeiçoar a realização de registro sobre o manejo a que cada animal está submetido. A continuidade dessa linha de investigação, utilizando maior amostragem, em se tratando de delineamento individual-analítico permitirá aprofundar o conhecimento existente sobre fatores de risco associados à síndrome cólica, contribuindo para o esclarecimento de possíveis etiologias e, conseqüentemente, a prevenção mais adequada desse agravo nas populações equinas.

Essa pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa (DVT/UFV) em 31 de julho de 2008.

REFERÊNCIAS

1. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa pecuária municipal. Natal; 2009 [acesso 2011 Abr 21]. Disponível em: <http://estados.ibge.gov.br/estadosat/temas.php?sigla=rn&tema=pecuaria2009>
2. Rostellato C. Valeu boi! Desempenho do cavalo é decisivo na prova. *Horse Bus.* 2008;16:20-4.
3. Reeves MJ, Salman MD, Smith G. Risk factors for equine acute abdominal disease (colic): Results from a multi-centre casecontrol study. *Prev Vet Med.* 1996;26:285-301.
4. Cohen ND, Gibbs P, Woods A. Dietary and other management factors associated with equine colic. *J Am Vet Med Assoc.* 1999;215:53-60.
5. Gonçalves S, Julliard V, Leblond A. Risk factors associated with colic in horses. *Vet Res.* 2002;33:641-52.
6. Archer DC, Proudman CJ. Epidemiological clues to preventing colic. *Vet J.* 2006;172:29-39.
7. Uhlinger C. Investigations into the incidence of field colic. *Equine Vet J.* 1992;13:11-8.
8. Tinker MK, White NA, Lessard P, Thatcher CD, Pelzer KD, Davis B, et al. A prospective study of equine colic risk factors. *Equine Vet J.* 1997;29:454-8.
9. Plummer AE. Impactions of the small and large intestines. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 2009;25:317-27.
10. Reinemeyer CR. Parasitism and colic. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 2009;25:233-45.

11. White NA. Prognosis and strategies to prevent colic. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 2009;25:217-31.
12. Cohen ND, Peloso JG. Risk factors for history of previous colic and for chronic, intermittent colic in a population of horses. *J Am Vet Med Assoc.* 1996;208:697-703.
13. Kaneene JB, Miller RA, Ross WA, Gallagher K, Marteniuk J, Rook J. Risk factors for colic in the Michigan (USA) equine population. *Prev Vet Med.* 1997;30:23-36.
14. Traub-Dargatz JL, Koprál CA, Seitzinger AH, Garber LP, Forde K, White NA. Estimate of the national incidence of and operation-level risk factors for colic among horses in the United States, spring 1998 to spring 1999. *J Am Vet Med Assoc.* 2001;219:67-71.
15. Kaya G, Sommerfeld-Stur I, Iben C. Risk factors of colic in horses in Austria. *J Anim Physiol Anim Nutr.* 2009;93:339-49.
16. White NA. Prevalence, demographics, and risk factors for colic. In: *Proceedings of the 45th Annual Meeting of the American Association of Equine Practitioners; 2005, Quebec city. Quebec: AAEP; 2005. p.1-9.*
17. Laranjeira PVEH, Almeida FQ. Síndrome cólica em equinos: ocorrência e fatores de risco. *Rev Univ Rural Ser Cienc Vida.* 2008;28:64-78.
18. Hillyer MH, Taylor FG, Proudman CJ, Edwards GB, Smith JE, French NP. Case control study to identify risk factors for simple colonic obstruction and distension colic in horses. *Equine Vet J.* 2002;34:455-63.
19. Wilson J, Gordon B. Equine colic: interpreting the diagnostic tests. *Vet Med.* 1987;82:629-45.
20. Bryan J, David F, Duggan V. Investigation of the acute colic in the adult horse. *Ir Vet J.* 2009;62:541-7.
21. Loving NS. Surviving colic. *Horse.* 2003;11:52-62.
22. Melo UP. Enema em equinos saudáveis: avaliação clínica e laboratorial [dissertação]. Belo Horizonte: Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais; 2007.
23. Glaziu P. Sampsiz calculator [Internet]. 2005 [cited 2012 May 8]. Available from: <http://sampsiz.sourceforge.net/iface/s3.html#ccp>
24. Coutinho ESF, Cunha JM. Conceitos básicos de epidemiologia e estatística para a leitura de ensaios clínicos controlados. *Rev Bras Psiquiatr.* 2005;27:146-51.
25. Laranjeira PVEH, Almeida FQ, Pereira JS, Lopes MAFL, Campos CHC, Caiuby LCAB, et al. Perfil e distribuição da síndrome cólica em equinos em três unidades militares do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Cienc Rural.* 2009;39:1108-15.
26. Higuchi T. A retrospective survey of equine acute abdomen in a breeding region of Japan based on agricultural mutual relief insurance data. *J Equine Sci.* 2006;17:17-22.
27. Mariz TMA, Lima CB, Oliveira MP, Caetano TF, Escodro PB, Parente HN, et al. Ascendência genealógica de equinos Quarto de Milha em competições de vaquejada – Animais de puxar. *Rev Bras Med Vet.* 2012;43:8-12.
28. Morris DD, Moore JN, Ward S. Comparison of age, sex, breed, history and management in 229 horses with colic. *Equine Vet J.* 1989;7:129-32.

29. Cohen ND. Epidemiology of colic. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 1997;13:191-201.
30. Cox R, Proudman CJ, Trawford AF, Burden F, Pinchbeck GL. Epidemiology of impaction colic in donkeys in the UK. *BMC Vet Res.* 2007;3:1-11.
31. Scantlebury CE, Archer DC, Proudman CJ, Pinchbeck GL. Recurrent colic in the horse: incidence and risk factors for recurrence in the general practice population. *Equine Vet J.* 2011;43:81-8.
32. Singer ER, Barnes J, Saxby F, Murray JK. Injuries in the event horse: training versus competition. *Vet J.* 2008;175:76-81.
33. Hudson JM, Cohen ND, Gibbs PG, Thompson JA. Feeding practices associated with colic in horses. *J Am Vet Med Assoc.* 2001;219:1419-25.
34. Andrews FM, Buchanan BR, Elliot SB, Clariday NA, Edwards LH. Gastric ulcers in horses. *J Anim Sci.* 2005;83:8-21.
35. Ie Jeune SS, Nieto JE, Dechant JE, Snyder JR. Prevalence of gastric ulcers in thoroughbred broodmares in pasture: a preliminary report. *Equine Vet J.* 2009; 181:251-5.
36. Martineau, H, Thompson H, Taylor D. Pathology of gastritis and gastric ulceration in the horse. Part 1: range of lesions present in 21 mature individuals. *Equine Vet J.* 2009; 41:638-44.
37. Videla R, Andrews FM. New perspectives in equine gastric ulcer syndrome. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 2009;25:283-301.
38. Bell RJ, Mogg TD, Kingston JK. Equine gastric ulcer syndrome in adult horses: a review. *N Z Vet J.* 2007;55:1-12.
39. MacAllister CG, Sangiah S, Mauromounstakos A. Effect of a histamine H2 type receptor antagonist (WY 45, 727) on the healing of gastric ulcers in ponies. *J Vet Intern Med.* 1992;6:271-5.
40. Andrews FM, Nadeau JA. Clinical syndromes of gastric ulceration in foals and mature horses. *Equine Vet J.* 1999;31:30-3.
41. Vatistas NJ, Sifferman RL, Holste J, Cox JL, Pinalto G, Schultz KT. Induction and maintenance of gastric ulceration in horses in simulated race training. *Equine Vet J.* 1999;29:40-4.
42. Jonsson H, Egenvall A. Prevalence of gastric ulceration in Swedish Standardbreds in race-training. *Equine Vet J.* 2006;38:209-13.
43. Mackay RJ, French TW, Nguyen HT, Mayhew IG. Effects of large doses of phenylbutazone administration to horses. *Am J Vet Res.* 1983;44:774-80.
44. MacAllister CG, Morgan SJ, Borne AT, Pollet RA. Comparison of adverse effects of phenylbutazone, flunixin meglumine, and ketoprofen in horses. *J Am Vet Med Assoc.* 1993;202:71-7.
45. Murray MJ. Pathophysiology of peptic disorders in foals and horses: a review. *Equine Vet J.* 1999;29:14-8.

46. Morrissey NK, Bellenger CR, Baird AW. Bradykinin stimulates prostaglandin E2 production and cyclooxygenase activity in equine nonglandular and glandular gastric mucosa in vitro. *Equine Vet J.* 2008;40:332-6.
47. Reeves MJ, Curtis CR, Salman MD, Hilbert BJ. Prognosis in equine patients using multivariable analysis. *Can J Vet Res.* 1989;53:87-94.
48. Cohen ND, Matejka PL, Honnas CM, Hooper RN. Case-control study of the association between various management factors and development of colic in horses. *J Am Vet Med Assoc.* 1995;206:667-73.
49. Fosgate GT, Cohen ND. Epidemiological study design and the advancement of equine health. *Equine Vet J.* 2008;40:693-700.
50. Trotz-Williams L, Physick-Sheard P, McFarlane H, Pearl DL, Martin SW, Peregrine AS. Occurrence of *Anoplocephala perfoliata* infection in horses in Ontario, Canada and associations with colic and management practices. *Vet Parasitol.* 2008;153:73-84.

Recebido em: 04/12/12

Aceito em: 08/11/13

Comitê de Avaliadores

Adelina Maria da Silva	Domingos da Silva Leite	José Nicolau Prospero Puoli Filho
Adriana Evangelista-Rodrigues	Edson Ramos de Siqueira	José Paes de A. N. Pinto
Ailton Vitor Pereira	Eduardo Arruda T. Lanna	José Paes de Oliveira Filho
Alan Maia Borges	Eduardo Bagagli	José Rafael Modolo
Alessandro F. T. Amarante	Eduardo Francisquine Delgado	José Roberto Kfoury Júnior
Alexander Welker Biondo	Eduardo Furtado Flores	José Roberto Sartori
Alexandre Oba	Eduardo Harry Birgel Júnior	José Vasconcelos Lima Oliveira
Alexandre Vaz Pires	Eduardo Paulino da Costa	Joselito Nunes Costa
Alice Maria Melville P. Della Libera	Edviges Maristela Pituco	Jovanir I. Müller Fernandes
Alice Fernandes Alfieri	Eliana Curvelo	Juliany Gomes Quitzan
Alda Lúcia Gomes Monteiro	Eliana Roxo	Julieta Rodini Engrácia de Moraes
Altivo José de Castro	Élvio Carlos Moreira	Júlio César de Freitas
Alvimar José da Costa	Enrico Lippi Ortolani	Júlio Lopes Siqueira
Amauri Alcindo Alfieri	Eunice Oba	Kátia Denise Saraiva Bresciani
Américo G. da Silva Sobrinho	Evelise Oliveira Telles	Laerte Ferreiro
Ana Carolina B. C. Fonseca Pinto	Fabiano Montiani Ferreira	Lara Borges Keid
Ana Liz Garcia Alves	Felipe Masiero Salvani	Leandro Rodello
Ana Paula Frederico R. L. Bracarense	Fernanda da Cruz L. e Alvarenga	Leucio Câmara Alves
Ana Sílvia A. M. T. Moura	Fernando Antônio de Avila	Lílian Gregory
Ana Terezinha Tavechio	Fernando Ferreira	Lisiane de A. Martins
Andrey Pereira Lage	Fernando Pandolfo Bortolozzo	Lissandro Gonçalves Conceição
Andrigo Barboza de Nardi	Flávia de Rezende Eugênio	Luciana Del Rio Pinoti Ciarlini
Ângelo João Stopiglia	Flavio Ruas de Moraes	Luciana Morganti Ferreira Maselli
Annelise de Souza Traldi	Francisco Carlos Faria Lobato	Luciano José da Costa Figueiredo
Antonio Carlos Cunha Lacreta Júnior	Francisco José Teixeira Neto	Luís Carlos Vulcano
Antônio Carlos Paes	Francisco Leydson Formiga Feitosa	Luís Gustavo Corbellini
Antonio João Scandolera	Frederico Ozanam Papa	Luiz Alberto do Lago
Antônio José de Araújo Aguiar	Geder Paulo Herrmann	Luiz Antônio Mathias
Antonio Nader Filho	Germano Francisco Biondi	Luiz Augusto do Amaral
Antônio Sérgio Ferraudo	Gervásio Henrique Bechara	Luiz Celso Hygino da Cruz
Antonio Waldir Cunha da Silva	Gilson Helio Toniollo	Luiz Ernani Henkes
Aparecido Antônio Camacho	Gustavo Ferrer Carneiro	Luiz Francisco Prata
Aramis Augusto Pinto	Helenice de Lima González	Luiz Francisco Zafalon
Áureo Evangelista Santana	Helenice de Souza Spinosa	Luiz Henrique de Araújo Machado
Bernardete Miranda dos Santos	Helio José Montassier	Luzia Helena Queiroz
Bruna P. A. da Fonseca	Humberto Tonhati	Magda Alves de Medeiros
Bruno Watanabe Minto	Iolanda Aparecida Nunes	Marcelo Bahia Labruna
Caris Maroni Nunes	Ivan Roque de Barros Filho	Marcelo Beltrão Molento
Carla Forte Maiolino Molento	Ivanete Susin	Marcelo George Mungai Chacur
Carla Lopes de Mendonça	Ivo Wentz	Marcelo Meller Alievi
Carlos Antônio de Miranda Bomfim	Jackson Victor de Araújo	Marcelo Resende de Souza
Carlos Augusto A. Valadão	Jane Megid	Marcelo Vasconcelos Meireles
Carlos Roberto Conti Naumann	Jean Carlos Ramos da Silva	Márcia C. da Sena Oliveira
Carlos Roberto Daleck	Jean Guilherme F. Joaquim	Márcia Marinho
Carlos Roberto Teixeira	Jener Alexandre S. Zuanon	Márcia Valéria Rizzo S. Szabó
Carolina Madeira Lucci	João Carlos Pinheiro Ferreira	Marcia Oliveira Lopes
Cassiano Victória	João Guilherme P. Filho	Márcio Machado Ladeira
Cecílio Soares Filho	João Luiz Horácio Faccini	Marco A. F. Lopes
Célia Regina Orlandelli Carrer	João Pessoa Araújo Júnior	Marco Antonio Alvarenga
Celso A. Rodrigues	João Ricardo Dittrich	Marco Antonio Gioso
Cezinande de Meira	José Antônio Marques	Marco Antonio Lemos de Oliveira
Ciniro Costa	José Antônio Viana	Marconi Rodrigues de Farias
Cláudia Valéria S. Brandão	José Antônio Visintin	Marcos Amaku
Cláudio Dias Timm	José Augusto B. Afonso	Marcos Chalhoulb Coelho Lima
Claudio Scapinello	José Carlos de Andrade Moura	Marcos Jun Watanabe
Daisy Pontes Netto	José Dantas Ribeiro Filho	Marcos Veiga dos Santos
Daniel Augusto Barroso Lessa	José Domingos Guimarães	Margareth Elide Genovez
Dante Pazzanese Duarte Lanna	José Fernando Machado Menten	Maria Angélica Miglino
Delphim da Graça Macoris	José Joaquim Tilton Ranzani	Maria Cecília Rui Luvizotto
Denise Botelho de O. Braga	José Juradir Fagliari	Maria da Glória Buzinaro
Dilermando Miranda da Fonseca	José Laerte Nörnberg	Maria de Lourdes R. S. da Cunha
Dirlei Antônio Berto	José Luiz Laus	Maria Denise Lopes

Maria Gisela Laranjeira	Paulo Michel Roehle	Rosângela Locatelli Dittrich
Maria Jaqueline Manprim	Paulo Roberto Brandão	Rubens Antônio Carneiro
Maria Lucia Gomes Lorenço	Paulo Roberto de Lima Meirelles	Samir Issa Samara
Maria Lúcia Zaidan Dagli	Paulo Roberto Rodrigues Ramos	Sandra de Moraes Gimenes Bosco
Maria Luíza Delavechia	Pedro Manuel Leal Germano	Sandra Mara Araújo Crispim
Maria Madalena Pessoa Guerra	Peterson Triches Dornbusch	Sebastião de Campos Valadares Filho
Maria Terezinha S. Peraçoli	Priscilla Anne Melville	Sergio Borges Mano
Márcia Valéria Rizzo S. Szabó	Raimundo Souza Lopes	Sheila Canavese Rahal
Maria Verônica de Souza	Raphael Lúcio Andreatti Filho	Silvia M. Nishida
Marília Martins Melo	Raquel Y. A. Baccarim	Simone Baldini Lucheis
Marion Burkhardt de Koivisto	Raul Franzolin Neto	Simone de Carvalho Balian
Mary Marcondes	Regina Kiomi Takahira	Simone Tostes de Oliveira
Mauricio Costa Alves da Silva	Renato Cesar Sacchetto Tôres	Sony Dimas Bicudo
Mayra Elena O. D'Avila Assumpção	Renato Silva de Sousa	Stefano Hagen
Milton Hissashi Yamamura	René Laufer Amorim	Stélio Pacca Loureiro Luna
Mitika Kuribayashi Hagiwara	Ricardo Augusto Mendonça Vieira	Teresa C. G. de O. Siqueira
Mônica Vicky Bahr Arias	Ricardo de Oliveira Orsi	Tereza Cristina C. da Silva
Nei Moreira	Ricardo J. Del Carlo	Tilde Rodrigues Froes
Nelson Carneiro Baião	Roberta Lemos Freire	Valéria Marçal Félix de Lima
Nelson Moraes	Roberto Calderón Gonçalves	Valéria Nobre L. S. Oliva
Nereu Carlos Preste	Roberto de Oliveira Roça	Vamilton Alvares Santarém
Nilson Roberto Benites	Roberto Sartori Filho	Vanerli Beloti
Noeme Sousa Rocha	Roberto Soares de Castro	Vania Maria de V. Machado
Oswaldo Durival Rossi Junior	Rodrigo Martins Soares	Venício José de Andrade
Pacífico Antônio Diniz Belém	Rodrigo Otávio Silveira Silva	Vera Lúcia M. Hall
Paulo Alberto Lovatto	Rogério de Paula Lana	Victor Cruz Rodrigues
Paulo César Ciarlini	Rogério Giufrida	Virgínia Bodelão Richini Pereira
Paulo Fernando Machado	Rogério Martins Amorim	Wagner dos Reis
Paulo Francisco Domingues	Ronaldo Lopes Oliveira	Wagner Luis Ferreira
Paulo Henrique Franceschini	Rosana M. O. Clark	William Koury Filho
Paulo Henrique Jorge da Cunha	Rosângela Zacarias Machado	Wilter Ricardo R. Vicente

REVISTA “VETERINÁRIA E ZOOTECNIA”

NORMAS PARA APRESENTAÇÃO DE TRABALHOS

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

ARTIGOS CIENTÍFICOS

Devem ser estruturados de acordo com os seguintes itens:

1. Página de rosto, com:

- Título do trabalho em português, em inglês e em espanhol, fonte Times New Roman, tamanho 12, com espaçamento simples, em negrito e centralizado, em letra maiúscula. Quando necessário, indicar a entidade financiadora da pesquisa, como primeira chamada de rodapé;
- Nomes completos dos autores, em que somente a primeira letra de cada nome deve ser maiúscula, do lado direito da página. Digitá-los, separados um por linha, com **chamadas** de rodapé numeradas e em sobrescrito, **que indicarão** o cargo e o endereço profissional dos autores, seguidos da instituição onde o trabalho foi desenvolvido ou às quais estão vinculados;
- Nome, endereço, telefone, fax e correio eletrônico, para correspondência;
- Em caso de envolvimento de seres humanos ou animais de experimentação, encaminhar o parecer da Comissão de Ética ou equivalente, assinalando, no trabalho, antes das referências, a data de aprovação.

2. Página com resumo, abstract e resumen

- Tanto o resumo, como o abstract e o resumen devem ser seguidos do título do trabalho, no respectivo idioma, e conter no máximo 400 palavras cada um, com informações referentes à introdução, metodologia, resultados e conclusões. O texto deve ser justificado e digitado em parágrafo único e espaçamento simples, começando por RESUMO. O abstract, e o resumen, devem ser tradução fiel do resumo. Independente da língua em que o artigo for apresentado, deverá conter o resumo em português, inglês e espanhol.
- Devem conter, no máximo, cinco palavras-chave, keywords, e palavras clave que identifiquem o conteúdo do texto.

3. A estrutura do artigo deverá conter:

Introdução: Deve ser clara, objetiva e relacionada ao problema investigado e à literatura pertinente, bem como aos objetivos da pesquisa. A introdução estabelece os objetivos do trabalho.

Material e Métodos: Deve oferecer informações de reprodutibilidade da pesquisa, de forma clara e concisa, como variáveis, população, amostra, equipamentos e métodos utilizados, inclusive os estatísticos.

Resultados: Apresentação dos resultados obtidos, que devem ser descritos sem interpretações e comparações. Poderá ser sob a **forma de tabelas**, em folha à parte, no máximo de cinco, ordenadas em algarismos arábicos e encabeçadas pelo título, de acordo com as normas de apresentação tabular da ABNT/WBR 6023/2000 da Associação Brasileira de Normas Técnicas, identificadas no texto como Tabela; sob a **forma de figuras**, nos casos de gráficos, fotografias, desenhos, mapas, etc., ordenadas em algarismos arábicos, até no máximo de seis, e citadas no texto como Figura. Devem ser identificadas em folha à parte, onde deve constar o título do artigo. **Fotografias** podem ser em preto e branco ou coloridas, identificadas com o(s) nome(s) do(s) autor(es) no verso. No caso de **desenhos originais**, a impressão deve ser em papel adequado, de qualidade.

Discussão: Deve ser entendida como a interpretação dos resultados, confrontando com a literatura pertinente, apresentada na introdução. Se julgar conveniente, os resultados e a discussão poderão ser apresentados conjuntamente.

Conclusões: É a síntese final, fundamentada nos resultados e na discussão.

Referências: Devem ser apresentadas de acordo com as normas Vancouver (<http://www.icmje.org/>).

Deverão ser editorados em Microsoft Word for Windows, para edição de textos, Excel (qualquer versão) para gráficos, formato JPEG ou GIF (imagem) para fotografias, desenhos e mapas, formato A4 (21,0 x 29,7 cm), em espaço duplo, mantendo margens de 2,5 cm, nas laterais, no topo e pé de cada página, fonte Times New Roman, tamanho 12 e numeração consecutiva das páginas em algarismos arábicos, a partir da folha de identificação. Deverão também apresentar **numeração nas linhas, reiniciando a contagem a cada nova página**. Não serão fornecidas separatas. Os artigos estarão disponíveis no formato PDF no endereço eletrônico da revista. Para as demais seções da revista são válidas as normas anteriores. Não devem exceder a 15 páginas. Abreviaturas não usuais devem ser empregadas após escritas por extenso na primeira utilização.

ARTIGOS DE REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Os artigos de revisão bibliográfica serão publicados nas línguas portuguesa, inglesa e espanhola, quando o autor apresentar contribuição científica, relevante na área específica do assunto abordado, a convite dos editores.

Deverão conter: Título (português, inglês e espanhol), resumo com palavras-chave, abstract com keywords e resumen com palabras claves, introdução, desenvolvimento do assunto, conclusão e referências. Deverão conter no máximo 20 páginas e 60 referências.

RELATOS DE CASO

Não devem ser estruturados, como os artigos. Devem apresentar o título em português, em inglês e espanhol, resumo com palavras-chave, abstract com keywords, resumen com palabras claves e referências. Devem conter no máximo cinco páginas, três tabelas ou figuras e 15 referências.

COMUNICAÇÕES CURTAS

São relatos contendo dados inéditos e relevantes de estudos originais, como, por exemplo, resultados preliminares de uma pesquisa. Devem ser apresentadas com, no máximo, cinco páginas, uma tabela e 10 referências. A estrutura deve respeitar as normas para relatos de caso.

REFERÊNCIAS E CITAÇÕES

As referências devem ser numeradas consecutivamente e listadas na ordem em que são mencionadas no texto. As referências devem ser identificadas no texto, nas tabelas e legendas com números arábicos, entre parênteses, seguindo a mesma sequência. Os títulos das revistas devem ser abreviados de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus* disponível em: <http://www.nlm.nih.gov>.

Exemplos

Citações

O material deve ser mantido em compressas embebidas em solução fisiológica para evitar o ressecamento (5).

Aulisa (1) administrou heparina, por via intramuscular, em cobaias.

Udupa & Prasad (9) utilizaram osteoclasia manual do úmero sem imobilização

Herbsman et al. (7) realizaram osteoclasia manual no fêmur e não imobilizaram.

O rato apresenta níveis mais elevados de heparina que o homem (35,42,51).

O mesmo autor obteve resultados semelhantes, mesmo com metodologias diferentes (22-26).

Referências

Indique até seis autores seguidos de et al.

1 Artigo de revista

Andrade SF, Sakate M. Intoxicação por amitraz: revisão. Vet Not. 2004;10:1-15.

Modolo JR, Stachissini AVM, Gennari SM, Dubey JP, Langoni H, Padovani CV, et al. Frequência de anticorpos anti-Neospora caninum em soros de caprinos do estado de São Paulo e sua relação com o manejo dos animais. Pesq Vet Bras. 2008;28:597-9.

2 Organização como autor

Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis. 12nd ed. Washington; 1975.

Universidade Federal de Viçosa. SAEG: sistema de análises estatísticas e genéticas: manual do usuário: versão 7.1. Viçosa; 1997.

3 Livro

Modolo JR, Stachissini AVM, Castro RS, Ravazzolo AP. Planejamento de saúde para o controle da artrite-encefalite caprina. São Paulo: Cultura Acadêmica; 2003.

4 Capítulo de livro

Corrêa MC, Corrêa CNM. Estafilococias em geral. In: Corrêa MC, Corrêa CNM. Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos. 2ª ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 1992. p.91-103.

Mendes AA, Saldanha ESPB. A cadeia produtiva da carne de aves no Brasil. In: Mendes AA, Naas IA, Macari M. Produção de frangos de corte. Campinas: FACTA, 2004. p.1-22

5 Artigos apresentados em congressos, reuniões, seminários etc

Malhado CHM, Piccinin A, Gimenez JN, Ramos AA, Gonçalves HC. Modelos polinomiais para descrever a curva de postura de codornas. In: Anais do 3º Congresso Nordestino de Produção Animal; 2004, Campina Grande. Campina Grande: Universidade Federal da Paraíba; 2004. p.1-3

6 Teses, dissertações e outros trabalhos acadêmicos

Mortari AC. Avaliação da técnica de transposição do músculo semitendinoso para reparo do diafragma pélvico: estudo experimental em cães [dissertação]. Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista; 2004.

7 Publicações disponíveis na Internet

Vasconcelos JLM. Endometrite subclínica em vacas leiteiras. Campinas; 2004 [cited 2004 Jan 16]. Available from: <<http://www.milkpoint.com.br>>.

JOURNAL OF VETERINARY MEDICINE AND ANIMAL SCIENCE

RULES FOR PRESENTATION OF PAPERS

The **Journal of Veterinary Medicine and Animal Science**, from School of Veterinary Medicine and Animal Science - UNESP, Botucatu, publishes original scientific and review papers, case reports and short communications related to Veterinary Medicine and Animal Science with semestral periodicity. The journal is open to national and/or foreign contributions (in English or Spanish) under the author's full responsibility.

Publication is conditioned to preliminary evaluation by the president of the editorial board, that analyses the merit and formal aspects of the work, according to the category of submitted paper and established editorial rules. If adequate, the article is subjected to review by two experts in the field. Opinion of reviewers are kept undisclosed. There are no possibility of identification of authors and reviewers. The articles not accepted will be returned to the authors.

Manuscripts must be submitted at the journal website <http://www.fmvz.unesp.br/rvz>.

Prof. Helio Langoni

Revista "Veterinária e Zootecnia"

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP - Botucatu

18618-000 – Dist. Rubião Junior – SP – Brasil

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

SCIENTIFIC PAPERS

Must be prepared according to the following items:

1. Title page:

- Title of the manuscript in Portuguese, English and Spanish, using Times New Roman font 12, simple spacing, bold and centered, with the words in upper case. When necessary, indicate the financial support as first footnote;

- Full authors names, where only the first letter of each name must be in upper case at the right side of the page. The authors' names must be typed separated by line, with numbered superscript **footnotes, which will indicate** the position and author's professional address, followed by the name of the institution where the work was done or to where it is linked;

- Name, address, telephone number, fax and e-mail address for correspondence;

- In case of involvement of human or experimental animals include the Ethics Committee approval or equivalent, and type before the bibliographic references with date of approval.

2. Abstract in Portuguese, English, and Spanish

- The "resumo", abstract and "resumen" must be followed by the title in the respective language and should not exceed 400 words each, with information regarding introduction, methods, results and conclusions. Text must be justified and in a single paragraph, simple spacing, beginning with the "RESUMO". Independent of the paper language, the abstract must be submitted in English, Portuguese and Spanish.

- Must include a maximum of five "palavras-chave", keywords, and palabras claves that identify the text content.

3. The structure of the paper must include:

Introduction: Clearly state the objective of the study with brief overview of the investigated problem and literature review.

Material and Methods: Provide a concise description of the experimental methods, variables, population in study, equipment, as well as the statistics, in sufficient detail to allow other researches to reproduce the results.

Results: The results should be described without interpretation and comparisons. The results may include **tables**, which should come in a separate sheet (maximum of 5 tables) and numbered consecutively in Arabic numerals, with the title on the top, according to the rules of table presentation by ABNT/WBR 6023/2000 from Associação Brasileira de Normas Técnicas, and identified in the text as Table; **figures**, in case of graphs, photographs, drawings, maps, etc, numbered consecutively in Arabic numerals (maximum of six), cited in the text as Figure. **Photographs** may be black and white or color, identified with the author's name in the back. **Original drawings** must be printed in high quality paper.

Discussion: Should be the interpretation of the results, relative to other relevant studies, presented in the introduction. If convenient, the results and discussion may be presented together.

Conclusions: The final synthesis, based on the results and discussion.

References: Should be presented according to Vancouver rules (<http://www.icmje.org/>), and arranged in alphabetical order, by author's last name (examples in the end of the instructions).

Manuscripts **should** be edited in Microsoft Word for Windows, for text, Excel (any version) for graphs, JPEG or GIF format (images) for photographs, drawings and maps, A4 format paper (21,0 x 29,7 cm), double spaced, leaving at least 2,5 cm margins, (lateral, top and bottom of page), Times New Roman font, size 12 and numbered in Arabic numerals, beginning in the identification page. The authors will have to present numeration in the lines, restarting the counting to each new page. Illustrations and legends must be presented on separate sheets.

Reprints will not be offered. The articles will be available in PDF format at the journal website. The same rules apply for all the other sections of the journal. The manuscripts should not exceed 15 pages. Unusual abbreviations should be used only after first time citation.

REVIEW ARTICLES

The review articles will be published in Portuguese, English or Spanish, if it provides scientific contribution that is relevant in the area, when invited by the editors. The review articles must include: Title (Portuguese, English and Spanish), resumo with palavras-chave, abstract with key words and resumen with palabras-claves, introduction, subject overview, conclusion e references. Must contain a maximum of 20 pages and 60 references.

CASE REPORTS

Should not be prepared with the same structure as the articles. The case reports must present the title in Portuguese, English and Spanish, resumo with palavras-chave, abstract with keywords and resumen with palabras claves and references. Must contain a maximum of five pages, three tables or figures and 15 references.

SHORT COMMUNICATIONS

These are reports with new and relevant data of original studies, as preliminary results of a research. Must be presented with a maximum of five pages, one table and ten references. The structure should follow the same rules for case reports.

REFERENCES AND CITATIONS

References should be numbered consecutively in order in which they are first mentioned in the text, tables, and legends by Arabic numbers in parentheses in same sequence. The titles of journals should be abbreviated according to the style *List of Journals Indexed in Index Medicus* available from: <http://www.nlm.nih.gov>.

Examples:

Citations

O material deve ser mantido em compressas embebidas em solução fisiológica para evitar o ressecamento (5).

Aulisa (1) administrou heparina, por via intramuscular, em cobaias.

Udupa & Prasad (9) utilizaram osteoclasia manual do úmero sem imobilização

Herbsman et al. (7) realizaram osteoclasia manual no fêmur e não imobilizaram. O rato apresenta níveis mais elevados de heparina que o homem (35,42,51). O mesmo autor obteve resultados semelhantes, mesmo com metodologias diferentes (22-26).

References

List the first six authors followed by et al.

1 Journal article

Andrade SF, Sakate M. Intoxicação por amitraz: revisão. Vet Not. 2004;10:1-15.

Modolo JR, Stachissini AVM, Gennari SM, Dubey JP, Langoni H, Padovani CV, et al. Frequência de anticorpos anti-Neospora caninum em soros de caprinos do estado de São Paulo e sua relação com o manejo dos animais. Pesq Vet Bras. 2008;28:597-9.

2 Organization as author

Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis. 12nd ed. Washington; 1975.

Universidade Federal de Viçosa. SAEG: sistema de análises estatísticas e genéticas: manual do usuário: versão 7.1. Viçosa; 1997.

3 Book

Modolo JR, Stachissini AVM, Castro RS, Ravazzolo AP. Planejamento de saúde para o controle da artrite-encefalite caprina. São Paulo: Cultura Acadêmica; 2003.

4 Chapter in a book

Corrêa MC, Corrêa CNM. Estafilococias em geral. In: Corrêa MC, Corrêa CNM. Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos. 2^a ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 1992. p.91-103.

Mendes AA, Saldanha ESPB. A cadeia produtiva da carne de aves no Brasil. In: Mendes AA, Naas IA, Macari M. Produção de frangos de corte. Campinas: FACTA, 2004. p.1-22

5 Conference paper

Malhado CHM, Piccinin A, Gimenez JN, Ramos AA, Gonçalves HC. Modelos polinomiais para descrever a curva de postura de codornas. In: Anais do 3^o Congresso Nordestino de Produção Animal; 2004, Campina Grande. Campina Grande: Universidade Federal da Paraíba; 2004. p.1-3

6 Dissertation

Mortari AC. Avaliação da técnica de transposição do músculo semitendinoso para reparo do diafragma pélvico: estudo experimental em cães [dissertação]. Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista; 2004.

7 Electronic material on Internet

Vasconcelos JLM. Endometrite subclínica em vacas leiteiras. Campinas; 2004 [cited 2004 Jan 16]. Available from: <<http://www.milkpoint.com.br>>.

REVISTA “VETERINARIA Y ZOOTECNIA”

NORMAS PARA PRESENTACIÓN DE TRABAJOS

La Revista **Veterinaria y Zootecnia**, de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia – UNESP, Campus de Botucatu, publica artículos científicos originales, artículos de revisión de bibliografía, estudios de caso y comunicaciones cortas, relacionadas con las áreas de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, con periodicidad semestral, en las lenguas Portugués, Español o Inglés, siendo los conceptos y opiniones emitidas, de exclusiva responsabilidad de los autores.

La publicación depende de la evaluación preliminar del Presidente del Consejo Editorial, que analiza la relevancia, y los aspectos formales, de acuerdo con la categoría del artículo sometido y las normas editoriales establecidas. Si es aprobado, se adopta el mérito de la evaluación por pares, se envía para dos Revisores, de acuerdo con el área. Los conceptos además de la imparcialidad, serán mantenidos bajo estricta reserva, sin que exista la posibilidad de identificación entre autores y evaluadores. Los artículos no publicados serán devueltos.

Los trabajos deben ser enviados pela página WEB de la revista <http://www.fmvz.unesp.br/rvz>

Prof. Helio Langoni

Revista “Veterinaria y Zootecnia”

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP - Botucatu

18618-000 – Dist. Rubião Junior – SP – Brasil

INSTRUCCIONES A LOS AUTORES

ARTÍCULOS CIENTÍFICOS

Deben ser estructurados de acuerdo con los siguientes puntos:

1. Página principal, con:

- Título del trabajo en portugués, inglés y en español, tipo de letra Times New Roman, número 12, con espacio entre líneas sencillo, en negrilla y centrado, en letra mayúscula. Cuando sea necesario, indicar la entidad que financia la investigación, como primer pié de página;
- Nombres completos de los autores, en los cuales solamente la primera letra de cada nombre debe ser mayúscula, en lado derecho de la página. Digitalarlos separados un por línea, con **notas de pié** de página numeradas y en sobrescrito, **que indicarán** el cargo y la dirección profesional de los autores, seguidos de la institución donde el trabajo fue realizado o en las cuales están vinculados;
- Nombre, dirección, teléfono, fax y correo electrónico para correspondencia.
- En el caso de involucrar seres humanos o animales de experimentación, enviar el concepto de la Comisión de Ética o equivalente, destacando en el trabajo antes de las referencias y fecha de aprobación, así como el envío de la copia del concepto.

2. Página con resumen en Portugués, Inglés y Español.

- Tanto el “resumo”, como el “abstract”, así como el resumen, deben estar seguidos del título del trabajo, en el idioma respectivo y contener, como máximo 400 palabras cada uno, con informaciones referentes a la introducción, metodología, resultados y conclusiones. El texto debe estar ajustado (justificado) y digitado en un solo párrafo y con espacio entre líneas sencillo iniciando por el “RESUMO”. El “Abstract”, y el Resumen, deben ser fiel traducción del “Resumo”. Independiente da la lengua que el artículo fue presentado deberá contener el resumen en portugués, inglés y español.

- Deben contener como máximo, cinco “palavras-chave” “keywords”, y palabras clave que identifiquen el contenido del texto.

3. La estructura del artículo deberá contener:

Introducción: debe ser clara, objetiva y relacionada al problema investigado, y a la literatura pertinente, así como con los objetivos de la investigación. La introducción establece los objetivos del trabajo.

Materiales y Métodos: debe ofrecer informaciones de reproductibilidad de la investigación, de forma clara y concisa, como variables, población, muestra, equipos, o métodos utilizados, inclusive los estadísticos.

Resultados: Presentación de los resultados obtenidos, que deben ser descritos, sin interpretaciones y comparaciones. Podrá ser bajo la **forma de tablas**, en hojas separadas, con máximo de cinco, ordenadas en algarismos arábigos, y encabezadas por el título, de acuerdo con las normas de presentación tabular de las normas ABNT/WBR 6023/2000 de la Asociación Brasileña de Normas Técnicas, ABNT, identificadas en el texto como Tabla; bajo la **forma de figuras** en los casos de gráficos, fotografías, dibujos, mapas, etc., ordenadas en algarismos arábigos hasta un máximo de seis, y citadas en el texto como Figura. **Fotografías** pueden ser en blanco y negro o a colores; identificadas con el nombre del autor o autores al lado opuesto. En el caso de **dibujos originales**, la impresión debe ser en papel adecuado, de calidad.

Discusión: Debe ser entendida como la interpretación de los resultados, confrontando la literatura pertinente, descrita en la introducción. De ser conveniente los resultados y discusión podrán ser presentados conjuntamente.

Conclusiones: Es la síntesis final, fundamentada en los resultados y en la discusión.

Referencias: Deben ser presentadas de acuerdo con las normas de Vancouver (<http://www.icmje.org/>), y el arreglo organización debe ser en orden alfabético por apellido del autor (modelos anexos al final).

Deberán ser editados en Microsoft Word for Windows, para edición de textos, Excel (cualquier versión) para gráficos, formato JPEG o GIF (imagen) para fotografías, formato A4 (21,0 x 29,7 cm), a doble espacio, manteniendo márgenes de 2,5 cm, en las laterales, parte superior e inferior de cada página, fuente Times New Roman, número 12 y numeración consecutiva de las páginas en números arábigos, a partir de la hoja de identificación. Deberán presentar también la numeración en las líneas, recomenzando la cuenta a cada página nueva. Ilustraciones y leyendas deben ser presentadas en hojas separadas.

No se ofrecerán separatas. Los artículos estarán disponibles en el formato PDF en la página WEB de la revista. Para las demás secciones de la revista son válidas las normas anteriores. No deben exceder las 15 páginas. Abreviaturas no usuales, deben ser empleadas después de haber sido escritas por extenso en la primera utilización.

ARTÍCULOS DE REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Los artículos de la revisión bibliográfica serán publicados en los idiomas portugués, inglés y español, cuando el autor presente contribución científica, importante en el área específica del asunto abordado, y por invitación de los editores.

Deberán contener: Título (portugués, inglés y español), resumen con palavras-chave, abstract con keywords e resumen con palabras claves, introducción, desarrollo del tema, conclusión y referencias. Deberán contener como máximo 20 páginas y 60 referencias (citas bibliográficas).

ESTUDIOS DE CASO

No deben ser subdivididos, como para los artículos. Deben presentar el título en portugués, en inglés y español, resumen con palavras-chave, abstract con key words e resumen con palabras-claves y referencias. Deben contener como máximo cinco páginas, tres tablas o figuras y 15 referencias bibliográficas.

COMUNICACIONES CORTAS

Son relatos con datos inéditos y relevantes de estudios originales, como por ejemplo resultados preliminares de una investigación. Deben ser presentados como máximo en cinco páginas, una tabla y 10 referencias bibliográficas. La estructuración debe respetar las normas para estudios de caso.

REFERENCIAS E CITACIONES

Numerar las referencias consecutivamente según el orden en que se mencionen por primera vez en el texto. En éste, en los cuadros y leyendas, las referencias se identificarán mediante números arábigos entre paréntesis. Abreviar los títulos de las revistas según *List of Journals Indexed in Index Medicus* disponible en: <http://www.nlm.nih.gov>.

Ejemplos

Citations

O material deve ser mantido em compressas embebidas em solução fisiológica para evitar o ressecamento (5).

Aulisa(1) administrou heparina, por via intramuscular, em cobaias.

Udupa & Prasad (9) utilizaram osteoclasia manual do úmero sem imobilização

Herbsman et al. (7) realizaram osteoclasia manual no fêmur e não imobilizaram.

O rato apresenta níveis mais elevados de heparina que o homem (35,42,51).

O mesmo autor obteve resultados semelhantes, mesmo com metodologias diferentes (22-26).

Referencias

Mencionan los seis primeros autores seguidos de la abreviatura et al.

1 Artículo de periódico

Andrade SF, Sakate M. Intoxicação por amitraz: revisão. Vet Not. 2004;10:1-15.

Modolo JR, Stachissini AVM, Gennari SM, Dubey JP, Langoni H, Padovani CV, et al. Frequência de anticorpos anti-Neospora caninum em soros de caprinos do estado de São Paulo e sua relação com o manejo dos animais. Pesq Vet Bras. 2008;28:597-9.

2 Organización como autor

Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis. 12nd ed. Washington; 1975.

Universidade Federal de Viçosa. SAEG: sistema de análises estatísticas e genéticas: manual do usuário: versão 7.1. Viçosa; 1997.

3 Libro

Modolo JR, Stachissini AVM, Castro RS, Ravazzolo AP. Planejamento de saúde para o controle da artrite-encefalite caprina. São Paulo: Cultura Acadêmica; 2003.

4 Capítulo en libro

Corrêa MC, Corrêa CNM. Estafilococias em geral. In: Corrêa MC, Corrêa CNM. Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos. 2ª ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 1992. p.91-103.

Mendes AA, Saldanha ESPB. A cadeia produtiva da carne de aves no Brasil. In: Mendes AA, Naas IA, Macari M. Produção de frangos de corte. Campinas: FACTA, 2004. p.1-22

5 Ponencias o conferencias en simposio, congreso, reuniones, etc .

Malhado CHM, Piccinin A, Gimenez JN, Ramos AA, Gonçalves HC. Modelos polinomiais para descrever a curva de postura de codornas. In: Anais do 3^o Congresso Nordestino de Produção Animal; 2004, Campina Grande. Campina Grande: Universidade Federal da Paraíba; 2004. p.1-3

6 Tesis

Mortari AC. Avaliação da técnica de transposição do músculo semitendinoso para reparo do diafragma pélvico: estudo experimental em cães [dissertação]. Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista; 2004.

7 Medios electrónicos en Internet

Vasconcelos JLM. Endometrite subclínica em vacas leiteiras. Campinas; 2004 [cited 2004 Jan 16]. Available from: <<http://www.milkpoint.com.br>>.