

**Inovação e Pluralidade na**

**Medicina Veterinária 3**

Alécio Matos Pereira  
Sara Silva Reis  
Wesklen Marcelo Rocha Pereira  
(Organizadores)



**Inovação e Pluralidade na**

**Medicina Veterinária 3**

Alécio Matos Pereira  
Sara Silva Reis  
Wesklen Marcelo Rocha Pereira  
(Organizadores)





**Editora Chefe**

Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

**Assistentes Editoriais**

Natalia Oliveira

Bruno Oliveira

Flávia Roberta Barão

**Bibliotecário**

Maurício Amormino Júnior

**Projeto Gráfico e Diagramação**

Natália Sandrini de Azevedo

Camila Alves de Cremo

Karine de Lima Wisniewski

Luiza Alves Batista

Maria Alice Pinheiro

**Imagens da Capa**

Shutterstock

**Edição de Arte**

Luiza Alves Batista

**Revisão**

Os Autores

2020 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do Texto © 2020 Os autores

Copyright da Edição © 2020 Atena Editora

Direitos para esta edição cedidos à Atena Editora pelos autores.



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição *Creative Commons*. Atribuição 4.0 Internacional (CC BY 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores, inclusive não representam necessariamente a posição oficial da Atena Editora. Permitido o *download* da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

A Atena Editora não se responsabiliza por eventuais mudanças ocorridas nos endereços convencionais ou eletrônicos citados nesta obra.

Todos os manuscritos foram previamente submetidos à avaliação cega pelos pares, membros do Conselho Editorial desta Editora, tendo sido aprovados para a publicação.

**Conselho Editorial****Ciências Humanas e Sociais Aplicadas**

Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso

Prof. Dr. Américo Junior Nunes da Silva – Universidade do Estado da Bahia

Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof. Dr. Antonio Gasparetto Júnior – Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais

Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília

Prof. Dr. Carlos Antonio de Souza Moraes – Universidade Federal Fluminense

Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa

Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia  
Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Farias – Universidade Estácio de Sá  
Prof. Dr. Elson Ferreira Costa – Universidade do Estado do Pará  
Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima  
Prof. Dr. Gustavo Henrique Cepolini Ferreira – Universidade Estadual de Montes Claros  
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionale delle Figlie de Maria Ausiliatrice  
Prof. Dr. Jadson Correia de Oliveira – Universidade Católica do Salvador  
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense  
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins  
Prof. Dr. Luis Ricardo Fernandes da Costa – Universidade Estadual de Montes Claros  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Pontifícia Universidade Católica de Campinas  
Profª Drª Maria Luzia da Silva Santana – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador  
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande  
Prof. Dr. William Cleber Domingues Silva – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

#### **Ciências Agrárias e Multidisciplinar**

Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano  
Profª Drª Carla Cristina Bauermann Brasil – Universidade Federal de Santa Maria  
Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás  
Prof. Dr. Cleberton Correia Santos – Universidade Federal da Grande Dourados  
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná  
Profª Drª Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia  
Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa  
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Fágner Cavalcante Patrocínio dos Santos – Universidade Federal do Ceará  
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Prof. Dr. Jael Soares Batista – Universidade Federal Rural do Semi-Árido  
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Profª Drª Lina Raquel Santos Araújo – Universidade Estadual do Ceará  
Prof. Dr. Pedro Manuel Villa – Universidade Federal de Viçosa  
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão  
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará  
Profª Drª Talita de Santos Matos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Prof. Dr. Tiago da Silva Teófilo – Universidade Federal Rural do Semi-Árido  
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

#### **Ciências Biológicas e da Saúde**

Prof. Dr. André Ribeiro da Silva – Universidade de Brasília  
Profª Drª Anelise Levay Murari – Universidade Federal de Pelotas  
Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás  
Prof. Dr. Douglas Siqueira de Almeida Chaves -Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro



Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri  
 Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Eleuza Rodrigues Machado – Faculdade Anhanguera de Brasília  
 Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina  
 Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Eysler Gonçalves Maia Brasil – Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira  
 Prof. Dr. Ferlando Lima Santos – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
 Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Gabriela Vieira do Amaral – Universidade de Vassouras  
 Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria  
 Prof. Dr. Helio Franklin Rodrigues de Almeida – Universidade Federal de Rondônia  
 Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Iara Lúcia Tescarollo – Universidade São Francisco  
 Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos – Universidade Federal de Campina Grande  
 Prof. Dr. Jesus Rodrigues Lemos – Universidade Federal do Piauí  
 Prof. Dr. Jônatas de França Barros – Universidade Federal do Rio Grande do Norte  
 Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
 Prof. Dr. Luís Paulo Souza e Souza – Universidade Federal do Amazonas  
 Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande  
 Prof. Dr. Marcus Fernando da Silva Praxedes – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
 Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Mylena Andréa Oliveira Torres – Universidade Ceuma  
 Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
 Prof. Dr. Paulo Inada – Universidade Estadual de Maringá  
 Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Regiane Luz Carvalho – Centro Universitário das Faculdades Associadas de Ensino  
 Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Renata Mendes de Freitas – Universidade Federal de Juiz de Fora  
 Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
 Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

#### **Ciências Exatas e da Terra e Engenharias**

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto  
 Prof. Dr. Alexandre Leite dos Santos Silva – Universidade Federal do Piauí  
 Prof. Dr. Carlos Eduardo Sanches de Andrade – Universidade Federal de Goiás  
 Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná  
 Prof. Dr. Douglas Gonçalves da Silva – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia  
 Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
 Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará  
 Prof<sup>a</sup> Dra. Jéssica Verger Nardeli – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho  
 Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande  
 Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Luciana do Nascimento Mendes – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte  
 Prof. Dr. Marcelo Marques – Universidade Estadual de Maringá  
 Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba  
 Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
 Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

#### **Linguística, Letras e Artes**

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins  
 Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Angeli Rose do Nascimento – Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro  
 Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Carolina Fernandes da Silva Mandaji – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
 Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Denise Rocha – Universidade Federal do Ceará

Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões  
 Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná  
 Profª Drª Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso  
 Profª Drª Miranilde Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará  
 Profª Drª Sandra Regina Gardacho Pietrobon – Universidade Estadual do Centro-Oeste  
 Profª Drª Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia

#### **Conselho Técnico Científico**

Prof. Me. Abrãao Carvalho Nogueira – Universidade Federal do Espírito Santo  
 Prof. Me. Adalberto Zorzo – Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza  
 Prof. Me. Adalto Moreira Braz – Universidade Federal de Goiás  
 Prof. Dr. Adaylson Wagner Sousa de Vasconcelos – Ordem dos Advogados do Brasil/Seccional Paraíba  
 Prof. Dr. Adilson Tadeu Basquerote Silva – Universidade para o Desenvolvimento do Alto Vale do Itajaí  
 Prof. Me. Alexsandro Teixeira Ribeiro – Centro Universitário Internacional  
 Prof. Me. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão  
 Profª Ma. Anne Karynne da Silva Barbosa – Universidade Federal do Maranhão  
 Profª Drª Andreza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico  
 Profª Drª Andrezza Miguel da Silva – Faculdade da Amazônia  
 Prof. Dr. Antonio Hot Pereira de Faria – Polícia Militar de Minas Gerais  
 Prof. Me. Armando Dias Duarte – Universidade Federal de Pernambuco  
 Profª Ma. Bianca Camargo Martins – UniCesumar  
 Profª Ma. Carolina Shimomura Nanya – Universidade Federal de São Carlos  
 Prof. Me. Carlos Antônio dos Santos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
 Prof. Ma. Cláudia de Araújo Marques – Faculdade de Música do Espírito Santo  
 Profª Drª Cláudia Taís Siqueira Cagliari – Centro Universitário Dinâmica das Cataratas  
 Prof. Me. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará  
 Profª Ma. Daniela da Silva Rodrigues – Universidade de Brasília  
 Profª Ma. Daniela Remião de Macedo – Universidade de Lisboa  
 Profª Ma. Dayane de Melo Barros – Universidade Federal de Pernambuco  
 Prof. Me. Douglas Santos Mezacas – Universidade Estadual de Goiás  
 Prof. Me. Edevaldo de Castro Monteiro – Embrapa Agrobiologia  
 Prof. Me. Eduardo Gomes de Oliveira – Faculdades Unificadas Doctum de Cataguases  
 Prof. Me. Eduardo Henrique Ferreira – Faculdade Pitágoras de Londrina  
 Prof. Dr. Edwaldo Costa – Marinha do Brasil  
 Prof. Me. Eliel Constantino da Silva – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita  
 Prof. Me. Ernane Rosa Martins – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás  
 Prof. Me. Euvaldo de Sousa Costa Junior – Prefeitura Municipal de São João do Piauí  
 Profª Ma. Fabiana Coelho Couto Rocha Corrêa – Centro Universitário Estácio Juiz de Fora  
 Prof. Dr. Fabiano Lemos Pereira – Prefeitura Municipal de Macaé  
 Prof. Me. Felipe da Costa Negrão – Universidade Federal do Amazonas  
 Profª Drª Germana Ponce de Leon Ramírez – Centro Universitário Adventista de São Paulo  
 Prof. Me. Gevair Campos – Instituto Mineiro de Agropecuária  
 Prof. Dr. Guilherme Renato Gomes – Universidade Norte do Paraná  
 Prof. Me. Gustavo Krahel – Universidade do Oeste de Santa Catarina  
 Prof. Me. Helton Rangel Coutinho Junior – Tribunal de Justiça do Estado do Rio de Janeiro  
 Profª Ma. Isabelle Cerqueira Sousa – Universidade de Fortaleza

Profª Ma. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia  
 Prof. Me. Javier Antonio Albornoz – University of Miami and Miami Dade College  
 Prof. Me. Jhonatan da Silva Lima – Universidade Federal do Pará  
 Prof. Dr. José Carlos da Silva Mendes – Instituto de Psicologia Cognitiva, Desenvolvimento Humano e Social  
 Prof. Me. Jose Elyton Batista dos Santos – Universidade Federal de Sergipe  
 Prof. Me. José Luiz Leonardo de Araujo Pimenta – Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria Uruguay  
 Prof. Me. José Messias Ribeiro Júnior – Instituto Federal de Educação Tecnológica de Pernambuco  
 Profª Drª Juliana Santana de Curcio – Universidade Federal de Goiás  
 Profª Ma. Juliana Thaisa Rodrigues Pacheco – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
 Profª Drª Kamilly Souza do Vale – Núcleo de Pesquisas Fenomenológicas/UFGA  
 Prof. Dr. Kárpio Márcio de Siqueira – Universidade do Estado da Bahia  
 Profª Drª Karina de Araújo Dias – Prefeitura Municipal de Florianópolis  
 Prof. Dr. Lázaro Castro Silva Nascimento – Laboratório de Fenomenologia & Subjetividade/UFRP  
 Prof. Me. Leonardo Tullio – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
 Profª Ma. Lilian Coelho de Freitas – Instituto Federal do Pará  
 Profª Ma. Liliani Aparecida Sereno Fontes de Medeiros – Consórcio CEDERJ  
 Profª Drª Lívia do Carmo Silva – Universidade Federal de Goiás  
 Prof. Me. Lucio Marques Vieira Souza – Secretaria de Estado da Educação, do Esporte e da Cultura de Sergipe  
 Prof. Me. Luis Henrique Almeida Castro – Universidade Federal da Grande Dourados  
 Prof. Dr. Luan Vinicius Bernardelli – Universidade Estadual do Paraná  
 Prof. Dr. Michel da Costa – Universidade Metropolitana de Santos  
 Prof. Dr. Marcelo Máximo Purificação – Fundação Integrada Municipal de Ensino Superior  
 Prof. Me. Marcos Aurelio Alves e Silva – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo  
 Profª Ma. Maria Elanny Damasceno Silva – Universidade Federal do Ceará  
 Profª Ma. Marileila Marques Toledo – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri  
 Prof. Me. Ricardo Sérgio da Silva – Universidade Federal de Pernambuco  
 Prof. Me. Rafael Henrique Silva – Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados  
 Profª Ma. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal  
 Prof. Me. Sebastião André Barbosa Junior – Universidade Federal Rural de Pernambuco  
 Profª Ma. Silene Ribeiro Miranda Barbosa – Consultoria Brasileira de Ensino, Pesquisa e Extensão  
 Profª Ma. Solange Aparecida de Souza Monteiro – Instituto Federal de São Paulo  
 Prof. Me. Tallys Newton Fernandes de Matos – Faculdade Regional Jaguaribana  
 Profª Ma. Thatianny Jasmine Castro Martins de Carvalho – Universidade Federal do Piauí  
 Prof. Me. Tiago Silvio Dedoné – Colégio ECEL Positivo  
 Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista



## Inovação e pluralidade na medicina veterinária

3

**Editora Chefe:** Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira  
**Bibliotecário** Maurício Amormino Júnior  
**Diagramação:** Maria Alice Pinheiro  
**Edição de Arte:** Luiza Alves Batista  
**Revisão:** Os Autores  
**Organizadores:** Alécio Matos Pereira  
Sara Silva Reis  
Wesklen Marcelo Rocha Pereira

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)	
I58	<p>Inovação e pluralidade na medicina veterinária 3 [recurso eletrônico] / Organizadores Alécio Matos Pereira, Sara Silva Reis, Wesklen Marcelo Rocha Pereira. – Ponta Grossa, PR: Atena, 2020.</p> <p>Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader. Modo de acesso: World Wide Web. Inclui bibliografia ISBN 978-65-5706-284-5 DOI 10.22533/at.ed.845201108</p> <p>1. Medicina veterinária – Pesquisa – Brasil. I. Pereira, Alécio Matos. II. Reis, Sara Silva. III. Pereira, Wesklen Marcelo Rocha. CDD 636.089</p>
Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422	

**Atena Editora**

Ponta Grossa – Paraná – Brasil

Telefone: +55 (42) 3323-5493

[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)

contato@atenaeditora.com.br

## APRESENTAÇÃO

A diversidade das áreas de conhecimento favorece ao leitor o melhor entendimento dos mais variados assuntos na atualidade relacionados a ciência animal e suas particularidades.

O livro abrange diversos temas importantes relacionados a saúde animal e humana, reprodução animal, sanidade. Sendo divididos em volume II composto por 16 capítulos e volume III com 17 capítulos. Nestes foram descritos relatos, experimentos e revisões no âmbito nacional e internacional. Que contém informações concisas que proporcionaram ao leitor uma visão clara e completa de todo conteúdo abordado.

No volume II e III, são abordados assuntos como a ocorrência de parasitas em pescados, anestesia em pacientes cardiopatas, deficiência de cobre e zinco em pequenos ruminantes, medicina, epidemiologia, forragicultura, equideocultura, áreas da medicina veterinária e zootecnia.

O ambiente aquático se torna propício para o surgimento de várias doenças parasitárias. Estes podem gerar riscos à saúde animal e na população humana consumidora de pescados.

A (MDM) Associação Médicos do Mundo *World Doctors*, é uma iniciativa privada e filantrópica que tem como objetivo promover atendimento humanitário a pessoas e animais em situação de vulnerabilidade social, fornecendo atendimento médico e social.

Na produção de volumosos a estacionalidade é um fator recorrente em vários sistemas de produção animal. Principalmente na região Nordeste, que apresenta irregularidade das chuvas ao longo do ano e pode haver períodos de estiagem. E para amenizar as perdas produtivas é a utilização das técnicas de conservação de forragem, que favorece na disponibilidade de alimento durante todo o ano.

Deste modo, a diversidade de assuntos abordados nos volumes II e III apresentam capítulos com pesquisas, relatos, objetivos e resultados, desenvolvidos por diferentes pesquisadores, professores e estudantes de pós-graduação. Como uma maneira de evidenciar a pesquisa científica como uma fonte importante para auxiliar na atualização de estudantes e profissionais.

Alécio Matos Pereira

Sara Silva Reis

Wesklen Marcelo Rocha Pereira

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1 .....</b>	<b>1</b>
HEMANGIOSSARCOMA DE MEMBRANA NICTITANTE EM CÃO: RELATO DE CASO	
Jerlan Afonso da Costa Barros	
Warley Gomes dos Santos	
Patrícia Maria Coletto Freitas	
<b>DOI 10.22533/at.ed.8452011081</b>	
<b>CAPÍTULO 2 .....</b>	<b>10</b>
MÉDICOS DO MUNDO: UM INVESTIMENTO MULTIPROFISSIONAL INTEGRADO QUE PROMOVE A SAÚDE ÚNICA	
Stefanie Sussai	
Juliana de Carvalho	
André Stroebe de Gerone	
Thaís Andrade dos Santos	
Edmara Aparecida Reis Martins	
Mário Vicente Campos Guimarães	
<b>DOI 10.22533/at.ed.8452011082</b>	
<b>CAPÍTULO 3 .....</b>	<b>19</b>
PANORAMA EPIDEMIOLÓGICO DE ACIDENTES ESCORPIÔNICOS EM COLATINA-ES	
Rômulo Balbio de Melo	
Gabriel Borges Coelho	
Jonathas Barbosa Ribeiro	
Wagner Pereira dos Santos Junior	
Vivian Andrade Gundim	
João Pedro Neves Pessoa	
Carlos Vitorio de Oliveira	
<b>DOI 10.22533/at.ed.8452011083</b>	
<b>CAPÍTULO 4 .....</b>	<b>30</b>
PRODUÇÃO DE SILAGEM DE QUALIDADE- RELATO DE EXPERIÊNCIA	
Lohanna Lima Gomes	
Naiara Macedo Fragoso	
Sabrina de Oliveira Pequiar	
Cláudio Henrique Almeida de Oliveira	
<b>DOI 10.22533/at.ed.8452011084</b>	
<b>CAPÍTULO 5 .....</b>	<b>35</b>
RELATO DE CASO: PNEUMONIA ASPIRATIVA EM CÃO ASSOCIADO A FISILOGIA	
Lohanna Lima Gomes	
Carlos Eduardo Azevedo Souza	
<b>DOI 10.22533/at.ed.8452011085</b>	
<b>CAPÍTULO 6 .....</b>	<b>41</b>
RELATO DE EXPERIÊNCIA NA ATIVIDADE DE MONITORIA DA DISCIPLINA DE SEMIOLOGIA VETERINÁRIA	
Ana Carolina Barbosa Tórmena	
Klaus Casaro Saturnino	
Dirceu Guilherme de Souza Ramos	
Fábio Fernandes Bruno Filho	
Wanessa Ferreira Ataíde	



Rafaela Assis Oliveira  
Eric Arantes da Silva  
Rafaela Barcelos Barbosa Pinto  
Ana Claudia Carvalho da Silva  
Lucas Reis Vieira  
Sheyla Lauriane Cruz Jales  
Maria Angélica Silva Rodrigues Ferreira

**DOI 10.22533/at.ed.8452011086**

**CAPÍTULO 7 .....46**

RESÍDUOS DE MEDICAMENTOS EM ALIMENTOS DE ORIGEM ANIMAL

Isabella Pissinati Marzolla  
Jessica Lucilene Cantarini Buchini  
Giovanna Caroline Galo Martins  
Angélica Rodrigues de Amorim  
Suellen Túlio Córdova Gobetti  
Wilmar Sachetin Marçal

**DOI 10.22533/at.ed.8452011087**

**CAPÍTULO 8 .....50**

TESTES PARA DETECÇÃO DE INSUFICIÊNCIA RENAL EM CÃES

Iana Vilela Resende  
Karla Irigaray Nogueira Borges  
Ísis Assis Braga

**DOI 10.22533/at.ed.8452011088**

**CAPÍTULO 9 .....56**

USO DA PROGESTERONA INJETÁVEL NA INDUÇÃO DA CICLICIDADE EM NOVILHAS PRÉ-PÚBERES:  
TAXA DE PRENHEZ À IATF

Getúlio José Milhoreto da Silveira  
Marcelo Salbego Fernandes  
Gilson Antônio Pessoa  
Ana Paula Martini  
Bruna Martins Guerreiro  
Bruno Gonzalez de Freitas

**DOI 10.22533/at.ed.8452011089**

**CAPÍTULO 10 .....65**

UTILIZAÇÃO DE PROGESTERONA EM RECEPTORAS DE EMBRIÕES EQUINOS

Rodrigo Alves Monteiro

**DOI 10.22533/at.ed.84520110810**

**CAPÍTULO 11 .....76**

VIABILIDADE DE ESPERMATOZOIDES CRIOPRESERVADOS UTILIZANDO DILUIDORES NÃO  
ESPECÍFICOS DE SÊMEN DE *CANIS LUPUS FAMILIARIS*

Jéssica Fernanda Fonseca Machado  
Douglas de Carvalho Soares  
Paulo Henrique de Almeida Campos Junior

**DOI 10.22533/at.ed.84520110811**

**CAPÍTULO 12 .....86**

PERFIL HORMONAL DE ÉGUA COM TUMOR DAS CÉLULAS DA GRANULOSA-TECA

Carla Fredrichsen Moya  
Márcio Teoro do Carmo

**CAPÍTULO 13 ..... 92**

**EFFECT OF THE ADDITION OF L-CARNITINE AND PYRUVATE ON BOAR SEMEN CRYOPRESERVATION**

Mariana Caldevilla  
Alejandro Ferrante  
Carlos Pendola  
Maria Florencia Gallelli  
Maria Veiga  
Marcelo Miragaya

**DOI 10.22533/at.ed.84520110813**

**CAPÍTULO 14 ..... 105**

**ENTRÓPIO EM CÃO – RELATO DE CASO**

Fábio Fernandes Bruno Filho  
Wanessa Ferreira Ataíde  
Kamylla Caroline Santos  
Ana Carolina Barbosa Tórmena  
Rafaela Assis Oliveira  
Anna Gabriela da Cruz Silva  
Jéssica de Lima Mendes  
Dirceu Guilherme de Souza Ramos  
Klaus Casaro Saturnino  
Andréia Vitor Couto do Amaral

**DOI 10.22533/at.ed.84520110814**

**CAPÍTULO 15 ..... 111**

**EVALUATION OF THE SEASON OF THE YEAR ON THE CONDITIONED SEXUAL BEHAVIOR IN RAMS**

Garza Camargo Daniela Monserrat  
Luna Blasio Arturo  
Vázquez-Chagoyán Juan Carlos  
Jorge Osorio Avalos

**DOI 10.22533/at.ed.84520110815**

**CAPÍTULO 16 ..... 118**

**EVOLUÇÃO DA UTILIZAÇÃO DE ESPERMATOZOIDES SEXADOS**

Vera Fernanda Martins Hossepian de Lima  
Ricardo Perecin Nociti

**DOI 10.22533/at.ed.84520110816**

**SOBRE OS ORGANIZADORES..... 145**

**ÍNDICE REMISSIVO ..... 146**

## HEMANGIOSSARCOMA DE MEMBRANA NICTITANTE EM CÃO: RELATO DE CASO

*Data de aceite: 01/08/2020*

*Data de submissão: 20/05/2020*

**Jerlan Afonso da Costa Barros**

Universidade Federal Rural da Amazônia

Belém - PA

<http://lattes.cnpq.br/7401331753689957>

**Warley Gomes dos Santos**

Centro Universitário Maurício de Nassau

Maceió - AL

<http://lattes.cnpq.br/1002129951984360>

**Patrícia Maria Coletto Freitas**

Universidade Federal de Minas Gerais

Belo Horizonte – MG

<http://lattes.cnpq.br/8244107385353375>

**RESUMO:** As massas neoplásicas são comuns nos cães, a maioria é benigna. Dentre os tumores malignos há o hemangiossarcoma. Predisposição racial, como Beagles, Huskies Siberianos e Setters Ingleses, e média de idade de 8 anos representam o risco maior de apresentar neoplasia palpebral. O hemangiossarcoma é uma neoplasia maligna que se origina nas células do endotélio vascular de vasos sanguíneos e ocorre mais frequentemente em cães do que em outras espécies. Pode se originar em qualquer lugar do corpo, as maiores

incidências são em baço, átrio direito, tecido subcutâneo e fígado, mas mais comumente, em vísceras. No entanto, neoplasias primárias da membrana nictitante de cães, especialmente de origem vascular, são raras. O presente trabalho relata o caso de um canino, da raça Pit Bull, macho, de 7 anos, que foi encaminhado com histórico de nódulo na porção medial do olho direito, com evolução de aproximadamente 40 dias. Ao exame oftálmico foi constatado secreção serosa no olho direito e presença de nódulo eritematoso na terceira pálpebra do mesmo olho. Diagnósticos diferenciais incluem hemangiossarcoma, carcinoma de células escamosas, linfossarcoma, melanoma amelanóticos e adenocarcinoma. A base do tratamento tem sido cirurgia, que, portanto, foi realizada com remoção de fragmento de terceira pálpebra contendo a massa, que estava negro e macio, junto com ele foi removido fragmento de pálpebra inferior com aparência esbranquiçada e focos negros. O exame histopatológico foi necessário para diagnóstico definitivo, o qual, considerando as características anatomopatológicas, foi constatado o diagnóstico de hemangiossarcoma de membrana nictitante. Não foi realizado quimioterapia adjuvante pois o animal não retornou para avaliações posteriores de



necessidade.

**PALAVRAS-CHAVE:** Hemangiossarcoma; Neoplasia; Nódulo; Pálpebra; Endotélio.

## HEMANGIOSARCOMA OF NICTITATING MEMBRANE IN DOG: CASE REPORT

**ABSTRACT:** Neoplastic masses are common in dogs, most are benign. Among the malignant tumors is the hemangiosarcoma. Racial predisposition such as Beagles, Siberian Huskies and English Setters, and an average age of 8 years represent the highest risk of presenting palpebral neoplasia. The hemangiosarcoma is a malignant neoplasia that originates in the cells of vascular endothelium of blood vessels and occurs more frequently in dogs than in other species. It can originate in any place of the body, the most incidences are in spleen, right atrium, subcutaneous tissue and liver, but more commonly, in viscera. However, primary neoplasms of the nictitating membrane on dogs, especially of vascular origin, are rare. The present work reports the case of a canine, of the Pit Bull breed, male, of 7 years old, that was referred with history of nodule in the medial portion of the right eye, with evolution of approximately 40 days. The ophthalmic examination revealed serous secretion in the right eye and the presence of an erythematous nodule in the third eyelid of the same eye. Differential diagnoses include hemangiosarcoma, squamous cell carcinoma, lymphosarcoma, amelanotic melanoma and adenocarcinoma. The basis of the treatment has been surgery, which, therefore, was performed with the removal of a third eyelid fragment containing the mass, which was black and soft, along with a lower eyelid fragment showing whitish-looking and black foci. The histopathological examination was necessary for a definitive diagnosis, which, considering the anatomopathological characteristics, was confirmed the diagnosis of hemangiosarcoma of nictitating membrane. Adjuvant chemotherapy was not performed because animal did not return for necessary subsequent evaluations.

**KEYWORDS:** Hemangiossarcoma; Neoplasia; Node; Eyelid; Endothelium.

## 1 | INTRODUÇÃO

Massas neoplásicas são comuns em cães, sendo que a maioria é benigna (adenomas sebáceos, melanomas benignos, histiocitomas, papilomas) e estão associados às glândulas meibomianas. O adenoma sebáceo (tarsal) é o tumor palpebral mais comum em cães, seu crescimento é rápido e, histologicamente, parecem malignos, mas são clinicamente benignos, embora menos comuns, com incidência de 10% a 25%. Os tumores palpebrais malignos incluem os carcinomas de células escamosas, adenocarcinomas, carcinomas de células basais, melanomas malignos, hemangiossarcomas ou fibrossarcomas. Beagles, Huskies Siberianos e Setters Ingleses parecem ter um risco maior de apresentar neoplasia palpebral, e média de idade de 8 anos (CAPLAN & YU-SPEIGHT, 2014).

O hemangiossarcoma, também conhecido como hemangioendotelioma maligno ou angiossarcoma, é uma neoplasia maligna que se origina nas células do endotélio vascular

de vasos sanguíneos, ocorre mais frequentemente em cães do que em outras espécies (FERNANDES & DE NARDI, 2016). Pode originar em qualquer lugar vascularizado do corpo, no entanto as maiores incidências primárias são: baço (50-60%), átrio direito (3-25%), tecido subcutâneo (13-17%) e fígado (BROWN, 1985), mas o mais comum é em vísceras (SCHULTHEISS, 2004). Há relatos de tumores primários em pulmão, pele, Aorta, Rins, cavidade oral, músculos, ossos, bexiga, intestinos, língua, próstata, vulva, vagina, conjuntiva e peritônio (BROWN; PATNAIK; MacEWEN, 1985). O primeiro caso de Hemangiosarcoma primário em córnea foi relatado em cão da raça Pastor Alemão (HAEUSSLER *et al.*, 2011) e em membrana nictitante em cão da raça Fila (LAUS *et al.*, 2008). No entanto, neoplasias primárias da membrana nictitante de cães, especialmente de origem vascular, são raras (LAUS *et al.*, 2008).

De modo geral, o comportamento biológico dessa neoplasia é altamente agressivo, com muitas formas anatômicas do tumor infiltrando e provocando metástases precocemente. As exceções são as formas primárias, cutâneas, conjuntivais e de terceira pálpebra, que possuem baixo potencial metastático (COUTO, 2015). Os cães são os mais acometidos pelo hemangiossarcoma. Quanto à raça, há maior ocorrência de casos em raças de grande porte, sendo o Pastor Alemão significativamente a mais acometida, Labrador Retriever, Golden Retriever e Italian Greyhound também apresentam incidência alta para este tipo de neoplasia. Predileção por sexo ainda é discutida, MacEwen (2001) e Schultheiss (2004) citaram haver incidência aparentemente maior em machos, enquanto Prymak (1988) não encontrou diferença significativa em sua pesquisa, embora tenha relatado maior incidência em fêmeas castradas quando comparadas com fêmeas intactas. O hemangiossarcoma é uma doença de animais adultos, cometendo principalmente indivíduos com idade variando entre oito e treze anos. Em cães, a doença representa 5% de todas as neoplasias malignas primárias e a neoplasia secundária mais comum na medula espinhal (LECOUTEUR & WITHROW, 2007).

Segundo Salvado (2010), o hemangiossarcoma faz parte das neoplasias cujo grau ou características histológicas permitem prever o seu comportamento biológico. Sua característica agressiva, com elevado índice de metástase, se deve à sua origem de células de vasos proporcionando, desta forma, rápida disseminação de células tumorais por via hematógena e por implantação transabdominal. O órgão mais acometido é o baço, entretanto, fígado, coração e pele são frequentemente sítios primários desta neoplasia. Quanto a metástase, os tecidos mais atingidos incluem fígado, omento, mesentério e pulmões.

Morfológicamente, podem ser bem definidos, com dilatação cavernosa de vasos sanguíneos e invasão local (MOULTON, 1990; MULTARI *et al.*, 2002), ou pouco circunscritos com tamanhos variados, não encapsulados, e frequentemente aderidos a órgãos adjacentes. Apresentam coloração cinza pálida a vermelho escuro em forma nodular e consistência mole. Sendo comuns áreas hemorrágicas e de necrose.

Segundo Moulton (1990), cães com hemangiosarcoma podem apresentar variados sinais clínicos dependendo da localização primária do tumor e lesões metastáticas. Não havendo lesões específicas dessa doença, os sinais podem ser: falhas cardíacas, devido à invasão do tumor no órgão ou por hemopericárdio; doenças respiratórias, associadas às lesões metastáticas e/ou causada por hemotórax e choque vascular, em casos de ruptura de baço com intensa hemorragia. Quando se localiza na pápebra, há relatos de corrimento ocular, escoriação periocular, conjuntivite, blefarite, ulcerações e regiões incrustadas ou hemorrágicas sobre a pálpebra, podendo ainda ocorrer alterações secundárias em córnea, como ceratite, ulcerações e alterações pigmentares (CAPLAN & YU-SPEIGHT, 2014).

Hemorragias intracavitárias ou hemólise microangiopática podem causar anemia regenerativa normocítica normocrômica caracterizada por policromasia, anisocitose, hipocromasia, reticulocitose e presença de hemácias nucleadas no sangue periférico. Ainda pode ser detectada leucocitose neutrofílica, porém a anemia é o achado hematológico mais comum. A trombocitopenia pode ser vista em 30% a 60% de cães com hemangiossarcoma. Além da incidência de 46,7% de Coagulação Intravascular Disseminada (CID) dos animais doentes, podendo haver hemorragias espontâneas (FERRAZ *et al.*, 2008).

A pele pode ser acometida como sítio primário ou metastático do hemangiossarcoma. Quando surgem na pele, são massas localizadas na epiderme ou subcutâneo, com uma aparente predileção pela pele abdominal ventral. São mais comumente observadas em Whippets, Pit bulls, Boxers e Dálmatas (PASTOR, 2002) e responsáveis por 3,3% de todas as neoplasias cutâneas (SOUZA *et al.*, 2006). Sua classificação pode ser de acordo com a profundidade de invasão dentro das estruturas cutâneas. O estágio I inclui os tumores limitados à epiderme; os tumores no estágio II estão localizados na hipoderme, com ou sem envolvimento da epiderme; e os tumores no estágio III invadem a musculatura subjacente (PAGE e THRALL, 2004).

Segundo Nikula *et al.* (1992); pode estar associada com exposição à luz ultravioleta, principalmente em indivíduos com pele menos pigmentadas ou com pelos mais rarefeitos, como por exemplo, Beagles, Bulldogs brancos e o Pointer Inglês. Outro fator envolvido no surgimento, e potencialização, de doenças crônicas como a ceratite superficial (*panus* oftálmico) inclui altitude elevada (RIBEIRO, 2015) e baixa umidade do ar (SLATTER *et al.*, 1977). Segundo De Nardi (2015), o diagnóstico é fundamentado na resenha, anamnese e exames físico e hematológico, achados radiográficos ou ultrassonográficos e paracentese quando indicada. O diagnóstico definitivo é realizado através de biópsia incisional ou excisional do tumor primário ou das lesões metastáticas.

Deve ser feito o diagnóstico diferencial de mastocitomas, melanomas, adenocarcinoma da glândula lacrimal da terceira pálpebra, plasmocitoma, adenite linfocítica superficial e protrusão da glândula da terceira pálpebra (FERREIRA *et al.*, 2016).

O prognóstico varia de desfavorável a bom, dependente da localização da neoplasia. Hemangiossarcomas como os atriais, ósseos e esplênicos apresentam prognóstico



desfavorável, nos casos dos cutâneos dependendo da invasão no tecido pode ser de reservado a bom. A quimioterapia como adjuvante aos procedimentos cirúrgicos é de grande importância para aumentar a média de sobrevida dos pacientes, no entanto, o tempo de sobrevida ainda é muito baixo (FERNANDES, 2016).

O estadiamento clínico permite estabelecer a extensão anatômica da neoplasia e o comprometimento do organismo pela invasão neoplásica. Por meio de uma escala determina-se o grau de acometimento do paciente, o que permite melhores condições para estabelecer plano terapêutico adequado e prognóstico. Em medicina veterinária o sistema utilizado é o proposto pela Organização Mundial da Saúde (OMS), chamado de classificação TNM (T: Tamanho do tumor; N: Infiltração em linfonodos regionais; M: Metástase a distância) em animais domésticos. Eritrograma, leucograma e contagem de plaquetas devem ser solicitados (RODRIGUES & LUCAS, 2017). Durante a remoção, é importante a excisão completa de tecidos acometidos. Com remoção das margens de segurança, variando de dois a três centímetros em todos os sentidos ao redor do tumor (MACEWEN, 2001).

A quimioterapia é um importante adjuvante para a cirurgia, contribuindo contra o caráter altamente metastático do tumor. Alguns Protocolos são baseados no uso de doxorrubicina, sozinha ou em associação a outros medicamentos quimioterápicos, como vincristina, prednisona, ciclofosfamida e metotrexato, são os mais utilizados (MACEWEN, 2001). Entre eles, o Protocolo VAC utiliza doxorrubicina com vincristina e ciclofosfamida. A literatura relata sobrevida média de 172 dias para cães tratados com o protocolo VAC após cirurgia, e de 19 a 65 dias para pacientes tratados apenas com cirurgia (HAMMER *et al.*, 1991).

Imunoterapia também pode ser realizada como adjuvante da terapia. Segundo Vail *et al.* (1995) a associação de cirurgia, quimioterapia e imunoterapia com muramil tripeptídeo fosfatidiletanolamina encapsulada em lipossomo (L-MTP-PE), apresentou aumento na média de 162 a 425 dias na sobrevida dos pacientes a depender do estágio do hemangiossarcoma.

Segundo Morris & Dobson (2001), a radiação externa do feixe é raramente usada no tratamento de tumores periorbitais por causa dos efeitos prejudiciais da radiação nos tecidos do olho. A braquiterapia oferece uma abordagem mais localizada de radioterapia que pode ter um papel no manejo de carcinomas periorbitais, contudo, técnicas de implantação não são amplamente utilizadas em pequenos animais devido à falta de instalações especializadas de contenção.

Neste relato de caso, os autores apresentam um hemangiossarcoma da membrana nictitante afetando um cão macho brasileiro Pit bull.

## 2 | DESCRIÇÃO DO CASO

Um cão da raça Pit bull, macho de 7 anos foi encaminhado com o relato de nódulo na porção medial do olho direito, com início do desenvolvimento há, aproximadamente, 40 dias. Ao exame oftálmico, foi constatada secreção serosa em olho direito e nódulo eritematoso na terceira pálpebra do mesmo olho.

Segundo Laus *et al.* (2008), possíveis diagnósticos diferenciais para a massa na terceira pálpebra podem ser hemangiossarcoma, carcinoma de células escamosas, linfossarcoma, melanoma amelanóticos e adenocarcinoma. Da mesma forma, a localização do tumor também fez carcinoma de células escamosas um diferencial adequado. Além de linfossarcoma, que também foi documentado em terceira pálpebra de cães. Hemangiossarcoma pode ser uma consideração forte por causa da friabilidade do tecido e secreção ocular serosa. Segundo Couto (2015), a base do tratamento de cães, historicamente, tem sido a cirurgia, embora os resultados tenham sido pobres. O tempo de sobrevivência varia com a localização e estadiamento do tumor, mas, no geral, com exceção dos hemangiossarcomas dermais, conjuntivais e de terceira pálpebra, é muito curto.

O exame histopatológico foi necessário para uma definitiva diagnóstico e discussão depois com os tutores, a excisão cirúrgica da terceira pálpebra do olho direito e excisão da massa na superfície palpebral inferior foi planejado.

### 2.1 Procedimento cirúrgico

O animal foi sedado com Acepromazina e Meperidina, para então ter a indução anestésica com Propofol e manutenção durante todo o procedimento com o mesmo. Em decúbito lateral, foi realizado a exérese de nódulo (E -49 e D-7), onde o fragmento de terceira pálpebra contendo a massa foi removida cirurgicamente, medindo 0,7x 0,5x 0,5cm. O fragmento era negro e macio. Junto a ele, foi removido fragmento de pálpebra inferior, de aparência esbranquiçado e com focos negros. Ambos foram fixados em Formalina a 10% e submetidos a exame histopatológico.

O pós-operatório foi tranquilo e o animal teve alta no dia seguinte. Indicação de aplicação de pomada Epitezan duas vezes ao dia, por 3 a 4 dias. Houve retorno do animal em sete dias para retirada dos pontos e discussão do resultado do exame histopatológico. O animal retornou apenas uma vez e não se obteve mais contato posteriormente, por conta disso houve falta de acompanhamento.

### 2.2 Exame histopatológico

Avaliação histopatológica do fragmento de membrana nictitante direito foi caracterizada por proliferação neoplásica de células mesenquimais, não encapsulada, não delimitada e de crescimento infiltrativo. As células formam canais vasculares revestidos por células endoteliais pobremente diferenciadas e preenchidos por sangue. As células

possuem núcleos ovais, cromatina frouxa, nucléolos únicos proeminentes e citoplasma fusiforme com limites imprecisos. O pleomorfismo celular e nuclear é discreto e o índice mitótico é baixo. Houve área focalmente extensa de ulceração de epitélio associada a necrose e acúmulo de fibrina. Enquanto o fragmento de pálpebra inferior foi perdido durante o processamento histológico.

### 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Segundo Wilcock (2013), o hemangioma e o hemangiossarcoma são neoplasias vasculares endoteliais que surgem no interior da lâmina própria conjuntival da borda lateral da terceira pálpebra, e na conjuntiva bulbar lateral dos cães. Os tumores bem circunscritos e com epitélio delicado são classificados como hemangiomas, já aqueles formados por endotélio hipercromático com pelo menos moderada anisocariose e invasão periférica (como observado no crescimento infiltrativo do fragmento avaliado) são classificados como hemangiossarcoma.

Ainda segundo Wilcock (2013), existe uma sequência contínua na aparência histológica do hemangioma até o hemangiossarcoma, logo, muitos são intermediários ou apresentam sequência contínua de lesões que variam de benigna a maligna dentro de um mesmo tumor. A distinção é realizada com base primariamente no grau de invasão periférica. Ao menos nos cães (espécie mais acometida) a distinção não apresenta significância no comportamento, já que quase todos são benignos e cirurgicamente curáveis conforme manobra adotada no caso.

Segundo Werner & Werner (2016), o termo diferenciação refere-se ao grau de semelhança morfológica e, em menor grau, à semelhança funcional entre as células neoplásicas e o tecido normal que lhes deu origem. Por outro lado, em uma neoplasia indiferenciada as células e tecidos não mantêm as características morfológicas normais, fazendo com que seja difícil o reconhecimento de sua origem. Uma neoplasia indiferenciada também é dita anaplásica, pois anaplasia é um sinal importante de indiferenciação e malignidade, e, geralmente, o grau de indiferenciação coincide com o grau de malignidade da neoplasia. A amostra avaliada indicou carência no grau de diferenciação celular, o que corrobora assim para o diagnóstico de malignidade.

Ainda segundo Werner & Werner (2016), pleomorfismo indica excessiva variação de forma e tamanho dos núcleos e das próprias células, também denominado anisocariose ou anisocitose. Em tecidos normais, e conseqüentemente, nas neoplasias benignas ou nas malignas mais diferenciadas, os núcleos tendem a ter formas e tamanhos relativamente constantes, o que, portanto, não acontece nas neoplasias mais indiferenciadas. Indicando assim também a malignidade da neoplasia, mais uma característica observada na amostra.

## 4 | CONCLUSÃO

O diagnóstico foi conclusivo para hemangiossarcoma conforme características morfológicas observadas e caracterizadas na literatura. Apesar do tumor de natureza localizada o animal devia ter sido reavaliado quanto à necessidade de quimioterapia adjuvante, pelo caráter sistêmico que o referido neoplasma possui, porém, o animal não retornou após retirada dos pontos e discussão do resultado histopatológico, comprometendo assim o adequado acompanhamento e monitoramento do caso.

## REFERÊNCIAS

- BROWN, N; PATNAIK, A.; MacEWEN, E.G. **Canine hemangiosarcoma: retrospective analysis of 104 cases**. Journal of the American Veterinary Medical Association, v. 186, p. 56-58, 1985.
- CAPLAN, E. R.; YU-SPEIGHT, A. CIRURGIA DO OLHO. In FOSSUM, T.W.; DEWEY, C. W.; HORN, C. V.; JOHNSON, A. L.; MACPHAIL, C. M.; RADLINSKY, M. G.; SCHULZ, K. S.; WILLARD, M.D. **Cirurgia de Pequenos Animais**. 4 ed., p. 320-321. Rio de Janeiro: Elsevier. 2014.
- COUTO, C. G. Neoplasias selecionadas em cães e gatos. In NELSON, R. W.; COUTO, C. G. **Medicina interna de pequenos animais**. 5 ed., p. 2135-2137. Rio de Janeiro: Elsevier. 2015.
- DE NARDI, A. B. Oncologia. In CRIVELLENTI, L. Z.; CRIVELLENTI, S. B. **Casos de rotina em medicina veterinária de pequenos animais**. 2 ed, p. 732. São Paulo: Editora MedVet, 2015.
- FERREIRA, F. M.; FORNAZARI, G. A.; PERIMANN, E.; MOURA, C. M. C. Neoplasias oculares. In DALECK, C. R.; DE NARDI, A. B. **Oncologia em Cães e Gatos**. 2 ed., p. 549-551. Rio de Janeiro: Roca. 2016.
- FERNANDES, S. C.; DE NARDI, A. B. Hemangiossarcomas. In DALECK, C. R.; DE NARDI, A. B. **Oncologia em Cães e Gatos**. 2 ed., p. 776-780. Rio de Janeiro: Roca. 2016.
- FERRAZ, J. R. S.; ROZA, M. R.; CAETANO JÚNIOR, J.; COSTA, A. C. **Hemangiossarcoma canino: revisão de literatura**. JBCA – Jornal Brasileiro de Ciência Animal. v. 1, n. 1, p. 35-48. 2008.
- HAEUSSLER JÚNIOR, D.J.; RODRIGUES, L.M., WILKIE, D.A E PREMANANDAN, C. **Primary central corneal hemangiosarcoma in a dog**. Veterinary Ophthalmology. V. 14, n. 2, p. 133–136, 2011.
- HAMMER, A.S.; COUTO, C.G.; FILPPI, J.; GETZY, D.; SHANK, K. Efficacy and toxicity of VAC chemotherapy (vincristine, doxorubicin and cyclophosphamide) in dogs with hemangiosarcoma. **J Vet Intern Med**, v. 5, n. 3, p. 160-166, 1991.
- LAUS, J.L.; ORTIZ, J.P.D.; BRITO, F.L.C.; LISBÃO, C.B.S.; SILVA JÚNIOR, V.A.; MAIA, F.C.L. **Hemangiosarcoma of the nictitant membrane in a Brazilian Fila dog: case report**. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. v. 60, n. 6, p.1. 2008.
- LECOUTEUR, R.A. & WITHROW, S.J. Tumors of the nervous system. In VAIL, D.M.; WITHROW, S.J. **Withrow and Macewen's small animal clinical oncology**. 4 ed., p. 659-680. Missouri: Saunders Elsevier, 2007.
- MACEWEN, E.G. Miscellaneous Tumors. In: WITHROW S. J.; MACEWEN E.G. **Small animal clinical oncology**. 3 ed., p. 639-646. Philadelphia: WB Saunders, 2001.
- MORRIS, J.; DOBSON, J. M. The eye and orbit. In MORRIS, J.; DOBSON, J. M. **Small animal oncology**. 1

ed., p. 252-261. New Jersey: Blackwell Science, 2001.

MOULTON, J.E. **Tumors in domestic animals**. 3 ed., p. 35-87. California: University of California, 1990.

MULTARI, D.; VASCELLARI, M.; MUTINELLI, F. Hemangiossarcoma of the third Eyelid in eyelid in a cat. **Vet. Ophthalmol.**, v.5, p.273-276, 2002.

NIKULA, K. J.; BENJAMIN, S. A.; ANGLETON, G. M. *et al.* Ultraviolet radiation, solar dermatitis, and cutaneous neoplasia in beagle dogs. **Radiation Research**. v.129, p. 11-18, 1992.

PAGE, R. L.; THRALL, D. E. Sarcomas de tecidos moles e hemangiossarcomas. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E.C. **Tratado de medicina interna veterinária**. 5 ed., p.561-566. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

PASTOR, J. Canine hemangiossarcoma Clinical Update. **27 WSAVA- World Small Animal Veterinary Association Congress, Granada, 2002**. <http://www.vin.com/proceedings/Proceedings.plx?CID=WSAVA2002&PID=2639>. Site acessado dia 15 de abril de 2020, às 19:01.

PRYMAK, C.; McKEE, L. J.; GOLDSCHMIDT, M. H.; GLICKMAN, L. T. Epidemiologic, clinical, pathologic, and prognostic characteristics of splenic hemangiossarcoma and splenic hematoma in dogs: 217 cases (1985). **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v. 193, n. 6, p. 706-712. 1988.

RIBEIRO, A. P. Oftalmologia. In CRIVELLENTI, L. Z.; CRIVELLENTI, S. B. **Casos de rotina em medicina veterinária de pequenos animais**. 2 ed, p. 689. São Paulo: Editora MedVet, 2015.

RODRIGUES, L. C. S.; LUCAS, S. R. R. Avaliação clínica do paciente oncológico. In JERICO, M. M.; KOGIKA, M. M.; ANDRADE NETO, J. P. **Tratado de medicina interna de cães e gatos**. 1 ed., p. 502-503. Rio de Janeiro: Roca, 2017.

SALVADO, I.S.S. Estudo retrospectivo das neoplasias em canídeos e felídeos domésticos, analisadas pelo laboratório de anatomia patológica da faculdade de medicina veterinária da universidade técnica de lisboa, no período compreendido entre 2000 e 2009. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Técnica de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa, 2010.

SCHULTHEISS, P. C. **A retrospective study of visceral and nonvisceral hemangiossarcoma and hemangiomas in domestic animals**. Journal Veterinary Investigation, v. 16, p. 522-526, 2004.

SLATTER, D. H.; LAVACH, J. D.; SEVERIN, G. A. *et al.* Ueberreiter's syndrome (chronic superficial keratitis) in dogs in the Rocky Mountain area. **The Journal of small animal practice**. v. 18, p. 757-772, 1977.

SOUZA, T. M. de; FIGHERA, R. A.; IRIGOYEN, L. F.; BARROS, C. S. Estudo retrospectivo de 761 tumores cutâneos em cão. **Ciência Rural, Santa Maria**, v. 36, n.2, p.555-560, 2006.

VAIL, D. M.; MACEWEN, E. G.; KURZMAN, I. D. *et al.* Liposome-encapsuled muramyl tripeptide phosphatidylethanol amine adjuvant immunotherapy for splenic hemangiossarcoma in the dog: a randomized multi-institutional clinical trial. **Clin. Cancer. Res.**, v. 1, n. 10, p. 1165-1170, 1995.

WILCOCK, B. P. Orelha e olhos. In McGAVIN, M. D.; ZACHARY, J. F. **Bases da patologia em veterinária**. 5 ed., p. 1242. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013.

WERNER, P. R.; WERNER, J. Avaliação histopatológica. In DALECK, C. R.; DE NARDI, A. B. **Oncologia em Cães e Gatos**. 2 ed., p.186-209 . Rio de Janeiro: Roca, 2016.



# MÉDICOS DO MUNDO: UM INVESTIMENTO MULTIPROFISSIONAL INTEGRADO QUE PROMOVE A SAÚDE ÚNICA

Data de aceite: 01/08/2020

Data de submissão: 06/05/2020

### **Stefanie Sussai**

Associação Médicos do Mundo

São Paulo - SP

<http://lattes.cnpq.br/0554636283683744>

### **Juliana de Carvalho**

Associação Médicos do Mundo

São Paulo - SP

<http://lattes.cnpq.br/6935477170280256>

### **André Stroebe de Gerone**

Associação Médicos do Mundo

São Paulo - SP

<http://lattes.cnpq.br/0015167121350697>

### **Thaís Andrade dos Santos**

Associação Médicos do Mundo

São Paulo – SP

<http://lattes.cnpq.br/0019788546059475>

### **Edmara Aparecida Reis Martins**

Associação Médicos do Mundo

São Paulo – SP

<http://lattes.cnpq.br/0788057941977534>

### **Mário Vicente Campos Guimarães**

Associação Médicos do Mundo

São Paulo – SP

<http://lattes.cnpq.br/2540964241682821>

**RESUMO:** A Associação Médicos do Mundo *World Doctors* (MDM) é uma iniciativa privada e filantrópica com o objetivo de promover atendimento humanitário a pessoas e animais em situação de vulnerabilidade social, fornecendo atendimento médico e social em diversas instâncias. As atuações ocorrem em algumas cidades brasileiras e nos países africanos Benim, Angola e Moçambique. Existem 20 projetos dentro da MDM equivalentes às diferentes ocupações das áreas da saúde e das ciências sociais. Apesar dos projetos serem categorizados por profissões, todos realizam os seus atendimentos nos mesmos dia, horário e local, de maneira integrada e multiprofissional, por meio de encaminhamentos entre os projetos de acordo com as necessidades e anseios dos pacientes humanos. Particularmente, o projeto Médicos Veterinários de Rua funciona como um consultório veterinário de rua, que tem como objetivo o atendimento clínico dos cães e gatos dessas pessoas em vulnerabilidade, realizando anamnese, exame físico, medidas profiláticas como vacinação espécie-específica e antirrábica, controle de endo e ectoparasitas, microchipagem, tratamento de enfermidades e primeiros socorros. Os casos que necessitam de intervenções que não são autorizadas para serem realizadas em consultórios, como

a castração, são encaminhados para outros serviços veterinários não pertencentes à associação. Também, há um trabalho de conscientização e educação em guarda responsável e distribuição de ração, coleiras, roupas, camas e medicamentos para os animais. Para as pessoas, há parceiros que distribuem comida, roupas e fornecem estrutura para banho. Outras ações pontuais também podem ocorrer conforme a demanda dentro dos objetivos da MDM. A Força Tarefa de Catástrofes está pronta para atuar nessas situações. Através desse investimento multiprofissional integrado, que se preocupa com as saúdes de pessoas e animais em situação de vulnerabilidade, além da saúde do ambiente onde eles vivem, dando orientações quanto aos resíduos e ações preventivas, a MDM promove a Saúde Única.

**PALAVRAS-CHAVE:** Medicina Veterinária do Coletivo. Medicina de Rua. Saúde Coletiva. Saúde Única. Vulnerabilidade.

### WORLD DOCTORS: AN INTEGRATED MULTIPROFESSIONAL INVESTMENT THAT PROMOTES THE ONE HEALTH

**ABSTRACT:** The Association World Doctors (MDM) is a private and philanthropic initiative with the objective of promoting humanitarian assistance to people and animals in situation of social vulnerability, providing medical and social assistance in different instances. The performances take place in some Brazilian cities and in the African countries Benin, Angola and Mozambique. There are 20 projects within MDM equivalent to different occupations in the areas of health and social sciences. Despite the projects being categorized by professions, all of them perform their services on the same day, time and place, in an integrated and multiprofessional way, through referrals between the projects according to the needs and desires of the human patient. Particularly, the Street Veterinarians works as a street veterinarian's office, which aims to provide clinical care for dogs and cats of these vulnerable people, carrying out anamnesis, physical examination, prophylactic measures such as species-specific and rabies vaccination, control of endo and ectoparasites, microchipping, treatment of illnesses and first aid. Cases that require interventions that are not authorized to be performed in offices, such as spay and neuter, are referred to other veterinary services not belonging to the association. Also, there is an awareness and education work on responsible ownership and distribution of feed, collars, clothes, beds and medicines for animals. For people, there are partners who distribute food, clothes and provide facilities for bathing. Other specific actions can also occur according to the demand within the MDM objectives. The Disaster Task Force is ready to act in these situations. Through this integrated multiprofessional investment, which is concerned with the health of people and animals in vulnerable situations, in addition to the health of the environment where they live, providing guidance on waste disposal and preventive actions, MDM promotes One Health.

**KEYWORDS:** Shelter Medicine. Street Medicine. Collective Health. One Health. Vulnerability.

## 1 | INTRODUÇÃO

A Associação Médicos do Mundo *World Doctors* (MDM) é uma iniciativa privada e filantrópica com atuações em diversas cidades brasileiras: São Paulo, São Caetano do Sul, Candelária, Itajubá, Pouso Alegre, Belo Horizonte, Recife, Petrolina, Curitiba, Ponta Grossa, Florianópolis, Caxias do Sul. Além do Brasil, a Médicos do Mundo atua nos países africanos: Benim, Angola e Moçambique.

A iniciativa surgiu em 2015, quando o médico neurologista professor Mário Vicente Campos Guimarães, após retornar de uma especialização nos Estados Unidos, onde vivenciou a Medicina de Rua com o idealizador desse campo de atuação, Jim Withers, iniciou ações pontuais na cidade de São Paulo de atendimento médico a pessoas desabrigadas e em situação de rua.

A Medicina de Rua é uma área de atuação médica recente, que foi desenvolvida nos Estados Unidos no início da década de 90. De acordo com Jim Withers (2011), é a prestação de cuidados de saúde diretamente às pessoas que vivem nas ruas da comunidade e que são frequentemente marginalizadas. Esse campo representa uma tendência tanto na prestação de serviços de saúde, quanto na educação médica, em que a realidade das pessoas atendidas é central, incluindo o ambiente em que vivem (WITHERS, 2011). Esse olhar diferenciado é um dos princípios mais notáveis da Medicina de Rua, uma vez que ele tenta estabelecer um vínculo da medicina com a realidade do paciente, já que existem barreiras culturais, econômicas e de outras circunstâncias que criam lacunas entre os cidadãos em vulnerabilidade e o setor de saúde (WITHERS, 2011).

Um dos momentos em que a área da saúde se aproxima da realidade do paciente é durante a visita domiciliar, recorrente na saúde coletiva brasileira, em que os profissionais de saúde realizam consultas e alguns procedimentos no ambiente onde vive o paciente, ou seja, no seu lar, porém como a população alvo dessa área é justamente desprovida de domicílio, a Medicina de Rua se adapta levando o atendimento onde a pessoa se encontra naquele dia, tornando esses seres que são muitas vezes invisíveis na sociedade em sujeitos de direito.

As realidades entre os Estados Unidos e o Brasil são diferentes, tanto em número de pessoas em situação de rua e de vulnerabilidade, quanto ao sistema de saúde e o acesso ao mesmo. Portanto, o fundador da MDM adaptou a Medicina de Rua para o contexto brasileiro. Primeiramente, ele realizava as ações sozinho, no trajeto da estação de metrô até o campus da Universidade onde leciona; posteriormente, agregou alguns de seus alunos para essas ações, após comentar sobre sua ideia em sala de aula. Com o passar do tempo, esse projeto foi crescendo e recebendo apoio de voluntários e entidades que poderiam auxiliar no acolhimento dessas pessoas.

Em 2016, firmou-se parceria com a Pastoral de Rua de São Paulo, desta forma regularizaram-se as ações e ampliou-se o número de atendimentos. Em 2017, a

MDM institucionalizou-se com o propósito de atender pessoas em vulnerabilidade social e em situação de rua, devolvendo a saúde, assistindo à condição de pessoa e, conseqüentemente, garantindo a promoção social e a cidadania. Com a ampliação dos atendimentos, novas demandas foram requisitadas pelos pacientes, assim como os organizadores tiveram novas percepções sobre a necessidade de outros profissionais da saúde, convidando então voluntários de outras áreas para se juntaram ao time, como os médicos veterinários. Dessa maneira, a associação passou a incluir os animais em situação vulnerabilidade e de rua no seu escopo de atuação.

Os animais de estimação ocupam um espaço importante na vida dos humanos e o laço afetivo construído pode ser muito forte ou representar o único elo afetivo da pessoa em situação de rua (BONAS S; MCNICHOLAS J; COLLIS G, 2000; MARTINS, M. F.; CAPELLI, L. L.; CASAMASSA; LIMA, 2013). Bonas, McNicholas e Collis (2000) e Martins, Capelli, Casamassa e Lima (2013) analisaram os relacionamentos entre humanos e cães, comparando-os aos de humanos entre si, e eles chegaram a mesma conclusão de que ambos relacionamentos apresentam características em comum, o que permite que sejam retratados de maneiras similares e com o mesmo grau de importância. Todavia, Bonas, McNicholas e Collis (2000) junto a Merizio e Garcia (2006), afirmam que a maneira que os animais contribuem para a dinâmica de um relacionamento é diferente da contribuição humana, desse modo, os humanos também necessitam de uma interação social com outros humanos, não podendo ficarem restritos às interações interespecíes.

A propensão pelo laço afetivo com animais de estimação por pessoas em situação de rua pode ocorrer, porque ao contrário do que acontece nos vínculos afetivos entre humanos, nas relações com os animais as pessoas não apresentam o sentimento de medo ou receio de abandono pelo outro ser (QUEIROZ, 2010). Além de representarem uma fonte de afeto e lealdade, Queiroz (2010) afirma que a conexão entre animais de estimação e pessoas em situação de rua também retrata um caráter protetivo frente à vulnerabilidade que ambos estão suscetíveis, fazendo com que um proteja o outro, permitindo que os dois mantenham-se vivos dentro de uma realidade cruel. Nesse sentido, é importante ressaltar o papel intermediador do animal de estimação entre a pessoa em situação de rua e a população em geral, já que é comum que a população em geral demonstre mais piedade pela pessoa em situação de rua quando está acompanhada de seu animal de estimação (QUEIROZ, 2010).

A inclusão da Medicina Veterinária na MDM com o projeto Médicos Veterinários de Rua (MVR) demonstra a valorização das requisições dos pacientes humanos que tem os animais como membro da sua família multiespécie, bem como o reconhecimento dos animais como seres sencientes, ou seja, que são capazes de sentirem sensações e sentimentos de maneira consciente, e também como sujeitos de direitos, inclusive aqueles que se encontram em situação de vulnerabilidade e de rua.

Dentro da Medicina Veterinária existe uma área que estuda e se dedica aos animais

em situação de vulnerabilidade, de rua ou em abrigos, que é a Medicina Veterinária do Coletivo (MVC). Também desenvolvida nos Estados Unidos, no final da década de 90, conhecida como “Shelter Medicine”, em português, medicina de abrigos, foi adaptada no Brasil agregando as características locais. A MVC articula as áreas de medicina de abrigos, saúde coletiva e medicina veterinária legal. Portanto, a MVC é multidisciplinar e multiprofissional, pois trabalha em conjunto com os setores da saúde, educação, assistência social, meio ambiente, segurança pública, ministério público, sociedade civil e ONG.

Considerando os princípios da Medicina de Rua e da Medicina Veterinária do Coletivo, norteadores das ações da MDM, pode-se afirmar que a associação segue a linha de promoção da Saúde Única. A Saúde Única pode ser compreendida como uma abordagem integrada e multiprofissional, que reconhece a interrelação entre as saúdes humana, animal e ambiental (BRANDÃO, 2016). Isso vai ao encontro dos objetivos da instituição, que são promover atendimento humanitário às pessoas e aos animais em situação de vulnerabilidade, fornecendo atendimento médico e social em diversas instâncias, garantindo-lhes serviços que dificilmente teriam acesso, considerando a realidade do ambiente que estão inseridos. A missão da Associação Médicos do Mundo é fornecer saúde integral e de excelência a todos que dela necessitam e humanizar acadêmicos das ciências da saúde e ciências sociais por meio da extensão universitária. A visão da MDM é atuar em todo mundo, auxiliando pessoas e animais em vulnerabilidade, fornecendo saúde, educação, cultura e direito a todos. Dessa maneira, utilizam-se os seguintes valores: ética, transparência, honestidade, diversidade e sustentabilidade.

## 2 | METODOLOGIA

Existem 20 projetos dentro da Associação Médicos do Mundo equivalentes às diferentes ocupações das áreas da saúde e das ciências sociais envolvidas nas ações da instituição e ao público alvo: Médicos de Rua, Enfermagem de Rua, Mentres de Rua, Médicos Veterinários de Rua, Dentistas de Rua, Nutrição de Rua, Reabilitação de Rua, Farmácia de Rua, Laboratório de Rua, Assistentes de Rua, Podologia de Rua, Beleza de Rua, Doutores Brinquedos, Justiça de Rua, Mulheres Sem Medo, Voluntários Eficientes, Força Tarefa de Catástrofes, Portas Abertas, Médicos do Brasil e Médicos da África. Apesar de 16 projetos serem categorizados por profissões, todos realizam em suas respectivas tendas os seus atendimentos em um formato de mutirão, nos mesmos dia, horário e local, de maneira integrada e multiprofissional, por meio de encaminhamentos entre os projetos de acordo com as necessidades e anseios das pessoas atendidas. Os outros quatro projetos, Força Tarefa de Catástrofes, Portas Abertas, Médicos do Brasil e Médicos da África, são acionados de acordo com a demanda.

Há uma variação entre as cidades, porém, em sua maioria, as ações tradicionais são



mensais. Em São Paulo, elas ocorrem em frente ao Pátio do Colégio, no primeiro domingo de cada mês e duram, em média, quatro horas. A região escolhida propositalmente no centro da cidade é reconhecida pela elevada concentração de pessoas em situação de rua, sendo que muitas dessas pessoas possuem animais de estimação, formando as famílias multiespécies, que se encontram em um ambiente vulnerável.



Figura 1 - Atendimento dos Médicos Veterinários de Rua.

Fonte: acervo Médicos Veterinários de Rua de São Paulo.

Particularmente, o Projeto Médicos Veterinários de Rua funciona como um consultório veterinário de rua, que tem como objetivo o atendimento clínico dos cães e gatos dessas pessoas em vulnerabilidade, realizando anamnese, exame físico, medidas profiláticas como vacinação espécie-específica e antirrábica, controle de endo e ectoparasitas, microchipagem, tratamento de enfermidades e primeiros socorros. Os casos que necessitam de intervenções que não são autorizadas para serem realizadas em consultórios, como a castração, são encaminhados para outros serviços veterinários não pertencentes à associação. Também, existe um trabalho de conscientização e educação em guarda responsável e distribuição de ração, coleiras, roupas, camas e medicamentos para os animais. Para as pessoas, além dos atendimentos dos projetos citados, há parceiros que distribuem alimentos, roupas e fornecem estrutura para banho.



Figuras 2 e 3 - Atendimentos dos Médicos de Rua.

Fonte: acervo Associação Médicos do Mundo.

As ações tradicionais já têm uma rotina e um fluxo determinado de atendimentos que funcionam satisfatoriamente e contam com o auxílio de diversos voluntários de outras áreas de atividade que dão suporte na organização, logística e segurança. A equipe da MDM é composta por profissionais voluntários muito engajados e graduandos das áreas da saúde e sociais dispostos a aprender e ajudar ao próximo.

Outras ações pontuais também podem ocorrer em locais que tenham a demanda e que estejam dentro dos objetivos da MDM, desde que haja disponibilidade das equipes para atenderem fora do calendário oficial. A Força Tarefa de Catástrofes está pronta para atuar nessas situações, conforme haja necessidade.

### 3 | RESULTADOS

Ao longo dos seus cinco anos de atuação, a MDM já atendeu mais de 255.000 pacientes humanos, somando os atendimentos de todas as cidades de atuação (MÉDICOS DO MUNDO, 2020).

As ações mensais paulistas contam com cerca de 70 profissionais de diversas áreas, 1000 graduandos de diferentes cursos, 300 pacientes humanos passam por triagem, 150 são consultados e recebem atendimento, e 30 animais recebem atendimento médico-veterinário.

Durante o período de 2018 a 2020, o projeto Médicos Veterinários de Rua de São Paulo realizou 771 atendimentos, conforme mostra o gráfico da figura 4.

A Aldeia Tekuá Pyau, próxima ao Pico do Jaraguá na cidade de São Paulo, recebeu duas ações da MDM, uma em julho de 2019 e outra em outubro de 2019, levando atendimento médico, odontológico e médico-veterinário para a comunidade, além das

doações de roupas e alimentos com parceiros. As figuras 5 e 6 ilustram o atendimento médico-veterinário na aldeia.

A Força Tarefa de Catástrofes da MDM atuou para auxiliar: as vítimas do incêndio a Creche Gente Inocente no município de Janaúba, interior de Minas Gerais, em 2017; as pessoas e os animais vítimas do rompimento da barragem em Brumadinho, Minas Gerais, em 2019; e a população em situação de rua durante a pandemia de COVID-19 nas cidades de São Paulo e Rio de Janeiro em 2020.

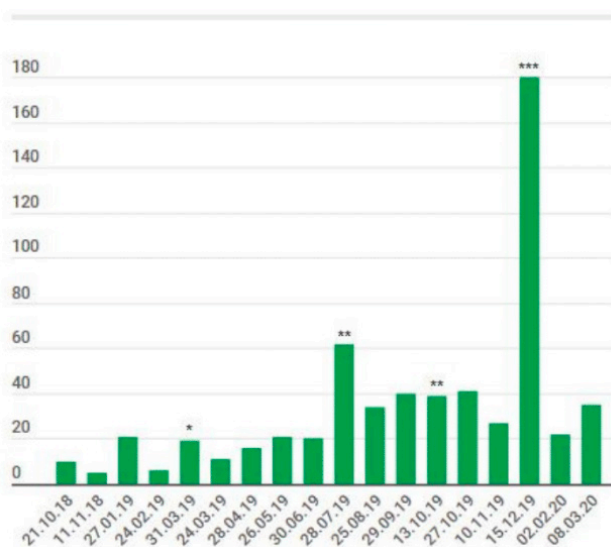


Figura 4 – Total de animais atendidos entre 2018 e 2020.

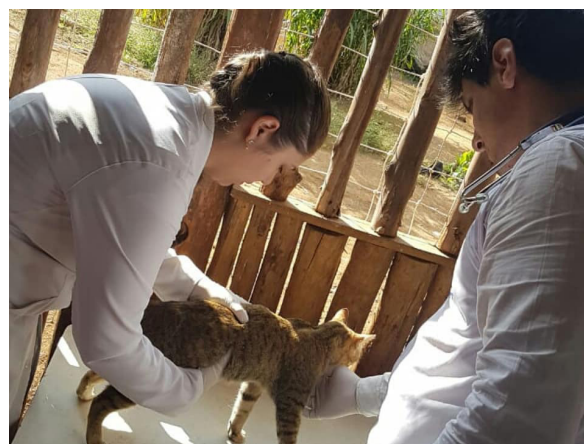
Ações pontuais:

\* Comunidade dos Ciganos.

\*\* Aldeia Tekuá Pyau.

\*\*\* Parceria com ONG de proteção animal.

Fonte: registros Médicos Veterinários de Rua de São Paulo.



Figuras 5 e 6 – Atendimentos dos Médicos Veterinários de Rua na Aldeia Tekuá Pyau.

Fonte: acervo Médicos Veterinários de Rua de São Paulo.



O projeto Médicos Veterinários de Rua de São Paulo também realizou duas ações individuais, uma em março de 2019 para prestar assistência a 19 animais de uma comunidade que foi incendiada em um bairro central da capital paulista e outra em dezembro de 2019, em parceria com uma ONG de proteção animal que possuía 180 cães abrigados.

## 4 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por meio desse investimento multiprofissional integrado, que se preocupa com as saúdes humana e animal de pessoas e animais em situação de vulnerabilidade, além da saúde do ambiente onde esses seres vivem, dando orientações quanto aos resíduos e ações preventivas, a Associação Médicos do Mundo promove a Saúde Única.

## REFERÊNCIAS

BONAS S; MCNICHOLAS J; COLLIS G. Pets in the network of family relationships: An empirical study. **Companion animals and us: Exploring the relationships between people and pets**, 2000.

BRANDÃO, A. P. D. Saúde Única em articulação com a saúde global: o papel da Medicina Veterinária do coletivo. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 13, n. 3, p. 77–77, 2016. Disponível em: <<https://www.revistamvez-crmvsp.com.br/index.php/recmvz/article/view/28929>>.

MARTINS, M. F.; CAPELLI, L. L.; CASAMASSA, S. G. ; LIMA, P. M. P. S. **No rastro dos excluídos: moradores de rua e seus animais**. 2013.

MÉDICOS DO MUNDO. **Sobre nós**. Disponível em: <<https://www.medicosdomundo.org.br/our-clinic/about/>>. Acesso em: 3 maio. 2020.

MERIZIO, L. Q.; GARCIA, A. O relacionamento entre a criança e o animal de estimação e a amizade com outras crianças: uma análise comparada. In: GARCIA, A. (Ed.). **Relacionamento interpessoal - estudos brasileiros**. 1. ed. Vitória: GM, 2006.

QUEIROZ, R. S. O último vínculo: "moradores de rua" e seus cães na cidade de São Paulo. In: MAGALHÃES, VALÉRIA BARBOSA DE; RALL, V. (Ed.). **Reflexões sobre a tolerância: direitos dos animais**. 1. ed. São Paulo: Humanitas, 2010. p. 191–196.

WITHERS, J. Street medicine: An example of reality-based health care. **Journal of Health Care for the Poor and Underserved**, 2011.

## PANORAMA EPIDEMIOLÓGICO DE ACIDENTES ESCORPIÔNICOS EM COLATINA-ES

*Data de aceite: 01/08/2020*

**Rômulo Balbio de Melo**  
**Gabriel Borges Coelho**  
**Jonathas Barbosa Ribeiro**  
**Wagner Pereira dos Santos Junior**  
**Vivian Andrade Gundim**  
**João Pedro Neves Pessoa**  
**Carlos Vitorio de Oliveira**

**RESUMO:** Dentre os animais peçonhentos listados pelo Ministério da Saúde (MS), um dos tipos de acidentes mais listados são os por escorpiões. Com a crescente ocorrência destes acidentes, MS inclui tais acidentes como agravos de notificação compulsória, considerando-os um grave problema de Saúde pública, evidenciando-se a necessidade de conhecer o perfil epidemiológico dos mesmos. Nesse sentido, objetivou-se com este estudo, estabelecer o panorama epidemiológico de acidentes escorpiônicos em Colatina-ES. Trata-se de um estudo descritivo e retrospectivo, de abordagem quantitativa, realizado a partir da análise dos dados do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN). Ademais, utilizou-se as variáveis: sexo, faixa etária, etnia, taxa de morbidade, taxa de mortalidade específica, meses de ocorrência, tempo entre a picada e o atendimento, classificação do caso

e evolução do paciente. Tratando-se do sexo das vítimas, 61% dos acidentes envolvendo escorpiões acometeram o sexo masculino. Ademais, acerca da faixa etária das vítimas, 60% dos acidentes acometeram pessoas entre 20 – 59 anos. Sobre a etnia, 67% das notificações negligenciaram a variável. Já em relação aos meses de ocorrência, afirma-se que em todos os meses tiveram notificação, salientando que os meses de janeiro e abril foram os que apresentaram mais casos, com 11% dos casos cada mês. Outrossim, sobre o tempo entre a picada e busca por atendimento médico, em 67% dos casos os acidentados procuraram a unidade de saúde em menos de 1 hora e 27% procuraram entre 1 a 3 horas. Outrossim, destaca-se que 86% dos pacientes tiveram seus casos avaliados como leves, 10% como casos moderados e 3% como graves. Por conseguinte, 98% dos pacientes evoluíram para a cura. Portanto, os resultados obtidos apresentam equivalência com o perfil epidemiológico brasileiro, predominando o sexo masculino, a faixa etária de 20-59 anos e aumento de casos nos períodos de maior pluviosidade na cidade de Colatina-ES.

**PALAVRAS-CHAVE:** Animais peçonhentos, Acidente Ofídico, Epidemiologia



**ABSTRACT:** Among the venomous animals listed by the Ministry of Health (MS), one of the most listed types of accidents are those caused by scorpions. With the increasing occurrence of these accidents, MS includes such accidents as conditions of compulsory notification, considering them a serious public health problem, highlighting the need to know their epidemiological profile. In this sense, the objective of this study was to establish the epidemiological panorama of scorpionic accidents in Colatina-ES. This is a descriptive and retrospective study, with a quantitative approach, carried out from the analysis of data from the Information System for Notifiable Diseases (SINAN). In addition, the variables used were: sex, age group, ethnicity, morbidity rate, specific mortality rate, months of occurrence, time between the bite and treatment, case classification and patient evolution. Regarding the sex of the victims, 61% of accidents involving scorpions affected the male sex. Furthermore, regarding the age group of the victims, 60% of the accidents affected people between 20 - 59 years old. Regarding ethnicity, 67% of notifications neglected the variable. In relation to the months of occurrence, it is stated that in all months they had notification, noting that the months of January and April were the ones that presented more cases, with 11% of the cases each month. Furthermore, regarding the time between the bite and the search for medical care, in 67% of the cases, the injured sought the health unit in less than 1 hour and 27% sought between 1 to 3 hours. Furthermore, it is highlighted that 86% of the patients had their cases assessed as mild, 10% as moderate cases and 3% as severe. As a result, 98% of patients progressed to healing. Therefore, the results obtained are equivalent to the Brazilian epidemiological profile, with a predominance of males, the 20-59 age group and an increase in cases during periods of greatest rainfall in the city of Colatina-ES.

**KEYWORDS:** Venomous animals, Ophidian Accident, Epidemiology.

## INTRODUÇÃO

Animais peçonhentos, segundo o Ministério da Saúde (MS), são caracterizados por produzirem peçonha (veneno), que pode ser inoculada em outros seres com o intuito de defesa ou caça. (BRASIL, 2020). Estes diferenciam-se dos animais venenosos por também apresentarem um aparelho especializado para inoculação da peçonha, que podem ser dentes ocos, ferrões ou agulhões, por onde o veneno passa ativamente, produzido por glândulas. (BARROSO; WOLFF, 2012). Nesse contexto, acidentes com animais peçonhentos vêm tomando importância devido ao crescente número de notificações nos últimos anos, especialmente em países tropicais da América Latina, África, Ásia e Oceania. (CHIPPAUX; GOLFFON, 2008). No Brasil, no ano de 2019, foram notificados 268.445 mil casos em todo o território nacional. (BRASIL, 2019).

Além disso, segundo o Ministério da Saúde (MS), o aumento na incidência foi de 18,7 a cada 100.000 habitantes em 2000 para 127,7 a cada 100.000 habitantes em 2018,

com um total de 4.080 óbitos no mesmo período de 18 anos. (BRASIL, 2019). Destacam-se as regiões Nordeste e Sudeste, com maiores números de óbitos. (BRASIL, 2019). De acordo com o Sistema Nacional de Informações Tóxico-Farmacológicas (SINITOX), apenas no ano de 2017, dos casos registrados de intoxicação humana por animais peçonhentos, aproximadamente 85% foram por acidente. (BRASIL, 2017).

Devido ao alto índice de ocorrência de casos no Brasil, o MS incluiu tais acidentes como agravos de notificação compulsória vinculado ao Sistema Nacional de Agravos de Notificação (SINAN), deste modo, todo evento dessa natureza deve ser notificado e repassado para a secretaria de saúde municipal que alimentará o SINAN. Dentre os animais peçonhentos listados pelo MS, um dos tipos de acidentes mais listados são os escorpiões, sendo notificados entre os anos de 2000 a 2018 1.109.443 casos de acidentes escorpiônicos no Brasil. (BRASIL, 2019).

Nesse cenário, as espécies que causam mais acidentes por escorpiões são as *Tityus stigmurus* (escorpião amarelo do Nordeste), *Tityus serrulatus* (escorpião amarelo), *Tityus bahiensis* (escorpião marrom) e *Tityus cambridgei* (Escorpião-grande). (DOS SANTOS et al., 2016). Ademais, nota-se que tanto acidentes ofídicos quanto escorpiônicos destacam-se por levarem a manifestações sistêmicas graves (inclusive à morte) quando na presença de altas doses de veneno, especialmente em populações de risco, como crianças. (CHIPPAUX; GOLFFON, 2008). A maioria dos casos envolvendo evoluções graves dos acidentes escorpiônicos em território brasileiro são causados por *Tityus serrulatus*, e geralmente progridem de reações locais (eritema, edema e dor) a manifestações sistêmicas (arritmias cardíacas, hipotensão, insuficiência cardíaca, choque) e/ou finalmente ao óbito. (CUPO, 2015).

O aumento do número de ocorrências envolvendo acidentes com escorpiões dentro da área urbana pode ser atribuído à devastação do ecossistema por ação antrópica, graças à demanda habitacional e ao ritmo acelerado de urbanização, levando a modificações no perfil epidemiológico destas regiões. (FAVRETTO E SANTOS, 2013). Outrossim, é importante ressaltar que no Brasil há também o registro de ocorrências no Sistema Nacional de Informações Tóxico-Farmacológicas (Sinitox), que compila os dados dos Centros de Informação e Assistência Toxicológica (CIATox). (BRASIL, 2016). Entretanto, estima-se que os dados apurados via Sinitox estejam subestimados, devido à diminuição da participação dos CIATs em levantamentos nos últimos anos. (BRASIL, 2020).

Entende-se que este estudo poderá contribuir como subsídio para que gestores e equipes de saúde atentem para a necessidade de qualificação da assistência prestada aos casos de acidentes escorpiônicos, bem como acerca de ações de prevenção dessas ocorrências. Além disso, identifica-se um número insuficiente de publicações nacionais acerca do levantamento epidemiológico de acidentes por escorpiões, assim como aqueles referentes ao estado do Espírito Santo.

Posto isso, compreende-se a relevância para a Saúde Pública em gerar informações

suficientes para se conhecer a dimensão real do problema, proporcionando o planejamento adequado para seu enfrentamento; culminando no objetivo deste estudo, identificar o perfil epidemiológico dos acidentes escorpiônicos na cidade de Colatina-ES.

## PROCEDIMENTO METODOLÓGICO

A presente pesquisa trata-se de um estudo descritivo e retrospectivo, realizado a partir da utilização de dados secundários oriundos do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) referentes à cidade de Colatina-ES, no período de janeiro a dezembro de 2019, cujo objetivo é identificar o panorama epidemiológico de acidentes escorpiônicos na cidade de Colatina-ES.

Dessa forma, utilizando-se dos dados da plataforma online do SINAN acerca de acidentes envolvendo animais peçonhentos da cidade, foi possível analisar as variáveis: sexo, faixa etária, etnia, taxa de morbidade, taxa de mortalidade específica, meses de ocorrência, tempo entre a picada e o atendimento, classificação do caso e evolução do paciente. Além disso, destaca-se que a taxa de morbidade corresponde a taxa de pessoas picadas por escorpião em relação a população total de Colatina-ES, já no que se refere a taxa de mortalidade específica, é levada em conta a quantidade de mortes por escorpião a cada 1000 pessoas picadas.

A partir dos dados obtidos, foi realizado um estudo estatístico descritivo, utilizando-se a plataforma *Microsoft Excel e Microsoft Word* para tabulação e análise dos dados, além da priorização de achados que apresentaram maior relevância e recorrência. Tendo em vista que os dados foram obtidos via plataformas virtuais de dados referentes a vigilância epidemiológica do município, como o Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), descartou-se a necessidade de registro em comitê de ética em pesquisa com seres humanos.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

No espaço temporal estudado, foram registrados no estado do Espírito Santo, 5.732 casos de acidentes por animais peçonhentos, sendo eles, 3.629 acidentes ocasionados por escorpiões. No município de Colatina-ES, foram registrados 164 acidentes por animais peçonhentos, sendo descritos 144 (87,80%) do tipo escorpiônico. A Tabela I apresenta os dados sociodemográficos analisados para os acidentes ocorridos no município de Colatina-ES.

Variáveis	N	%
<b>Sexo</b>		
Feminino	56	38,89%
Masculino	88	61,11%
<b>Faixa etária</b>		
<1 ano	1	0,69%
1-9 anos	14	9,72%
10-19 anos	14	9,72%
20-39 anos	44	30,56%
40-59 anos	43	29,86%
60-79 anos	27	18,76%
>80 anos	1	0,69%
<b>Etnia</b>		
Ignorado/ branco	97	67,36%
Branca	40	27,78%
Preta	2	1,39%
Parda	5	3,47%
Indígena	0	0,00%

Tabela I- Distribuição dos dados sociodemográficos dos casos de Acidentes Escorpiônicos notificados no Município de Colatina-ES

Fonte: DATASUS

Como é possível observar na **Tabela I**, houve predominância do sexo masculino (61,11%), bem como das faixas etárias 20 a 39 anos (30,56%) e 40 a 59 anos (29,86%). No que concerne a maior incidência de acidentes em pessoas do sexo masculino, este dado corrobora com o panorama geral de agravos e acidentes externos no Brasil, onde homens jovens são os mais acometidos. Dentro dos acidentes com escorpiões Feitosa, et al em 2020 traz em seu estudo uma análise dos acidentes por escorpiões ocorridos em um município do estado de São Paulo, onde é evidenciado que 57,96% dos casos ocorreram em indivíduos do sexo masculino (FEITOSA, et al. 2020).

As estatísticas supracitadas tem sua justificativa baseada na provável maior exposição do gênero masculino a trabalhos braçais e em fazendas, aumentando assim a possibilidade de ocorrência de acidentes, em contrapartida as mulheres e crianças ainda tem uma expressiva porcentagem de casos provavelmente relacionada aos acidentes ocorridos no domicílio (OLIVEIRA et al., 2011; LIMA et al., 2009).

No tocante as faixas etárias mais acometidas, foi encontrada uma maior incidência de acidentes em pessoas de 20 a 59 anos, totalizando 60,42% dos casos. O estudo de Carmo, et al., (2016) analisou as internações decorrentes de acidentes com animais peçonhentos no Hospital Prado Valadares, no período de 2009 a 2011, onde foi encontrado que 50,4% das pessoas estavam entre 20 a 59 anos. Os percentuais referentes a faixa etária e sexo encontrados nesse estudo corroboram com o panorama nacional de acidentes externos, onde, no ano de 2018 foi registrado que aproximadamente 64,12% dos óbitos por causas externas no Brasil foram de pessoas de 20 a 59 anos (SINAN, 2018).

Quanto aos dados relacionados a etnia das pessoas acometidas foi encontrada uma alta porcentagem de negligência quanto ao preenchimento deste dado (67,36%), este fato fragiliza uma análise concreta da variável raça/cor. Dentro da variável supracitada também foi encontrado que 27,78% dos casos notificados foram de pessoas que se autodeclararam brancas.

O município de Colatina tem população estimada de aproximadamente 122.499 habitantes, em 2019 (IBGE, 2020). Sendo assim, a ocorrência de 144 casos de acidentes escorpiônicos suscita uma taxa de morbidade específica de 1,18 para cada mil habitantes. Obteve-se, para o ano de 2019, uma taxa de mortalidade nula, visto que não foram registrados óbitos nem por acidentes envolvendo escorpiões, nem por qualquer outro animal peçonhento. No que se refere aos meses de ocorrência, aponta-se que houve notificações em todos os meses, salientando que os meses de janeiro e abril apresentaram o maior número de casos registrados, e o mês de maio o que apresentou menor ocorrência, assim como descrito no **Gráfico I**.

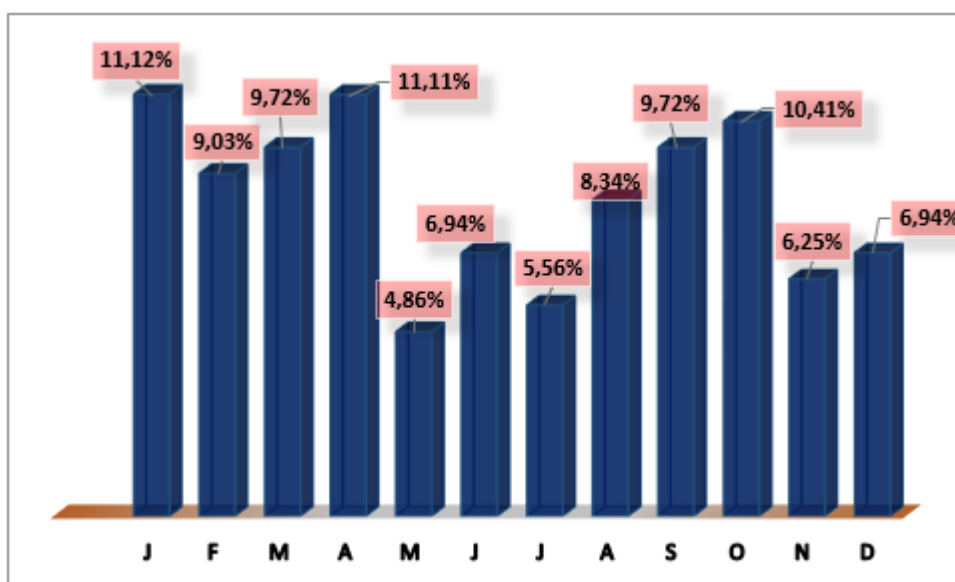


Gráfico I- Distribuição dos casos notificados de Acidentes Escorpiônicos por mês de ocorrência no município de Colatina-ES.

Fonte: DATASUS

Dentro da literatura nacional alguns estudos tratam sobre a sazonalidade da ocorrência de acidente escorpiônico, em alguns estudos trazendo um aumento do número de casos em períodos de aumento da temperatura associado a maior pluviosidade (SILVEIRA e MACHADO, 2017; SOARES, et al., 2002; ALMEIDA, 2013). A cidade de Colatina tem como período de aumento da temperatura e pluviosidade os meses de outubro a dezembro e janeiro a março, coincidindo assim com os picos de registros de ocorrência de acidentes evidenciados no **Gráfico I** (INMET, 2019)

A **Tabela II** a seguir, descreve as características dos acidentes escorpiônicos



notificados no município:

Variáveis	N	%
<b>Tempo para o atendimento</b>		
Ignorado/Branco	2	1,39%
0 a 1 hora	97	67,36%
1 a 3 horas	40	27,78%
6 a 12 horas	0	0,00%
12 a 24 horas	0	0,00%
24 e + horas	1	0,69%
<b>Classificação</b>		
Ignorado/ branco	0	0,00%
Leve	124	86,11%
Moderado	15	10,42%
Grave	5	3,47
<b>Evolução</b>		
Ignorado/ branco	2	1,39%
Cura	142	98,61%
Óbito	0	0,00%

Tabela II- Distribuição das características casos notificados de Acidentes Escorpiônicos no município de Colatina-ES

Fonte: DATASUS

No que concerne o tempo entre a ocorrência da picada e a busca por assistência, predominantemente, em 67,36% dos casos notificados a procura ocorreu em menos de 1 hora. A grande maioria dos acidentes foi classificado como leve (86,11%) e evoluíram para cura 98,61% dos casos notificados.

Furtado et al., em 2019, aponta que a distância da unidade hospitalar e a dificuldade e deslocamento são fatores que influenciam a demora para a realização de um atendimento. Já Costa em 2016, aponta que os escorpiões, ao encontrarem ambiente favoráveis nas cidades como clima, alimento e abrigo adequados, se domicíliam com facilidade, aumentando a probabilidade de acidentes na zona urbana. Sendo assim, não há tanta dificuldade no que se refere à chegada às unidades de saúde.

Relaciona-se, portanto, o tempo satisfatório, decorrido entre o acidente e o atendimento, obtido nos dados deste estudo, à nulidade do número de óbitos no município. Visto que, a ocorrência de casos graves e óbitos pode estar relacionada ao tempo de atendimento das vítimas, como apontado por Lisboa (2020), relatando ainda, que a maioria dos óbitos que são registrados decorreriam de acidente ocorridos na zona rural, o que predispõe à condições logísticas precárias para um atendimento imediato e eficiente.

De acordo com o descrito por Costa (2016), a gravidade dos acidentes ocasionados por escorpiões está sujeita a fatores como a quantidade de veneno injetada, a sensibilidade

do indivíduo ao veneno, o local da picada, e é maior quando a idade é menor. Posto isso, pode-se associar o fato de que a maioria dos casos analisados neste estudo foram classificados como leve, à medida que foram registrados menos casos nos indivíduos mais jovens (0 a 19 anos), se comparados aos indivíduos adultos, em idade economicamente ativa (20 a 59 anos). Além disso, condizente com este dado, Brasil (2010) aponta que é comum que adultos apresentem manifestações locais benignas, enquanto crianças cursam com manifestações sistêmicas.

Em estudo realizado em municípios do Extremo sul da Bahia, estado que faz divisa com o Espírito Santo, apresentou que mais da metade dos acidentes escorpiônicos (51%) concentrou-se na faixa etária de 20-49 anos (LISBOA, 2020). Corroborando com os dados descritos neste estudo. Posto isso, vale ressaltar que a maior parte dos óbitos deles decorrentes foi de crianças com até 9 anos de idade (7/10) (LISBOA, 2020). O que permite inferir que a nulidade de óbitos descritas no município de Colatina está relacionada aos poucos casos ocorridos nessa faixa etária, visto que os casos sistêmicos e graves estão relacionados a crianças e compreendem a maioria dos casos que evoluem para óbito registrados no Brasil (COSTA, 2016).

No estado do Espírito Santo, dos 5.768 casos registrados, foram notificados apenas 5 óbitos, com uma taxa de letalidade de 0,09%, não obstante aos dados obtidos no mesmo ano para a totalidade dos casos registrados no Brasil, que foram de 154.812 casos notificados e 169 óbitos, obtendo uma taxa de letalidade de 0,11%. Esses dados chamam atenção para baixa ocorrência de óbitos por acidentes escorpiônicos no Brasil e no município estudado, o que contrapõe outros estudos que indicavam alta letalidade em períodos anteriores (LISBOA, 2020).

## CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos nessa pesquisa, foi possível identificar e analisar a situação epidemiológica dos acidentes por escorpiões na cidade de Colatina – ES, uma vez que dos 164 casos de acidentes por animais peçonhentos relatados, 144 foram do tipo escorpiônico. Esse fato revela que a cidade de Colatina-ES está, em geral, em concordância com o perfil epidemiológico de outras localidades do ES de acordo com Centro de Atendimento Toxicológico.

Em relação ao sexo, o sexo masculino foi mais acometido que o feminino, bem como a faixa etária 20-59 anos concentrou 60% dos acidentes. Além disso, sobre o tempo entre a picada e o atendimento médico, prevaleceram os casos em que a unidade de saúde foi procurada em menos de 1 hora. Esse dado é de fundamental importância médica, pois resulta na diminuição da incidência de complicações, como cefaleia, irritações, espasmos musculares, enjoo e queda de pressão, contribuindo para a diminuição dos casos de

óbito e, conseqüentemente, ocorrência de casos leves como apontam os dados presentes nesse trabalho, em que 86% dos pacientes tiveram seus casos avaliados como leves e 98% evoluíram para cura.

Portanto, faz-se necessária a administração de medidas preventivas e que visem a conscientização da população, para prevenir os acidentes com animais peçonhentos, principalmente os escorpiões. Bem como, a utilização de EPI's, como botas, perneiras e luvas, com o objetivo de evitar e diminuir a incidência de acidentes por estes animais. Além disso, é extremamente importante disseminar informações acerca de como proceder diante de um acidente envolvendo animais peçonhentos e também sobre a importância da preservação ou identificação do animal para direcionar a conduta médica.

Por fim, salienta-se a necessidade da divulgação e alerta por meio dos agentes de endemias sobre o risco da ocorrência de acidentes com escorpiões, principalmente em crianças e o desenvolvimento de estratégias efetivas de prevenção, com o objetivo de reduzir a morbimortalidade por acidentes escorpiônicos na comunidade estudada.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, D. J. G. de. Escorpionismo em Machado (MG). **Enciclopédia Biosfera. Centro Científico Conhecer**, v.9, n.17. Goiânia, 2013.

BARROSO, L.; WOLFF, D. **Acidentes causados por animais peçonhentos no Rio Grande do Sul**. Engenharia Ambiental: Pesquisa e Tecnologia, v. 9, n. 3, 2012.

BERTOLOZZI, Maria Rita; SCATENA, Camila Morato da Conceição; FRANÇA, Francisco Oscar de Siqueira. **Vulnerabilities in snakebites in São Paulo, Brazil**. Rev. Saúde Pública, São Paulo, v. 49, 82, 2015.

BRASIL, Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento, Instituto nacional de meteorologia -INMET, **Previsão sazonal**, Brasília; 2019

BRASIL, Ministério da saúde (MS)., Sistema Nacional de Agravos de Notificação- SINAN, **Acidentes por animais peçonhentos ocorridos no ano de 2018.**, 2019.

BRASIL, Ministério da saúde (MS)., Sistema Nacional de Agravos de Notificação- SINAN, **Acidentes por escorpiões ocorridos entre 2000 e 2018.**, Brasília: MS; 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde (MS). FIOCRUZ/SINITOX. **Casos Registrados de Intoxicação Humana por Agente Tóxico e Circunstância**. Brasília: MS; 2017. Disponível em: < [https://sinitox.iciet.fiocruz.br/sites/sinitox.iciet.fiocruz.br/files//Brasil6\\_1.pdf](https://sinitox.iciet.fiocruz.br/sites/sinitox.iciet.fiocruz.br/files//Brasil6_1.pdf)>. Acesso em: 01 jul. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. FIOCRUZ/SINITOX. Tabela 4 - **Casos registrados. SINAN: Sistema de Informação de Agravos e Notificação**. Brasília; 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. FIOCRUZ/SINITOX. **Dados nacionais**. 2020. Disponível em: <<https://sinitox.iciet.fiocruz.br/dados-nacionais>>. Acesso em: 02 jul. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde (MS). Sistema de Informação de Agravos de Notificação. **Incidência (/100.000 habitantes) - Acidentes por animais peçonhentos**. Brasília: MS; 2018. Disponível em: < <https://www.saude.gov.br/images/pdf/2019/outubro/16/2--Dados-Epidemiologicos-SiteSVS--Setembro-2019-ANIMAIS-PE--ONHENTOS-INCID--NCIA.pdf>>

BRASIL. Ministério da Saúde (MS). Sistema de Informação de Agravos de Notificação. **Óbitos - Acidentes por animais peçonhentos**. Brasília: MS; 2018. Disponível em: < <https://www.saude.gov.br/images/pdf/2019/outubro/16/3--Dados-Epidemiologicos-SiteSVS--Setembro-2019-ANIMAIS-PE--ONHENTOS---BITOS.pdf>>.

BRASIL. Ministério da Saúde (MS)., Sistema de informações sobre mortalidade – SIM., Óbitos por causas externas no Brasil, Brasília: MS; 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Doenças infecciosas e parasitárias: guia de bolso**/ Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, departamento de Vigilância Epidemiológica. – 8ª Ed. rev. -Brasília: Ministério da Saúde, 2010. 448p

BREDT, Carla Sakuma; LITCHTENEKER, Karina. **Avaliação Clínica e Epidemiológica dos acidentes com animais peçonhentos atendidos no Hospital Universitário do Oeste do Paraná 2008-2012**. Revista do Médico Residente, v. 16, n. 1, 2014.

CARMO, E. A. **Internações hospitalares por causas externas envolvendo contato com animais em um hospital geral do interior da Bahia, 2009-2011**. Epidemiologia e Serviços de Saúde, Brasília, 25(1):105-114, jan-mar 2016.

CHIPPAUX JP, GOYFFON M. **Epidemiology of scorpionism: a global appraisal**. Acta Trop 2008; 107:71-9.

CUPO, Palmira. **Clinical update on scorpion envenoming**. Rev. Soc. Bras. Med. Trop., Uberaba, v. 48, n. 6, p. 642-649, Dec. 2015.

COSTA, Bruno Caldeira . **Fatores de risco para acidentes com escorpiões: uma revisão de literatura**. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Medicina. Núcleo de Educação em Saúde Coletiva . Governador Valadares, 2011.

DOS SANTOS, Bárbara Maria Rodrigues; SOUSA, Tainan Mourão; DE ARAUJO FILHO, Augusto Cesar Antunes. **Análise de casos de acidentes por animais peçonhentos no nordeste do brasil (2012-2016)**. In: Anais do I Congresso Norte Nordeste de Tecnologias em Saúde. 2018.

FAVRETTO, M. A.; SANTOS, E. B. **Estudos Da Fauna do Oeste de Santa Catarina: Microrregiões de Joaçaba e Chapecó**. Campos Novos: Edição dos autores, 2013.

FEITOSA, A. M, CAMPLES, A. C. PINHEIRO, J. A. *et al*, **Incidência de Acidentes com Escorpião no Município de Ilha Solteira-SP**. Ars Veterinária, Jaboticabal, SP, v.36, n.2, 088-097, 2020.

FURTADO, Marcelo Cley de Lima et al. **Perfil clínico-epidemiológico de acidentes ofídicos registrados no Estado do Amapá e análise de similaridade com os demais estados da Região Norte**. Biblioteca Centra da Universidade Federal do Amapá, 2019.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Censo Demográfico 2010**. Disponível em <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/es/colatina/panorama>>.

LISBOA, Nereide Santos; BOERE, Vanner; NEVES, Frederico Monteiro. **Escorpionismo no Extremo Sul da Bahia, 2010-2017: perfil dos casos e fatores associados à gravidade**. Epidemiologia e Serviços de Saúde, v. 29, p. e2019345, 2020.

OLIVEIRA, H. F. A. et al. **Aspectos Clínico epidemiológicos dos acidentes com serpentes peçonhentas no Município de Cuité, Paraíba, Brasil**. Gazeta Médica da Bahia, 81 (1): 14 – 19, 2011. LIMA et al., 2009.

OLIVEIRA RC, WEN FH, SIFUENTES DN. Epidemiologia dos acidentes por animais peçonhentos. In: Cardoso JLC, França FOS, Wen FH, Málaque CMS, Haddad Jr.V. **Animais peçonhentos no Brasil - Biologia, clínica e terapêutica dos acidentes**. 2a ed. São Paulo: Sarvier; 2009; p. 6-21.

SILVEIRA, J. L., MACHADO C. **Epidemiologia dos acidentes por animais peçonhentos nos Municípios do sul de Minas Gerais**. Journal of Health NPEPS, 2017.

SOARES, M. R. M. et al. **Escorpionismo em Belo Horizonte, MG: Um estudo retrospectivo, Belo Horizonte**. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 2002.



## PRODUÇÃO DE SILAGEM DE QUALIDADE- RELATO DE EXPERIÊNCIA

*Data de aceite: 01/08/2020*

*Data de submissão: 05/05/2020*

**Lohanna Lima Gomes**

Centro Universitário Fametro- Unifametro  
Fortaleza-Ceará

**Naiara Macedo Fragoso**

Centro Universitário Fametro- Unifametro  
Fortaleza-Ceará

**Sabrina de Oliveira Pequiar**

Centro Universitário Fametro- Unifametro  
Fortaleza-Ceará

**Cláudio Henrique Almeida de Oliveira**

Engenheiro agrônomo, Doutor em Biotecnologia da agropecuária – RENORBIO, Docente do curso de medicina veterinária, Centro Universitário Fametro- Unifametro  
Fortaleza - Ceará

**RESUMO:** A estacionalidade na produção de volumosos é uma realidade recorrente em muitos sistemas de produção animal. Tendo em vista que, o Nordeste é uma região que apresenta distribuição irregular das chuvas com longos períodos de estiagem, as técnicas de conservação de forragem tornam possível a disponibilidade de alimento durante todo o ano, permitindo aos produtores a renda constante.

Assim, objetivou-se neste trabalho, relatar a experiência vivenciada na atividade prática supervisionada (APS) sobre a produção de silagem de qualidade. Para realizar o trabalho foi utilizado o capim elefante, que por sua vez foi cortado, compactado dentro de um recipiente de vidro com tampa e por fim, armazenado durante trinta dias através de uma fermentação anaeróbica. Após a abertura do silo foi observado um material com cheiro agradável (adocicado), sem presença de fungos, alta umidade e coloração amarela, parâmetros estes que indicam uma silagem de qualidade. Assim, pode-se concluir que, a experiência vivenciada na APS de forragicultura foi de grande enriquecimento para o grupo e que a silagem é um meio de conservação de forragens, qual oferecem diversas vantagens dentro do sistema de produção animal.

**PALAVRAS-CHAVE:** Forragem. Fermentação. Nordeste. Capim elefante.

### QUALITY SILAGE PRODUCTION: EXPERIENCE REPORT

**ABSTRACT:** Seasonality in the production of roughage is a recurring reality in many animal production systems. Bearing in mind that the Northeast is a region that presents an irregular

distribution of rainfall with long periods of drought, forage conservation techniques make the availability of food possible throughout the year, allowing producers a constant income. Thus, the objective of this work is to report the experience of supervised practical activity (PHC) on the production of quality silage. To carry out the work, elephant grass was used, which in turn was cut, compacted into a glass container with a lid and finally stored for thirty days through anaerobic fermentation. After the opening of the silo, a material with a pleasant (sweet) smell was observed, without the presence of fungi and high humidity and yellow color, parameters that indicate a quality silage. Thus, it can be concluded that the experience of the forage PHC was of great enrichment for the group and that silage is a means of preserving forages that offer several advantages within the animal production system.

**KEYWORDS:** Forage. Fermentation. Northeast. Elephant grass.

## 1 | INTRODUÇÃO

As técnicas de conservação de forragem são de grande importância para alimentação animal, principalmente nos períodos críticos do ano de escassez de volumosos. O objetivo principal desta tecnologia é o aproveitamento de volumosos nos períodos chuvosos, que é abundante em quantidade e qualidade, para serem armazenados e disponibilizados no período de estiagem do ano, mantendo a qualidade nutritiva da forragem (Araujo Neto et al, 2000).

A região nordeste do Brasil apresenta uma forte sazonalidade climática, onde essa distribuição irregular aumenta ou diminui a oferta de forragens em determinados períodos do ano. Seguindo este contexto, foi proposto métodos de conservação de forragens como alternativa para evitar a escassez de alimentos no sistema de produção animal (Neumann et al., 2010), sendo a silagem o método de conservação com destaque entre os produtores devido a tecnologia de produção simples e os excelentes resultados (Nascimento et al., 2013).

A Silagem pode ser definida como a forragem verde, succulenta, conservada por meio de um processo de fermentação anaeróbica. A ensilagem é o processo de cortar a forragem, colocar no silo, compactar e proteger com a vedação (Amin; Paula, 2009). Contudo, silo é a estrutura ou local de armazenamento da silagem. (Novaes et al., 2004). Desse modo, para manter o valor nutricional do alimento armazenado, é necessário que o procedimento de ensilagem seja realizado de forma correta. As propriedades rurais podem estocar a silagem de vários tipos de silos, tais como: superfície, trincheira, cincho, tambores, sacos plásticos ou Bunker.

O objetivo deste trabalho é relatar a experiência vivenciada na atividade prática supervisionada (APS) da disciplina de forragicultura, voltada para a produção de silagem de qualidade.

## 2 | MATERIAS E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido na APS de forragicultura do curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário Fametro, no semestre de 2019.1. A atividade consistiu em produzir uma silagem de qualidade em miniatura.

Para a produção da mini-silagem, o grupo realizou as seguintes etapas: inicialmente realizaram a escolha e coleta da gramínea (Capim elefante) em uma pequena propriedade rural. Após a colheita, o Capim elefante foi triturado em uma máquina forrageira, com o objetivo de facilitar o acondicionamento no silo. Posteriormente, o material foi bem compactado dentro de um recipiente de vidro, onde foi utilizado como silo para evitar o acúmulo de oxigênio e proliferação de fungos e bactérias aeróbicas. Após a constante compactação e enchimento do recipiente, o mesmo foi vedado com plástico e com a tampa de rosca. O recipiente com o material compactado foi armazenado sem manuseio durante no mínimo 21 dias.

A avaliação da qualidade da silagem foi realizada em sala de aula após abertura do silo em miniatura e avaliação dos seguintes parâmetros: presença ou ausência de fungos, odor adocicado ou desagradável, presença de umidade e coloração do material fermentado.

## 3 | RESULTADOS E DISCUSSÕES

A silagem produzida no presente trabalho foi aberta após trinta dias em sala de aula e apresentou as seguintes características: cheiro agradável (adocicado), sem presença de fungos e alta umidade e coloração amarelo claro (figura 1)



Figura 1: Aplicação das técnicas de conservação de forragens na prática e produção de silagem e feno de qualidade. Fonte: Próprio autor.

Com base nos estudos em sala de aula e pesquisa em artigos científicos sobre o procedimento de produção da silagem, as características positivas observadas no material foram obtidas devido à realização de uma picagem e compactação bem feita,

esta promoveu ao método de conservação da forragem condição de anaerobiose, onde um grupo de microrganismos através da fermentação anaeróbica promoveu a queda do pH do material, com a produção de ácido láctico, garantindo assim, a conservação do valor nutricional do material por um longo período de tempo até a abertura do silo (Woolford 1984; Pereira e Santos, 2006). A abertura do silo só pode ser realizada em seguida de vinte um dias do preparo do material, podendo ficar armazenado por anos.

Quando o procedimento é realizado corretamente, promove benefícios como: fonte de energia e alta aceitabilidade pelos animais, manutenção do valor nutricional do alimento para ser utilizado em períodos críticos do ano e o material pode ser armazenado em estruturas grande ou em estruturas mais simples, como tambores e sacos plásticos. A utilização de um pote de vidro usado na presente APS, apresenta os mesmos princípios químicos e etapas da produção de silagem no campo em um silo de trincheira ou de superfície, o que muda são as proporções de material armazenada, trabalho e equipamentos utilizados.

As forrageiras mais utilizadas para confecção da silagem são o milho, sorgo, capim elefante e cana de açúcar. Dentre elas, o capim elefante foi escolhido para o trabalho, devido a facilidade e abundância na região. O capim elefante está entre as forrageiras que apresentam maior produção em períodos chuvosos. No entanto, o seu corte fora do período de maturação pode apresentar alto teor de umidade, prejudicando o processo de fermentação anaeróbica, limitando o teor de matéria seca do material e a proporção da água presente durante o procedimento de ensilagem, podendo indicar aumento no pH e na concentração de ácido butírico e amônia, que não são desejáveis durante o processo (Vilela et al., 1983). Neste caso, o emurchecimento do material antes de ser picado e compactado seria uma alternativa para evitar esse problema (Wilkinson, 1983), contudo, no trabalho não foi observado problemas de alta umidade, mostrando que, o Capim elefante foi cortado no momento correto e com um bom teor de matéria seca.

A região nordeste do Brasil apresenta uma forte sazonalidade climática, onde essa distribuição irregular aumenta ou diminuir a oferta de forragens em determinados períodos do ano. Por essa razão, foi proposto métodos de conservação de forragens como alternativa para evitar a escassez de alimentos no sistema de produção animal (Neumann et al., 2010), sendo a silagem o método de conservação com destaque entre os produtores devido a tecnologia de produção simples e os excelentes resultados (Nascimento et al., 2013).

Deste modo, para manter o valor nutricional do alimento, é necessário que o procedimento seja feito de forma correta, obedecendo todos os procedimentos necessários para a produção da silagem de qualidade. No trabalho vivenciado, as únicas dificuldades foram na busca da planta forrageira, pois a faculdade está inserida no centro da cidade além da falta de equipamentos para triturar o material, que foi conseguido em uma pequena propriedade no momento da compactação, que é a etapa crucial para uma fermentação adequada.

## 4 | CONCLUSÃO

Conclui-se que, a experiência vivenciada na APS de forragicultura foi de grande enriquecimento para a vida profissional dos futuros Médicos Veterinários, onde puderam presenciar e realizar todas as etapas de produção de silagem de qualidade, identificando e solucionando as principais dificuldades encontradas durante o processo de ensilagem.

Assim, a experiência com a produção da silagem, mostrou ao grupo que essa técnica oferece diversas vantagens para o produtor rural do nordeste brasileiro, tais como: procedimento simples e fácil e que quando bem executado, pode ser armazenado por um bom período de tempo e que conserva o seu valor nutricional, apresenta uma boa aceitabilidade pelos animais, o que aumenta significativamente a produtividade das propriedades rurais.

## REFERÊNCIAS

- ARAUJO NETO, R.B. de & CAMARA, J.A. da S. **Conservação de forragem: fenação e silagem**. Teresina: Embrapa Meio-Norte. 2000. 16p. (Embrapa Meio-Norte. Recomendações Técnicas, 6)
- AMIN, W. G.; MELLO, S. P. **Avaliação da qualidade das silagens de girassol, milho, sorgo e milheto em diferentes espaçamentos**. Nucleus Animalium, v. 1, n. 1, p. 1-14, 2009.
- NASCIMENTO, M. C. O. et al. **Armazenamento de forragem para caprinos e ovinos no semiárido nordestino**. Agropecuária Científica no Semiárido, v. 9, n. 4, p. 20-27, 2013.
- NEUMANN, M.; OLIBONI, R.; OLIVEIRA, R.M.; FARIA, M.V.; UENO, R.K.; REINERH, L.L.; DURMAN, T. **Aditivos químicos utilizados em silagens**. Pesquisa aplicada & Agrotecnologia, v. 3, n. 2, 2010
- NOVAES, L.P.; Lopes, F. C.F.; Carneiro, J. C. **Silagem: Oportunidades e pontos críticos**. Juiz de Fora/MG, Embrapa, Comunicado Técnico 43, 2004.
- PEREIRA, O. G. , SANTOS, E. M. **Microbiologia e o processo de fermentação em silagens**. In: PEREIRA, O. G., OBEID, J. A., NASCIMENTO JÚNIOR, D., FONSECA., D.M. (Eds.). III Simpósio sobre manejo estratégico da pastagem. Viçosa, 2006, p.393-430.
- VILELA, D.; RODDEN, B.; OLIVEIRA, J. S. e. **Avaliação da silagem de capim elefante acondicionado a vácuo em silos de superfície, utilizando-se novilhas em sistema de auto-alimentação**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.1 8, n.6, p.663-693, 1983.
- WILKINSON, J.M. **Valor alimentício de las forrageras ensiladas de clima tropical y templado**. Revista Mundial de Zootecnia, Roma, n.46, p.35-40, 1983.
- WOOLFORD, M.K. **The silage fermentation**. New York (EUA): Marcel Dekker, 350p, 1984.



## RELATO DE CASO: PNEUMONIA ASPIRATIVA EM CÃO ASSOCIADO A FISILOGIA

Data de aceite: 01/08/2020

Data de submissão: 05/05/2020

**Lohanna Lima Gomes**

Centro Universitário Fametro- Unifametro  
Fortaleza-Ceará

<http://lattes.cnpq.br/6506000814027324>

**Carlos Eduardo Azevedo Souza**

Médico Veterinário, Docente do curso de Medicina Veterinária, Centro Universitário Fametro- Unifametro  
Fortaleza-Ceará

<http://lattes.cnpq.br/7336621868504397>

**RESUMO:** Pneumonia aspirativa é uma infecção causada pela inalação de conteúdos estomacais regurgitados devido a causas primárias, como refluxo gastroesofágico. O presente trabalho relata um caso clínico de um paciente da raça Schnauzer de 01 ano de idade, encaminhado à clínica com histórico de vômitos, diarreia e alterações na frequência respiratória, com dispneia recente. Com base na anamnese, exames físicos e complementares diagnosticou-se pneumonia por aspiração. O cão foi submetido a tratamento e hoje se encontra estável. A anamnese e os exames físicos prévios somados à radiologia

foram essenciais para chegar ao diagnóstico e tratamento eficaz.

**PALAVRAS-CHAVE:** Refluxo. Pneumonia. Dispneia. Radiografia.

### CASE REPORT: ASPIRATIVE PNEUMONIA IN A DOG ASSOCIATED WITH PHYSIOLOGY

**ABSTRACT:** Aspiration pneumonia is an infection caused by inhaling regurgitated stomach contents due to primary causes, such as gastroesophageal reflux. The present work reports a clinical case of a 01 year-old Schnauzer patient, referred to the clinic with a history of vomiting, diarrhea and changes in respiratory rate, with recent dyspnea. Based on anamnesis, physical and complementary tests, aspiration pneumonia was diagnosed. The dog was treated for such condition and is now stable. Anamnesis and previous physical examinations, in addition to radiology, were essential for an effective diagnosis and therapy.

**KEYWORDS:** Reflux. Pneumonia. Dyspnea. Radiography.

### 1 | INTRODUÇÃO

O refluxo gastroesofágico é definido como o retorno passivo do conteúdo gástrico

para o esôfago. Na junção do esôfago com o estômago existe o esfíncter esofágico inferior. Esse esfíncter atua como área de pressão que faz com que o fluxo do alimento seja unidirecional (WATERMAN & HASHIM, 1991; STROMBECK & GUILFORD, 1996; TAMS, 2005). Mesmo não havendo muitas pesquisas com ênfase especificamente no refluxo gastroesofágico em cães, há relatos de que é uma das causas mais comuns de esofagite (TAMS, 2005). Os principais problemas decorrentes do refluxo são a formação de estenose e pneumonia aspirativa secundária, que apresenta sinais clínicos como tosse, dispneia e taquipneia (ADAMAMA-MORAITOU et al., 2002; SELLON & WILLARD, 2003).

A pneumonia é uma infecção nos pulmões, de origem bacteriana ou viral, cujo desenvolvimento pode ser predisposto pela aspiração de corpos estranhos pelos pulmões. A inalação de fluidos e secreções para a laringe e trato respiratório inferior, pode facilitar, como consequência patológica, a infecção descrita como pneumonia por aspiração (PETROIANNI et al., 2006). A predisposição à pneumonia aspirativa sugere que se deve tratar com cautela o refluxo gastroesofágico. Partindo desse pressuposto, o objetivo deste trabalho é relatar um caso clínico de pneumonia aspirativa decorrente de um episódio de refluxo.

## 2 | METODOLOGIA

Paciente de raça Schnauzer miniatura, macho, com 01 ano de idade, foi atendido na unidade clínica com histórico de êmese, diarreia, alterações na frequência respiratória e dispneia recentes. No exame físico, foi observado o tempo de preenchimento capilar menor que três segundos, temperatura normal e mucosas normocrômicas. À auscultação, foi identificada a presença de estertores, com maior intensidade no campo pulmonar direito. Foram solicitados exames complementares, incluindo hemograma completo, alanina aminotransferase (ALT), creatinina, e radiografia de tórax e esôfago.

## 3 | RESULTADOS E DISCUSSÕES

Hemograma completo		
Série Eritrocitária	Valores encontrados	Valores de referência espécie canina
Eritrócitos(/mm <sup>3</sup> )	5.930.000	5.500.000-8500.000
Hemoglobina(g/dl)	13.9	dez/18
Hematócrito	41.0	37-55
V.G.M (fL)	69.1	60-77
C.H.G.M	33.9	32-36
Proteína Tot. plasmática(g/dl)	6.8	6.0-8.0
Plaquetas	371.000	200.000 a 500.000/mm <sup>3</sup>

Série leucocitária	Valores encontrados		Valores referencias espécie canina	
Leucócitos(/mm <sup>3</sup> )	20.200/mm <sup>3</sup>		6.000	17.000/mm <sup>3</sup>
Mielócitos	0	0	0	0
Metamielócitos	0	0	0	0
Bastões	0	0	00-03	00-30
Segmentados	77	15.554	60-77	3000-11.500
Linfócitos	22	4.444	12-30	1.000-4.800
Eosinófilo	1	202	02-10	100-1.250
Basófilos	0	0	RAROS	
Monócitos.	0	0	03-10	150-1.350

A.L.T. (TGP)

RESULTADO.....:60,00 UI/L

Valores de referência espécie canina

21 a 102U/L Método: cinético UV-IFCC

Amostra: Soro

CREATININA

RESULTADO.....:0,60 mg/dl

Valores de referência espécie canina 0,5 a

1,5mg/dl Método: cinético

Amostra: Soro



Imagem 1: Radiografia de tórax em projeção ventro-dorsal.



Imagem 2: Radiografia do tórax em projeção lateral.

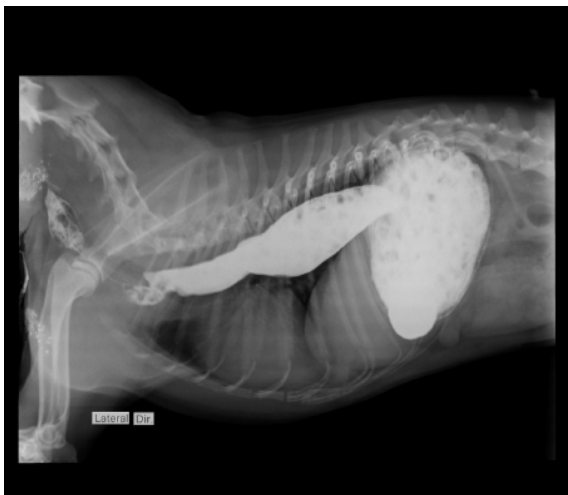


Imagem 3: Radiografia de esôfago com contraste, projeção lateral

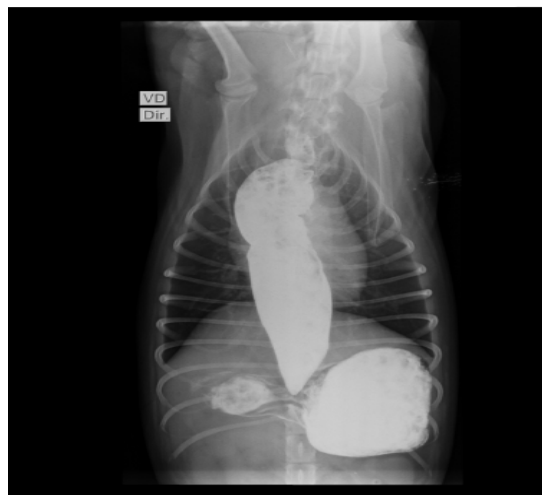


Imagem 4: Radiografia de esôfago com contraste, projeção ventro-dorsal

O hemograma mostra um aumento significativo nos leucócitos, sugerindo um processo inflamatório, enquanto os achados bioquímicos estavam dentro do padrão de normalidade. Nas radiografias de tórax foi detectada presença de discreto conteúdo gasoso e severa opacidade nos campos pulmonares no lobo médio direito sugerindo processo infiltrativo. Ao avaliar as imagens radiográficas do esôfago, constatou-se a presença de conteúdo gasoso nas cavidades gástricas, ausência de corpos estranhos radiopacos e com um discreto deslocamento do trajeto da traqueia torácica e da silhueta cardíaca provocado pelo acúmulo de gás no esôfago, apontando a presença de megaesôfago parcial.

O termo megaesôfago é descrito como alargamento do esôfago. A primeira descrição do megaesôfago foi feita por Sir Thomas Willis em 1674, quando o mesmo sugeriu tratar-se de uma doença em que era perdida a inibição do esôfago distal. Atualmente estudos comprovaram que é uma condição causada pela destruição ou falta dos plexos nervosos presentes no esôfago que resultam na distensão esofágica com ausência de peristaltismo (TILLEY et al., 2003). As causas dessa afecção podem ser primárias ou secundárias (ETTINGER et al., 1997). O não relaxamento total do esfíncter inferior permite o livre refluxo de conteúdo gástrico. Esse refluxo gastroesofágico irá induzir a inflamação do mesmo devido a um quadro constante de vômitos (FOSSUM et al., 1997). Essa inflamação é chamada de esofagite, no cão sendo o refluxo considerado a causa mais comum (ADAMAMA-MORAITOU et al., 2002). No entanto o refluxo gastroesofágico não é descrito e relatado na medicina veterinária como na medicina humana (WILSON et al., 2006a). As principais complicações dessa afecção são a estenose esofágica e a pneumonia aspirativa secundária aos episódios de regurgitação, associado com sinais respiratórios como tosse, taquipneia ou dispneia (ADAMAMAMORAITOU et al., 2002; SELLON & WILLARD, 2003).

Os achados na literatura corroboram com os dados no presente relato de caso, onde

o paciente apresentou todos os episódios descritos acima. Os resultados da radiografia confirmam o megaesôfago (imagens 3 e 4) e como pode se observar a presença de conteúdo gasoso no pulmão (imagem 1 e 2). Com os exames somados a anamnese chegou-se ao diagnóstico de pneumonia aspirativa. Para o tratamento foram prescritos os medicamentos Domperidona 0,1 mg/kg, 3x ao dia, de forma contínua. Como antibioticoterapia, a associação de Sulfadimetoxina e ormetoprim, na dose de 160 mg/kg no primeiro dia de tratamento e 80 mg/kg 1x ao dia durante três dias, e finalmente o uso da doxiciclina 10mg/kg 1x ao dia durante quatorze dias. Foi prescrito também o uso de anti-inflamatório (Prednisolona) 1 mg/kg 1x ao dia, durante sete dias, e broncodilatador (Aminofilina) 6 mg/kg 3x ao dia. Por fim para controle dos vômitos e refluxo, Metoclopramida 0,5 mg/kg, 3x ao dia, Omeprazol 1 mg/kg, 2x ao dia durante quinze dias e alimentação em pequenas quantidades 6x ao dia mantendo o comedouro e bebedouro elevados para que a cabeça não fique baixa durante a ingestão do alimento. O animal fez todo o tratamento indicado e o estado do paciente hoje é estável com boa escore corporal mas, como consequência dos quadro apresentado, um retardo de crescimento.

#### 4 | CONCLUSÃO

Com base nos estudos da fisiologia pode-se associar esta infecção a alterações nos sistemas digestivo, que afetaram o sistema respiratório, levando a mudança no equilíbrio homeostático do organismo e resultando em pneumonia. O refluxo originado do acúmulo de alimento no esôfago resultou em vômitos, levando a um desequilíbrio na calemia. Como consequência do refluxo, o animal adquiriu pneumonia aspirativa, ao aspirar conteúdos durante ato de vomitar, essa infecção irá alterar o funcionamento de troca gasosa devido a inflamação dos alvéolos pulmonares, o que causará dificuldade de inspiração e expiração, além do desconforto torácico na hora de inflar o pulmão para realizar a ventilação pulmonar. Neste relato, as informações colhidas durante a anamnese e os exames radiológicos foram essenciais para o diagnóstico

#### REFERÊNCIAS

ADAMAMA-MORAITOU, K.K. et al. **Benign esophageal stricture in the dog and cat: a retrospective study of 20 cases**. Canadian Journal of Veterinary Research, v.66, n.1, p.55- 59, 2002. Disponível em: Acesso em: 06 abr. 2010.

FOSSUM, T.W. **Cirurgia de pequenos animais**. São Paulo: Roca, p. 286-87, 1997.

PETROIANNI, A. et al. **Aspiration pneumonia. Pathophysiological aspects, prevention and management**. A review. Panminerva Med, 48 (4), 231-239 , 2006.

SELLON, R.K.; WILLARD, M.D. **Esophagitis and esophageal strictures**. Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice, v.33, n.5, p.945-967, 2003.



TILLEY, L.P.; SMITH, F.W.K. **Consulta Veterinária em 5 Minutos**. 2 ed. Barueri: Manole, p. 942-43, 2003.

TAMS, T.R. **Doenças do esôfago. Gastroenterologia de pequenos animais**. São Paulo: Roca, cap.4, p.115-153, 2005.

TWED, D.C.; ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. **Tratado de medicina interna veterinária**. 4 ed. São Paulo: Manole, p. 1562-67, 1997.

WATERMAN, A.E.; HASHIM, M.A. **Measurement of the length and position of the lower oesophageal sphincter by correlation of external measurements and radiographic estimations in dogs**. Veterinary Record, v.129, n.12, p.261- 264, 1991.

WILSON, D.V. et al. **Influence of metoclopramida on gastroesophageal reflux in anesthetized dogs**. American Journal of Veterinary Research, v.67, n.1, p.26-31, 2006a.

# CAPÍTULO 6

## RELATO DE EXPERIÊNCIA NA ATIVIDADE DE MONITORIA DA DISCIPLINA DE SEMIOLOGIA VETERINÁRIA

*Data de aceite: 01/08/2020*

*Data de submissão: 06/05/2020*

**Ana Carolina Barbosa Tórmena**

Universidade Federal de Jataí

Jataí – GO

<http://lattes.cnpq.br/1058473109785071>

**Klaus Casaro Saturnino**

Universidade Federal de Jataí

Jataí – GO

<http://lattes.cnpq.br/6894735942112278>

**Dirceu Guilherme de Souza Ramos**

Universidade Federal de Jataí

Jataí – GO

<http://lattes.cnpq.br/8459938386121997>

**Fábio Fernandes Bruno Filho**

Universidade Federal de Jataí

Jataí – GO

<http://lattes.cnpq.br/9342294228099533>

**Wanessa Ferreira Ataíde**

Universidade Federal de Jataí

Jataí – GO

<http://lattes.cnpq.br/6584897928711939>

**Rafaela Assis Oliveira**

Universidade Federal de Jataí

Jataí – GO

<http://lattes.cnpq.br/672798320533725>

**Eric Arantes da Silva**

Universidade Federal de Jataí

Jataí – GO

<http://lattes.cnpq.br/6348749462856464>

**Rafaela Barcelos Barbosa Pinto**

Universidade Federal de Jataí

Jataí – GO

<http://lattes.cnpq.br/5902393674189473>

**Ana Claudia Carvalho da Silva**

Universidade Federal de Jataí

Jataí – GO

<http://lattes.cnpq.br/8196902525373343>

**Lucas Reis Vieira**

Centro Universitário do Triângulo

Uberlândia – MG

**Sheyla Lauriane Cruz Jales**

Universidade Federal de Uberlândia

Uberlândia – MG

<http://lattes.cnpq.br/7413660171191946>

**Maria Angélica Silva Rodrigues Ferreira**

Universidade Federal de Uberlândia

Uberlândia – MG

<http://lattes.cnpq.br/8210608687497802>

**RESUMO:** O processo de ensino-aprendizagem gera grande demanda de atividades e ensinamentos aos alunos cursantes das disciplinas. O aluno exerce atividade incondicional, no auxílio ao professor durante a

condução das aulas, além do acompanhamento aos alunos com dificuldades no aprendizado de algumas disciplinas. Foram acompanhadas as aulas da disciplina de Semiologia Veterinária durante o período do primeiro semestre letivo do ano de 2017. Tornou-se possível verificar a importância das atividades de monitoria, para os processos de ensino e, aprendizado por parte dos alunos, bem como a sua influência na formação pessoal e profissional do aluno monitor.

**PALAVRAS-CHAVE:** medicina veterinária, monitoria, semiologia veterinária

## EXPERIENCE REPORT IN THE MONITORING ACTIVITY OF THE VETERINARY SEMIOLOGY DISCIPLINE

**ABSTRACT:** The teaching-learning process generates a great demand for activities and teachings to students taking courses in the disciplines. The student performs unconditional activity, without assistance to the teacher while conducting classes, in addition to accompanying students with difficulties in learning some subjects. They were followed as classes in the discipline of Veterinary Semiology during the period of the first academic semester of 2017. It became possible to verify the importance of monitoring activities, for the teaching and learning processes of some students, as well as their influence on personal training. and professional student monitor.

**KEYWORDS:** veterinary medicine, monitoring, veterinary semiology

### 1 | INTRODUÇÃO

Durante a formação acadêmica, do Curso de Medicina Veterinária, é requerido aos alunos o aprendizado teórico sobre diversos assuntos relacionados à Semiologia Veterinária, além do domínio prático de técnicas semiológicas executadas durante a rotina Médico Veterinário. Genericamente, os componentes curriculares dos cursos de graduação em Medicina Veterinária preveem a formação de um profissional generalista, humanista e crítico, capaz de desempenhar suas atividades em todos os campos de atuação do médico veterinário (LESNAU; SANTOS, 2013).

A disciplina de Semiologia Veterinária é de extrema importância para o diagnóstico clínico através da interpretação das informações obtidas pela anamnese e exame físico metódico, e também é pré-requisito para as disciplinas de clínica médica de animais de companhia e produção. A mesma aborda tópicos como exame físico geral ou de rotina, além de exames específicos dos sistemas cardiovascular, respiratório, urinário, digestório de ruminantes e não ruminantes, locomotor, nervoso, reprodutor masculino e feminino, e tegumentar de pequenos e grandes animais. Tendo por objetivo a capacitação dos discentes na observação de signos não verbais que ajudarão a compor um melhor diagnóstico.

Nesse sentido, a presença do monitor durante as aulas práticas é de suma importância

ao aprendizado dos cursantes da disciplina. Além do mais, o auxílio durante os momentos, que não em aula, permite o reforço da técnica prática e maior fixação do conteúdo teórico.

## 2 | OBJETIVOS

O presente estudo teve por objetivo relatar as experiências adquiridas durante a realização da monitoria acadêmica junto à disciplina de Semiologia Veterinária, do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Goiás-UFG, Regional Jataí.

## 3 | METODOLOGIA

A disciplina de Semiologia Veterinária, ofertada aos alunos do quinto período da graduação, possui a carga horária de 80 horas, sendo administradas 48 horas de conteúdo teórico e 32 horas de prática. Os assuntos abordados durante as aulas práticas da disciplina foram ministradas na área experimental destinada ao atendimento clínico de animais de produção da UFG Jataí, e no Hospital Veterinário, para animais de companhia, sob coordenação da Dra. Professora Cecília Nunes Moreira.

As aulas práticas eram formadas por subturmas de alunos inscritos na disciplina, com 8 a 12 discentes por turma, atendendo as Diretrizes Curriculares Nacionais para os Cursos de Medicina Veterinária. Os inscritos na disciplina realizaram diversas atividades de investigações semiológicas obedecendo ao planejamento descrito na ementa da disciplina. O ensino dos testes semiológicos dos sistemas cardiovascular, respiratório, urinário, digestivo de ruminantes e não ruminantes, locomotor, nervoso e reprodutor feminino e masculino, de pequenos e grandes animais, dentre outros, foram conduzidos sob auxílio do monitor.

Na realização de práticas com animais de produção, o aluno monitor atuou na demonstração individual de todos os instrumentos utilizados para realização dos exames, como os diversos tipos de sondas nasogástricas, plexores e plexímetros, estetoscópios, termômetros, aparelho de iluminação, luvas de procedimento e de palpação retal, otoscópio, especules vaginais, frascos de acondicionamento de amostras e diferentes exemplos de ferramentas para contenção dos animais utilizados no processo, entre outros. Durante o ensino das técnicas de como realizar os testes semiológicos, tais como teste da gaveta e manobra do sinal de ortolani para avaliação de membros locomotores de pequenos animais, teste de estase venoso positivo ou negativo e teste do pulso carótido transmitido para visualização de afecções cardiovasculares, teste de reação de posicionamento proprioceptivo e teste de reação do impulso postural extensor para estudo de patologias no sistema nervoso central, foram demonstradas as ferramentas utilizadas na execução, bem como o posicionamento ideal do animal e do discente para a melhor realização do

mesmo, além do que foram discutidas as diferentes interpretações possíveis em situações normais e em casos de enfermidade na anatomia testada. Ressalta-se que todos os exames ocorridos foram todos supervisionados pelo discente monitor.

O reforço aos alunos com maiores dificuldades no aprendizado dos conteúdos foi realizado estabelecendo-se uma programação semanal, disponibilizado aos alunos. Durante as monitorias a este grupo de estudantes foram abordados assuntos conceituais, de realização e interpretação dos testes semiológicos. Além do mais, realizou-se o estudo de casos clínicos, com o objetivo de concretizar o que foi aprendido e aumentar a sensibilidade dos estudantes em relação aos exames semiológicos. Por fim, foi discutido e ressaltado a importância da anamnese e o prognóstico em todos os casos apontados durante os reforços.

#### 4 | RELATO DE EXPERIÊNCIA

Durante o período de assessoramento ao professor durante aulas teóricas e práticas, além dos alunos, foi possível compreender a importância em que a atividade de monitoria exerce sobre a própria formação acadêmica do aluno monitor. Destacam-se o entendimento aprofundado das técnicas de realização dos testes gerais e específicos semiológicos, bem como o aprendizado da oratória e liderança de grupos, importantes ao monitor que almeja ingressar na carreira acadêmica, como relatado por BORSATTO et al. (2006)

Foi possível verificar maior fugacidade e agilidade do professor na ministração das aulas práticas na presença do aluno monitor. Essa observação se faz verdadeira devido ao fato do monitor ser capaz de atuar na preparação dos materiais utilizados em aula, além da disseminação do conteúdo ensinado, durante as aulas, aos alunos cursantes da disciplina. HAAG et al (2008) relata sobre a importância positiva dos programas de monitoria no processo de ensino-aprendizagem.

Em debate direto com os alunos verificou-se que a satisfação dos mesmos em relação à forma em que as aulas foram conduzidas, por ocasião da participação do monitor, auxiliando nas aulas práticas e dinâmicas realizadas. Acrescenta-se que foi possível também, verificar a melhora nos índices de aprendizado de alunos com dificuldades de aprendizado que foram acompanhados pelo monitor durante o período letivo, isto se faz verdadeiro devido ao fato de que, aqueles que compareciam assiduamente as monitorias foram os que obtiveram maiores notas e índices de aproveitamento na disciplina, com médias acima de 85%. Por outro lado, aos que não acompanhavam com frequência os reforços obtiveram notas menores, com médias abaixo de 70%, e, por fim, aos que nunca marcaram presença foram não alcançaram a média estabelecida pela emenda, sendo assim, reprovados.



## 5 | CONCLUSÃO

De posse dos resultados obtidos durante e no fim do período de aula é possível verificar a importância em que o aluno monitor exerce durante o auxílio às aulas e alunos. A atividade de monitoria contribui diretamente para a formação pessoal e profissional do monitor, além de um melhor aproveitamento da disciplina por parte dos alunos cursantes.

## REFERÊNCIAS

1. BORSATTO, A Z DA SILVA, P. D. D; ASSIS, F. et al. Processo de implantação e consolidação da monitoria acadêmica da UERJ e na Faculdade de Enfermagem (1985-2000). **Revista enfermagem UERJ**, v. 10, n. 2, p.187-194, 2006.
2. BRASIL, Universidade Federal de Goiás, Coordenação de Medicina Veterinária. **Disciplinas do curso, sugestão de período, curso responsável, pré-requisitos, unidade responsável, carga horária, núcleo e natureza**. Jataí, 2017. Disponível em:<<https://veterinaria.jatai.ufg.br/15207-matriz-curricular-com-sugestao-de-fluxo>> Acesso em: 17 set 2017a.
3. BRASIL, Universidade Federal de Goiás, Coordenação de Medicina Veterinária. **Projeto Político-pedagógico do Curso de Graduação em Medicina Veterinária**. Jataí, 2017. Disponível em: <<https://veterinaria.jatai.ufg.br/p/6571-projeto-pedagogico-do-curso-ppc-medicina-veterinaria-regional-jatai>> Acesso em: 17 set 2017a.
4. HAAG, G. S; KOLLING, V; SILVA, E, MELO, S. C. B; PINHEIRO, M. Contribuições da monitoria no processo ensino-aprendizagem em enfermagem. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 61, n. 2, p. 215-220, 2008.
5. LESNAU, G. G; SANTOS, F S. Formação dos Acadêmicos de Medicina Veterinária no Processo de Morte ou Morrer. **Biosci. J.**, Uberlândia, v 29, n. 2, p.429-433, mar. 2013.
6. FEITOSA, Francisco Leydson F., **Semiologia Veterinária: A Arte do Diagnóstico**. nº. ed. 2. São Paulo: Roca, 2008.

## RESÍDUOS DE MEDICAMENTOS EM ALIMENTOS DE ORIGEM ANIMAL

*Data de aceite: 01/08/2020*

*Data de submissão: 25/04/2020*

### **Isabella Pissinati Marzolla**

Discente do Mestrado Profissional em Clínicas  
Veterinárias - Universidade Estadual de Londrina  
Londrina – Paraná

<http://lattes.cnpq.br/2358532391059100>

### **Jessica Lucilene Cantarini Buchini**

Discente do Mestrado Profissional em Clínicas  
Veterinárias - Universidade Estadual de Londrina  
Londrina – Paraná

<http://lattes.cnpq.br/2554578969720487>

### **Giovanna Caroline Galo Martins**

Discente do Mestrado Profissional em Clínicas  
Veterinárias - Universidade Estadual de Londrina  
Londrina – Paraná

<http://lattes.cnpq.br/0984550968769769>

### **Angélica Rodrigues de Amorim**

Discente do Mestrado Profissional em Clínicas  
Veterinárias - Universidade Estadual de Londrina  
Londrina – Paraná

<http://lattes.cnpq.br/3663496787791165>

### **Suellen Túlio Córdova Gobetti**

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. do Departamento de Clínicas  
Veterinárias - Universidade Estadual de Londrina  
Londrina – Paraná

<http://lattes.cnpq.br/0817507488198448>

### **Wilmar Sachetin Marçal**

Prof<sup>o</sup>. Dr<sup>o</sup>. do Departamento de Clínicas  
Veterinárias - Universidade Estadual de Londrina  
Londrina – Paraná

<http://lattes.cnpq.br/0554515776993105>

**RESUMO:** O trabalho teve como objetivo investigar por meio de pesquisa consultiva, se produtores do Paraná procuram estabelecer as boas práticas no uso de medicamentos, a fim de evitar a contaminação dos alimentos. A pesquisa foi realizada por meio de questionário virtual. O método de amostragem utilizado foi não-qualitativa. Cooperaram com o trabalho 51 produtores rurais do estado do Paraná. De acordo com os resultados encontrados, foi observado que boa parte dos produtores não fazem consulta com o médico veterinário, e que acabam utilizando medicamentos fora do prazo de validade. Foi possível concluir que são necessárias medidas para estabelecer as boas práticas no uso de medicamentos veterinários, a fim de garantir a qualidade do alimento, seja para subsistência ou para comercialização, e evitar outros problemas como contaminação ambiental.

**PALAVRAS-CHAVE:** Alimentos. Resíduos. Segurança alimentar.

**ABSTRACT:** The work aimed to investigate, through consultative research, whether producers in Paraná seek to establish good practices in the use of medicines, in order to avoid contamination of food. The survey was carried out through a virtual questionnaire. The sampling method used was non-qualitative. 51 rural producers in the state of Paraná cooperated with the work. According to the results found, it was observed that most of the producers do not consult with the veterinarian, and that they end up using medicines that are out of date. It was possible to conclude that measures are necessary to establish good practices in the use of veterinary medicines, in order to guarantee the quality of the food, either for subsistence or for commercialization, and to avoid other problems such as environmental contamination.

**KEYWORDS:** Food. Waste. Food security.

### INTRODUÇÃO

Os medicamentos veterinários quando usados de forma incorreta podem levar a contaminação do alimento de origem animal devido aos resíduos que podem ficar armazenados nos tecidos, gorduras ou serem secretados pelo leite, comprometendo assim a segurança e a qualidade dos alimentos. Os níveis máximos de resíduos não devem ultrapassar os limites máximos previstos pelo Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes (PNCRC), para carne, leite, ovos, mel e pescado, bem como pelo Programa de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos (PAMVet), para leite UHT, leite em pó e leite pasteurizado (SILVA; SOUZA; CALDAS, 2014).

Como consequência da presença de resíduos nos alimentos, o consumidor pode desenvolver quadros como alergias mais brandas à intoxicação mais severa, gerando sérias consequências para a saúde pública, já que esses aditivos não agregam nenhum valor nutricional para quem está consumindo. Desta forma, este trabalho tem como objetivo verificar por meio de pesquisa consultiva, se produtores do Paraná procuram estabelecer as boas práticas no uso de medicamentos, a fim de evitar a contaminação dos alimentos.

### METODOLOGIA

A pesquisa foi realizada por meio de questionário. Os produtores entrevistados participaram da pesquisa de forma voluntária virtual. A análise de dados foi do tipo não qualitativa. Cooperaram nesta pesquisa 51 produtores rurais do estado do Paraná, das cidades de Jataizinho, Sertanópolis, Assaí, Londrina, Ibiporã, Faxinal, Nova América da Colina, Leopólis, Terra Boa, Jussara, Cianorte, Jaguapitã e Cambé.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os resultados encontrados foi observado que boa parte dos produtores não fazem consulta com o médico veterinário todas as vezes que necessitam utilizar algum produto medicamentoso.

Embora leiam a bula para ver a forma correta de uso dos fármacos e verifiquem a validade dos produtos, por vezes acabam utilizando medicamentos fora do prazo de validade, por conta disso, outra grande preocupação está na taxa de animais intoxicados pelo mau uso dos medicamentos nas propriedades da pesquisa (Gráfico 1). A intoxicação animal pode ter relação também com o nível de conhecimento de quem manipula os produtos, sendo que a maioria não sabe por exemplo o que é período de carência, e que a presença de resíduos de medicamentos nos alimentos podem gerar danos à saúde humana ao consumi-los (Gráfico 2).



Gráfico 1 – Comportamento dos produtores ao ministrar medicamento, e intoxicação animal nas propriedades.

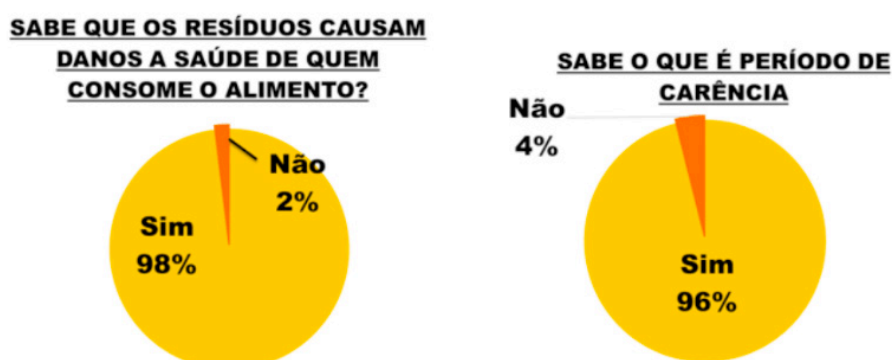


Gráfico 2 – Nível de conhecimentos dos produtores da pesquisa.

Outro ponto observado e de grande importância, está no correto armazenamento dos medicamentos dos quais a maioria dos produtores não observam a temperatura que devem ficar armazenados, além disso o descarte dos frascos é um fator de preocupação para a saúde pública, devido a possibilidade de contaminação ambiental com o descarte incorreto dos produtos (Gráfico 3).

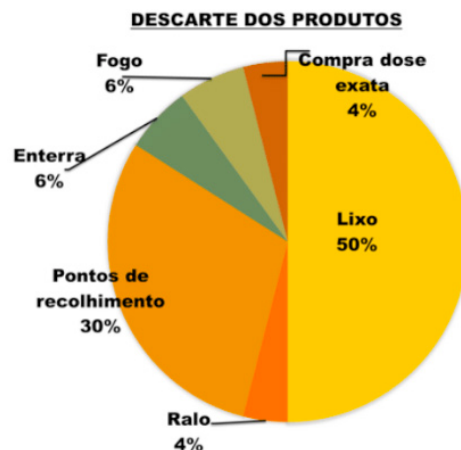


Gráfico 3 –Como é feito o descarte dos frascos dos medicamentos após o uso.

Várias medidas já foram implementadas a fim de tentar solucionar a problemática na presença de resíduos medicamentosos em alimentos, como a proibição do uso de alguns medicamentos como o cloranfenicol, tetraciclinas e sulfonamidas sistêmicas, bem como a regulamentação do uso de avermectinas (CASELANI, 2014).

## CONCLUSÃO

Foi possível concluir que são necessárias medidas para estabelecer as boas práticas no uso de medicamentos veterinários, a fim de garantir a qualidade do alimento, seja para subsistência ou para comercialização, e evitar outros problemas como contaminação ambiental. É preciso uma maior ampliação dos programas governamentais, pois são essenciais para conduzir e avaliar a exposição humana a estes compostos e o potencial risco para a saúde do consumidor, para isto também é preciso regulamentar as vendas nas lojas agropecuárias afim de controlar o uso indiscriminado.

## REFERÊNCIAS

CASELANI, K.. **Resíduos de medicamentos veterinários em alimentos de origem animal**. Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR. Umuarama – PR, v.17, n.3, p. 189-197, jul./set. 2014.

SILVA, E.P.; SOUZA, J.R.; CALDAS, E.D.. **Resíduos de medicamentos veterinários em leite e ovos**. Química Nova. São Paulo, v.37, n.1, p. 111-122, 2014.



## TESTES PARA DETECÇÃO DE INSUFICIÊNCIA RENAL EM CÃES

*Data de aceite: 01/08/2020*

*Data de submissão: 06/05/2020*

**Iana Vilela Resende**

(Bacharel em Medicina Veterinária pelo Centro Universitário de Mineiros, UNIFIMES, Mineiros, GO) <http://lattes.cnpq.br/3246155219339890>

**Karla Irigaray Nogueira Borges**

(Discente no Centro Universitário de Mineiros, UNIFIMES, Mineiros, GO) <http://lattes.cnpq.br/7018148881573140>

**Ísis Assis Braga**

(Discente no Centro Universitário de Mineiros, UNIFIMES, Mineiros, GO) <http://lattes.cnpq.br/8407183420001798>

**RESUMO:** Os testes de avaliação renal detectam o acúmulo de substâncias presentes no sangue e na urina. Estes levam a apresentação de sinais agudos e crônicos, que são oriundas de diversas causas, como: nefrotoxinas, hipotensão, desidratação, isquemia, traumatismos, trombos, entre outras. A insuficiência renal acomete animais de todas as idades e raças. Sua detecção precoce é de extrema importância, pois quanto mais rápido o diagnóstico, melhor será o prognóstico do animal. Hoje, já existem várias formas de

diagnóstico para detecção de insuficiência renal nos cães. O objetivo do presente trabalho é revisar sobre as principais formas de detecção de falência renal em cães.

**PALAVRAS-CHAVE:** Animais. Diagnóstico. Falência. Rim.

### TESTS FOR DETECTION OF KIDNEY INSUFFICIENCY IN DOGS

**ABSTRACT:** The renal evaluation tests detect the accumulation of substances present in the blood and urine. These lead to the presentation of acute and chronic signs, which come from several causes, such as: nephrotoxins, hypotension, dehydration, ischemia, trauma, thrombi, among others. Renal failure affects animals of all ages and races. Its early detection is extremely important, because the faster the diagnosis, the better the animal's prognosis. Today, there are already several forms of diagnosis for detecting renal failure in dogs. The aim of this work is to review the main ways of detecting kidney failure in dogs.

**KEYWORDS:** Animals. Diagnosis. Bankruptcy. Kidney.

## 1 | INTRODUÇÃO

Os rins possuem a função de filtrar o sangue, retirando água e resíduos metabólicos fabricados por variados órgãos, dentre outras substâncias (MORSCH; VERONESE, 2011). Este também é responsável pela produção de prostaglandinas, renina, eritropoietina e cininas, assim como realiza a ativação da vitamina D e é sitio de atuação de outros hormônios. A não funcionalidade dos rins leva a diversos sintomas, como hipertensão arterial, anemia, hiperparatireoidismo, etc. (FORRESTER, 2003).

A insuficiência renal crônica é decorrente da decaída progressiva do número de néfrons operantes nos rins de cães. Por meio da filtração glomerular há excreção de ureia, fósforo, creatinina, dentre outros, os quais são retidos com a perda da função excretora na insuficiência renal (KAWASAKI, 2010).

O processo de lesão celular pode ser causado por um fator renal primário ou por fatores secundários que atuam no avanço da doença (KAWASAKI, 2010).

A taxa de filtração glomerular decai com a perda de função dos rins. Portanto, os produtos normalmente eliminados na urina, oriundos da degradação proteica, são retidos e acumulam na circulação. O excesso destes componentes nitrogenados no sangue, denomina-se azotemia, sendo assim encontrados níveis de creatinina e ureia aumentados no mesmo. Os sinais clínicos apresentados nos animais, são secundários a azotemia e denominados de uremia. Se não houver presença de sinais clínicos, o animal está azotêmico e não urêmico. (MENESES, 2011).

Brown et al. (1997, p. 100) afirma:

A insuficiência renal apresenta duas fases, aguda e crônica. A fase aguda é caracterizada pela reversibilidade dos danos morfológicos, podendo haver restauração da função do néfron, enquanto que a fase crônica é marcada por lesões estruturais e funcionais irreversíveis, sendo esta a forma de maior prevalência da afecção renal em cães e gatos.

Com a precocidade do diagnóstico há a possibilidade de uma reversão da doença renal e o começo de um adequado tratamento (BORGES et al. 2008).

## 2 | METODOLOGIA

O presente trabalho trata-se de uma revisão bibliográfica onde buscou-se informações sobre testes bioquímicos para detecção renal em cães, tais como definição e principais testes, utilizando as bases de dados do Google Acadêmico ([scholar.google.com.br](https://scholar.google.com.br)), SciELO ([scielo.org](https://scielo.org)) e PubMed ([ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/](https://ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/)) com as seguintes estratégias de busca: (1) teste bioquímicos para cães, (2) função renal em cães, (3) detecção de falência renal em cães e (4) kidney failure in dogs. Os dados foram coletados do período de 02 de outubro à 05 de novembro do ano de 2018. A pesquisa foi limitada a artigos publicados no período de 1997 a 2018.

### 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### Ureia e creatinina:

São os exames preconizados, primeiramente, para diagnóstico de insuficiência renal. A creatinina é filtrada nos glomérulos e eliminada, sem ser reabsorvida, na urina. Já a ureia é filtrada pelos glomérulos e lentamente reabsorvida. Todavia, preserva-se os valores normais de suas concentrações séricas até que mais de 66% dos néfrons sejam acometidos (FREITAS et al. 2014).

A ureia sofre influência, em seus valores, de vários fatores extra renais. Porém a creatinina é um indicativo mais confiável para medir as variações da função renal (KOCH et al. 2013).

Por apresentarem alterações apenas com um comprometimento renal grande, sua baixa especificidade e sensibilidade proporcionam tratamento e diagnóstico tardio, impedindo as medidas de prevenção e aumentando a mortalidade dos animais acometidos (MAGRO; VATTIMO, 2007).

#### Urinálise:

Segundo Sink e Feldman (2006, p. 4), “A urinálise é composta de testes laboratoriais que avaliam as propriedades físicas e químicas de uma amostra de urina. Além disso, o sedimento da urina é avaliado microscopicamente.”

A urinálise é de grande importância no meio veterinário, pois traz referências de vários órgãos e sistemas, não apenas do trato urinário. A qual é dividida em três fases: exame físico, químico e do sedimento (BIONDO et al. 2008).

No exame físico os principais parâmetros utilizados são: volume, cor, odor, aspecto e a densidade específica da urina (CHEW et al. 2012).

#### Densidade específica da urina (DEU):

A densidade específica é a comparação de sua massa com a de volume igual de água, a qual reflete o grau de solutos presentes e o seu peso (CHEW et al. 2012). Ao estimar o grau de solutos presentes, a capacidade de concentração renal também é medida. É considerado valores normais de densidade no cão de 1.015 a 1.045, utilizando, principalmente, os refratômetros (MENESES, 2011).

A densidade urinária diminuída possui como causas principais: nefrite intersticial crônica, uremia, diabetes insípida, piometra, terapias com corticoide e a isostenúria. E as principais causas de densidade aumentada são: nefrite intersticial aguda, nefrite generalizada aguda, diabetes melito e glicosúria renal primária, casos de desidratações, febre, edema e em choques. (GARCIA-NAVARRO, 2005).

Já no exame químico temos como parâmetros: pH, proteínas, glicose, corpos

cetônicos e sangue (CHEW et al. 2012).

### **Proteínas:**

A presença de proteínas na urina é normalmente pequena e não encontrada nas tiras urinárias. Mas podem estar alteradas, de acordo com o tipo de coleta, a concentração e o sexo do animal. Então, é preciso deixar claro a origem deste aumento de proteínas (proteinúria), podendo, o mesmo, ser de origem pré-renal, renal e pós-renal. A sua avaliação deve ser associada aos achados clínicos, aos sedimentos e a luz da densidade urinária (BIONDO et al. 2008).

E no exame do sedimento, temos: células epiteliais, cilindros, cristais, eritrócitos, leucócitos, bactérias, fungos, leveduras e ovos de parasitos (CHEW et al. 2012).

### **Células epiteliais:**

A presença de pequenas quantidades de células epiteliais é considerada normal. O tamanho destas é variável de acordo com sua origem, podendo ser transicionais, de origem tubular renal ou descamativa (SINK; FELDMAN, 2006; GARCIA-NAVARRO, 2005).

Células epiteliais renais: seu aumento indica descamação tubular (GARCIA-NAVARRO, 2005).

### **Cilindros:**

São considerados estruturas compridas com extremidades fechadas ou arredondas. Formados no túbulo contornado distal do néfron, compostos de matriz mucoprotéica e de diversas células. Os cilindros são classificados como hialinos, céreos, gordurosos, epiteliais, hemoglobínicos, granulares, hemáticos, leucocíticos e largos (SINK; FELDMAN, 2006).

Cilindros céreos: encontrados apenas em casos crônicos, como na síndrome nefrótica, amiloidose renal e nefrites (GARCIA-NAVARRO, 2005).

### **Relação proteína e creatinina urinária:**

A concentração de proteína na urina é medida com a divisão da mesma pela concentração de creatinina. Assim, é possível mensurar a gravidade das lesões nos rins, a gradação da doença e a resposta ao tratamento. Esta possui uma vantagem em relação as tiras reagentes na detecção de proteínas na urina, a qual não interfere na solução do volume da amostra e da concentração de urina. Além de não correrem o risco de um resultado falso-negativo, quando houver baixas concentrações em amostrar diluídas (MENESES, 2011).

### **Dimetilarginina simétrica (SDMA):**

A arginina metilada é um subproduto da metilação da proteína intracelular, subsequente da quebra de proteínas. A arginina possui três variantes importantes,

sendo eles: procedentes da arginina dimetilada, dimetilarginina assimétrica (ADMA) e dimetilarginina simétrica (SDMA). Este último, está sendo utilizado como biomarcador precoce de lesão renal e como controlador de animais nefropatas, os quais a ureia e creatinina encontram-se normais. (NASCIMENTO et al. 2017).

#### 4 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

O desenvolvimento do presente trabalho possibilitou uma análise dos principais exames para detecção de falência renal em cães. Os exames citados possuem características distintas, e devem ser considerados de acordo com as necessidades do paciente. Também deve-se analisar o tempo de mudança nos resultados destes testes, tendo como recurso um diagnóstico precoce e de um prognóstico favorável em vários casos. E quando possível, é aconselhado o uso de vários parâmetros para alcançar um diagnóstico de melhor coerência. Diante disso, é nítido a importância dos testes para detecção de falência renal na rotina clínica do Médico Veterinário.

#### REFERÊNCIAS

- BIONDO, A. W. et al. **Patologia Clínica Veterinária: texto introdutório**. 2008. 347f. Monografia (Especialização em Análises Clínicas Veterinárias – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre-RS).
- BORGES, K. E. et al. **Exames de função renal utilizados na Medicina Veterinária**. Revista científica eletrônica de Medicina Veterinária, Garça-SP, v. 6, n. 11, julho. 2008.
- BROWN, S. A. et al. **Pathophysiology and Management of Progressive Renal Disease**. The Veterinary Journal, London, v. 154, n. 2, p. 93-109, 1997.
- CHEW, D. J.; DiBARTOLA, S. P.; SCHENCK, P. A. **Urologia e Nefrologia do cão e do gato**. 2 ed. Rio de Janeiro: Elsevier Editora Ltda, 2012, p. 524.
- FORRESTER, S. D. Nefropatias e Ureteropatias. In: BIRCHARD, S.J.; SHERDING, R.G. **Manual Saunders Clínica de Pequenos Animais**. 2.ed. São Paulo: editora Roca, 2003, p. 1008 – 1013.
- FREITAS, G. C.; VEADO, J. C. C.; CARREGARO, A. B. **Testes de avaliação de injúria renal precoce em cães e gatos**. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 35, n. 1, p. 411-426, 2014.
- GARCIA-NAVARRO, C. E. K. **Manual de Urinálise Veterinária**. 2 ed. São Paulo: Editora Varela, 2005, p. 95.
- KAWASAKI, H. **Insuficiência renal crônica na MTC**. 2010. 49f. Monografia (Especialização em Curso de Acupuntura) – Instituto homeopático Jaqueline Peker, Campinas.
- KOCH, M. C.; TEIXEIRA, M. A.; ALVES, L. C. **Análise comparativa entre a imagem ultrassonográfica renal e os valores de ureia e creatinina em 93 cães**. Revista Veterinária em Foco, Canoas, v. 11, n. 11, p. 75-81, jul./dez. 2013.
- MAGRO, M. C. S.; VATTINO, M. F. F. **Avaliação da função renal: Creatinina e outros Biomarcadores**. Revista Brasileira de Terapia Intensiva, São Paulo, v. 19, n. 2, p. 182-185, abril/junho. 2007.

MENESES, T. D. **Diagnóstico precoce de insuficiência renal em cães.** 2011. 51f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

MORSCH, C.; VERONESE, F. J. V. **Doença renal crônica: definição e complicação.** Revista HCPA, Porto Alegre, v. 31, n. 1, p. 114-115, julho. 2011.

NASCIMENTOS, M. R. **Conceitos e aplicabilidade dos principais biomarcadores na nefrologia veterinária.** Revista Investigação Medicina Veterinária, Franca-SP, v. 16, n. 8, p. 37-43, 2017.

SINK, C. A.; FELDMAN, B. F. **Urinalise e Hematologia Laboratorial para o Clínico de Pequenos Animais.** São Paulo: Editora Roca, 2006, p. 111.



## USO DA PROGESTERONA INJETÁVEL NA INDUÇÃO DA CICLICIDADE EM NOVILHAS PRÉ-PÚBERES: TAXA DE PRENHEZ À IATF

Data de aceite: 01/08/2020

Data de submissão: 06/05/2020

### **Getúlio José Milhoreto da Silveira**

Universidade Federal de Santa Maria, Laboratório de Embriologia Animal (Embryolab) Santa Maria – Rio Grande do Sul

<http://lattes.cnpq.br/8338304797831417>

### **Marcelo Salbego Fernandes**

Universidade Federal de Santa Maria, Laboratório de Embriologia Animal (Embryolab) Santa Maria – Rio Grande do Sul

<http://lattes.cnpq.br/5504157298005951>

### **Gilson Antônio Pessoa**

Universidade Federal de Santa Maria, Laboratório de Embriologia Animal (Embryolab) Santa Maria – Rio Grande do Sul

<http://lattes.cnpq.br/4302715689645017>

### **Ana Paula Martini**

Universidade Federal de Santa Maria, Laboratório de Embriologia Animal (Embryolab) Santa Maria – Rio Grande do Sul

<http://lattes.cnpq.br/4217098821249278>

### **Bruna Martins Guerreiro**

Ouro Fino Saúde Animal, Cravinhos, São Paulo

<http://lattes.cnpq.br/3853707076001164>

### **Bruno Gonzalez de Freitas**

Ouro Fino Saúde Animal, Cravinhos, São Paulo

<http://lattes.cnpq.br/8347962552527845>

**RESUMO:** Foram utilizadas 492 novilhas taurinas, com idade de  $17,1 \pm 3,2$  meses e ECC de  $2,95 \pm 0,45$  (D-50) e  $3,46 \pm 0,28$  (D-10) (1=magra e 5=obesa), nas quais realizou-se a primeira avaliação de ETR 50 dias antes (D-50) e no dia de início do protocolo de IATF (D-10) através de ultrassonografia transretal. No D-50 os animais foram alocados em grupos: G1 com ETR de  $3,47 \pm 0,45$  (n=165) foram induzidas com 150mg de progesterona injetável (P4Inj.; Sincrogest®, Ouro Fino Saúde Animal), o G2 com ETR de  $3,48 \pm 0,55$  (n=173) foram induzidas com P4inj no D-50 e posterior aplicação de 1mg de cipionato de estradiol (CE; SincroCP®) no D-38 e um grupo controle que não recebeu nenhum tratamento (n=151) com ETR de  $4,69 \pm 0,51$ , entre as quais já havia 61,6% (93/151) das novilhas cíclicas. Após 30 dias da realização do protocolo de IATF foi feito o diagnóstico de gestação, as novilhas não gestantes foram ressinclonizadas. A taxa de ciclicidade no D-50 e D-10 no G1 foi de 0% e 62,5%; G2 de 0% e 66,5% e controle de 61,6% e 66,9%, respectivamente (P=0.0001). A prenhez à IATF no G1 foi 51,5% (85/165) [Anestro 29,5% (18/61), CL 64,4% (67/104)]; G2 50,3% (87/173) [Anestro 29,3% (17/58), CL (60,9% (70/115)] e controle 55,0% (83/151) [Anestro 15,7% (8/51), CL 75% (75/100)] (Anestro x CL,

P=0,001). A prenhez final foi para G1 85,8% (109/127) [Anestro 75% (33/44), CL 91,6% (76/83)], G2 90,6% (116/128) [Anestro 74,4% (29/39), CL 97,8% (87/89) e controle 81,5% (123/151) [Anestro 56,9 (29/51), CL 94% (94/100)] (P=0.04). Os dois protocolos de indução foram eficientes em induzir a ciclicidade em novilhas taurinas. Os resultados demonstram que a indução de novilhas pré-púberes permite atingir índices similares as novilhas que já se encontravam cíclicas 50 dias antes do início da ER.

**PALAVRAS-CHAVE:** IATF, novilhas, indução da ciclicidade.

## INJECTABLE PROGESTERONE INDUCES CICLYCITY IN PRE-PUBERTAL BEEF

### HEIFERS: PREGANCY RATE AT TAI

**ABSTRACT:** *Bos taurus* heifers (n=492) were used, aged  $17.1 \pm 3.2$  months and body condition score (BCS) of  $2.95 \pm 0.45$  (D-50) and  $3.46 \pm 0.28$  (D-10) (1 = thin and 5 = obese), in which the first RTS assessment was performed 50 days before (D-50) and on the day the TAI protocol started (D-10) using transrectal ultrasound. At D-50 the animals were allocated to groups: G1 with RTS of  $3.47 \pm 0.45$  (n = 165) were induced with 150mg of injectable progesterone (P4Inj.; Sincrogest®, Ouro Fino Saúde Animal), G2 with RTS of  $3.48 \pm 0.55$  (n = 173) was induced with P4inj at D-50 and subsequent application of 1mg of estradiol cypionate (CE; SincroCP®) at D-38 and a control group that received no treatment (n = 151) with an RTS of  $4.69 \pm 0.51$ , among which there were already 61.6% (93/151) of cyclic heifers. After 30 days of carrying out the TAI protocol, the pregnancy diagnosis was made, the non-pregnant heifers were resynchronized. The CL rate in D-50 and D-10 in G1 was 0% and 62.5%; G2 of 0% and 66.5% and control of 61.6% and 66.9%, respectively (P = 0.0001). Pregnancy at TAI in G1 was 51.5% (85/165) [Anestro 29.5% (18/61), CL 64.4% (67/104)]; G2 50.3% (87/173) [Anestro 29.3% (17/58), CL (60.9% (70/115)] and 55.0% control (83/151) [Anestro 15.7 % (8/51), CL 75% (75/100)] (Anestrus x CL, P = 0.001). The final pregnancy was for G1 85.8% (109/127) [Anestrus 75% (33/44), CL 91.6% (76/83)], G2 90.6% (116/128) [Anestrus 74.4% (29/39), CL 97.8% (87/89) and control 81.5 % (123/151) [Anestrus 56.9 (29/51), CL 94% (94/100)] (P = 0.04) The two induction protocols were efficient in inducing cyclicity in *Bos taurus* heifers.

**KEYWORDS:** TAI, heifers, induce cyclicity

## 1 | INTRODUÇÃO

O alvo dos sistemas de cria é a eficiência reprodutiva dos rebanhos, e para isso, prioriza-se taxas consideráveis de prenhez. Desse modo, quanto antes as fêmeas de reposição estiverem aptas para serem expostas ao serviço, maior serão os índices gestacionais daquela estação e mais rápido será o retorno financeiro sobre o investimento. Um dos fatores determinantes para o sucesso da pecuária de corte é o início da puberdade de novilhas dentro do sistema de produção animal (SA FILHO; TORRES-

JUNIOR; PENTEADO; GIMENES *et al.*, 2010).

Para cumprir este propósito, as novilhas devem ter uma concepção adequada durante sua primeira estação reprodutiva. Para tanto, a maioria das novilhas deve estar apresentando ciclo estral regular já ao início desta estação (QUADROS; LOBATO, 2004).

A puberdade é, sem sombra de dúvida, o marco inicial do processo reprodutivo e produtivo, com reflexos nos aspectos econômicos e no melhoramento genético, uma vez que sua antecipação proporciona retorno mais rápido do investimento, aumenta a vida útil das matrizes, ao mesmo tempo em que permite maior intensidade de seleção e reduz o intervalo entre gerações, resultando assim em maior ganho genético (EMERICK; DIAS; GONÇALVES; MARTINS *et al.*, 2009).

Após o nascimento das bezerras, as concentrações séricas do hormônio luteinizante (LH) diminuem. A partir da 10<sup>a</sup> semana de vida, estendendo-se até a 22<sup>a</sup> semana, observa-se um aumento gradativo na secreção de LH, quando ocorre decréscimo na secreção de LH caracterizando uma segunda fase de contenção da atividade gonadal. Na fase que antecede a puberdade o aumento na secreção do Hormônio Liberador de Gonadotrofinas (GnRH) desencadeia um novo aumento na liberação de LH, restabelecendo a atividade gonadal e dando início ao período de maturidade sexual (EVANS; CURRIE; RAWLINGS, 1992).

O desenvolvimento folicular é dinâmico uma vez alcançada a fase de crescimento rápido; o(s) folículo(s) deve(m) atuar através de uma adequada estimulação gonadotrópica em um curto intervalo de dias, ou o resultado é a morte do folículo. Se o folículo antral de crescimento rápido não for exposto a um ambiente gonadotrópico apropriado, a atresia (regressão) dos folículos inicia-se imediatamente (DAY; ANDERSON, 1998). A importância da exposição prévia à progesterona para a manifestação do estro foi sugerida para o gado leiteiro em função da observação de uma incidência de estro reduzida durante a primeira ovulação pós-parto (DAY; ANDERSON, 1998).

Provavelmente a exposição prévia à progesterona do protocolo de sincronização colaborou para finalização da maturação do sistema nervoso central e genitália tubular das novilhas (RODRIGUES; PERES; LEMES; MARTINS *et al.*, 2013).

Assim sendo, o objetivo deste estudo foi comparar dois protocolos, a base de progesterona injetável ou associada a cipionato de estradiol na indução da ciclicidade em nulíparas *Bos taurus taurus*. Foram acompanhadas a taxa de ciclicidade, evolução do Escore de Trato Reprodutivo (ETR), taxa de manifestação de estro e taxa de prenhez).

## 2 | MATERIAIS E MÉTODOS

No presente estudo realizado no ano de 2018 durante a estação reprodutiva de 70 dias, 489 novilhas taurinas, com idade de 17,1±3,2 meses e foram submetidos a uma primeira avaliação do escore de condição corporal (ECC) 50 dias antes do início

do protocolo de IATF com média de  $2,95 \pm 0,45$  (D-50) e  $3,46 \pm 0,28$  (D-10) (1=magra e 5=obesa), e do escore de trato reprodutivo (ETR) 50 dias antes (D-50) e no dia do início do protocolo de IATF (D-10) através da ultrassonografia transretal sendo possível classificar as novilhas em relação ao “grau de maturação do trato reprodutivo” avaliando o útero e ovários antes da estação de monta, mesmo que por palpação retal no início da estação de monta. Uma possibilidade é a classificação de 1 a 5 (ANDERSON; LEFEVER; BRINKS; ODDE, 1991; HOLM; THOMPSON; IRONS, 2009) que leva em consideração o diâmetro e tônus dos cornos uterinos de grau 1 ( $<20\text{mm}$ ) a grau 5 ( $>30\text{mm}$ ) e os ovários de grau 1 (sem estruturas) a grau 5 (presença de CL) (ETR 1=diâmetro de corno uterino  $\leq 15\text{mm}$  e ausência de folículos; 2=diâmetro de corno uterino de 15 a 20 mm e folículos de 8mm; 3=diâmetro de corno uterino de 20 a 25 mm e folículos de 8 a 10 mm; 4=corno uterino  $\geq 25\text{mm}$  e folículos  $\geq 10\text{mm}$ ; 5=corno uterino  $\geq 25\text{ mm}$  e presença de CL).

No dia da primeira avaliação (D-50) os animais foram alocados em três diferentes grupos (Figura 1): o Grupo 1 (G1) com ETR médio de  $3,47 \pm 0,45$  ( $n=165$ ) onde as novilhas foram induzidas com 150mg de progesterona injetável (P4Inj.; Sincrogest®, Ouro Fino Saúde Animal), o Grupo 2 (G2) com ETR de  $3,48 \pm 0,55$  ( $n=173$ ) foram induzidas com P4inj no D-50 e posterior aplicação de 1mg de cipionato de estradiol (CE; SincroCP®, Ouro Fino Saúde Animal) no D-38 e um Grupo controle (G3) que não recebeu nenhum tratamento ( $n=151$ ) com ETR de  $4,69 \pm 0,51$ , entre as quais já havia 61,6% (93/151) das novilhas cíclicas. No início do protocolo de IATF (D-10) todos os animais receberam 2mg de benzoato de estradiol im (Sincrodiol®, Ouro Fino Saúde Animal), 12,5mg im de Cloprostenol sódico (Sincrocio®, Ouro Fino Saúde Animal) e dispositivo intravaginal de progesterona (DIP; Sincrogest® 1g, Ouro Fino Saúde Animal). No oitavo dia do protocolo de IATF (D-2) foi aplicado 1mg de CE, 300 UI de gonadotrofina coriônica equina im (Sincro eCG®, Ouro Fino Saúde Animal), 25 mg de Cloprostenol sódico e remoção do DIP. A inseminação artificial foi realizada 48 horas após a remoção do DIP (D-0). O diagnóstico de gestação foi realizado 30 dias após IATF por ultrassonografia transretal, as novilhas não gestantes foram ressincronizadas.

A análise estatística foi realizada utilizando o SAS System for Windows (SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA, 2000). As variáveis explicativas consideradas para inclusão nos modelos estatísticos foram BCS, tratamentos, presença de CL no D0, ETR e ECC. As variáveis dependentes (diâmetro folicular, taxa de cio e taxa de prenhez foram analisadas por ANOVA usando PROC GLM. As variáveis de resposta foram analisadas pelo Glimmix do SAS, utilizando a distribuição de resposta Gaussiana, não bloqueados e incluíram efeitos fixos: condição do escore corporal, tratamento e ETR. A ocorrência de taxa de estro prenhez da IATF foram analisadas pelo procedimento Glimmix do SAS, as médias comparadas pelo teste de Tukey-Kramer e as diferenças consideradas significativas quando  $P \leq 0,05$ .

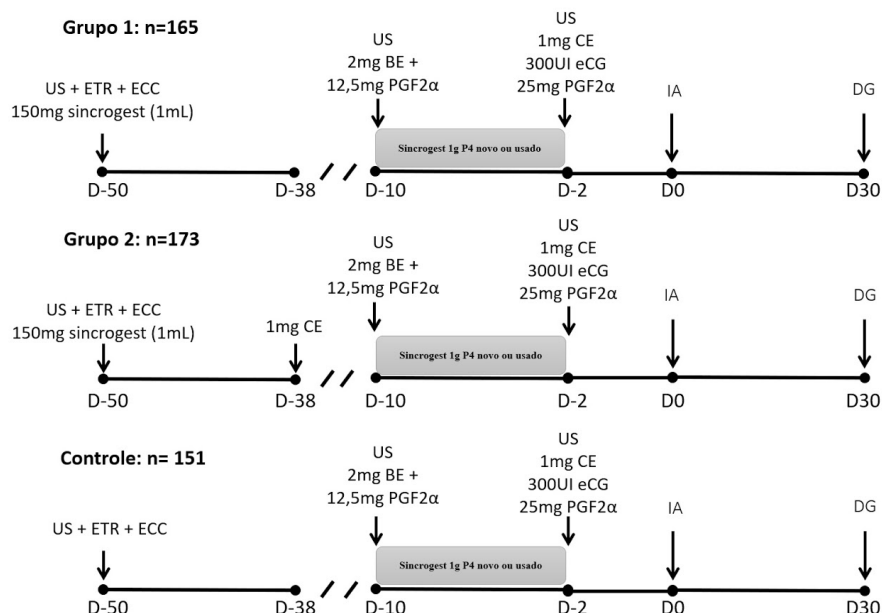


Figura 1: Delineamento Experimental

### 3 | RESULTADOS

A taxa de prenhez à IATF e prenhez final em novilhas que não apresentavam corpo lúteo (CL) no dia 0 (D0) da IATF, quando submetidas previamente à indução pode ser observada na Tabela 1.

A taxa de ciclicidade (presença do CL) no D-50 e D-10 no G1 foi de 0% e 62,5%; G2 de 0% e 66,5% e controle de 61,6% e 66,9%, respectivamente ( $P=0.0001$ ). A prenhez à IATF no G1 foi 51,5% (85/165) [Anestro 29,5% (18/61), CL 64,4% (67/104)]; G2 50,3% (87/173) [Anestro 29,3% (17/58), CL (60,9% (70/115)] e controle 55,0% (83/151) [Anestro 15,7% (8/51), CL 75% (75/100)] (Anestro x CL,  $P=0,001$ ). A prenhez final foi para G1 85,8% (109/127) [Anestro 75% (33/44), CL 91,6% (76/83)], G2 90,6% (116/128) [Anestro 74,4% (29/39), CL 97,8% (87/89) e controle 81,5% (123/151) [Anestro 56,9 (29/51), CL 94% (94/100)] ( $P=0.04$ ).

TRATAMENTO/ CL D-10	P/IATF	P FINAL	MÉDIA DE DIAS DA ER PARA PRENHEZ (dias ± std err)
<b>P4INJ</b>	<b>51.5% (85/165)</b>	<b>85.8% (109/127)</b>	<b>15.9 ± 1.91</b>
0	29.5% a (18/61)	75.0% a (33/44)	27.2 ± 3.92 a
1	64.4% (67/104)	91.6% (76/83)	10.3 ± 1.93
<b>P4INJCIP</b>	<b>50.3% (87/173)</b>	<b>90.6% (116/128)</b>	<b>15.7 ± 1.9</b>

0	29.3% a (17/58)	74.4% a (29/39)	26.6 ± 4.15 a
1	60.9% (70/115)	97.8% (87/89)	11.4 ± 1.93
<b>SEMP4</b>	<b>55.0% (83/151)</b>	<b>81.5% (123/151)</b>	<b>16.4 ± 2.15</b>
0	15.7% b (8/51)	56.9% b (29/51)	38.8 ± 1.77 b
1	75.0% (75/100)	94.0% (94/100)	8.9 ± 4.85
<b>Total</b>	<b>52.1% (255/481)</b>	<b>85.7% (348/406)</b>	<b>16.0 ± 1.14</b>

Tabela 1: Prenhez a IATF e prenhez final da estação reprodutiva (ER) de 90 dias e tempo médio (dias) para se tornar gestante durante a ER.

Letras diferentes nas colunas indicam  $P < 0.05$ .

Na primeira avaliação das novilhas no D-50 o ETR no G1(n=165) foi  $3,47 \pm 0,45$ , no G2 (n=173)  $3,48 \pm 0,55$  e no grupo controle (n=151)  $4,69 \pm 0,51$ . No dia de início do protocolo (D-10), o G1 apresentou ETR de  $4,58 \pm 0,57$ , o grupo 2 ETR  $4,62 \pm 0,55$  e o grupo controle ETR  $4,64 \pm 0,61$ , mostrando que houve evolução do ETR no grupo 1 e 2 ( $P=0.001$ ). No D-10, 36,9% (61/165) dos animais de G1 não apresentaram CL, no G2 33,5% (58/173) e no grupo controle 33,7% (51/151) e foi observado  $27,2 \pm 3,9$ ;  $26,6 \pm 4,1$  e  $38,8 \pm 1,7$  dias para concepção, respectivamente ( $P=0,22$ ). Já as novilhas cíclicas com presença de CL (D-10) o tempo para concepção foi  $10,3 \pm 1,9$  no G1;  $11,4 \pm 1,9$  no G2 e  $8,9 \pm 4,8$  dias no controle ( $P=0,9$ ). O tempo para concepção de acordo com o ETR no D-10 foi de  $57 \pm 21$  (ETR3),  $28 \pm 25,7$  (ETR4) e  $10 \pm 17,8$  (ETR5) dias ( $P=0.001$ ).

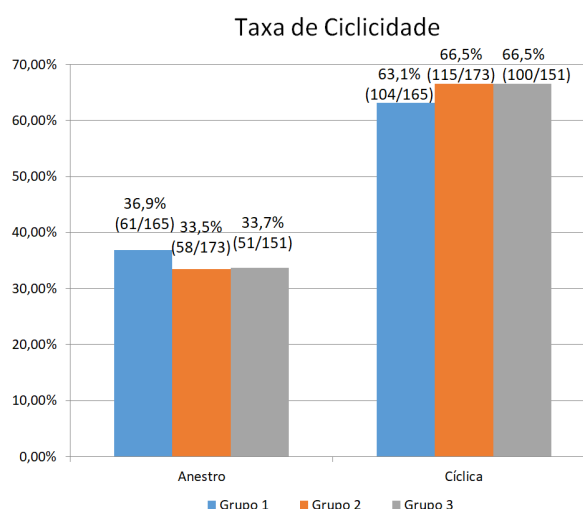


Figura 2: Taxa de ciclicidade no momento do início da estação reprodutiva.



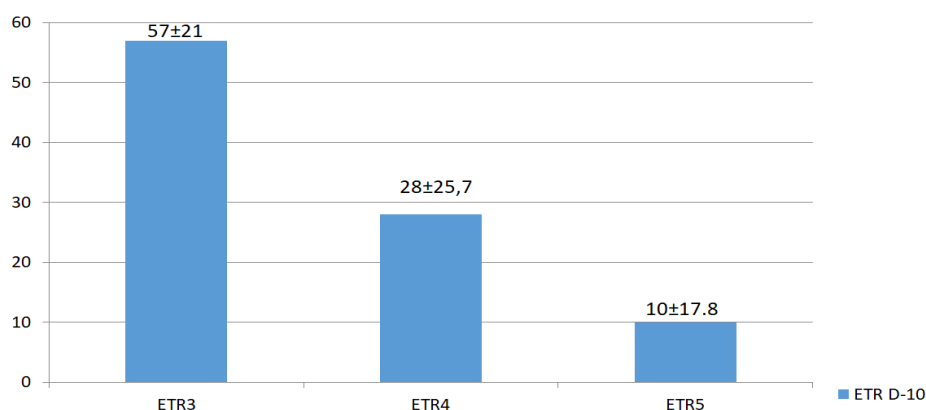


Figura 3: Tempo médio (dias) para concepção em novilhas *Bos taurus taurus* de acordo com o ETR no primeiro dia da estação reprodutiva.

## 4 | DISCUSSÃO

A indução da ciclicidade é um mecanismo fulcro para obter maior eficiência reprodutiva em novilhas. Porém, não pode ser aplicada isoladamente, sem que tenhamos visão de todo o cenário em que essas possíveis matrizes se encontram. Para que as novilhas possam expressar o potencial genético de precocidade precisam de um adequado ganho de peso durante toda a fase de cria e recria (NOGUEIRA, 2004) (DAY; NOGUEIRA, 2013). Portanto, devemos atentar do manejo nutricional delas, para que estejam aptas ao serviço no momento esperado.

O que podemos verificar com relação aos índices de prenhez, é o fato de que aquelas novilhas que foram induzidas previamente ao início da estação reprodutiva e não apresentavam corpo lúteo, lograram taxa prenhez muito semelhante aquelas novilhas mais precoces, ou seja, as que já haviam atingido a puberdade no início da ER, tanto na primeira IATF, como na prenhez final. Por outro lado, aquelas nulíparas que estavam acíclicas no início da ER e não passaram pelo processo de indução da ciclicidade, não alcançaram os mesmos resultados de prenhez, quando comparado com aquelas que passaram.

A velocidade de prenhez durante a estação reprodutiva também é um ponto muito importante, pois, novilhas que emprenham mais no início da estação reprodutiva proporcionam produção de bezerros mais pesados, filhas com melhor desempenho reprodutivo e maior chance de repetição de cria na estação subsequente (FUNSTON; MUSGRAVE; MEYER; LARSON, 2012).

A idade também vem a ser um fator importante na indução de novilhas, onde a idade com a evolução do ETR, indicando que animais mais jovens tendem a apresentar um escore inferior comparado a animais mais velhos, bem como a apresentar peso mais leves e menor escore de condição corporal (HOLM; THOMPSON; IRONS, 2009). Ainda relacionado aos aspectos nutricionais, os animais submetidos a um nível de alimentação mais alto apresentam maior espessura subcutânea de gordura na puberdade, indicando

maior correlação entre ganho de peso corporal e características fenotípicas durante o desmame e a puberdade em novilhas cruzas zebuíno vs taurino (PEREIRA; BARCELLOS; SESSIM; TAROUCO *et al.*, 2017).

A indução da ciclicidade em novilhas com progestágeno oral ou intravaginal já é bem estabelecido e uma ferramenta amplamente utilizada no manejo reprodutivo desta categoria com resultados satisfatórios (MARTIN; CREIGHTON; MUSGRAVE; KLOPFENSTEIN *et al.*, 2008; RODRIGUES; PERES; LEMES; MARTINS *et al.*, 2013). Este estudo foi pioneiro em utilizar progesterona injetável para indução da puberdade em novilhas taurinas no Brasil. Quanto ao protocolo utilizado somente Progesterona injetável ou Progesterona injetável mais Cipionato de Estradiol, fica evidente que ambos são eficientes na indução da ciclicidade. Portanto o protocolo somente com Progesterona é o mais indicado pelos autores, pois, evita um manejo a mais, reduzindo estresse e dispensa a utilização de uma dose de Cipionato de Estradiol, reduzindo assim também custos.

## 5 | CONCLUSÃO

Os dois protocolos de indução foram eficientes em induzir a ciclicidade em novilhas taurinas. Os resultados demonstram que a indução de novilhas pré-púberes permite atingir índices similares as novilhas que já se encontravam cíclicas 50 dias antes do início da ER. Todavia, novilhas que iniciaram a ER acíclicas e não induzidas alcançaram índices menores de prenhez à IATF, ao final da ER e a data da prenhez foi em média 30 dias mais tardia que novilhas cíclicas.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Ouro Fino Saúde Animal pelo financiamento da pesquisa, Agropecuária Posto Branco, Fazenda Baviera e ao senhor Nery Pozzobon pela disponibilidade dos animais que foram utilizados para a realização deste experimento.

## REFERÊNCIAS

ANDERSON, K. J.; LEFEVER, D. G.; BRINKS, J. S.; ODDE, K. G. The use of reproductive tract scoring in beef heifers. **AgriPractice** 12, p. 8, 1991.

DAY, M. L.; ANDERSON, L. H. Current Concepts on the Control of Puberty in Cattle. **Journal of Animal Science**, 76, n. suppl\_3, p. 1-15, 1998.

DAY, M. L.; NOGUEIRA, G. P. Management of age at puberty in beef heifers to optimize efficiency of beef production. **Animal Frontiers** 3, n. 4, p. 6, 2013.

EMERICK, L. L.; DIAS, J. C.; GONÇALVES, P. E.; MARTINS, J. A. M. *et al.* Aspectos relevantes sobre a

puberdade em fêmeas **Rev Bras Reprod Anim**, 33, n. 1, p. 10, 2009.

EVANS, A. C.; CURRIE, W. D.; RAWLINGS, N. C. Effects of naloxone on circulating gonadotrophin concentrations in prepubertal heifers. **J Reprod Fertil**, 96, n. 2, p. 847-855, Nov 1992.

FUNSTON, R. N.; MUSGRAVE, J. A.; MEYER, T. L.; LARSON, D. M. Effect of Calving Period on Heifer Progeny. **Nebraska Beef Cattle Reports**, , 651, p. 2, 2012.

HOLM, D. E.; THOMPSON, P. N.; IRONS, P. C. The value of reproductive tract scoring as a predictor of fertility and production outcomes in beef heifers. **J Anim Sci**, 6, 87, n. 6, p. 7, 2009 2009.

MARTIN, J. L.; CREIGHTON, K. W.; MUSGRAVE, J. A.; KLOPFENSTEIN, T. J. *et al.* Effect of prebreeding body weight or progestin exposure before breeding on beef heifer performance through the second breeding season1. **Journal of Animal Science**, 86, n. 2, p. 451-459, 2008.

NOGUEIRA, G. P. Puberty in South American Bos indicus (Zebu) cattle. **Anim Reprod Sci**, 82-83, p. 361-372, Jul 2004.

PEREIRA, G. R.; BARCELLOS, J. O. J.; SESSIM, A. G.; TAROUCO, J. U. *et al.* Relationship of post-weaning growth and age at puberty in crossbred beef heifers %J Revista Brasileira de Zootecnia. 46, p. 413-420, 2017.

QUADROS, S. A. F. d.; LOBATO, J. F. P. Bioestimulação e comportamento reprodutivo de novilhas de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 33, p. 679-683, 2004.

RODRIGUES, A. D.; PERES, R. F.; LEMES, A. P.; MARTINS, T. *et al.* Progesterone-based strategies to induce ovulation in prepubertal Nelore heifers. **Theriogenology**, 79, n. 1, p. 135-141, Jan 1 2013.

SA FILHO, M. F.; TORRES-JUNIOR, J. R.; PENTEADO, L.; GIMENES, L. U. *et al.* Equine chorionic gonadotropin improves the efficacy of a progestin-based fixed-time artificial insemination protocol in Nelore (Bos indicus) heifers. **Anim Reprod Sci**, 118, n. 2-4, p. 182-187, Apr 2010.

## UTILIZAÇÃO DE PROGESTERONA EM RECEPTORAS DE EMBRIÕES EQUINOS

*Data de aceite: 01/08/2020*

*Data de submissão: 29/04/2020*

**Rodrigo Alves Monteiro**

Universidade Federal de Campina Grande,  
UAMV/ CSTR, Campus Patos  
Patos-Paraíba

**RESUMO:** Ao longo dos anos a progesterona vem sendo usada amplamente com o intuito de melhorar os resultados e disponibilizar melhores receptoras em programas de transferência de embriões. Este hormônio é produzido pelo corpo lúteo e tem como uma das características principais a inibição do estro e por exercer um papel essencial para manutenção da gestação das éguas. Atualmente, novos protocolos à base de progesterona vêm sendo usados com o intuito de reduzir o número de receptoras e consequentemente diminuir os custos dentro de um programa de transferência de embriões, visto que se torna muito oneroso a manutenção de muitos animais dentro de um plantel, além de disponibilizar aqueles animais impossibilitados de ingressar em um programa devido às limitações fisiológicas. Assim, o objetivo desse trabalho foi realizar uma revisão sobre os diversos usos de protocolos de progesterona em receptoras de embrião equinas, visto que

estas são um ponto fundamental no sucesso dessa técnica.

**PALAVRAS-CHAVE:** Éguas, endocrinologia, hormonioterapia, transferência de embriões.

### USE OF PROGESTERONE IN EQUINE EMBRYO RECIPIENTS

**ABSTRACT:** Over the years progesterone has been widely used in order to improve results and provide best recipients in embryo transfer programs. This hormone is produced by the corpus luteum and is a major characteristic the inhibition of estrus and play an essential role in maintaining pregnancy in mares. Currently, new progestin-based protocols have been used in order to reduce the number of recipient and result lower costs within an embryo transfer program, since it becomes very costly to maintain many animals within a breeding stock, in addition to providing those unable animals to join in a program due to physiological limitations. Thus, the aim in this study is conduct a review of the various uses of progesterone protocols in equine embryo recipients, since they are a key point in the success of this technique.

**KEYWORDS:** Mares, endocrinology, hormone therapy, embryo transfer.

## 1 | INTRODUÇÃO

Os negócios que envolvem a criação e utilização equestre ocupam uma posição privilegiada em países em pleno desenvolvimento, podemos citar o Brasil como um país de destaque na criação de equinos. No geral, ainda é desconhecido o potencial econômico dessa atividade, no ano de 2004 foi realizado primeiro levantamento sobre a economia gerada pela equideocultura no Brasil, os números ficaram em torno de 7,3 bilhões de reais por ano, sendo cerca de 640 mil empregos diretos e 3,2 milhões indiretos (CNA, 2004).

Passado uma década esses números totalizaram 16,15 bilhões de reais, empregando 607.329 mil pessoas e gerando 2.429.316 milhões de empregos indiretos. É necessário o conhecimento da indústria equestre no país, para que haja maiores incentivos e investimentos nessa área (CNA, 2016).

A reprodução equina tem se posicionado com destaque neste mercado, com a comercialização de potros, embriões, coberturas e ventres, servindo de base para a sustentação desta economia. O Brasil atualmente é o país líder no uso da técnica de transferência de embrião, representando 43% (14.422 embriões) desta atividade em todo o mundo (STROUD; CALLESEN, 2012).

A transferência de embriões (TE) é uma das principais ferramentas usadas para fomentar o crescimento e a produtividade dentro de um plantel. Porém, existe uma série de fatores que podem interferir nos resultados dentro de um programa de TE, dentre estes, os fatores intrínsecos relacionados com as receptoras, como seleção e manejo que determinam o sucesso ou o fracasso da técnica, e a sincronia entre receptoras e doadoras, sendo um dos pontos fundamentais para o sucesso da TE (ALONSO, 2007).

Outro obstáculo relacionado com as receptoras é a escassez de éguas receptoras aptas, principalmente no período de transição da primavera, já que as doadoras entram em ciclo estral antes por receberem um melhor manejo nutricional em relação às receptoras (SILVA et al., 2014). Portanto, o uso de novas ferramentas e mecanismos para disponibilizar um maior número de receptoras aptas para o ingresso em um programa de TE se faz de grande importância.

A progesterona é um hormônio essencial para a manutenção da gestação, essa droga é utilizada com o intuito de promover a gestação. Mudanças nos níveis sistêmicos de progesterona são temporais e estão associadas com comportamento e com parâmetros fisiológicos, atuando sobre a secreção de gonadotrofinas pela glândula pituitária anterior, no tônus uterino e no edema endometrial, tendo atuação marcante sobre os órgãos genitais tubulares das éguas (VANDERWALL, 2011).

Protocolos a base de progesterona vêm sendo usados mostrando resultados bastante satisfatórios. Greco et al. (2016) mostrou que é possível usar protocolos de progesterona de longa ação (LA) em diversas fases do ciclo estral, podendo usar em éguas receptoras acíclicas no estro, com folículo menor ou igual a 35mm, em receptoras

com folículo anovulatório, em receptoras com folículo maior ou igual a 35mm e também com éguas no diestro. Diante do exposto, o presente estudo tem como objetivo realizar uma revisão bibliográfica sobre a utilização terapêutica de progesterona em programas de TE em receptoras equinas.

## 2 | REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Fisiologia (mecanismo de ação e química)

A progesterona (P4) é um hormônio de ocorrência natural e essencial na manutenção da gestação de todos os mamíferos. É um composto da classe dos esteroides, derivado do colesterol, apresentando uma estrutura básica composta de um hidrocarboneto com 17 átomos de carbono, formando quatro ciclos (Fig. 1) (VANDERWALL, 2011).

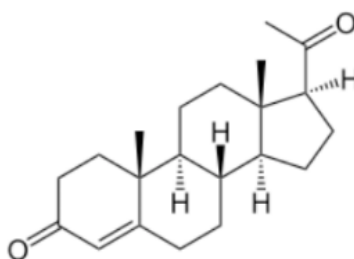


Figura 1 –Fórmula da progesterona

Fonte: Lehninger (2014).

Esse hormônio é responsável por uma série de eventos fisiológicos, dentre as principais é a inibição do comportamento de cio. À princípio, as concentrações de progesterona são advindas do processo pós-ovulação, as células do corpo lúteo invadem o coágulo sanguíneo e se proliferam para formar uma estrutura chamada de corpo hemorrágico. Dentro de 1 a 2 dias pós-ovulação, esta estrutura começa a produzir progesterona (ARRUDA et al., 2001).

A síntese de progesterona no interior das células esteroidogênicas começa nas mitocôndrias, onde o colesterol é convertido em um complexo citocromo P450. Quando a progesterona sintetizada entra automaticamente na corrente sanguínea, ela é distribuída sistemicamente ao longo do organismo atuando nas células alvos e nos receptores de progesterona. Nas células alvos, a progesterona se liga com seus receptores específicos pelo complexo hormônio-receptores, e em seguida ela atua como um fator de transcrição se ligando os elementos de DNA (VANDERWALL, 2011).

A progesterona pode causar efeitos na síntese de proteínas atuando na atividade celular dependendo das células e dos tecidos alvos. Os efeitos locais são alterações nas atividades do lúmen uterino e os efeitos sistêmicos são alterações na atividade secretória do eixo hipófise-hipotalâmico (McKINNON, 2011).



## 2.2 Produção e perfil endocrinológico

Em equinos, a progesterona produzida pelo corpo lúteo é responsável pela manutenção da gestação durante os primeiros três meses, e após esse período, a progesterona é produzida pela placenta (PINTO, 2011).

Em éguas não gestantes, o potencial de elevação de progesterona é alcançado principalmente no pós-ovulação do diestro (Fig. 2). Os níveis de progesterona sofrem uma baixa entre 14° a 16° dias pós-ovulação, devido ação

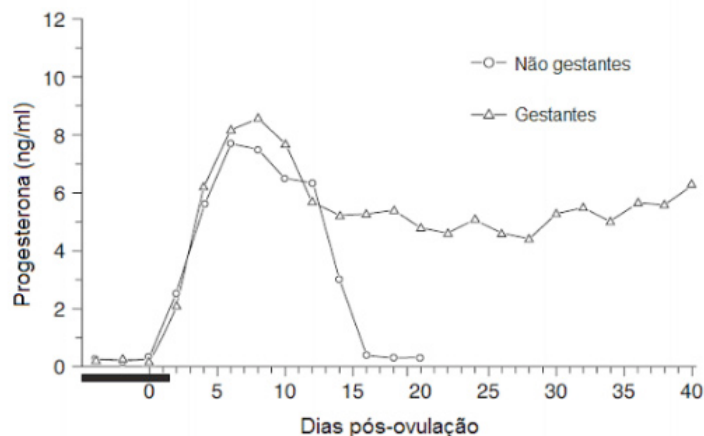


Figura 2 -Concentrações de progesterona na circulação sistêmica de éguas durante o ciclo estral e gestação. A barra em preto representa estro.

Fonte: McKinnon et al. (2011).

das prostaglandinas ( $\text{PGF}_{2\alpha}$ ) sobre o endométrio do útero, o resultado desse processo é a regressão do corpo lúteo (ALLEN, 2000).

As concentrações decrescem rapidamente para  $< 1\text{ng/mL}$  após a liberação das prostaglandinas. Na ausência de progesterona e com o aumento dos níveis de estrógeno produzidos pelo folículo dominante a égua tenta retornar ao estro (McCUE, 2009).

Nos casos de éguas prenhes ocorre o mesmo evento inicial (formação de corpo lúteo primário), no entanto a presença do conceito no útero inibe a secreção de  $\text{PGF}_{2\alpha}$ , e em decorrência do reconhecimento materno, impede a luteólise. Na espécie equina, o embrião permanece esférico e este irá percorrer todo o útero para que haja este reconhecimento, causando fortes contrações peristálticas no miométrio uterino (ALLEN, 2000).

O corpo lúteo primário é a principal fonte de secreção de progesterona até o 40° dia de gestação, e logo após esse período inicia-se a formação dos corpos lúteos secundários ou acessórios nos ovários. Os corpos lúteos secundários surgem a partir de folículos ovulados ou da luteinização de folículos que não ovularam. Na sequência, a placenta começa a produzir progesterona a partir do 70° dia de gestação e os níveis de progesterona se mantêm adequados até os 100 dias, produzindo progesterona suficiente para manter a gestação sem necessidade da progesterona advinda dos corpos lúteos.

Fisiologicamente, a transição da fase luteal para fase feto placentária ocorre por volta dos 180 dias de gestação. Nesse período, todos os corpos lúteos entram em processo de regressão (VANDERWALL, 2011).

Staempfli et al., (2011) observaram que os níveis insuficientes de progesterona podem causar morte embrionária, principalmente quando esses níveis ficam abaixo de 4 ng/mL de progesterona.

Stout (2014) avaliou as causas de mortes embrionárias precoce em éguas. Embora seja uma tendência supor que os baixos níveis de progesterona sejam a principal causa de morte embrionária, há poucas evidências que apoiam essa teoria. Mesmo quando há falha no reconhecimento materno, na produção de progesterona pelo corpo lúteo ou em outras falhas no desenvolvimento anormal do conceito (tamanho da vesícula incompatível com o tempo), é impossível determinar a causa e efeito da morte embrionária precoce. Porém, uma falha na produção de progesterona pelo corpo lúteo pode levar a liberação de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  pelo útero, podendo ser um dos motivos de morte embrionária. Além disso, supõe-se que éguas prenhes entre 18 a 35 dias de gestação são mais vulneráveis a luteólise, devido à liberação de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  pelo endométrio, uma vez que a fixação do embrião ocorre por volta do 17º dia de gestação. As causas de mortes embrionárias podem ocorrer sem sinais visíveis, e em muitos casos não há tratamentos específicos, não podendo ser evitadas. Portanto, faz-se necessário saber o verdadeiro motivo de morte embrionária, sendo fundamental o conhecimento dessas causas e o uso de uma estratégia adequada para contornar este problema (PINTO, 2011).

Silva et al., (2006) avaliaram a dinâmica útero-ovárica das éguas sob o efeito de progesterona utilizando implante subcutâneo de microcápsulas contendo 5 mL de suspensão aquosa com 500 mg de polihidroxibutirato e 200 mg progesterona, administrado por via subcutânea. Foi observado que nas primeiras cinco horas de tratamento os níveis de progesterona das éguas alcançaram 12,01 ng/mL comparado com o grupo controle que foi de 0,73 ng/mL.

Nas 24 horas após a administração foi observado uma reação inflamatória no local do implante, sendo possivelmente responsável pela variação da progesterona liberada. Os níveis de progesterona permaneceram altos durante 11 dias e influenciaram nas mudanças da dinâmica útero-ovárica nas éguas submetidas ao tratamento. No entanto, foi observado que é necessário descobrir novas alternativas de aplicação mais eficiente.

Squires et al., (2007) observaram as variações as concentrações de progesterona no período de 5 a 16 dias após a transferência do embrião, e foi constatado que esses níveis permaneceram constante até o dia 35, havendo um aumento entre 35 a 50 dias. Três das 30 receptoras (10%) tiveram concentrações < 2 ng/mL até 16º dia de gestação, não havendo desenvolvimento de corpo lúteo acessórios, sendo sugestivo de luteólise parcial que ocorreu durante o período pós-transferência de embriões. Porém, os níveis altos de progesterona entre 35 a 50 dias pode causar secreção de gonadotrofina coriônica

equina (eCG), causando um efeito estimulador sobre a secreção de corpo lúteo primário e induzir a formação de corpo lúteo secundários.

Nas éguas onde as concentrações de progesterona estiveram abaixo de  $< 2$  ng/mL, caso não recebessem suplementação de progesterona, provavelmente elas não teriam condições de manter a gestação.

Arruda et al., (2001) associaram, por ultrassonografia, a relação entre o tamanho, morfoecogenicidade do corpo lúteo e os níveis de progesterona plasmática em receptoras equinas. Cinquenta e sete éguas receptoras foram avaliadas diariamente por ultrassonografia transretal desde a detecção dos sinais de estro até o nono dia pós-ovulação, os corpos lúteos foram mensurados e classificados numa escala de 1 a 6 (1 anecóico e 6 hiperecóico) e os níveis de progesterona foram dosados diariamente. Os níveis plasmáticos de progesterona ficaram em  $\leq 2,16$  ng/mL até o D3, com consequente elevação e manutenção nos níveis entre o quarto dia ao novo dia do diestro (3,41 a 4,33 ng/mL). Foi constatado que não existe diferença na morfoecogenicidade, no tamanho e nem nos níveis de progesterona entre o dia da ovulação ao nono dia pós-ovulação.

Alonso (2013) observou os efeitos e a concentração sérica de progesterona em diferentes dias do ciclo estral em éguas tratadas com gonadotrofina coriônica humana (hCG). Seus resultados mostraram que a aplicação para induzir a ovulação, no dia da ovulação e no quinto dia pós-ovulação não afetaram as concentrações séricas de progesterona.

Brogan et al., (2016) because area of luteal blood vessels correlates well with circulating progesterone (P4 realizaram estudo com o objetivo de avaliar a relação entre tamanho do corpo lúteo, vascularização e os níveis de progesterona no início da gestação em éguas receptoras. Os autores concluíram que o doppler é uma ferramenta de grande vantagem para avaliar com facilidade a função luteal em éguas prenhes no início da gestação, podendo ser usada para identificar se há ocorrência de luteólise, funcionalidade e ausência de vascularização do corpo lúteo. As taxas de progesterona variaram entre 12-20 ng/mL entre o quinto a décimo dia pós-ovulação, e esses níveis obtiveram uma baixa de 3-5 ng/ml no 35º dia.

### 2.3 Protocolos de progesterona

Uma das principais utilizações da progesterona é no auxílio nos programas de transferência de embriões, sendo uma ferramenta de grande valia na manutenção da gestação, dando um aporte hormonal naquelas éguas não aptas para o recebimento de um embrião.

A progesterona lútea é necessária para a manutenção da gestação durante os primeiros meses em éguas. Alguns estudos mostraram a capacidade da progesterona sintética em manter a gestação mesmo na ausência de fontes de produção de progesterona primária, mostrando que éguas ovariectomizadas foram capazes de manter uma gestação

mesmo na ausência de ovários. Hinrichs et al., (1987) utilizaram 300 mg de progesterona oleosa diariamente durante 20 dias, com tratamento continuado durante 100 dias de gestação. Os níveis plasmáticos de estrógeno, LH e FSH, que permaneceram constantes durante a gestação, e as concentrações de progesterona em éguas ovarioectomizadas foram similares ao grupo controle, observando-se que este hormônio foi mantido em um nível relativamente constante durante todo o tempo de administração nas éguas gestantes.

Em outro estudo, (HINRICHES; SERTICH; KENNEY, 1986) administraram Altrenogest em receptoras de embriões ovarioectomizadas para determinar se esse tratamento poderia estabelecer e manter a gestação 7 dias após a transferência de embriões. Foram realizados três tratamentos diferentes: G1 usando 22 mg de Altrenogest diário, sendo iniciado 5 dias antes da transferência, G2 66 mg diários 6 dias antes da transferência e G3 recebendo 300 mg de progesterona oleosa intramuscular 5 dias antes da transferência. Observou-se que o tratamento com 22 mg de Altrenogest foi insuficiente para manter as éguas receptoras prenhes.

McKinnon et al., (1988) também trabalharam com éguas ovarioectomizadas, avaliando a manutenção da gestação usando progestinas. Foi utilizado 300 mg de progesterona no período de 35 dias, outro grupo utilizando por 20 dias e um terceiro grupo utilizando Altrenogest na dose de 0,044 mg/kg. As taxas variaram entre 70% a 80%, mostrando que é possível o uso de éguas ovarioectomizadas em programas de transferência de embriões, fazendo a suplementação adequada de progesterona.

Recentemente estudos vêm mostrando aplicabilidade do uso da progesterona em éguas receptoras não ciclantes. Kaercher et al., (2013) fizeram uso de progesterona LA associada com benzoato de estradiol (EB) em receptoras não ciclantes, em um comparativo utilizando-se 45 receptoras não ciclantes (G1) e 42 receptoras ciclantes (G2) (Fig. 3).

No G1 foram utilizadas éguas em anestro e em transição, recebendo doses de 5, 3 e 2 mg de benzoato de estradiol por um período de 3 dias a partir do primeiro dia da ovulação da doadora (D0, D1 e D2, respectivamente). A progesterona LA (P<sub>4</sub>LA) foi usada durante os 3 dias pós-ovulação, na dose de 400mg e o tratamento permaneceu até o 120° dia de gestação. Sendo 70% dos animais em G1 e 71,1% em G2 completaram a gestação.

Apesar do G1 apresentar no D14 um menor valor no nível de progesterona em comparação com o G2, esta diferença não afetou a manutenção da gestação, uma vez que os níveis foram suficientes para mantê-la até o 120° dia. Com isso, os autores concluíram que éguas em anestro ou no período de transição podem

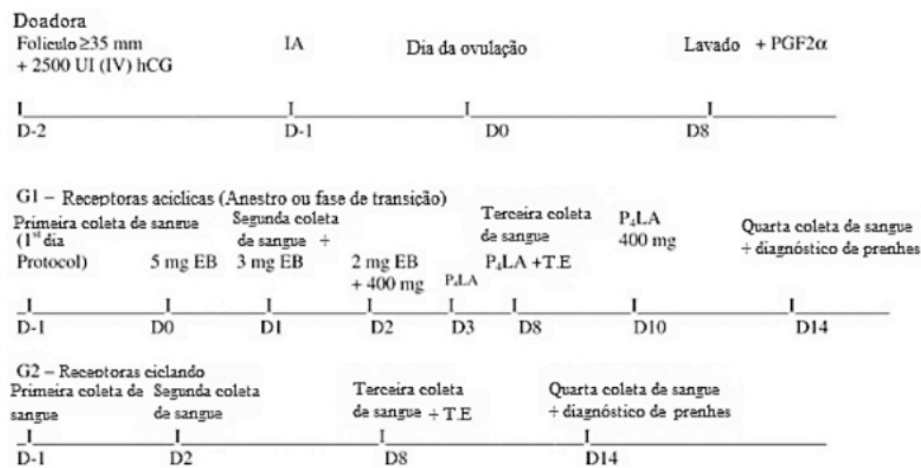


Figura 5 -Protocolos de éguas doadoras e receptoras em anestro ou em fase de transição, e em receptoras cíclicas.

Fonte: Kaercher et al. (2013).

ser utilizadas como receptoras de embrião. O protocolo foi eficiente e é considerada uma alternativa para preparar o ambiente uterino para transferência de embriões, fornecendo éguas receptoras durante a época do ano na qual se tem uma menor disponibilidade de éguas aptas para reprodução.

Filho et al., (2004) 264 embryos were transferred into either cycling (control, n=152 usando um número mais expressivo de receptoras (152 ciclantes e 112 não ciclantes), concluíram que éguas anovulatórias recebendo tratamento de progesterona de curta ou longa ação, por um período de 5 a 8 dias depois da transferência de embriões, podem oferecer resultados satisfatórios em um período do ano onde essas éguas estariam inviáveis.

Greco et al., (2012) procuraram avaliar a eficiência do protocolo de progesterona LA em éguas receptoras acíclicas, em um programa comercial de transferência de embriões, usando um número de receptoras superior aos anteriores, sendo 319 éguas ciclantes e 723 não ciclantes. As taxas de perdas embrionárias foram praticamente semelhantes, sendo 9,72% para éguas ciclantes e 11,51% para éguas não ciclantes, concluindo que esse protocolo é totalmente viável para o uso comercial.

Greco et al., (2016) realizaram pesquisas sobre protocolos de progesterona LA em éguas receptoras de embriões em diversas fases do ciclo estral. Neste estudo, as éguas foram distribuídas em seis grupos de acordo com sua fase do ciclo, recebendo os seguintes tratamentos: G1) receptoras acíclicas sendo tratadas com 5,0 mg (intramuscular) de benzoato de estradiol e posteriormente receberam 1,5 g (intramuscular) de P4 LA 300, sendo levando em consideração a presença de edema uterino; G2) éguas em estro com folículos  $\geq 35$  mm, e tratadas com hCG na dose de 2.000 U.I (unidade internacional), via intravenosa, e progesterona LA (LA300) na dose de 1,5 g (intramuscular) e o procedimento de transferência de embrião foi realizado no 4º dia após a administração da progesterona;

G3) éguas com folículos anovulatórios e induzidas com hCG 48 horas antes ovulação, e recebendo 1,5 g de progesterona LA (LA300); G4) éguas no início de estro com folículos  $\leq 35\text{mm}$ , recebendo 1,5 g (intramuscular) de progesterona de LA (LA300); G5) éguas em diestro ciclando, entre o D5 ao D14 pós-ovulação, tratadas com 5,0 mg de benzoato de estradiol, 5,0 mg de dinoprost (Lutalyse®), e caso fosse detectado edema endometrial 2 as éguas recebiam 1,5 g (intramuscular) de progesterona LA (LA300); e G6) sendo o grupo controle.

As taxas de prenhez e perda de embrionárias foram semelhantes nos em todos os grupos (G1: 76% - 10,5%; G2: 76% - 5,9%; G3: 56% - 0%; G4: 80% - 10%; G5: 60,9% - 0%; e G6: 60% - 13,3%). Os autores concluíram que novos protocolos de progesteronas propostos nesse estudo permitiram o uso com sucesso da utilização de éguas receptoras em qualquer momento do ciclo estral.

Experimento realizado por (DELL'AQUA JR et al., 2014) com éguas receptoras não ciclantes, e usando o tratamento com 15 mg de benzoato de estradiol e 300 mg/ml de progesterona LA. Após o período de 48 horas da realização da transferência, uma nova administração de progesterona LA na dose de 3g foi repetida a cada 14 dias até o 110º dia de gestação, obtendo resultados de 69% (25/36) de prenhez positiva, semelhantes ao grupo controle, com 67% (21/31). Esse protocolo mostra ser eficiente para éguas impossibilitadas fisiologicamente durante certo período do ano.

Um dos possíveis motivos para esses resultados positivos está na associação entre estrógenos e progestinas, acreditando-se que o estradiol presente no período de estro pode estimular a expressão de receptores para progesterona, e por sua vez a progesterona vai atuar sobre o endométrio uterino estabelecendo mudanças fisiológicas e mantendo a gestação (SILVA et al., 2014).

Sudderth et al., (2012) estudaram a eficiência dos protocolos de estradiol e progesterona LA na sincronização do estro, ovulação a eficácia do uso de progesterona LA em éguas ciclantes, no grupo 1 (usando 50mg de  $17\beta$  estradiol), e no grupo 2 usando (1,5g de  $17\beta$  estradiol associado com progesterona de longa ação). No grupo 1 não houve sincronia usando esse tratamento, no grupo 2 a sincronização foi satisfatória. Então se conclui que o uso de progesterona de longa ação associada com  $17\beta$  estradiol pode ser uma alternativa interessante para a sincronização de estro e ovulação sem a necessidade de aplicação de doses diárias.

Caiado et al., (2007) utilizaram receptoras no segundo dia pós-ovulação, fazendo o uso de progesterona oleosa diariamente, a partir do (D0) dia da ovulação, as receptoras foram avaliadas no (D2) e aquelas consideradas aptas receberam o embrião. No grupo D2 usando P4 e D5 sem P4 obtiveram maior número de éguas consideradas excelentes ou boas. Foram observadas taxas em torno de 64,71% das éguas tratadas com progesterona e taxas de 65,12% no grupo que não recebeu progesterona, concluindo que o tratamento com P4 do D0 possibilita antecipar a inovulação de receptoras para o D2, com resultados



bastante semelhantes ao D5 sem uso de progesterona.

Encontrar novas técnicas para que as taxas de prenhes sejam melhoradas é um grande desafio dentro da criação de equinos. A sincronização do estro pode ser usada para aumentar o número de éguas no estro em um determinado momento quando se procura reduzir custos.

### 3 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os protocolos à base de progesterona são descritos para maximizar os resultados, auxiliando no estabelecimento e manutenção da gestação, além de reduzir a proporção receptora/doadora, utilizando-se a proporção de 1:1 (uma doadora: receptora), diminuindo assim, o número de animais e gastos dentro de um programa de transferência de embrião.

### REFERÊNCIAS

ALLEN, WR.; **The physiology of early pregnancy in the mare.** In: Proceedings of the 46th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners, p. 338–354, 2000.

ALONSO, M.A. **Efeito das características uterinas e dia do ciclo na taxa de prenhez e níveis séricos de progesterona em éguas candidatas a receptora de embrião.** 2007. 97 f. Tese (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade estadual paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2007.

ALONSO, M.A.; **Efeito da aplicação de hCG em diferentes dias do ciclo estral sobre a concentração sérica de progesterona e fluxo sanguíneo uterino e ovariano em éguas.** 2013.188 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

ARRUDA, R.P.; VISINTIN, J.A.; FLEURY, J.J.; GARCIA, A.R.; MADUREIRA, E.H.; CELEGHINI, E.C.C.; NEVES NETO, J.R. **Existem relações entre tamanho e morfoecogenicidade do corpo lúteo detectados pelo ultrassom e os teores de progesterona plasmática em receptoras de embriões equinos?** Brazilian Journal of Veterinary Animal Science, v.38, n.5, p.233-239, 2001.

BROGAN, P. T. et al. **Relationship between colour flow Doppler sonographic assessment of corpus luteum activity and progesterone concentrations in mares after embryo transfer.** Animal Reproduction Science, v. 166, p. 22–27, 2016.

CAIADO, J. R. C.; FONCECA, F.A.; SILVA, J.F.S.; FONTES, R.S.; **Tratamento de éguas receptoras de embriões visando sua utilização no segundo dia pós-ovulação.** Revista Brasileira de Zootecnia, v. 36, n. 2, p. 360–368, 2007.

CNA, C. DE A. E P. DO B. - **Estudo do Complexo do Agronegócio Cavalos.** Coletânea Estudos Gleba, n. 1, p. 1–68, 2004.

CNA, C. DE A. E P. DO B. - **Estudo do complexo do Agronegócio do Cavalos.** Brasília: n.2, p. 1-56, 2016.

FILHO, A. N. R. et al. **Transfer of equine embryos into anovulatory recipients supplemented with short or long acting progesterone.** Animal reproduction, v. 1, n. 1, p. 91–95, 2004.

GRECO, G. M.; BURLAMAQUI, F.L.G.; PINNA, A.E.; DE QUEIROZ F.J.R; CUNHA, M.P.S.; BRANDÃO, F.Z.; **Use of long-acting progesterone to acyclic embryo recipient mares.** Revista Brasileira de Zootecnia, v. 41, n. 3, p. 607–611, 2012.

GRECO, G.M.; FIORATTI E. G.; SEGABINAZZI L.G.; DELL'AQUA JR J.A.; CRESPILO A.M.; CASTRO-CHAVES M.M.B.; ALVARENGA M.A.; **Novel Long-Acting Progesterone Protocols Used to Successfully Donor and Recipient Mares With Satisfactory Pregnancy and Pregnancy Loss Rates.** Journal of Equine Veterinary Science, v. 39, p. 58-61, 2016.

HINRICH, K. et al. **Establishment and maintenance of pregnancy after embryo transfer in ovariectomized mares treated with progesterone.** Journal of Reproduction and Fertility, v. 80, n. 2, p. 395-401, 1987.

HINRICH, K.; SERTICH, P. L.; KENNEY, R. M. **Use of altrenogest to prepare ovariectomized mares as embryo transfer recipients.** Theriogenology, v. 26, n. 4, p. 455-460, 1986.

KAERCHER, F. et al. **Embryo Transfer in Anovulatory Recipient Mares Treated with Estradiol Benzoate and Long-Acting Progesterone.** Journal of Equine Veterinary Science, v. 33, n. 3, p. 205-209, 2013.

McKINNON, A. O.; SQUIRES E.L.; CARNAVALE E.M.; HERMENET M.J.; **Ovariectomized steroid-treated mares as embryo transfer recipients and as a model to study the role of progestins in pregnancy maintenance.** Theriogenology, v. 29, n. 5, p. 1055-1063, 1988.

PINTO, C.R.F.; **Progestagens and progesterone (Mare pharmacological Manipulation of Reproduction)** Equine reproduction, 2. ed. Iowa, Wiley-Blackwell p.1811-1818, 2011.

SILVA, E.S.M., FRADE, S.C.F., IGNÁCIO, F.S., PANTOJA, J.C.F., POULI FILHO, J.N.P., MEIRA, C. **Supplementary corpora lutea monitoring allows progestin treatment interruption on day 70 of pregnancy in non-cyclic recipient mares.** Animal Reproduction Science, v.144, p. 122-128, 2014.

SILVA, J.F.S.; CNOP, F.P.; SÁNCHEZ, R.J.R.; VIANNA, S.A.B.; SOUZA, G.V.; ELIGIO, C.T.; RIBAS, J.A.S.; COSTA, D.S.; **Avaliação da dinâmica útero-ovárica da égua sob o efeito de um implante subcutâneo de microcápsulas de polihidroxibutirato contendo progesterona.** Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias, v.101, p.225-230, 2006.

SILVA, E. S. M. et al. **Supplementary corpora lutea monitoring allows progestin treatment interruption on day 70 of pregnancy in non-cyclic recipient mares.** Animal Reproduction Science, v. 144, n. 3-4, p. 122-128, 2014.

STAEMPFLI, S. A. et al. **Effect of a Single Injection of Long-acting Progesterone on the First Ovulation in Early and Late Spring Transitional Mares.** Journal of Equine Veterinary Science, v. 31, n. 12, p. 744-748, 2011.

STROUD, B., CALLESEN, H.; **IETS statement on worldwide ET statistics for 2010.** Animal Reproduction, v.9, n.3, p.210-216, 2012.

SUDDERTH, A. K.; KISER, A.M.; BRINSKO, S.P.; LOVE, C.C.; VARNER, D.D.; BURNS, P.J.; BLANCHARD, T.L.; **Efficacy of long-acting formulations of estradiol or progesterone plus estradiol on estrous synchronization in broodmares.** Journal of Equine Veterinary Science, v. 33, n. 8, p. 670-672, 2013.

SQUIRES, E. L.; PATTEN, M. L.; ZUMBRUNNEN, J.; MS; BRUEMMER, J. E.; DENNISTON, D. D.; MCCUE, P. M.; **Variation in Progesterone in Early Gestation After Non-Surgical Embryo Transfer,** Proceedings of the 53rd Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners. v. 53, p. 573 - 575, 2007.

VANDERWALL, D.K. **Progesterone (Mares: Physiology and Endocrinology)** Equine reproduction, 2. ed. Iowa, Wiley-Blackwell p.1638-1641, 2011.

## VIABILIDADE DE ESPERMATOZOIDES CRIOPRESERVADOS UTILIZANDO DILUIDORES NÃO ESPECÍFICOS DE SÊMEN DE *CANIS LUPUS FAMILIARIS*

Data de aceite: 01/08/2020

Data de submissão: 20/05/2020

**Jéssica Fernanda Fonseca Machado**

Departamento de Ciência Naturais,  
Universidade Federal de São João del Rei  
São João del Rei- Minas Gerais  
<http://lattes.cnpq.br/5393123879165754>

**Douglas de Carvalho Soares**

Departamento de Ciência Naturais,  
Universidade Federal de São João del Rei  
São João del Rei- Minas Gerais  
<http://lattes.cnpq.br/2164672041742372>

**Paulo Henrique de Almeida Campos Junior**

Departamento de Ciência Naturais,  
Universidade Federal de São João del Rei  
São João del Rei- Minas Gerais  
<http://lattes.cnpq.br/7447334934774086>

**RESUMO:** Os cães possuem papéis de elevada relevância na sociedade. Sendo assim, estudos de técnicas na manutenção e disponibilidade do sêmen canino tem sido alvo de pesquisas. A criopreservação é um processo onde os espermatozoides (spz) podem ser preservados a baixas temperaturas, nesse sentido, o objetivo desse estudo foi avaliar morfofuncionalmente sptz caninos após a criopreservação com dois

protocolos comerciais. O sêmen (n=8) fresco (**F**) foi diluído em Botubov (**B**) e Caniplus Freeze (**CF**), e congelado. Após o descongelamento, as amostras foram diluídas em meios capacitantes, Caniplus Enhance (**BCE**, **CFCE**) e GV fert (**BGV**, **CFGV**). Nas amostras congeladas foram observadas menores taxa de motilidade, vigor, integridade membrana (CF: 53,75±29% e B: 57,5±24%; CF: 3±0,5 e B: 2,75±0,5; CF: 52±27% e B: 51,7±19%; CF: 35±23% e B: 33,5±18%); quando comparados a F (93,7±2%; 4,2±0,6%; 95,3±5% e 82,1±5%). As amostras diluídas em meio capacitante não apresentaram diferença significativa entre si quanto motilidade (CFCE: 57,5±29%; CFGV: 43,75±12%; BCE: 60,62±28% e BGV:43,7±24%), vigor (CFCE: 3±1; CFGV: 2,62±0,5; BCE: 3,5± 0,5 e BGV: 2,87±1) e teste HOS (CFCE: 31,56±21%; CFGV: 20,7±13%; BCE: 35±15% e BGV: 16,4±16%), exceto CFGV (25,68±10%) e BGV (29,3±13%) que apresentaram menor integridade membrana comparados aos outros grupos (CFCE: 34,25±22% e BCE: 47,6±17%). Podemos inferir que o Botubov pode ser uma alternativa quanto ao custo-benefício para o congelamento de sêmen canino comparado ao Caniplus Freeze e que o Caniplus Enhance se mostra mais promissor para a capacitação de espermatozoides criopreservados quando

comparado ao GV fert.

**PALAVRAS-CHAVE:** reprodução, sêmen, cão, criopreservação.

## VIABILITY OF SPERM CRYOPRESERVED USING NON-SPECIFIC SEMEN EXTENDERS FROM *CANIS LUPUS FAMILIARIS*

**ABSTRACT:** Dogs have some important roles on human society. Therefore, studies of efficient technique for conservation of the canine semen has been on the focus of some researches. Cryopreservation is a process where sperm (spz) can be preserved at low temperatures. In this sense, the aim of this study was to morphofunctionally evaluate canine sptz after cryopreservation with two commercial protocols. Fresh semen (n=8) samples (**F**) were diluted in Botubov (**B**) and Caniplus Freeze (**CF**), and frozen. After the warming, samples were diluted in two capacitation media, Caniplus Enhance (**BCE, CFCE**) e GV fert (**BGV, CFGV**). Frozen samples showed reduced motility, vigor and membrane integrity (CF:  $53,75 \pm 29,5\%$  and B:  $57,5 \pm 24,36\%$ ; CF:  $3 \pm 0,5$  and B:  $2,75 \pm 0,43$ ; CF:  $52 \pm 26,7\%$  and B:  $51,7 \pm 18,8\%$ ; CF:  $35 \pm 22,9\%$  and B:  $33,5 \pm 18,4\%$ ) compared to **F** ( $93,7 \pm 2,1\%$ ;  $4,2 \pm 0,6$ ;  $95,3 \pm 4,8\%$  and  $82,1 \pm 5,2\%$ ). Thawed samples diluted in capacitation media did not show significant difference between themselves in relation to motility (CFCE:  $57,5 \pm 29,13\%$ ; CFGV:  $43,75 \pm 12,18\%$ ; BCE:  $60,62 \pm 28,33\%$  and BGV:  $43,7 \pm 23,94\%$ ), vigor (CFCE:  $3 \pm 0,7$ ; CFGV:  $2,62 \pm 0,48$ ; BCE:  $3,5 \pm 0,5$  and BGV:  $2,87 \pm 0,78$ ) and HOS test (CFCE:  $31,56 \pm 20,79\%$ ; CFGV:  $20,7 \pm 12,9\%$ ; BCE:  $35 \pm 15,2\%$  and BGV:  $16,4 \pm 15,7\%$ ), except for CFGV ( $25,68 \pm 10,17\%$ ) and BGV ( $29,3 \pm 13,3\%$ ) which have shown smaller membrane integrity compared to other experimental groups (CFCE:  $34,25 \pm 22,12\%$  e BCE:  $47,6 \pm 16,6\%$ ). It strongly suggest that Botubov can be a promising alternative regarding cost benefit to freeze canine semen and that Caniplus Enhance proves to be more promising for maintaining the cryopreserved samples when compared to GV fert.

**KEYWORDS:** reproduction, semen, dogs, cryopreservation.

## 1 | INTRODUÇÃO

O cão doméstico (*Canis lupus familiaris*) é um mamífero da família Canidae. De acordo com registros fósseis, a relação homem e cão existe há cerca de 15.000 anos. Fisiologicamente, já foi comprovado que o cão aumenta a felicidade do homem. O nível de ocitocina é aumentado tanto no cão quanto no homem quando há interação destes. Atualmente, estes animais são extensivamente usados em zooterapias e como auxiliar a pessoas com deficiências físicas e/ou intelectuais. Além disso, esses canídeos possuem papel importante no trabalho de salvamentos, resgate e buscas de substâncias de interesse (DAVIS e VALLA, 1978; LOPES e SILVA, 2012; NAGASAWA, 2015).

O acasalamento natural do cão pode ser dificultado por diversas razões, dentre elas

está à inabilidade do macho para montar na fêmea com aumento das chances de ocorrer lesões durante o coito, bem como aumento da chance dos animais contraírem infecções. As adversidades do acasalamento natural podem causar grande estresse nos cães, sendo que a Inseminação Artificial (IA) pode ser feita de forma rápida e menos invasiva que a montagem. Para se obter sucesso na IA é necessária a coleta de sêmen e a preservação deste com boa qualidade (MASON, 2018; SILVA *et al*, 2001).

A criopreservação é uma técnica eficiente para o transporte do sêmen canino para fins reprodutivos e possibilita a disponibilidade e manutenção por tempo indeterminado do material. Além disso, permite a preservação de características genéticas e fenotípicas de raças, aumentando a vida reprodutiva de um macho que possui linhagens de alto valor. Estudos e aprimoramentos dessa metodologia podem ser úteis à preservação de espécies canídeas silvestres que estão sob estudo ou em risco de extinção, sendo uma técnica importante na conservação da biodiversidade (BUCHELE, 2002; CHRISTENSEN *et al*, 2011; SILVA *et al*, 2001; WILDT, 1990). A criopreservação possibilita que a IA possa ocorrer no momento desejado e de acordo com o ciclo reprodutivo da fêmea. Além disso, esse método é uma ferramenta que evita a endogamia de animais, que pode, ao longo do tempo, trazer sérias consequências para as linhagens. A criopreservação se mostra bem desenvolvida e estudada em outros animais, principalmente bovino e homens. Entretanto, a criopreservação em canídeos não é tão bem estabelecida ainda e tem sido grande alvo de estudos (BUCHELE, 2002; MCBRIDE and LIPSHULTZ, 2018; SILVA *et al*, 2001).

Assim se tornam importantes os estudos em criopreservação canina que buscam identificar e solucionar as principais adversidades que permeiam este processo (AMSTISLAVSKY *et al*, 2012; BELALA *et al*, 2016; KOLSTER, 2018). Este estudo avaliou dois protocolos de criopreservação sob a morfofuncionalidade de espermatozoides de cães utilizando dois diluidores comerciais. Além disso, foi avaliado efeito de dois meios de capacitação após o descongelamento sob a sobrevivência dos espermatozoides.

## 2 | METODOLOGIA

Os procedimentos adotados foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA - protocolo nº 029/2018) da Universidade Federal de São João del Rei (UFSJ). Foram utilizados oito cães neste estudo sendo três da raça Pitbull, três Border Collie, um Boxer e um Labrador; com idade entre 10 meses e 8 anos. Foi utilizada a técnica de manipulação digital para obtenção de amostras de ejaculado após um mínimo 14 dias de abstinência. Para a coleta foram utilizados tubos de falcon graduados e aquecidos a 37°C, onde somente a segunda fração foi selecionada para análise. A amostra foi mantida em banho-maria a 37°C até seu processamento.

Foi colocado sobre uma lâmina 5 µl das amostras (n=8) e cobertas com lamínula.

Posteriormente, as lâminas foram visualizadas em microscópio de contraste de fase no aumento de 400x avaliada a motilidade e vigor do sêmen, ao longo do tempo 0 ao 6 (intervalo de avaliação de 1 em 1 hora), por meio do teste de termorresistência. Para avaliação da integridade da membrana plasmática 1  $\mu$ l de sêmen (n=8) foi homogeneizado com 19  $\mu$ l de corante eosina e nigrosina (Botuvital) e utilizado para confecção de um esfregaço. Após secas, as lâminas foram visualizadas em microscópio no aumento de 1000 vezes e analisadas 200 células por amostra. Os spz corados em rosa foram contabilizados como aqueles que apresentam membrana plasmática lesada.

Para atestar a viabilidade dos spz ao estresse osmótico foi realizado o Teste hiposmótico (HOS). Na avaliação do HOS, 25 $\mu$ l de ejaculado (n=8) foi homogeneizado com 250 $\mu$ l de solução hiposmótica (7,35g de Citrato de Sódio; 13,5g de Frutose e 1000ml de água destilada) pré-aquecida a 37° C, por 30 minutos, de acordo com o Manual para Exame Andrológico e Avaliação de Sêmen Animal (CBRA, 1998). A amostra foi avaliada sob microscópio de contraste de fase em um aumento de 400X. Foi realizada a contagem de 200 células e a percentagem de spz com cauda enrolada foi contabilizada. As lâminas feitas com coloração eosina e nigrosina (n=6) foram fotografadas utilizando câmera digital acoplada a um microscópio (Nikon E-200) e software Motic 3000, em aumento de 1000x. As micrografias foram analisadas através do software ImageJ versão 1.44 (Research Services Branch, U.S. National Institute of Health Bethesda, MD, USA.) quanto ao diâmetro ( $\mu$ m) maior e menor da cabeça do espermatozoide. O diâmetro médio foi utilizado para calcular a área da cabeça celular através da fórmula  $A=4\pi r^2$ .

As amostras de sêmen fresco (**F**) foram diluídas em Botubov (Botufarma) (**B**) e Caniplus Freeze (Minitube) (**CF**), de acordo com o fabricante do produto para atingir a concentração de  $15 \times 10^6$  e  $25 \times 10^6$  spz por palheta de 0,25 ml, respectivamente. Após diluição em B foi realizado o envase do sêmen em palhetas, e estas foram mantidas por 4 horas à 5°C. Posteriormente, as palhetas foram mantidas horizontalmente 3 cm acima do nível do nitrogênio líquido (NL<sub>2</sub>) (-196°C) por 20 minutos, e finalmente mergulhadas e armazenadas no NL<sub>2</sub>. O descongelamento foi feito a 37°C/30 segundos e as amostras foram mantidas em banho Maria à 37°C para as análises. Realizada a diluição em meio CF, as amostras foram envasadas e as palhetas foram colocadas mantidas por 2 horas à 5°C. Posteriormente, as palhetas foram colocadas à 4,5 cm acima do NL<sub>2</sub> (-196°C) por 20 minutos e finalmente mergulhadas e armazenadas no NL<sub>2</sub>. O descongelamento foi feito a 37°C/60 segundos e as amostras foram mantidas em banho Maria à 37°C.

Após o descongelamento as amostras foram diluídas em dois meios capacitantes, Caniplus Enhance (Minitube) (**CE**) e GV fert (Ingamed) (**GV**). Sendo dessa forma estabelecidos os grupos experimentais **BCE**, **BGV**, **CFCE** e **CFGV**. Para diluição em CE foi utilizado 250 $\mu$ l de meio capacitante por palheta de 0,25 ml. Após 15 minutos as amostras foram analisadas. Para diluição em GV fert as palhetas (0,25 ml) foram homogeneizadas com 250 $\mu$ l de Gv fert. As amostras foram centrifugadas a 1800 rpm por 5 minutos. A porção



líquida superior do eppendorf foi descartada restando o pellet, que foi ressuspendido em 100  $\mu$ l de meio capacitante GV, em seguida as amostras foram analisadas. Todos os testes foram realizados nas amostras frescas e após descongelamento.

Os resultados deste estudo foram quantificados e apresentados como médias  $\pm$  D.P.M. (desvio padrão da média). Os valores obtidos foram submetidos a uma análise de variância de uma via (ANOVA), seguido de teste Newman Keuls. Todas as análises foram realizadas no programa GraphPad Prism versão 5 (Software GraphPad, Inc.). Foram consideradas somente as diferenças com intervalo de confiança de 95% de significância ( $P < 0,05$ ).

### 3 | RESULTADOS

A amostra F apresentou bons resultados quanto à motilidade ( $93,7 \pm 2,1\%$ ), vigor ( $4,2 \pm 0,6$ ), integridade membranar ( $95,3 \pm 4,8\%$ ) e teste HOS ( $82,1 \pm 5,2\%$ ). As amostras CF e B após descongelamento não apresentaram diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre si quanto à motilidade ( $53,75 \pm 29,5\%$  e  $57,5 \pm 24,36\%$ ), vigor ( $3 \pm 0,5$  e  $2,75 \pm 0,43$ ), integridade membranar ( $52 \pm 26,7\%$  e  $51,7 \pm 18,8\%$ ) e teste HOS ( $35 \pm 22,9\%$  e  $33,5 \pm 18,4\%$ ). Entretanto, CF e B se apresentaram significativamente menor ( $p < 0,05$ ) quando comparados com a amostra F (Figura 1 A-D).

As amostras congeladas com CF e diluídas em meios capacitantes, CFCE e CFGV, não apresentaram diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre si quanto à motilidade ( $53,75 \pm 29,5\%$ ;  $57,5 \pm 29,13\%$  e  $43,75 \pm 12,18\%$ ), vigor ( $3 \pm 0,5$ ;  $3 \pm 0,7$  e  $2,62 \pm 0,48$ ) e teste HOS ( $35 \pm 22,9\%$ ;  $31,56 \pm 20,79\%$  e  $20,7 \pm 12,9\%$ ) (Figura 2 A, B e D). O grupo CF ( $52 \pm 26,7\%$ ) apresentou maior ( $p < 0,05$ ) integridade membranar quando comparado a CFGV ( $25,68 \pm 10,17\%$ ), entretanto, ambos os grupos não diferiram significativamente de CFCE ( $34,25 \pm 22,12\%$ ;  $p > 0,05$ ; Figura 2C).

As amostras congeladas com B e diluídas em meios capacitantes, BCE e BGV, não apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre si quanto à motilidade ( $57,5 \pm 29,5\%$ ;  $60,62 \pm 28,33\%$  e  $43,7 \pm 23,94\%$ ), vigor ( $2,75 \pm 0,43$ ;  $3,5 \pm 0,5$  e  $2,87 \pm 0,78$ ) e teste HOS ( $33,5 \pm 18,4\%$ ;  $35 \pm 15,2\%$  e  $16,4 \pm 15,7\%$ , respectivamente). BGV apresentou menor integridade ( $p < 0,05$ ) membranar ( $29,3 \pm 13,3\%$ ) quando comparado a B e BCE ( $51,7 \pm 18,8\%$  e  $47,6 \pm 16,6\%$ ) (Figura 3 A-D).

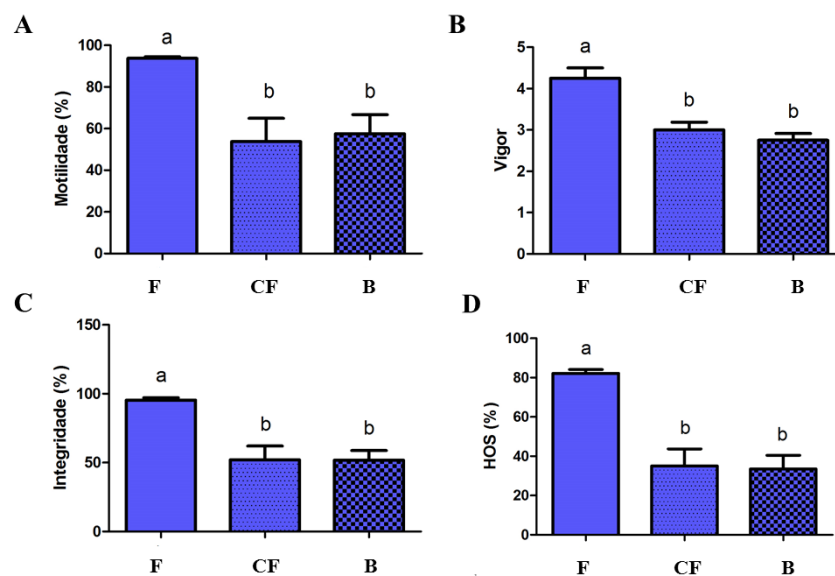


Figura 1- Parâmetros cinemáticos e morfológicos do sêmen Fresco (F), criopreservado com Caniplus Freeze (CF) e criopreservado com Botubov (B). A-D: Motilidade (%), Vigor, Integridade (%), Teste hiposmótico (%); N=8 (P<0,05).

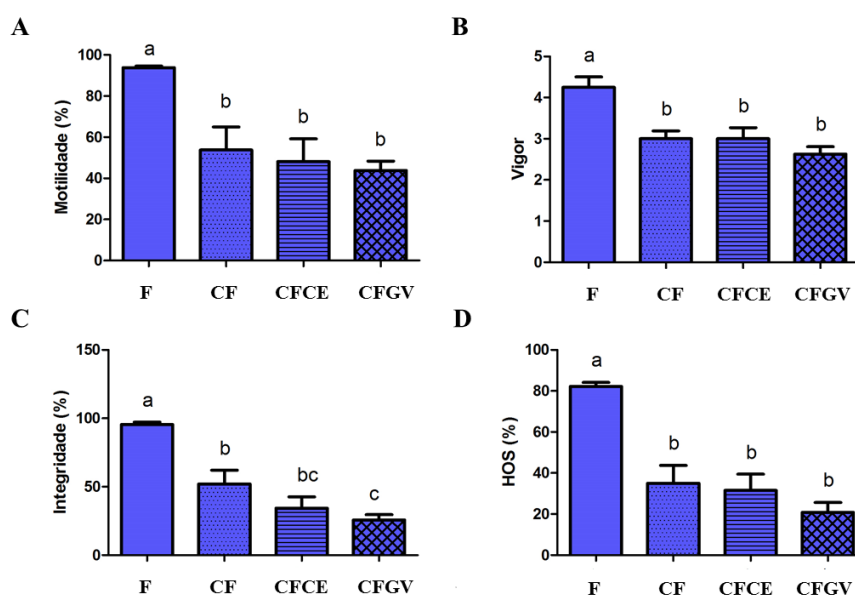


Figura 2- Parâmetros cinemáticos e morfológicos do sêmen Fresco (F); criopreservado com Caniplus Freeze (CF); criopreservado com Caniplus Freeze e Caniplus Enhance (CFCE); e criopreservado com Caniplus Freeze e GV fert (CFGV). A-D: Motilidade (%), Vigor, Integridade (%), Teste hiposmótico (%); N=8 (P<0,05).

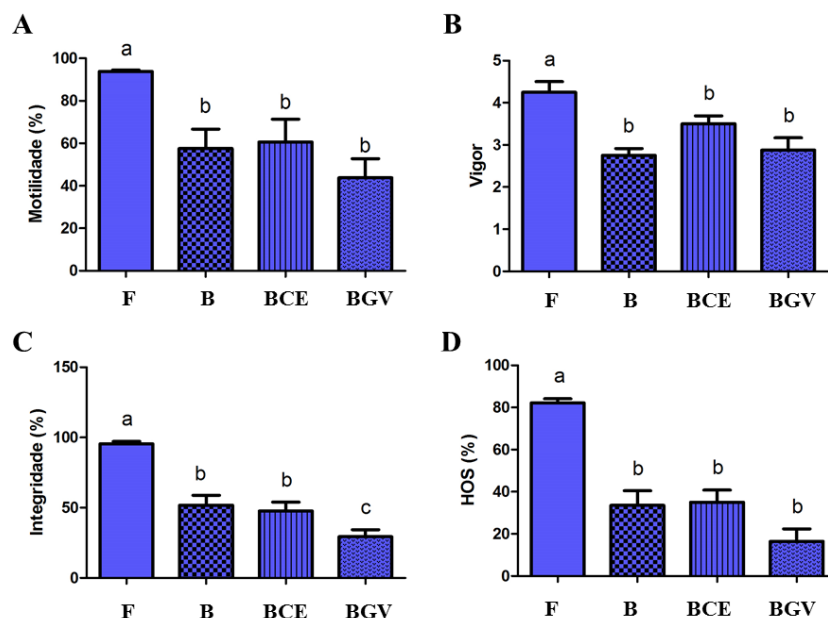


Figura 3- Parâmetros cinemáticos e morfológicos do sêmen Fresco (F); criopreservado com Botubov (B); criopreservado com Botubov e Caniplus Enhance (BCE); e criopreservado com Botubov e GV fert (BGV). A-D: Motilidade (%), Vigor, Integridade (%), Teste hiposmótico (%); N=8 (P<0,05).

Todos os grupos experimentais demonstraram uma queda nos parâmetros cinemáticos motilidade e vigor ao longo do tempo ( $p<0,05$ ). A amostra CFGV foi a que apresentou menor tempo de termorresistência e a F apresentou maior tempo, quanto a motilidade e vigor. Todos os grupos criopreservados, apresentaram significativa menor ( $p<0,05$ ) motilidade e vigor quando comparado ao fresco em todos os tempos (T1-T6), exceto em BCE no tempo 4 quanto ao parâmetro vigor (Tabelas 1 e 2).

GE	T1	T2	T3	T4	T5	T6
F	81,2 ± 19,32	65,62 ± 25,91	40 ± 37,91	29,37 ± 36,77	25 ± 33,16	17,5 ± 30,31
DCE	11,25 ± 29,76	6,25 ± 16,53	6,25 ± 16,53	—	—	—
DBE	45 ± 39,05	16,875 ± 25,6	6,25 ± 12,93	2,5 ± 6,61	0,625 ± 1,76	—
DCGV	37,5 ± 37,66	1,25 ± 3,3	—	—	—	—
DBGV	10 ± 18,02	8,125 ± 9,33	2,5 ± 6,61	0,625 ± 1,65	—	—

Tabela 1- Média e desvio padrão da média do teste de termorresistência da motilidade de espermatozoides caninos fresco e criopreservados. F= Fresco; CFCE= Descongelado Caniplus Frezee + Caniplus Enhance; BCE = Descongelado Botubov + Caniplus Enhance; CFGV= Descongelado Caniplus Frezee + GV fert; e BGV = Descongelado Botubov + GV fert. N=8; (P<0,05).

GE	T1	T2	T3	T4	T5	T6
<b>F</b>	4 ± 0,7	3,5 ± 0,53	2,125 ± 1,26	1,375 ± 1,49	1,125 ± 1,53	0,625 ± 1,11
<b>DCE</b>	0,375 ± 0,99	0,375 ± 0,99	0,375 ± 0,99	—	—	—
<b>DBE</b>	2,25 ± 1,78	1,75 ± 1,47	0,75 ± 0,96	0,25 ± 0,66	0,125 ± 0,33	0
<b>DCGV</b>	0,375 ± 0,99	0,25 ± 0,66	—	—	—	—
<b>DBGV</b>	2,125 ± 1,69	1,625 ± 1,4	0,25 ± 0,66	0,25 ± 0,7	—	—

Tabela 2- Média e desvio padrão da média do teste de termorresistência do vigor de espermatozoides caninos fresco e criopreservados. F= Fresco; CFCE= Descongelado Caniplus Frezee + Caniplus Enhance; BCE = Descongelado Botubov + Caniplus Enhance; CFGV= Descongelado Caniplus Frezee + GV fert; e BGV = Descongelado Botubov + GV fert. N=8; (P<0,05).

## 4 | DISCUSSÃO

Ambos os grupos CF e B apresentaram todos parâmetros de avaliação da qualidade do sêmen inferiores a F. Entretanto, já é estabelecido que o CF é efetivo no congelamento de sêmen canino atingindo 65% de motilidade dos spz após o descongelamento e uma integridade membranar com cerca de 45%, condizente com os dados que foram obtidos neste estudo. Como o B apresentou resultados similares a este diluidor podemos inferir que este produto seria uma alternativa promissora para o congelamento de sêmen canino apresentando custo mais baixo e sendo de compra mais acessível, proporcionando maior aplicabilidade do congelamento de sêmen (ESCH, 2014).

O CF utiliza gema de ovo em sua composição, que pode agir como um crioprotetor impermeável. A literatura mostra que a gema de ovo pode mostrar melhora em vários parâmetros dos spz criopreservados como, por exemplo, a motilidade e a integridade membranar. Quando congelados com diluidor a base de Tris com 20% de gema de ovo os spz mostram melhores resultados após congelamento que com 10%. Acredita-se que a gema de ovo disponibilize lipídios e colesterol para a membrana celular dos spz conferindo proteção a estas. Quando utilizado o Botubov para criopreservação de sêmen de touro os parâmetros de motilidade total atingem 45% e integridade membranar de 51%. O Botubov possui coloração amarelada e apesar de não ter a exata informação sobre a composição deste diluente, acreditamos que haja a gema de ovo (BELALA *et al*, 2016; SILVA, 2000; BERGERON & MANJUNATH, 2006).

Após descongelamento das amostras foi testado dois meios capacitantes comerciais. Em um estudo realizado com sêmen de cão congelado com CF, após o descongelamento, houve adição de: CE, fluido prostático e nenhuma adição. O sêmen que foi adicionado com o CE obteve os melhores resultados quanto a motilidade, apresentando motilidade total de 51%. O CE já é um meio utilizado com sucesso para spz de cães e por tanto,

serve como referência para comparações com o GV fert. (IGNA *et al*, 2018).

Os grupos CFCE e CFGV não mostraram diferença significativa, quanto à motilidade, vigor e teste HOS quando comparado a CF. Os grupos BCE e BGV não mostraram diferença significativa, quanto à motilidade, vigor e teste HOS quando comparado a B. Somente CFGV e BGV mostrou diminuição quanto a integridade membrana comparado ao CF e B, respectivamente. Sendo assim, inferimos que o meio capacitante CE pode ser utilizado após a criopreservação com CF e B. CFGV e BGV mostraram uma diminuição quanto a integridade membrana, análise importante para aferir o potencial fecundante das células após congelamento (SIEME *et al*, 2015).

O teste de termorresistência se mostra útil para indicar a durabilidade e resistência do sêmen criopreservado. Todos os grupos experimentais apresentaram um declínio natural da motilidade e vigor ao longo do tempo. A amostra CFGV apresentou menor tempo de incubação, demonstrando assim mais um indício de que o GV fert não é um bom meio capacitante para spz canino. A motilidade e vigor dos grupos criopreservados permaneceram menor em quase todos os tempos quando comparados a F, demonstrando uma queda relativamente constante e comum entre todos os grupos.

## 5 | CONCLUSÃO

De maneira geral, as amostras de sêmen congeladas com B e CF apresentam bons parâmetros de motilidade, vigor, integridade da membrana, biometria e termorresistência. O B é um diluidor para sêmen bovino, entretanto, com os resultados aqui encontrados, podemos inferir que este pode ser uma alternativa promissora quanto ao custo-benefício para o congelamento de spz canino. Já com relação aos meios de capacitação, o CE, produto comercial próprio para sêmen canino, apresentou melhores resultados quando comparado ao GV fert. Finalmente, vale ressaltar que esse estudo abre novas perspectivas para aplicação de alternativas de baixo custo à criopreservação de sêmen canino e consequentemente a ampliação dessa técnica.

## REFERÊNCIAS

AMSTISLAVSKY, S.; LINDEBERG, H.; LUVONI, G. C. **Reproductive technologies relevant to the genome resource bank in Carnivora**. *Reprod Dom Anim* 47, 164–175, 2012.

BELALA, R.; BRIAND-AMIRAT, L.; VINCIGUERRA, L.; TAINURIER, D.; KAIDI, R.; THORIN, C.; MICHAUD, S.; ANTON, M.; BENCHARIF, D. **Effect of equilibration time on the motility and functional integrity of canine spermatozoa frozen in three different extenders**. *Research in Veterinary Science* 106 (2016) 66-73, 2016.

BERGERON A.; MANJUNATH P. **New insights towards understanding the mechanisms of sperm protection by egg yolk and milk**. *Mol Reprod Dev* 73, 1338–1344; 2006.

BUCHELE, J. M. **Criopreservação de sêmen canino utilizando diferentes meios de conservação.** Dissertação UFPR, 2002.

CHRISTENSEN, B.W.; ASA, C. S.; WANG, C.; VANSANDT, L.; BAUMA, K.; CALLAHANE, M.; JENS, J. K.; ELLINWOOD, N. M. **Effect of semen collection method on sperm motility of gray wolves (*Canis lupus*) and domestic dogs (*C. l. familiaris*).** Theriogenology 76 (2011) 975–980.

COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL (**CBRA**). Manual Para Exame Andrológico e Avaliação de Sêmen Animal. 2ª Ed. Belo Horizonte: p. 49, 1998.

DAVIS, S. J. M.; VALLA, F. R. **Evidence for domestication of the dog 12,000 years ago in the Natufian of Israel.** Nature, vol 276, 5688, 608-610; 1978.

ESCH, M. **Performance of Caniplus Frezee.** Extender for freezing canine sperm. Thecnical Report, 2014.

HOLT, W. V. **Basic aspects of frozen storage of semen.** Anim Reprod Sci;62:3-22, 2000.

HU, J.; GENG, G.; LI, Q.; SUN, X.; CAO, H.; LIU, Y. **Effects of alginate on frozen-thawed boar spermatozoa quality, lipid peroxidation and antioxidant enzymes activities.** Anim Reprod Sci; 147: 112-118, 2014.

IGNA, V. Sperm preservation, p. 265-278. In: **Canine reproduction, obstetrics and gynecology** (in Romanian). Ed. Brumar, Timișoara; Romania; 2007.

KOLSTER, K. A. **Evaluation of canine sperm and management of semen disorders.** Vet Clin Small Anim 48 (2018) 533-545.

LOPES, K. R. F.; SILVA, A. R. **Considerações sobre a importância do cão doméstico (*Canis lupus familiaris*) dentro da sociedade humana.** Acta Veterinaria Brasilica, v.6, n.3, p.177-185, 2012.

MASON, S.J. **Current Review of Artificial Insemination in Dogs.** Vet Clin North Am Small Anim Pract. 2018 Jul; 48(4):567-580.

MCBRIDE, J. A. and LIPSHULTZ, L. I. **Male Fertility Preservation.** Current Urology Reports (2018) 19: 49,2018.

NAGASAWA, M.; MITSUI, S.; OHTANI, N.; OHTA, M.; SAKUMA, Y.; ONAKA, T.; MOGI, K.; KIKUSUI, T. **Oxytocin-gaze positive loop and the coevolution of human-dog bonds.** Science, Social evolution. 2015 Apr 17;348(6232):333-6. doi: 10.1126/science.1261022. Epub 2015 Apr 16.

PINI, T.; LEAHY, T.; GRAAF, P. **Sublethal sperm freezing damage: manifestations and solutions.** Theriogenology 188 (2018) 172-181.

SIEME, H.; OLDENHOF, H. and WOLKERS, W. F. **Sperm Membrane Behaviour during Cooling and Cryopreservation.** Reprod Dom Anim 50 (Suppl. 3), 20–26 (2015).

SILVA A. R.; CARDOSO R. C. S.; SILVA L. D. M.. **Congelamento de sêmen canino com diferentes concentrações de gema de ovo e glicerol em diluidores à base de tris e água de coco.** Ciência Rural, Santa Maria, v.30, n.6, p.1021-1025, 2000.

SILVA, A. R.; CARDOSO, R C. S.; SILVA, L. D. M.. **Criopreservação do sêmen canino: revisão.** Ciência Animal, 11(2):119-129, 2001.

WILDT DE. **Reproduction in carnivores.** In: Bavister BD, Cummins J, Roldan ERS. (Ed.). *Fertilization in mammals.* Norwell, MA: Serono Symposium, 1990. p.349-364.



## PERFIL HORMONAL DE ÉGUA COM TUMOR DAS CÉLULAS DA GRANULOSA-TECA

*Data de aceite: 01/08/2020*

*Data de submissão: 02/05/2020*

### **Carla Fredrichsen Moya**

Docente do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Centro-Oeste, UNICENTRO, campus de CEDETEG, Guarapuava – PR.

<http://lattes.cnpq.br/8017623096370725>.  
[carlafredrichsen@yahoo.com.br](mailto:carlafredrichsen@yahoo.com.br)

### **Márcio Teoro do Carmo**

Médico Veterinário Autônomo, Botucatu – SP.

<http://lattes.cnpq.br/2437700338908859>

### **Gustavo Pulzatto Merlini**

Médico Veterinário Autônomo, Botucatu – SP.

<http://lattes.cnpq.br/6462763496196579>

### **Gustavo Henrique Marques Araujo**

Docente do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Goiás, UFG, Regional Jataí – GO.

<http://lattes.cnpq.br/0566845579819933>

**RESUMO:** O presente trabalho teve por objetivo relatar um caso de tumor das células da granulosa-teca em égua Quarto-de-Milha, doadora de embrião, quatro anos de idade, que foi atendida com histórico de anestro prolongado. O proprietário relatou que o animal estava no programa de transferência de embrião, porém

ainda acíclica. Ao exame clínico não foram observadas alterações significativas. No exame da genitália interna detectou-se aumento de volume no ovário esquerdo, com aspecto nodular e ovário direito hipotrofiado. Na ultrassonografia havia presença de várias estruturas císticas, não sendo possível mensuração ovariana total. Colheu-se sangue para dosagem hormonal, com valores obtidos para estrógenos totais de 6,16 pg/mL, progesterona de 0,01 ng/mL e testosterona de 79 pg/mL. Os níveis de estrógeno e progesterona eram compatíveis com animais em anestro, contudo a concentração de testosterona estava elevada, uma vez que, o valor de referência para fêmeas é < 50pg/mL, porém o animal não apresentava sinais de virilismo. O diagnóstico de tumor das células da granulosa-teca baseou-se no histórico, avaliação ultrassonográfica, dosagem hormonal e exame histopatológico. A terapêutica empregada foi ovariectomia unilateral, via flanco esquerdo. O animal retornou a ciclicidade na estação de monta seguinte, sendo incluída novamente no programa de transferência de embrião.

**PALAVRAS-CHAVE:** enfermidade ovariana, tratamento cirúrgico, equino.

**ABSTRACT:** The aim of the present study was to report a case of granulosa-theca cells tumor in quarter-mare mare, an embryo donor, four years old, which was attended with a history of prolonged anestrus. The owner reported that the animal was in the embryo transfer program, but still acyclic. At the clinical examination, no significant changes were observed. In the examination of the internal genitalia, a volume increase was detected in the left ovary, with nodular appearance and hypotrophied right ovary. On ultrasonography, there were several cystic structures, and total ovarian measurement was not possible. Blood was collected for hormonal dosing. The values obtained of total estrogen= 6.16 pg/mL, progesterone= 0.01 ng/mL and testosterone= 79 pg/mL. Estrogen and progesterone levels were compatible with anestrus animals, however the testosterone concentration was high, since the reference value for females was < 50 pg/mL, but the animal showed no signs of virilism. The diagnosis of tumor of granulosa-theca cells was based on history, ultrasonographic evaluation, hormone dosing and histopathological examination. The therapy used was unilateral ovariectomy, via the left flank. The animal returned the cyclicity at the next breeding station and was included again in the embryo transfer program.

**KEYWORDS:** ovarian disease, surgical treatment, equine.

### 1 | INTRODUÇÃO

Éguas podem desenvolver vários tipos de tumores ovarianos, sendo o tumor de células da granulosa-teca o mais comum. Este tipo de tumor, cuja origem está associada aos cordões sexuais e estroma ovariano, quase sempre acomete apenas um ovário, com crescimento lento, quase sempre benigno e não produz metástase (MCCUE, 1998; MCCUE *et al.*, 2006).

A presença de tumor celular de granulosa-teca pode ser indicada quando uma égua apresentar mudanças de comportamento, como agressividade, atitude de garanhão ou exibir períodos prolongados de anestro ou ninfomania durante a estação de monta. Essa alteração no comportamento está associada a um aspecto único desse tumor que é a capacidade de produzir diferentes hormônios na égua, levando a anormalidades comportamentais diferentes. Essas alterações clínicas estão relacionadas às concentrações hormonais produzidas. Os hormônios que podem ser produzidos por esse tumor incluem estrogênios, associado à ninfomania, progesterona, testosterona associado ao virilismo e inibina que leva a atrofia do ovário contralateral e anestro. (MCCUE, 1998; MCCUE *et al.*, 2006; MCCUE; MCKINNON, 2011; SCHLAFFER; MILLER, 2007).

O tumor das células da granulosa-teca foi relatado em todas as raças e idades de éguas, incluindo recém-nascidos, mas, mais comumente, esses tumores ocorrem em éguas entre cinco e dez anos de idade, independente de raça. Esse tumor pode ser nomeado de acordo com o tipo de células envolvidas, células da granulosa e/ou da teca.

Felizmente, esses tumores geralmente são unilaterais, mas alguns casos foram relatados onde ambos os ovários estavam envolvidos (SCHLAFFER; MILLER, 2007).

O diagnóstico é baseado nas alterações clínicas, exame ultrassonográfico, dosagem hormonal e exame histopatológico do ovário acometido. O tratamento preconizado é a ovariectomia unilateral, não eletiva, via flanco quando possível (MCCUE *et al.*, 2006; TROTTER; EMBERTSON, 1999).

## 2 | RELATO DE CASO

Foi atendida uma égua, doadora de embrião, quatro anos de idade, Quarto-de-Milha, pesando 420 kg, com histórico de anestro prolongado. O proprietário relatou que o animal estava em estação de monta no programa de transferência de embrião, porém ainda acíclica, enquanto todas as outras éguas do programa já apresentavam ciclicidade. Na propriedade havia uma filha dessa égua, com quatro meses de idade apenas, oriunda de transferência de embrião, indicando que a égua havia ciclado na estação passada. Não houve relato de alteração de comportamento e o animal apresentava normofagia, normodipsia, normoúria e normoquesia.

Ao exame clínico não foram observadas alterações clínicas significativas. Contudo no exame do genital interno detectou-se aumento de volume em ovário esquerdo, com aspecto nodular e direito hipotrofiado, com 4 cm de diâmetro e superfície lisa. Na ultrassonografia transretal do útero, foi observada ecotextura homogênea e ausência de edema, e dos ovários, havia presença de várias estruturas císticas em ovário esquerdo, semelhante a “favo de mel”, contendo líquido de característica anecóica intercaladas por septos ecogênicos, não sendo possível mensuração ovariana total, e ovário direito pequeno com ausência de folículos, dados esses compatíveis com o tumor das células da granulosa (Figura 1). Esses achados são condizentes com os descritos por Hinrichs e Hunt (1990) e McCue e Mckinnon (2011), os quais citam que o aspecto ultrassonográfico é importante para auxiliar no diagnóstico de tumor das células da granulosa em éguas, sendo que esse tumor pode apresentar-se com múltiplos cistos ou grande cisto único, além do ovário contralateral encontrar-se pequeno e inativo, provavelmente pela ação da inibina produzida pelo tumor das células da granulosa-teca.

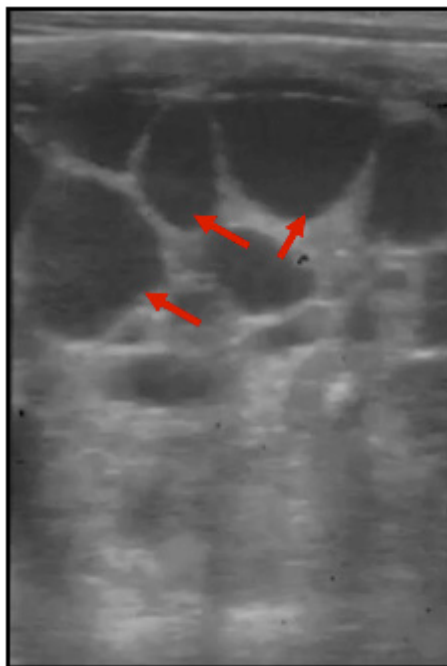


Figura 1 - Ultrassonografia do ovário esquerdo com inúmeras estruturas císticas (setas vermelhas), com impossibilidade de mensuração.

Colheu-se uma amostra de sangue por venopunção da jugular para dosagem hormonal. Os valores obtidos de estrógenos totais = 6,16 pg/mL, progesterona = 0,01 ng/mL e testosterona = 79 pg/mL. Os níveis de estrógeno e progesterona são compatíveis com animais em anestro (DONADEU, 2006), contudo a concentração de testosterona estava elevada, uma vez que, o valor de referência para fêmeas é < 50 pg/mL, porém o animal não apresentava comportamento de garanhão. A literatura relata que em éguas o tumor das células da granulosa-teca pode estar associado ao anestro, comportamento masculinizado ou ninfomania dependendo da produção hormonal, e que muitas vezes há associação das células da teca, podendo ser verificados níveis de testosterona elevados (MCCUE; MCKINNON, 2011). Esses dados são compatíveis com o caso em questão, uma vez que a queixa do proprietário era que o animal encontrava-se em anestro prolongado. O diagnóstico de tumor das células da granulosa-teca baseou-se no histórico, avaliação ultrassonográfica, dosagem hormonal e exame histopatológico (MCCUE *et al.*, 2006; MCCUE; MCKINNON, 2011; SCHLAFFER; MILLER, 2007).

A terapêutica empregada foi ovariectomia unilateral, via flanco esquerdo, com animal em posição quadrupedal, adequadamente contida em tronco apropriado, conforme o descrito na literatura (MCCUE *et al.*, 2006; SILVA *et al.*, 2001; TROTTER; EMBERTSON, 1999).

Para a realização do procedimento cirúrgico foi colocado um cateter intravenoso (IV) de calibre 18 na veia jugular direita. A solução de lactato Ringer foi administrada a uma taxa de 5 mL/kg de peso vivo (PV)/h para um total de dois litros no final da cirurgia. Sulfametazol associada ao trimetoprim, 10 mg/kg PV, IV e flunixin meglumine, 1,1 mg/kg PV, IV, foram

administrados previamente a cirurgia. A tranquilização foi induzida pela administração de xilazina, 0,5 mg/kg PV, IV. Realizou-se a tricotomia, seguida de antissepsia com iodo povidine e álcool 70% da área da fossa paralombar esquerda. A anestesia local infiltrativa em L invertido foi realizada com 60 mL de cloridrato de lidocaína a 2%. Esse procedimento foi realizado conforme o descrito na literatura por Silva *et al.* (2001 e 2007).

Uma incisão longitudinal da pele de 20 cm foi feita na fossa paralombar esquerda, seguida pela divulsão, no sentido das fibras, do músculo oblíquo abdominal externo, oblíquo abdominal interno e transverso, respectivamente. Com auxílio de uma tesoura de ponta romba, rompeu-se o peritônio, alcançando-se, então, a cavidade abdominal. Localizou-se o ovário esquerdo, realizou-se a anestesia do pedículo ovariano com lidocaína 2% e procederam-se as suturas de transfixação dupla com vicryl (poliglactina 910) nº 2 para facilitar a hemostasia. O pedículo foi transeccionado distal às ligaduras e o ovário foi removido, sendo cuidadosamente inspecionado quanto à presença de hemorragia. Na sequência procedeu-se a laparorráfia, suturando-se o peritônio em conjunto com o músculo transverso, empregando-se fio vicryl (poliglactina 910) nº2 em padrão de sutura Sultan. Na sequência, realizou-se a sutura dos músculos oblíquo abdominal interno e oblíquo externo, utilizando-se o mesmo fio e padrão de sutura. A redução do espaço morto foi feita por meio de sutura padrão Cushing, com vicryl (poliglactina 910) nº1, seguida pela dermorrafia com fio nylon nº 0, em sutura padrão simples interrompido (SILVA *et al.*, 2007).

Na avaliação macroscópica, o ovário esquerdo media aproximadamente 16 cm de diâmetro, com inúmeros cistos inclusos. Foi realizada a colheita de dois fragmentos de 1 cm<sup>3</sup> do ovário afetado, os quais foram colocados em formol salina 10% tamponado e enviados para o laboratório de histopatologia. O exame histopatológico revelou a presença de células da granulosa neoplásicas, divididas por cordões de células da teca neoplásicas, com presença de figuras de mitose. Essa descrição é semelhante a encontrado em relato de tumor das células da granulosa realizado por Prestes *et al.* (2001).

Foram realizados curativos diários com solução fisiológica com sulfato de neomicina a 10% e aplicação de repelente ao redor da ferida cirúrgica, uma vez ao dia, durante os dez dias consecutivos. A antibioticoterapia foi mantida por sete dias consecutivos e a administração de anti-inflamatório, por cinco dias consecutivos. A égua retornou a ciclicidade na estação de monta seguinte, sendo incluída novamente no programa de reprodução, tal fato corrobora com os relatos que descrevem um retorno a ciclicidade de seis a oito meses após a remoção cirúrgica do tumor (MCCUE; MCKINNON, 2011).

Pode-se concluir com esse relato que o diagnóstico de tumor das células da granulosa-teca deve ser realizado utilizando-se sempre exames complementares como ultrassonografia e dosagem hormonal e que o tratamento adequado preconizado permite o retorno da atividade reprodutiva, evitando assim prejuízo econômico ao criador.

## REFERÊNCIAS

- DONADEU, F.X. Early indicators of follicular growth during the anovulatory season in mares. **Animal Reproduction Science**, v.94, p.179-181, 2006.
- HINRICHS, K.; HUNT, P.R. Ultrasonographic as an aid to diagnosis of granulosa cell tumour in the mare. **Equine Vet. J.**, v.22, p.99-103, 1990.
- MCCUE, P.M. Neoplasia of the female reproductive tract. **Veterinary Clinics of North America. Equine Practice**, v.14, n.3, p.505-515, 1998.
- MCCUE, P.M.; ROSER, J.F.; MUNRO, C.J.; LIU, I.K.; LASLEY, B.L. Granulosa cell tumors of the equine ovary. **The Veterinary Clinics of North America. Equine Practice**, v.22, n.3, p.799-781, 2006.
- MCCUE, P.M.; MCKINNON, A.O. Ovarian abnormalities. In: MCKINNON, A.O.; SQUIRES, E.L.; VAALA, W.E.; VARNER, D.D. (Eds.). **Equine Reproduction**. 2.ed. Iowa: Wiley-Blackwell. 2011. p.2123-2136.
- PRESTES, N.C.; ALVARENGA, M.A.; BANDARRA, E.P.; SUZANO, S.M.C. CRUZ, ML. Tumor ovariano das células da granulosa em vaca Simental – relato de caso. **Revista de Educação Continuada CRMV-SP**, v.4, p.028-032, 2001.
- SCHLAFFER, D.H.; MILLER, R.B. Female genital system. In: MAXIE, M.G. (Ed.). **Jubb, Kennedy & Palmer's Pathology of domestic animals**, 5ed., London: Elsevier, 2007. p.450-456.
- SILVA, L.A.F.; SILVA, C.A.; FIORAVANTI, M.C.S.; ATAYDE, I.B.; SILVA, M.A.M.; MATOS, E.S.; CASTRO, G.R. Ovariectomia em equídeos: comparação de três técnicas cirúrgicas e avaliação do pós-operatório. **Ciência Veterinária Tropical**, v.4, n.2/3, p.256-267, 2001.
- SILVA, L.A.F.; FRANÇA, R.O.; VIEIRA, D.; GARCIA, A.M.; MOURA, M.I.; SILVA, M.A.M.; SILVA, E.B.; TRINDADE, B.R.; FRANCO, L.G. Emprego da abraçadeira de náilon, do categut e do emasculador na hemostasia preventiva de ovariectomia em éguas. **Ciência Animal Brasileira**, v.8, n.1, 135-146, 2007.
- TROTTER, G.W.; EMBERTSON, R.M. The uterus and ovaries. In: AUER, J.A.; STICK, J.A. (Eds.). **Equine Surgery**. 2.ed. Philadelphia: Saunders, 1999. p.575-583.



## EFFECT OF THE ADDITION OF L-CARNITINE AND PYRUVATE ON BOAR SEMEN CRYOPRESERVATION

*Data de aceite: 01/08/2020*

### **Mariana Caldevilla**

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Teriogenología, Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal. Av Chorroarin 280, Buenos Aires, Argentina (C.P. 1427)

### **Alejandro Ferrante**

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Teriogenología, Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal. Av Chorroarin 280, Buenos Aires, Argentina (C.P. 1427)

### **Carlos Pendola**

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Teriogenología, Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal. Av Chorroarin 280, Buenos Aires, Argentina (C.P. 1427)

### **Maria Florencia Gallelli**

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Teriogenología, Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal. Av Chorroarin 280, Buenos Aires, Argentina (C.P. 1427)

Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Godoy Cruz 2290, Buenos Aires, Argentina (C.P. 1425)

Corresponding author: marianacaldevilla@gmail.com

### **Maria Veiga**

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Teriogenología, Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal. Av Chorroarin 280, Buenos Aires, Argentina (C.P. 1427)

### **Marcelo Miragaya**

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Teriogenología, Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal. Av Chorroarin 280, Buenos Aires, Argentina (C.P. 1427)

**ABSTRACT:** The conventional freezing protocol for boar semen lasts around 8 hours and requires heavy equipment. Results in fertility and litter size obtained using frozen-thawed porcine semen are very different from those obtained with natural service or artificial insemination using cooled semen. The aim of this study was to evaluate freeze-thawing of boar semen comparing the traditional slow method to a rapid curve of temperature descent, using two cryoprotectants (glycerol and dimethylformamide) in presence of an antioxidant and an energy substrate (L-carnitine and pyruvate). Methods: Samples were re-diluted with 5% DMF; 3% glycerol; 5% DMF + L-carnitine and pyruvate and 3% glycerol + L-carnitine and pyruvate. Kinematic parameters, sperm viability and sperm acrosome

status and membrane functional integrity simultaneously (CB/HOS) were evaluated. Results: No significant differences ( $p>0.05$ ) were observed between slow or rapid curves, or between cryoprotectants, nor between presence or absence of L-carnitine and pyruvate for any of the motility, CB/HOS patterns or live acrosome-reacted, and dead acrosome-intact sperm (FITC-PNA/PI) evaluated post-thaw. However, a significant increase ( $p<0.05$ ) in live acrosome-intact sperm was observed with the rapid curve and in dead acrosome-reacted sperm was observed with the slow curve. Conclusion: Either glycerol or dimethylformamide could be used as cryoprotectants and the addition of L-carnitine together with pyruvate to the freezing media did not make a difference to the quality of thawed porcine semen.

**KEYWORDS:** Dimethylformamide, glycerol, L-carnitine, pyruvate, boar semen.

## 1 | INTRODUCTION

Semen cryopreservation is a biotechnology that has been used for many years to preserve genetic material, enable genetic improvement and increase reproductive efficiency of highly valuable boars. Basic components of extenders have been the same over the past 35 years and include egg yolk, glycerol (Pursel and Johnson, 1975), a carbohydrate and detergent substances. Glycerol is the most utilized permeable cryoprotectant to freeze semen in many species, including boars (Barbas and Mascarenhas, 2009). Different concentrations of glycerol have been used in mammals, varying from 2 to 10%. Several studies have demonstrated that the most suitable glycerol concentration to freeze boar semen varies from 2 to 4 % (Westendorf *et. al.*, 1975; Holt WV, 2000). Nevertheless, it is known that glycerol can induce chemical and osmotic toxic effects and changes in the sperm membrane lipids (Fiser and Fairfull, 1984; Fahy GM, 1986). For this reason, other cryoprotectants such as amides have been assayed. Amides have a lower molecular weight and higher water solubility, so they reduce intracellular ice crystal formation, producing minimum toxicity and less osmotic damage (Ashwood-Smith MJ, 1987).

Boar sperm membranes contain a high proportion of polyunsaturated fatty acids, which can suffer lipid peroxidation during cryopreservation (Cerolini *et. al.*, 2001). The increased production of reactive oxygen species during cryopreservation has been associated with the reduction of motility and fertility of thawed semen (Chatterjee *et. al.*, 2001; Aitken *et. al.*, 2014). This damage could be minimized with the addition of antioxidants to the extender prior to the freezing process (Großfeld *et. al.*, 2008). Carnitine modulates several sperm functions such as, fatty acid oxidation, acetyl-CoA/free CoA ratio and the use of pyruvate and lactate as energy substrates. In addition, it has a powerful antioxidant effect since it reduces lipid availability to peroxidation (Matalliotakis *et. al.*, 2000) and increases the activity of antioxidant enzymes such as catalase, superoxide dismutase and glutathione peroxidase; leading to improvement of sperm motility (Lisboa *et al.* 2014). Pyruvate acts as hydrogen peroxide scavenger and it can be used as antioxidant in extenders to avoid

peroxidative damage ([Bilodeau et al. 2002), improving semen quality (equine: Goncalvez da Silva 2008; bovine: Korkmaz et al., 2017).

The conventional freezing protocol for boar semen lasts around 8 hours and requires heavy equipment (refrigerated centrifuges and programmable freezers, among others) (Saravia et al., 2010; Rodriguez-Martinez and Wallgren, 2011). Therefore, development of easier and practical freezing protocols to implement “on field” would be useful.

The aim of this study was to apply a rapid freezing curve for cryopreserving boar semen using glycerol and dimethylformamide. Also, the addition of pyruvate and L- carnitine to minimize sperm damage during cryopreservation was studied. The final objective was to develop a useful protocol that could be easily applied on field.

## 2 | MATERIALS AND METHODS

### 2.1 Animals and location

The study was approved by the Institutional Committee for Use and Care of Laboratory animals (CICUAL) of the Faculty of Veterinary Sciences of the University of Buenos Aires (Protocol N° 2014/17). The present work was carried out at the Faculty of Veterinary Sciences of the University of Buenos Aires, Argentina. Nine (n= 9) males clinically healthy, ranging between 1.5 and 3 years of age were included in the study. Eighteen ejaculates were obtained (n=9; r=2) using the gloved hand technique (King *et al.*, 1973).

### 2.2 Sperm cryopreservation

For every ejaculate the following two freezing curves were evaluated simultaneously: rapid and slow. In all cases, the straws remained in the liquid nitrogen tank for at least 2 weeks before being thawed in circulating water at 37 °C for 1 minute.

All chemicals and reagents were obtained from Sigma Chemical Company, St Louis, Mo.

#### 2.2.1 Rapid curve

Samples were diluted in Androstar® plus (Minitüb, Germany). Afterwards, they were centrifuged 15 minutes at 800 g and the pellet was rediluted to  $300 \times 10^6$  sperm/ml in: 1) 5% DMF, lactose 11 %, 20 % egg yolk, 0.5 % Equex®; 2) 3 % glycerol, lactose 11 %, 20 % egg yolk, 0.5 % Equex®; 3) 5 % DMF, lactose 11 %, 20 % egg yolk, 0.5 % Equex® + 50 mM L-carnitine and 10 mM pyruvate and 4) 3 % glycerol, lactose 11 %, 20 % egg yolk, 0.5 % Equex® + 50 mM L-carnitine and 10 mM pyruvate. The samples were equilibrated for 30 minutes at room temperature, after loading in 0.5 ml straws, placed in plastic gobelets inside a bronze canister filled with a mixture of ethanol-acetone 1:1 (Figure 1). A rapid

freezing curve was carried out according to Miragaya et al., 2001. Briefly, the canister was held 6 cm above the liquid nitrogen level in a 10 litres nitrogen tank, monitoring the temperature descent with a digital thermometer from room temperature to -15 °C (descent at a rate of 10-12 °C/min) and then to -120 °C (at a rate of 25 - 40 °C/min). Finally, straws were plunged into liquid nitrogen at -196 °C.

### *2.2.2 Slow curve*

The slow freezing curve was performed as described by Westerndorf et al. (1975) with modifications (Caldevilla et al., 2016). Semen was placed at 17 °C for 2 h and then centrifuged at 800 g for 15 minutes. The pellet was rediluted with the same 4 extenders used in the rapid curve. Samples were stabilized for 2 h at 5 °C and loaded in 0.5 ml straws. The straws were placed on a rack, inside a styrofoam box, 5 cm above liquid nitrogen level for 20 minutes. Finally, the straws were plunged into liquid nitrogen at -196°C.

## **2.3 Post-thaw sperm assessment**

The following seminal characteristics were evaluated after thawing: kinetic parameters, viability, acrosome integrity, membrane function and acrosome status.

### *2.3.1 Evaluation of kinetic parameters*

Kinetic parameters were evaluated using a computerized system, ISAS v1 (Proiser®, Valencia, Spain). The following parameters were analyzed: the total sperm motility and progressive motility (%), CLV curvilinear velocity (µm/sec), SLV straight line velocity (µm/seg), VTM medium path velocity (µm/seg), ALH lateral head displacement (µm) and BCF beat cross frequency (Hertz).

### *2.3.2 Evaluation of sperm viability and acrosome integrity evaluation.*

The staining technique combines Fluorescein Isothiocyanate –*Arachis hypogea* agglutinin (FITC-PNA), a lectin that selectively binds the outer acrosomal membrane, with Propidium Iodide (PI) for viability. Briefly, samples were incubated at 37 °C for 10 min with FITC-PNA. Then, 2µl of PI were added and incubated for another 10 min at 37 °C. Finally it was evaluated using an epifluorescence microscope (Figure 2).

### *2.3.3 Evaluation of membrane function and acrosome status*

Coomassie blue (CB) was used on semen samples previously subjected to a hypoosmotic swelling (HOS) test (Ferrante et al., 2017). Briefly, sperm were subjected to a

HOS according to Vazquez *et al.*, (1997) modified: samples were incubated for 10 minutes at 37 °C in fructose- sodium citrate, washed with PBS centrifuging at 600g for 3 minutes. The pellet was re-diluted in 2 % paraformaldehyde, incubated at a room temperature during 4 minutes. A second centrifugation was performed (600 g for 3 minutes), repeating the procedure twice. The pellet was then re-diluted in 300  $\mu$ l of PBS and a drop was placed on a slide, within a circle marked with a Dako Pen®, and dyed 5 minutes with CB (Figure 3).

## 2.4 Statistical Analysis

Data were analyzed using a factorial design of 3 factors with 2 levels each, blocking the males. Therefore, an analysis of variance was performed on data with a normal distribution and otherwise a Kruskal Wallis test was performed.

# 3 | RESULTS

## 3.1 Post-thaw sperm kinetic parameters

No significant differences were observed ( $p > 0.05$ ) in motility of thawed sperm neither between the rapid and slow curves, nor between DMF and glycerol nor in the presence or absence of L-carnitine and pyruvate. No significant differences ( $p > 0.05$ ) were observed in the kinetic parameters CLV, SLV, VTM, ALH, BCF, between the rapid and slow curves, neither between DMF and glycerol, nor between the presence or absence of L-carnitine and pyruvate in the extenders. (Table 1)

## 3.2 Post-thaw sperm viability and acrosome integrity

When comparing sperm parameters within each freezing curve separately, no significant differences were observed ( $p > 0.05$ ) in the FITC-PNA/PI patterns between DMF and glycerol, nor with the addition of L-carnitine and pyruvate when using the rapid curve (Table 2). No significant differences were observed ( $p > 0.05$ ) in FITC-PNA/PI patterns, between DMF and glycerol, nor with the L-carnitine and pyruvate addition using the slow curve (Table 3).

When comparing the rapid vs. the slow freezing curve, the percentage of live spermatozoa with intact acrosomes was significantly higher ( $p < 0.05$ ) in the rapid curve ( $24.5 \pm 1.9$ ) compared to the slow curve ( $21.2 \pm 0.2$ ), while the percentage of dead sperm with reacted acrosomes was significantly lower ( $p < 0.05$ ) in the rapid curve ( $58.3 \pm 0.8$ ) than in the slow curve ( $62.3 \pm 0.5$ ).

## 3.3 Post-thaw sperm membrane function and acrosomal status

No significant differences ( $p > 0.05$ ) were observed in either of the HOS/CB patterns in thawed samples, neither between curves nor between cryoprotectants, nor in the presence

or absence of L-carnitine and pyruvate (Table 4).

## 4 | DISCUSSION

The cryopreservation method used for boar semen has been used for a long time. It is a gradual process that lasts between 3 to 5 h in short protocols, and 8 to 10 h in longer protocols (Saravia et al., 2010). The present study proposes the use of a rapid freezing curve that decreases the length of the protocols that are currently used. In addition to the short time that it takes to carry out the freezing curve, another important advantage is that it may be used “on field”, on any pig farm, without the necessity of transporting either the boars or the semen samples, or having a programmable freezer.

Although glycerol has historically been the accepted cryoprotectant used to freeze boar semen (Crabo and Einarsson, 1971; Pursel and Johnson, 1974), the concentration added to the freezing extender is essentially limited by its toxicity (Almlid and Johnson, 1988; Holt WV, 2000). Therefore, in different species, other cryoprotectants have been evaluated (equine: Squires et al., 2004; dog: Lopes et al., 2009; cattle: Oh et al., 2012). In fertility trials with frozen semen, a significant improvement in fertility was obtained using DMF compared to glycerol (equines: Squires et al., 2004; Vidament et al., 2002; rabbits: Hanada et al., 1980; fish: Ogier De Baulny et al., 1999). In the present study, the sperm parameters assessed after cryopreservation of boar semen with glycerol did not show significant differences compared to dimethylformamide. On the contrary, better results have been reported regarding to boar sperm motility, viability, integrity and membrane function when using a lactose-egg yolk extender with 3% glycerol, compared to one with dimethylformamide (Malo et al., 2012). This data agrees with Kim et al., (2011) who observed that when using dimethylacetamide and dimethylsulfoxide as cryoprotectants, motility and membrane integrity were lower in comparison to the results obtained when freezing with 3% glycerol. However, other authors have observed that the replacement of glycerol with amides (5% dimethylformamide or dimethylacetamide), in the extender resulted in an increase in motility and membrane integrity in thawed boar semen (Bianchi et al., 2008, Hwang et al., 2009). Differences between the results obtained in the previously mentioned studies and ours might be related to the different freezing protocols that were implemented and variations in the extender's composition.

It has been reported that the addition of antioxidants to freezing extenders increases post-thaw sperm quality and the reproductive efficiency after artificial insemination (Großfeld y col., 2008). However, in the present study the addition of L-carnitine to the freezing extenders did not improve post-thaw sperm quality in boars. On the contrary, Sariozkan et al. (2014) preserved rabbit semen at 5 °C for 24 h with the addition of L-carnitine observing that, at 12 and 24 h, sperm motility and membrane function were better compared to the control group; showing a decrease in acrosome damage at 24 h. Similarly, in Angora goats,



the addition of antioxidants like carnitine reduced the percentage of sperm with abnormal acrosomes and the total sperm abnormalities; although there was no improvement in post-thaw sperm motility versus the control group (Bucak et al., 2010a). In bulls, the addition of L-carnitine to the semen freezing extender, improved sperm motility, reduced morphological abnormalities and DNA damage in thawed samples (Bucak et al., 2010b). Aliabadi et al. (2017) showed that the addition of L-carnitine did not improve the post-thaw motility of human sperm however; there was an improvement in plasma membrane and acrosome integrity. Fattah et al. (2017) reported that the addition of L-carnitine to Beltsville medium improved sperm quality in rooster thawed semen; while the addition of this component to the freezing extender improved sperm motility in cats thawed epididymal sperm (Manee-in et al., 2014). The addition of pyruvate to extenders improved semen quality in bovines (greater sperm motility and percentages of intact membrane and acrosome, and lower percentages of DNA fragmentation) and sperm motility in equines (Goncalvez da Silva, 2008; Korkmaz et al., 2017). In boars, the addition of a mixture of antioxidants containing pyruvate, catalase and mercaptoethanol to the extender, which included glycerol or DMF as cryoprotectants, did not improve semen quality (Buranaamnuay et al., 2011). Similarly, in the present study, the addition of pyruvate to the extenders did not improve the assessed sperm parameters. Differences in the results obtained between these studies and the ones performed in bovine and equine might be attributed to a different sperm response to exogenous antioxidants between species and/or different freezing protocols. Considering the results obtained in other species, it would be interesting to evaluate other antioxidant's concentration in order to assess if better results are accomplished.

The currently used protocol to freeze boar semen involves many steps and is time-consuming (lasting around 8 hours to process an ejaculate). It also requires expensive equipment as refrigerated centrifuges and programmable freezers. Thus, it becomes unattractive for routine use and unpractical to implement on field. A simplified procedure, which requires around 3.5 hours, has been developed (Saravia et al., 2010). However, the mentioned technique involves the use of a programmable freezer. In the present study, a rapid freezing curve without the need of sophisticated equipment has been evaluated. As the assessed seminal characteristics did not show differences between the traditional slow curve and the studied rapid curve, the last one would be useful to implement on field.

There is a great variety of methods to evaluate the acrosome, but most are complicated or are expensive and require specialized equipment. It is possible to simultaneously evaluate acrosome status and sperm viability with FITC-PNA combined with PI, as it was done in the present study. The limiting factor of the technique is the need for a fluorescence microscope, which is rarely found in a laboratory under field conditions. In contrast, the CB stain is an effective and inexpensive method to evaluate sperm acrosomes in mammals. This is the first study that evaluated the acrosome status of boar sperm using the CB stain on samples previously subjected to the HOS test, with the objective to simultaneously

evaluate the acrosome and plasma membrane function. This combination of techniques successfully evaluated these two important parameters and can easily be incorporated into the routine breeding soundness evaluation on any pig farm in the field, without the need for an epifluorescent microscope and expensive fluorochromes.

In conclusion, it is possible to use a rapid freezing curve that takes only a few minutes to cryopreserve boar semen, using less equipment and at a reasonable cost. It can be used in the field or on any pig farm, without the need of transporting semen samples or boars, and only a few laboratory equipment are required. Both cryoprotectants, glycerol and DMF, similarly preserved boar semen, and the addition of 50 mM of L- carnitine and 10 mM of pyruvate to the extender was unable to improve post-thaw sperm parameters in boars.

## CONFLICTS OF INTEREST

None of the authors have any conflicts of interest to declare.

## REFERENCES

- Aitken, R.J., Lambourne, S., Gibb Z. 2014. The John Hughes Memorial Lecture: Aspects of Sperm Physiology- Oxidative Stress and the Functionality of Stallion Spermatozoa. J. Equine Vet. Sci. 34, 17-27.
- Aliabadi, E., Jahanshahi, S., Talaei-Khozani, T., Banaei, M. 2017. Comparison and evaluation of capacitation and acrosomal reaction in freeze-thawed human ejaculated spermatozoa treated with L-carnitine and pentoxifylline. Andrologia. 00, e12845
- Almlid, T., Johnson, L.A. 1988. Effects of glycerol concentration, equilibration time and temperature of glycerol addition on post-thaw viability of boar spermatozoa frozen in straws. J. Anim. Sci. 66, 899–905.
- Ashwood-Smith, M.J. 1987. Mechanisms of cryoprotectant action. Symposium of the Society for Experimental Biology 1:3954–406.
- Barbas, J.P., Mascarenhas, E.R. 2009. Cryopreservation of domestic animal sperm cells. Cell Tissue Bank 10, 49–62
- Bianchi, I., Calderam, K., Maschio, E. F., Madeira, E.M., da Rosa Ulguim, R., Corcini, C.D., Bongalhard, o D.C., Correa, E. K., Lucia, J.T., Deschamps, J.C., Correa, M.N. 2008. Evaluation of amides and centrifugation temperature in boar semen cryopreservation. Theriogenology 69, 632–638.
- Bucak, M.N., Sariozkan, S., Tuncer, P. B., Sakin, F., Atessahin, A., Kulaksiz, R., Cevik, M. 2010a. The effect of antioxidants on post-thawed Angora goat (*Capra hircusanycryrensis*) sperm parameters, lipid peroxidation and antioxidant activities. Small Ruminant Res. 89, 24-30.
- Bucak, M.N. , Tuncer, P.B., Sariozkan, S., Baspinar, N., Taspinar, M., Cuyan, K., Biligili, A., Akalin, P., Buyukleblebici, S., Aydos, S., Ilgaz, S., Sunguroglu, A., Oztuna, D. 2010b. Effects of antioxidants on post-thawed bovine sperm and oxidative stress parameters: Antioxidants protect DNA integrity against cryodamage. Criobiology 61, 248-253.

- Buranaamnuay, K., Grossfeld, R., Struckmann, C., Rath, D. 2011. Influence of cryoprotectants glycerol and amides, combined with antioxidants on quality of frozen-thawed boar sperm. *Anim. Reprod. Sci.* 127, 56– 61
- Caldevilla, M., Ferrante, A., Pendola, C., Miragaya, M. 2016. Comparación del efecto de dos curvas de congelación de semen porcino. Resultados preliminares. *Spermova* 6, 112-118
- Cerolini, S., Maldjian, A., Pizzi, F., Gliozzi, T.M. 2001. Changes in sperm quality and lipid composition during cryopreservation of boar semen. *Reproduction* 121, 395–401.
- Chatterjee, S., De Lamirande, E., Gagnon, C. 2001. Cryopreservation alters membrane sulfhydryl status of bull spermatozoa: protection by oxidized glutathione. *Mol. Reprod. Dev.* 60, 498-506
- Crabo, B., Einarsson, S. 1971. Fertility of deep frozen boar spermatozoa. *Acta Vet. Scand.* 12,125–127.
- Fahy, G.M. 1986. The relevance of cryoprotectant “toxicity” to cryobiology. *Cryobiology* 23, 1–13.
- Fattah, A., Sharafi, M., Masoudi, R., Shahverdi, A., Esmaeili, V., Najafi, A. 2017. L-Carnitine in rooster semen cryopreservation: Flow cytometric, biochemical and motion findings for frozen-thawed sperm. *Cryobiology* 74, 148- 153.
- Ferrante, A., Caldevilla, M., Miragaya, M. 2017. Combinación de la tinción Azul de Coomassie con la prueba hipoosmótica para evaluar espermatozoides equinos y porcinos. V Jornadas Internacionales del Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal (INITRA). *Invet.* 19, 66.
- Fiser, P.S., Fairfull, RW. 1984. The effect of glycerol concentration and cooling velocity on cryosurvival of ram spermatozoa frozen in straws. *Cryobiology* 21, 542–551.
- Goncalvez Da Silva, K.M., Gamboa, S., Rodrigues, A.S., Ramalho-Santos, J., Guera, M. 2008. Effect of pyruvate and trolox added to the extender used for freezing fertile and subfertile stallion semen. *Ciência Rural* 38, 2271-2277
- Großfeld, R., Sieg, B., Struckmann, C., Frenzel, A., Maxwell, W.M.C., Rath, D. 2008. New aspects of boar semen freezing strategies. *Theriogenology* 70, 1225–1233.
- Hanad,a A., Nagase, H. 1980. Cryoprotective effects of some amides on rabbit spermatozoa. *J. Reprod. Fertil.* 60,247–52.
- Holt, WV. 2000. Basic aspects of frozen storage of semen. *Anim. Reprod. Sci.* 62, 3–22.
- Hwang, Y.J., Yang, J.H., Kim, S.O., Kim, B.K., Choi, S.K., Park, C.K., Kim, D.Y. 2009. Effect of dimethylformamide on post-thaw motility, acrosome integrity, and DNA structure of frozen boar sperm. *J. Embryo Transf.* 24, 275–279.
- Kim, S., Lee, Y.J., Ji, D.B., Kim, Y.J. 2011. Evaluation of different cryoprotectants (CPAs) in boar semen cryopreservation. *J. Vet. Med. Sci.* 73, 961–963.
- King, G., Macpherson, W. 1973. A comparison of two methods for boar semen collection. *J. Anim. Sci.* 36, 563-565.
- Korkmaz, F., Malama, E., Siuda, M., Leiding, C., Bollwein, H. 2017. Effects of sodium pyruvate on viability, synthesis of reactive oxygen species, lipid peroxidation and DNA integrity of cryopreserved bovine sperm. *Anim. Reprod. Sci.* 185, 18-27
- Lisboa FL, Hartwig FP, Freitas- Dell ´Aqua CP, Papa FO, Dell´Aqua Jr. JA, (2014). Improvement of cooled equine semen by addition of carnitine. *J. Equine Vet. Sci.* 34: 28-100.

- Lopes, K.R., Costa, L.L., Lima, G.L., Souza, A.L., Silva, A.R. 2009. Dimethylformamide is no better than glycerol for cryopreservation of canine semen. *Theriogenology* 72,650–654.
- Malo, C., Gil, L., Cano, R., Martínez, F., García, A., Jerez, R.A. 2012. Dimethylformamide is not better than glycerol for cryopreservation of boar semen. *Andrologia* 44, 605–610.
- Manee-in, S., Parmornsupornvichit, S., Kraiprayoon, T., Tharasanit, P., Hanapiwat, O., Kaeokey, K. 2014. L-carnitine supplemented extender improves cryopreserved- thawed cat epididymal sperm motility. *Asian-Australas J. Anim. Sci.* 27, 791-796.
- Matalliotakis, I., Koumantaki, Y., Evageliou, A., Matalliotakis, G., Goumenou, A., Koumantakis, E. 2000. L-carnitine levels in the seminal plasma of fertile and infertile men: correlation with sperm quality. *Int. J. Fertil. Womens Med.* 45, 236-40.
- Miragaya, M.H., Chaves, M.G., Neild, D.M., Berretta, C., Agüero A. (2001). Artificial insemination using stallion semen cryopreserved with a simple manual method. 3<sup>rd</sup> International Symposium on stallion reproduction, Colorado State University, Fort Collins, CO, USA.
- Ogier De Baulny, B., Labbe, C., Maisse, G. 1999. Membrane integrity, mitochondrial activity, ATP content and motility of European Catfish (*Silurus glanis*) testicular spermatozoa after freezing with different cryoprotectants. *Cryobiology* 39, 177–84.
- Oh, S.A., S.H. Choi, M.H. Ko, T.Y. Kang, S.R. Cho, M.S. Ko, Y.M. Oh, W.M. Cho. 2012. Effect of amides as a cryoprotectant on quality of frozen-thawed sperm in Korean jeju black bull. *J. Anim. Sci. Tech.* 54: 95-101.
- Pinho, R.O., Lima, D.M.A., Shiomi, H.H., Siqueira, J.B., Silva, H.T., Lopes, P.S., Guimarães, S.E.F., Guimarães, J.D. 2014. Effect of different cryo-protectants on the viability of frozen/thawed semen from boars of the Piau breed. *Anim. Reprod. Sci.* 146, 187–192.
- Pursel, V.G., Johnson, L.A. 1974. Glutaraldehyde fixation of boar spermatozoa for acrosome evaluation. *Theriogenology* 1, 63–68.
- Pursel, V.G., Johnson, L.A. 1975. Freezing of boar spermatozoa –fertilizing- capacity with concentrated semen and a new thawing procedure. *J. Anim. Sci.* 40, 99–102.
- Rodriguez-Martinez, H., Wallgren, M. 2011. Advances in Boar Semen Cryopreservation. *Vet. Med. Int.* 2011, 396181.
- Saravia F, Wallgren M, Rodríguez-Martínez H. 2010. Freezing of boar semen can be simplified by handling a specific portion of the ejaculate with a shorter procedure and MiniFlatPack packaging. *Anim. Reprod. Sci.* 117, 279-87
- Silva, C.G., Cunha, E.R., Blume, G.R., Malaquias, J.V., Báo, S.N., Martins, C.F. 2015. Cryopreservation of boar sperm comparing different cryoprotectants associated in media based on powdered coconut water, lactose and trehalose. *Cryobiology* 70, 90–94.
- Squires, E.L., Keith, S.L., Graham, J.K. 2004. Evaluation of alternative cryoprotectants for preserving stallion spermatozoa. *Theriogenology* 62, 1056–1065.
- Sariozkan, S., Ozdamar, S., Turk, G., Canturk, F., Yay, A. 2014. *In vitro* effects of L- carnitine and glutamine on motility, acrosomal abnormality, and plasma membrane integrity of rabbit sperm during liquid-storage. *Cryobiology* 68, 349-353.
- Squires, E.L., Keith, S.L., Graham, J.K. 2004. Evaluation of alternative cryoprotectants for preserving stallion spermatozoa. *Theriogenology* 62, 1056–65.

Vázquez, J., Martínez, E.A., Martínez, P., García-Artiga, C. Roca, J. 1997. Hypoosmotic swelling of boar spermatozoa compared to other methods for analyzing the sperm membrane. *Theriogenology* 47, 913 – 922.

Vidament, M., Daire, C., Yvon, J.M., Doligez, P., Bruneau, B., Magistrini, M. 2002. Motility and fertility of stallion semen frozen with glycerol and/or dimethylformamide. *Theriogenology* 58, 249–51.

Westendorf, P., Richter, L., Treu, H. 1975. Zur tiefgefrierung von ebersperma: labor und besamungsergebnisse mit dem Hulsenberger pailletten verfahren. *Dtsch. Tierarztl. Wochenschr.* 82, 261-267.

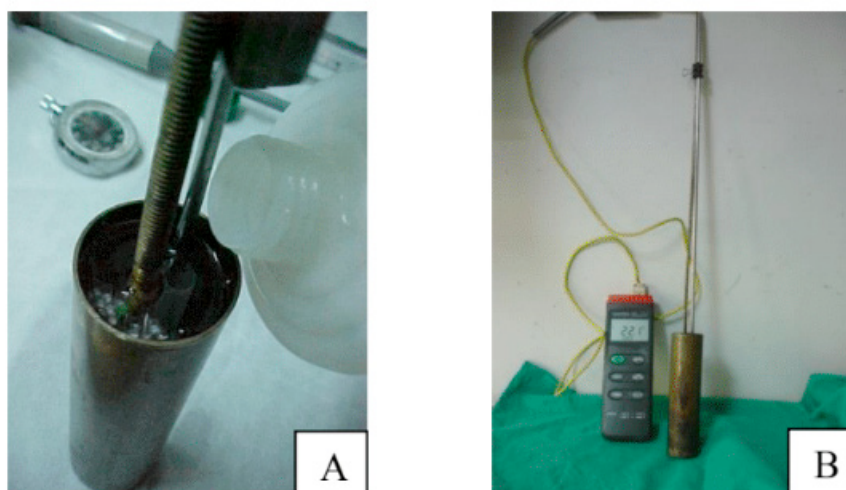


Figure 1. Straws inside bronze canister with ethanol-acetone (A) and a digital thermometer to control the temperature descent (B).

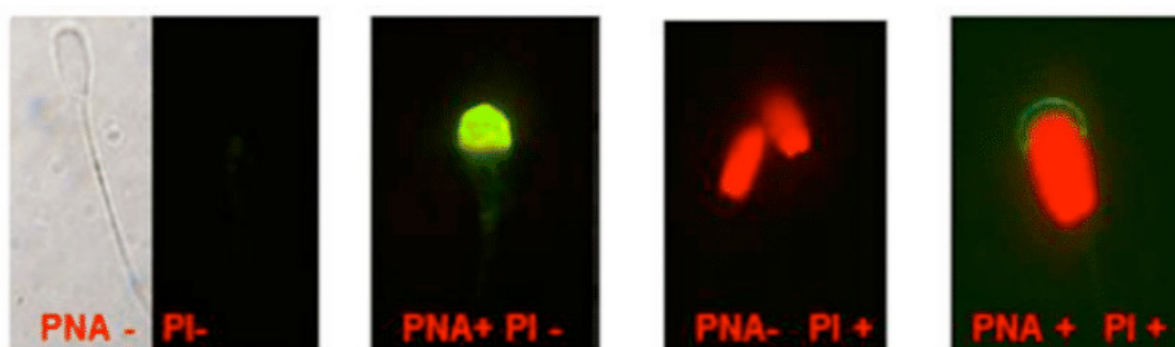


Figure 2. Staining patterns observed using FITC-PNA/PI. PNA-: sperm with an intact acrosome; PNA+: sperm with a reacted acrosome; PI-: live sperm, with intact membrane; PI+: dead sperm, with damaged membrane.

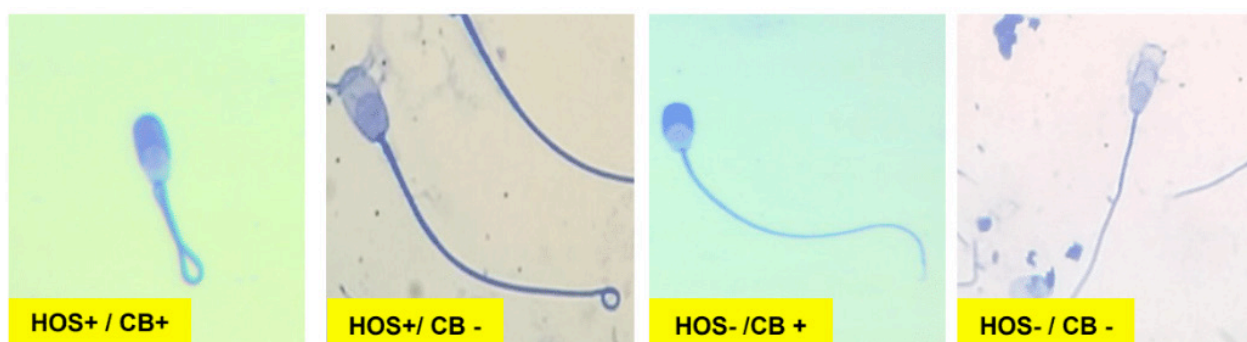


Figure 3. Patterns observed using the HOS/ Coomassie blue stain. HOS+: sperm with functional membrane; HOS-: sperm with non-functional membrane; CB+: sperm with an acrosome; CB-: sperm without an acrosome.



Freezing Curve	Antioxidant	Cryoprotectant	Progressive motility [%]	Total motility [%]	Curvilinear velocity [ $\mu\text{m/s}$ ]	Straight line velocity [ $\mu\text{m/s}$ ]	Medium path velocity [ $\mu\text{m/s}$ ]	Lateral head displacement [ $\mu\text{m}$ ]	Beat Cross frequency [Hz]
rapid	without carnitine	glycerol	12.5 $\pm$ 6.6	22.3 $\pm$ 10.0	32.8 $\pm$ 11.0	12.4 $\pm$ 5.3	17.1 $\pm$ 6.0	1.5 $\pm$ 0.9	4.1 $\pm$ 2.3
rapid	with carnitine + pyruvate	glycerol	11.0 $\pm$ 5.6	21.8 $\pm$ 9.5	31.7 $\pm$ 12.5	12.5 $\pm$ 5.5	17.2 $\pm$ 6.0	1.5 $\pm$ 1.0	13.1 $\pm$ 2.1
rapid	without carnitine	DMF	11.3 $\pm$ 5.6	18.4 $\pm$ 7.0	30.0 $\pm$ 10.5	11.5 $\pm$ 4.4	15.5 $\pm$ 5.3	1.5 $\pm$ 0.9	4.1 $\pm$ 2.7
rapid	with carnitine + pyruvate	DMF	11.0 $\pm$ 6.0	19.5 $\pm$ 7.7	29.8 $\pm$ 8.9	10.2 $\pm$ 5.0	14.9 $\pm$ 5.6	1.5 $\pm$ 1.0	3.5 $\pm$ 1.9
slow	without carnitine	glycerol	12.6 $\pm$ 7.0	21.8 $\pm$ 12.0	36.9 $\pm$ 14.0	14.7 $\pm$ 6.5	19.3 $\pm$ 7.0	1.6 $\pm$ 1.0	5.3 $\pm$ 3.3
slow	with carnitine + pyruvate	glycerol	12.3 $\pm$ 5.7	22.0 $\pm$ 4.5	32.2 $\pm$ 14.0	13.7 $\pm$ 5.5	17.8 $\pm$ 6.5	1.5 $\pm$ 0.9	4.3 $\pm$ 3.9
slow	without carnitine	DMF	13.0 $\pm$ 7.4	24.3 $\pm$ 9.0	32.0 $\pm$ 9.0	13.6 $\pm$ 2.9	17.7 $\pm$ 3.2	1.4 $\pm$ 0.9	4.1 $\pm$ 2.3
slow	with carnitine + pyruvate	DMF	10.7 $\pm$ 6.6	18.7 $\pm$ 6.5	33.1 $\pm$ 14.0	11.1 $\pm$ 4.6	17.3 $\pm$ 7.5	1.3 $\pm$ 1.0	2.8 $\pm$ 1.7

Table 1. Evaluation of kinetic parameters. Data are expressed as mean  $\pm$  SD.

DMF: dimethylformamide

Freezing Curve	Antioxidant	Cryoprotectant	PNA- Pi-	PNA + Pi-	PNA- Pi +	PNA+ Pi +
rapid	without carnitine	glycerol	23.2 $\pm$ 10.0	2.4 $\pm$ 2.0	15.5 $\pm$ 7.0	59.0 $\pm$ 12.0
rapid	with carnitine + pyruvate	glycerol	25.0 $\pm$ 10.0	2.5 $\pm$ 2.0	15.1 $\pm$ 8.0	57.5 $\pm$ 14.7
rapid	without carnitine	DMF	22.8 $\pm$ 7.5	2.9 $\pm$ 2.0	15.3 $\pm$ 6.8	59.0 $\pm$ 9.0
rapid	with carnitine + pyruvate	DMF	27.1 $\pm$ 11.0	3.2 $\pm$ 2.7	12.0 $\pm$ 6.0	57.8 $\pm$ 13.0

Table 2. Evaluation of sperm viability and acrosome integrity using a rapid curve. Data are expressed as mean  $\pm$ SD.

Freezing Curve	Antioxidant	Cryoprotectant	PNA- Pi-	PNA + Pi-	PNA- Pi +	PNA + Pi +
slow	without carnitine	glycerol	21.3 $\pm$ 8.4	2.8 $\pm$ 2.0	14.4 $\pm$ 7.8	61.4 $\pm$ 11.6
slow	with carnitine + pyruvate	glycerol	21.5 $\pm$ 7.0	2.8 $\pm$ 2.0	14.0 $\pm$ 7.8	61.7 $\pm$ 9.8
slow	without carnitine	DMF	21.0 $\pm$ 7.2	3.2 $\pm$ 2.8	13.6 $\pm$ 7.5	62.3 $\pm$ 8.9
slow	with carnitine + pyruvate	DMF	21.1 $\pm$ 9.5	2.9 $\pm$ 2.0	13.7 $\pm$ 5.6	62.3 $\pm$ 10.9

Table 3. Evaluation of sperm viability and acrosomal integrity using a slow curve. Data are expressed as mean  $\pm$ SD.

DMF: dimethylformamide PNA-/PI-: live sperm with intact acrosomes. PNA+/PI-: live sperm with reacted acrosomes. PNA-/PI+: dead sperm with intact acrosomes. PNA+/PI+: dead sperm with reacted acrosomes.



Freezing Curve	Antioxidant	Cryoprotectant	CB+ H+	CB - H+	CB + H-	CB - H-
rapid	without carnitine	glycerol	18.8 ± 5.4	6.6 ± 5.0	9.2 ± 2.6	65.4 ± 5.9
rapid	with carnitine+ pyruvate	glycerol	18.0 ± 5.3	7.4 ± 6.2	9.4 ± 3.2	65.2 ± 5.3
rapid	without carnitine	DMF	14.9 ± 5.3	7.2 ± 4.9	8.4 ± 3.2	69.5 ± 6.4
rapid	with carnitine+ pyruvate	DMF	19.3 ± 5.6	6.6 ± 3.8	10.6 ± 3.9	63.6 ± 6.9
slow	without carnitine	glycerol	17.7 ± 7.5	8.2 ± 4.3	9.6 ± 4.2	64.5 ± 8.8
slow	with carnitine+ pyruvate	glycerol	20.2 ± 7.4	7.8 ± 5.6	10.7 ± 2.6	61.3 ± 8.4
slow	without carnitine	DMF	19.6 ± 8.8	7.2 ± 5.1	8.7 ± 4.8	64.6 ± 12.6
slow	with carnitine+ pyruvate	DMF	18.3 ± 9.0	7.4 ± 6.0	10.2 ± 4.3	64.1 ± 10.0

Table 4. Evaluation of membrane function and acrosomal status. Data are expressed as mean ±SD.

DMF: dimethylformamide CB + H+: sperm without acrosome. Hypoosmotic test positive CB -H+: sperm with acrosome. Hypoosmotic test positive. CB + H-: sperm without acrosome. Hypoosmotic test negative. CB -H-: sperm with acrosome. Hypoosmotic test negative

## ENTRÓPIO EM CÃO – RELATO DE CASO

*Data de aceite: 01/08/2020*

*Data de submissão: 02/05/2020*

**Fábio Fernandes Bruno Filho**

Universidade Federal de Goiás, Regional Jataí  
Jataí – GO

<http://lattes.cnpq.br/9342294228099533>

**Wanessa Ferreira Ataíde**

Universidade Federal de Goiás, Regional Jataí  
Jataí – GO

<http://lattes.cnpq.br/6584897928711939>

**Kamylla Caroline Santos**

Universidade Federal de Goiás, Regional Jataí  
Jataí – GO

<http://lattes.cnpq.br/4863862624953990>

**Ana Carolina Barbosa Tórmena**

Universidade Federal de Goiás, Regional Jataí  
Jataí – GO

<http://lattes.cnpq.br/1058473109785071>

**Rafaela Assis Oliveira**

Universidade Federal de Goiás, Regional Jataí  
Jataí – GO

<http://lattes.cnpq.br/6727983205337251>

**Anna Gabriela da Cruz Silva**

Universidade Federal de Goiás, Regional Jataí  
Jataí – GO

<http://lattes.cnpq.br/3866070777264461>

**Jéssica de Lima Mendes**

Universidade Federal de Goiás, Regional Jataí  
Jataí – GO

<http://lattes.cnpq.br/2952651249907209>

**Dirceu Guilherme de Souza Ramos**

Universidade Federal de Goiás, Regional Jataí  
Jataí – GO

<http://lattes.cnpq.br/8459938386121997>

**Klaus Casaro Saturnino**

Universidade Federal de Goiás, Regional Jataí  
Jataí – GO

<http://lattes.cnpq.br/6894735942112278>

**Andréia Vitor Couto do Amaral**

Universidade Federal de Goiás, Regional Jataí  
Jataí – GO

<http://lattes.cnpq.br/3781554771717043>

**RESUMO:** Éntropio é a inversão da pálpebra, podendo acometer a pálpebra superior e a inferior e ser uni ou bilateral. Se não tratado, repercute em perda da acuidade visual e/ou atrofia ocular. Neovascularização, epífora, edema e ulcerações na córnea são alguns dos sintomas desta afecção. A resolução do éntropio é cirúrgica e a seleção da técnica mais adequada varia de acordo com a severidade da inversão. O objetivo deste trabalho é relatar um caso de éntropio bilateral, das pálpebras

superior e inferior em um cão, e sua correção utilizando a blefaroplastia, a fim de contribuir para a literatura e discutir à cerca do problema. Foi atendido no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Goiás, Regional Jataí (HV/UFG-REJ) um cão macho da raça Chow Chow, com dois anos de idade apresentando entrópio bilateral. Realizou-se blefaroplastia bilateral nas pálpebras inferiores e superiores através da técnica de Hotz-Celsus modificada. O paciente apresentou boa resposta ao tratamento cirúrgico proposto, observando-se completa remissão dos sinais clínicos. A supercorreção ou subcorreção são situações comuns neste tipo de procedimento, entretanto, sua execução por profissional especializado em oftalmologia reflete maiores chances de sucesso, como no presente trabalho.

**PALAVRAS-CHAVE:** Blefaroplastia, Hotz-Celsus, oftalmologia

### ENTROPION IN DOG – CASE REPORT

**ABSTRACT:** Entropion is the eyelid inversion, which can affect the upper and lower eyelids and be uni or bilateral. If left untreated, it results in loss of visual acuity and/or eye atrophy. Neovascularization, epiphora, edema and cornea ulcerations are some of the symptoms of this condition. The entropion resolution is surgical and the selection of the most appropriate technique varies according to the severity of the inversion. The objective of this work is to report a case of bilateral entropion, of the upper and lower eyelids in a dog, and its correction using blepharoplasty, in order to contribute to the literature and discuss the problem. At the Veterinary Hospital of the Federal University of Goiás, Jataí Regional (HV / UFG-REJ), a two-year-old male dog of the Chow Chow breed presenting bilateral entropion was assisted. Bilateral blepharoplasty was performed on the lower and upper eyelids using the modified Hotz-Celsus technique. The patient responded well to the proposed surgical treatment, observing complete remission of clinical signs. Overcorrection or undercorrection are common situations in this type of procedure, however, its execution by a specialized professional in ophthalmology reflects greater chances of success, as shown in the present study.

**KEY-WORDS:** Blepharoplasty, Hotz-Celsus, ophthalmology

### INTRODUÇÃO

Caracteriza-se como entrópio a inversão da pálpebra, podendo acometer a pálpebra superior e a inferior e ser uni ou bilateral. Pode ser classificado como primário, quando se trata de um defeito de desenvolvimento, secundário quando oriundo de outra lesão pré-existente ou ainda terciário quando sua ocorrência for em consequência de dor ocular crônica. Ao se considerar o grau da inversão palpebral, o entrópio pode ser classificado como leve, moderado ou grave, quando a rotação deste anexo ocular se encontra a 45°, 90° e 180°, respectivamente. Se não tratado, repercute em perda da acuidade visual e/ou atrofia ocular. Algumas raças como os Shar Peis são pré-dispostas a apresentarem a doença, sendo que os casos primários manifestam sintomatologia inicial por volta dos

seis meses de idade (VIANA, et al., 2006).

Dentre os sinais clínicos, frequentemente são observados neovascularização, epífora, edema e ulcerações na córnea, principalmente nos casos crônicos. A hiperemia conjuntival, fotofobia e blefaroespasmos também constituem alterações relatadas. A resolução do entrópio é cirúrgica e a seleção da técnica mais adequada varia de acordo com a severidade da inversão. A realização do procedimento operatório não garante a cura definitiva do entrópio pois podem ocorrer subcorreções, supercorreções ou ainda o animal crescer e apresentar mais extensão de pele na região periorbital (GONÇALVES et al., 2013).

O entrópio compromete a acuidade visual e prejudica as estruturas oculares adjacentes, repercutindo em desconforto e sinais clínicos graves que podem resultar na perda total da viabilidade ocular. Desta forma, é importante debater à cerca deste tema e esclarecer sobre as consequências desta afecção.

## **BASE TEÓRICA**

O sistema visual dos animais é formado pelos anexos e bulbo ocular, tratando-se da parte principal para o mecanismo de visão. O bulbo ocular é composto por três camadas, a primeira e mais externa é composta pela córnea e esclera, a camada intermediária é formada pelo trato uveal (íris, corpo ciliar e coróide) e a última e mais interna é a camada nervosa, formada pela retina e parte do nervo óptico. Inclui-se nelas os meios transparentes do globo ocular, humor aquoso, lente e humor vítreo (LAUS, 2009).

As pálpebras são pregas muscolofibrosas formadas por três distintas camadas e compõem parte dos anexos oculares juntamente com o aparelho lacrimal, desempenhando função protetora e lubrificante. A pele dessa estrutura é fina, elástica, delicada e possui cílios em sua margem, sendo presente também algumas glândulas sebáceas e ciliares (DYCE et al., 2010). Além de auxiliar na manutenção do filme lacrimal, as pálpebras também regulam a passagem de luminosidade, drenam fluidos e expulsam corpos estranhos. Os cílios por sua vez, apresentam função protetora e sensorial, estando presentes apenas nas pálpebras superiores em cães (EURIDES e SILVA, 2013).

A inversão da margem palpebral é denominada de entrópio. Algumas raças como Shar Pei, Labrador Retrieve e Chow Chow são predispostas a apresentarem tal alteração devido a características intrínsecas. O entrópio é geralmente unilateral e afeta de forma mais comum a pálpebra inferior, entretanto pode ocorrer de forma simultânea, acometendo tanto a pálpebra superior quanto a inferior, e bilateralmente. Além da pré-disposição racial, o entrópio pode cursar em consequência a irritações, traumas, processos inflamatórios e neoplasias. A correção do entrópio é cirúrgica e a escolha da técnica depende da localização, etiologia e gravidade do problema. A inversão das pálpebras propicia contato direto dos cílios com a superfície ocular, gerando um atrito entre tais estruturas, resultando

em irritação conjuntival e córnea que pode evoluir para úlceras de córnea (EURIDES e SILVA, 2013).

Úlceras de córnea estão entre as alterações oftálmicas mais frequentes na medicina veterinária, pois, devido a sua localização anterior no globo ocular, essa estrutura é propensa a lesões (DYCE et al., 2010). São classificadas de acordo com a sua extensão e profundidade, podendo ser superficiais, profundas ou descemetocel. Sua ocorrência pode estar relacionada ao entrópio (GELATT, 2003). Os sinais clínicos observados são blefaroespasma, dor, secreção ocular, fotofobia e opacidade corneal. O diagnóstico é feito através do histórico colhido durante a anamnese, achados físicos e teste da fluoresceína. Se não tratadas rapidamente, as úlceras podem evoluir e resultar em perfurações, tendo como consequência a perda visual (ANDRADE, 2013).

## OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho é relatar um caso de entrópio bilateral, das pálpebras superior e inferior em um cão, e sua correção utilizando a blefaroplastia, a fim de contribuir para a literatura e discutir à cerca do problema.

## METODOLOGIA

Foi atendido no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Goiás, Regional Jataí (HV/UFG-REJ) um cão macho da raça Chow Chow, com dois anos de idade. O animal foi levado ao serviço veterinário por apresentar blefaroespasmos, sendo esta a queixa do tutor. Ao realizar-se exame oftalmológico, notou-se que ambos os olhos apresentavam epífora, edema de córnea e hiperemia conjuntival. Existia ainda uma ulceração na córnea do globo ocular esquerdo. Assim sendo, através de exame físico minucioso atrelado a anamnese completa, o diagnóstico foi de entrópio bilateral e úlcera de córnea no olho esquerdo. Na ocasião, coletou-se sangue por punção venosa da veia cefálica e realizou-se hemograma completo pelo método de contagem automatizada SDH-3 VET o qual não apontou nenhuma anormalidade ou valores em discrepância aos de referência. O animal foi então encaminhado para o setor de cirurgia. Realizou-se blefaroplastia bilateral nas pálpebras inferiores e superiores através da técnica de Hotz-Celsus modificada.

Efetuuou-se tricotomia ampla na região periocular, bilateralmente, e em seguida procedeu-se a assepsia com iodo povidine diluído em solução fisiológica na proporção de 1:100. Iniciando-se pela pálpebra superior, estendeu-se a pele na área do entrópio e com o auxílio de pinça de Hausted demarcou-se a região a ser incisionada. Utilizando-se pinça anatômica e tesoura de Metzenbaum, a incisão foi então realizada à aproximadamente 2 centímetros da margem palpebral, em meia lua (elipse), e em seguida realizou-se a

dermorrafia com fio de Nylon 5-0 no padrão contínuo Reverdin. A técnica foi repetida nas margens palpebrais superiores e inferiores de ambos os olhos.

Após a recuperação anestésica, o animal foi liberado, sendo prescrito amoxicilina com clavulanato na dose de 15 mg/kg a cada 12 horas, por via oral, por sete dias, meloxicam na dose de 0,1 mg/kg a cada 24 horas, por via oral, por quatro dias, dipirona na dose de 25 mg/kg a cada 12 horas, por via oral, por quatro dias e pomada oftálmica a base de cloranfenicol a cada seis horas, por dez dias. Instruiu-se o proprietário em relação a assepsia e demais cuidados com a ferida cirúrgica e o uso intermitente de colar elisabetano. Após 15 dias do procedimento operatório, o animal retornou para remoção dos pontos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O paciente apresentou boa resposta ao tratamento cirúrgico proposto, observando-se completa remissão dos sinais e sintomas na ocasião da remoção dos pontos de sutura. De acordo com READ e BROUN (2007) o Chow Chow é uma raça pré-disposta a apresentar entrópio e manifesta a afecção por volta dos dois anos e dez meses de idade, condizendo com a idade do animal deste estudo, apresentando dois anos de idade. Em contrapartida, VIANA et al. (2006) aponta que os animais cuja etiologia da afecção é em decorrência de defeito de desenvolvimento, ou seja, causa primária pelo excesso de pele que é característica de algumas raças, apresentam sintomatologias oftálmicas por volta dos seis meses de idade.

Os sinais clínicos observados neste caso, corroboram com os descritos por ALBUQUERQUE et al. (2010), que atribui tais sinais como consequência do atrito dos cílios com a superfície ocular. VIANA et al. (2006) ao avaliar os aspectos clínicos da doença encontrou a conjuntivite e quemose como sinais mais prevalentes, por sua vez ainda cita enoftalmia, miose, leucoma e úlcera de córnea como outras manifestações clínicas passíveis de serem encontradas. O cão deste estudo apresentava ulceração na córnea do olho esquerdo, porém optou-se por não realizar flap de terceira pálpebra ou conjuntival no ato da cirurgia, pois o defeito epitelial encontrava-se em fase próxima do fechamento, observado por meio de exame com biomicroscopia com lâmpada de fenda.

Para a síntese do tecido incisionado, utilizou-se o padrão de sutura Reverdin, diferindo de GREIN et al. (2017) que aplicou pontos simples isolados em um caso semelhante, entretanto ambas as técnicas apresentaram resultados promissores. Após a retirada dos pontos, notou-se correção efetiva do entrópio. Segundo GREIN et al. (2017) a supercorreção ou subcorreção são intercorrências comuns atreladas a este procedimento. Desta forma, é importante orientar o tutor do animal em relação a possíveis futuras intervenções cirúrgicas.



## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em casos de entrópio, a terapêutica e a técnica cirúrgica selecionada devem embasar-se na etiologia do problema. A supercorreção ou subcorreção são situações comuns neste tipo de procedimento, entretanto, sua execução por profissional especializado em oftalmologia reflete maiores chances de sucesso, como no presente trabalho. Assim como neste estudo, o entrópio pode ocasionar úlceras na superfície ocular, sendo, portanto, imprescindível sua resolução de forma efetiva.

## REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE L.; FREITAS, L. V. R. P.; ALMEIDA, A. C. V. R.; HUNNING, P. S.; BERCHT, B. S.; PIGATO, J. A. T. **Afecções dos cílios em cães – Revisão de literatura**. Revista Científica de Medicina Veterinária - Pequenos Animais e Animais de Estimação; n. 8, v.25, p. 293-296, 2010.
- ANDRADE, A. L.; SOUZA, A. L.; GONÇALVES, SAVASSI, G.; KLEINER, J. A.; PIGATTO, J. A. T.; MARCHAN, P. R. A. C. Oftalmologia. In: **Dia-a-dia tópicos selecionados em especialidades veterinárias**. Curitiba: Medvep, 2013, 548p.
- DYCE, K. M.; SACK, W. O.; WENSING, C. J. G. **Tratado de anatomia veterinária**. 4. ed., Rio de Janeiro: Elsevier, 2010, 840p.
- EURIDES, D.; SILVA, L. A. F. **Manual de Cirurgia Oftálmica Veterinária**. Curitiba: Medvep, 2013, 204 p.
- GELATT, K. N. **Fundamentos de oftalmologia veterinária**. Barcelona: Masson, 2003, 608p.
- GONÇALVES, G. F.; MERLINI, N. B.; LEME, M. C.; EURIDES, D.; ROMAGNOLLI, P.; CUNHA NETO, C. A. V.; MEGDA, W.; CERCI, G. S.; REOLON, J. **Abracadeira de náilon na correção de entrópio juvenil em cães Shar-Pei**. Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR, Umuarama, v. 16, n. 1, p. 5-9, 2013.
- GREINS, J. M.; LACERDA, L.; ANDRADE, A. C.; LUEBKE, G.; CARON, V. F.; MORISHIN FILHO, M. M. **Entrópio bilateral em cão - Relato de caso**. Revista Eletrônica Biociências, Biotecnologia e Saúde, Curitiba, n. 18, p. 156-157, 2017.
- LAUS, J.L. **Oftalmologia clínica e cirúrgica em cães e em gatos**. São Paulo: Roca, 2009, p.9-10, 186-187.
- READ, R. A.; BROUN, H. C. **Entropion correction in dogs and cats using a combination Hotz–Celsus and lateral eyelid wedge resection: Results in 311 eyes**. Veterinary Ophthalmology, v.10, n.1, p.6–11, 2007.
- VIANA, F. A. B.; CRONEMBERGER SOBRINHO, S.; BORGES, K. D. A; FULGÊNCIO, G. D. **Aspectos clínicos do entrópio de desenvolvimento em cães da raça Shar Pei**. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v.58, n.2, p.184-189, 2006.

## EVALUATION OF THE SEASON OF THE YEAR ON THE CONDITIONED SEXUAL BEHAVIOR IN RAMS

*Data de aceite: 01/08/2020*

### **Garza Camargo Daniela Monserrat**

Faculty of Medicine Veterinary and Zootechnics.  
Autonomous University of Mexico State. Campus  
El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, Estado de  
México.

### **Luna Blasio Arturo**

Faculty of Medicine Veterinary and Zootechnics.  
Autonomous University of Mexico State. Campus  
El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, Estado de  
México.

### **Vázquez-Chagoyán Juan Carlos**

Faculty of Medicine Veterinary and Zootechnics.  
Autonomous University of Mexico State. Campus  
El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, Estado de  
México.

### **Osorio-Avalos Jorge**

Faculty of Medicine Veterinary and Zootechnics.  
Autonomous University of Mexico State. Campus  
El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, Estado de  
México.

**ABSTRACT:** The aim of this study was to compare how season of the year affects sexual behavior in rams, trained to mount a dummy. Two specimens per breed were included in a study to analyze their sexual behavior throughout the year (spring, summer, autumn and winter).

Animals were trained for conditioned mounting and then, their activity was monitored by video recorder and ethograms on weekly bases (52 records / ram / year). To test the hypothesis that reproductive behavior differences occur among ram breeds during the different seasons of the year, a descriptive statistical analysis of states and events of conditioned mounting was carried out, through analysis of variance (ANOVA) and Tukey test. Results showed no differences in sexual behavior during semen collection among breeds throughout the year. In average, animals displayed the state of flehmen in 16.3 seconds and the copulation in 71.1 seconds. While the average frequency for events such as olfaction, kicking and mounting attempts was 2.1, 4.3 and 2.1 times per mating event, respectively. When considering the season of year, significant differences ( $P<0.05$ ) were found among the time invested by rams to complete copulation state, for the olfaction period and for the number of kicking events, while no differences ( $P>0.05$ ) were observed for the flehmen state or for the mounting event. All the animals used in this study were subjected to classical conditioning and were sexually active throughout the year. Animals had best reproductive behavior patterns during winter, while no differences among rams were observed in sexual activity during the other

three seasons of the year. Our results confirm previous reports indicating that rams have best reproductive performance during winter, however reproductive behavior patterns observed in five breeds of rams during spring, summer and autumn, also confirm that rams can be used for semen collection and processing purposes throughout the year.

**KEYWORDS:** Ethogram, sexual behavior, states, events, rams.

**RESUMO:** O objetivo deste estudo foi comparar como a estação do ano afeta o comportamento sexual em carneiros, treinados para montar um boneco. Dois espécimes por raça foram incluídos em um estudo para analisar seu comportamento sexual ao longo do ano (primavera, verão, outono e inverno). Os animais foram treinados para montagem condicionada e, em seguida, suas atividades foram monitoradas por gravador de vídeo e etogramas em bases semanais (52 registros / ram / ano). Para testar a hipótese de que diferenças de comportamento reprodutivo ocorrem entre raças de raças durante as diferentes estações do ano, foi realizada uma análise estatística descritiva dos estados e eventos de montagem condicionada, através da análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey. Os resultados não mostraram diferenças no comportamento sexual durante a coleta de sêmen entre as raças ao longo do ano. Em média, os animais exibiram o estado de flehmen em 16,3 segundos e a cópula em 71,1 segundos. Enquanto a frequência média para eventos como olfação, tentativas de chute e montagem foi de 2,1, 4,3 e 2,1 vezes por evento de acasalamento, respectivamente. Ao considerar a estação do ano, foram encontradas diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) entre o tempo investido pelos carneiros para completar o estado de cópula, para o período de olfação e para o número de chutes, enquanto não foram observadas diferenças ( $P > 0,05$ ) para o estado flehmen ou para o evento de montagem. Todos os animais utilizados neste estudo foram submetidos a condicionamento clássico e foram sexualmente ativos ao longo do ano. Os animais apresentaram melhores padrões de comportamento reprodutivo durante o inverno, enquanto não foram observadas diferenças entre os carneiros na atividade sexual durante as outras três estações do ano. Nossos resultados confirmam relatórios anteriores indicando que os carneiros têm melhor desempenho reprodutivo durante o inverno, no entanto, os padrões de comportamento reprodutivo observados em cinco raças de carneiros durante a primavera, o verão e o outono também confirmam que os carneiros podem ser usados para fins de coleta e processamento de sêmen ao longo do ano.

**PALAVRAS - CHAVE:** Etograma, comportamento sexual, estados, eventos, carneiros.

## 1 | INTRODUCTION

Most accepted contemporary evolutionary theories propose that reproductive behavior has the purpose of preserving species and promoting genetic variability that allows species to adapt to the ever-changing environment (Ferreira, 2009). However, reproductive environment for farm animals has been deeply modified by human intervention, because animals are selected for characteristics other than reproductive potential and submitted

to artificial reproduction. Therefore it is important to study how artificial reproduction is affecting reproductive performance in animals. In the case of sheep, different factors may affect natural sexual behavior, such as their physical conformation, gregarious instinct, the male/female interaction according to the type of production system, the dominance/subordination relationship given by physical characteristics associated to body weight (head, horns and body size of males), agonistic behavior (social behavior associated with dominance) and libido. Additionally, there are some breed associated factors, such as; seasonality, endocrine regulation and age at puberty, that may also deeply affect sexual behavior of the species (Hernández, 2011).

Studies about rams sexual behavior in natural mating, indicate that breeding behavior can be considered from the moment the ram tracks and/or approaches a particular female, and it ends with copulation and ejaculation (Odagiri *et al.*, 1995). Eight pre-copulation breeding behavior units can be studied in rams: tracking or approaching, chin's relaxation, flehmen sign, nasal contact, bump, rubbing the female's flank, raising a front limb, and mounting and breeding attempts. The flehmen and the snuzzle-vulva contact are thought to be more associated with olfactory perception and the female's physiological state identification (Orihuela, 2014).

Natural mounting has been extensively studied for sexual behavior of rams. However, semen collection for artificial insemination used to maximize the male's performance and for the optimization of production oriented genetic programs (animal selection), has been studied less extensively. The semen collection routine requires that males are conditioned to mount a dummy and ejaculate on an artificial vagina. Therefore, a sheep artificial breeding program requires qualified personnel, with deep knowledge about ram's reproductive behavior and breeding habilitation strategies, capable of identifying problems associated to libido or stereotypes generated by the monotony related to the semen collection room (García, 2004).

Rams are reproductively seasonal, therefore for artificial reproduction programs, semen collection is affected by the season of the year. However, comparative seasonal semen collection performance associated to different economically important ram breeds in Mexico, either collected with dummy or anestrous females, has not been sufficiently studied. Therefore, the objective of the present study was to evaluate, through a behavioral catalog (ethogram), the comparative sexual behavior in rams, trained for semen collection. Experimental procedure considered the variability of reproductive behavior observed during the four seasons of the year (spring, summer, autumn and winter).

## 2 | MATERIAL AND METHODS

Ten rams (two specimens from each breed: Dorper, Dorset, Hampshire, Katahdin and Suffolk) ranging between 1 and 8 years of age, trained for semen collection with artificial

vagina, were used for artificial semen collection either using a dummy or when necessary an ewe. The animals were housed in the Center for Ovine Genetic Improvement (CeMeGO) of the Faculty of Veterinary Medicine and Zootechnics of the Autonomous University of the State of Mexico, Mexico, housed in individual pens, fed twice a day with a balanced diet containing 14% protein and 2.9 Mcal Em / Kg. M.S. Animals had access to water *ad-libitum* through an automatic water dispenser.

The study was conducted in a 12 months (April 2017 to April 2018) period. Initially, rams were used to create a behavioral catalog. Behavior of each animal was recorded in video for one hour, twice a week for four weeks, while animals were presented to the dummy until, and until semen collection using artificial vagina was completed. When a total of 80 hours video was completed, an analysis of all different conducts was registered in a global record. Subsequently, most frequent ram conducts were described and used in the behavioral catalog (Appendix 1) and the design of the ethogram for ram reproductive behavior. Video and ethogram recordings were conducted once a week for each ram, obtaining a total of 52 records / ram / year, including the four seasons of the year (spring, summer, autumn and winter). All animals work and records were made between 8:00 - 10:00 a.m., to prevent behavior variables due to schedule changes.

After preparation of rams for semen collection, each animal was introduced independently in the breeding area, and induced to mount the dummy. Rams were always handled by the same qualified person, to prevent behavior variables associated to the handler. Once inside the breeding room the ram was released, and from that moment on, behavioral states and events were registered in the behavioral record. Video and ethogram were continued until ram's ejaculation, during semen collection process (video 1, video 2). Animals were allowed to remain 30 seconds next to the collection dummy, when recording was considered completed, then the animal was returned to his pen. Ethogram was divided in two sections: a) states (sexual behavioral patterns such as copulation and flehmen) were registered in seconds the ram spent in such activity, and b) events, considered the number of olfaction, kicking and mounting attempts related to the semen collection process.

## 2.1 Statistical analysis

A descriptive statistical analysis of behavioral states and events occurred during de semen collection process categorized by the season of the year was carried out. Analysis of variance (ANOVA) and Tukey test were used to identify differences in States durations and number of Events among breeds or seasons of the year. JMP 9.0 software from SAS, was used for the analysis.

## 3 | RESULTS

For all animals included in the study, annual averages for flehmen and copulation

state were 16.3 ( $\pm 10.1$ ) and 71.1 ( $\pm 48.2$ ) seconds, respectively. While olfaction, kicking and mounting Events were observed in an average of 2.1 ( $\pm 1.1$ ), 4.3 ( $\pm 4.4$ ) and 2.1 ( $\pm 1.8$ ) seconds per recorded episode, respectively. Table 1 shows the general descriptive statistics of conditioned sexual behavior in rams, indicating the average, standard deviation (SD), ranges and coefficient of variation (CV, %) of the States and Events of rams' sexual behavior.

Concept	Age	States (seconds)		Events (frequency)		
		Flehmen	Copulation	Olfaction	Kicking	Mounting
Average $\pm$ SD	5.4 $\pm$ 1.6	16.3 $\pm$ 10.1	71.1 $\pm$ 48.2	2.1 $\pm$ 1.1	4.3 $\pm$ 4.4	2.1 $\pm$ 1.8
Range	2 – 8	3 – 49	16 - 331	1 – 8	1 – 26	1 - 10
C.V (%)	29.4	61.9	67.8	49.8	93.5	83.9
n	479	110	469	431	266	450

Table 1. General descriptive statistics of conditioned sexual behavior in rams (States and Events)

### Seasonal effect on artificial breeding performance in rams

When comparing sexual behavior among seasons (Table 2), significant statistical differences were found in the state of copulation and in the olfaction and kicking events ( $P < 0.05$ ), while for the state of flehmen and the mounting event, no statistical differences were found ( $P > 0.05$ ). However, a tendency for state of flehmen to last more in autumn, followed by winter was observed. Regarding the copulation, it presented longer episodes in the winter ( $P < 0.05$ ), while in spring, summer and autumn showed no statistical differences ( $P > 0.05$ ).

States (seconds)					Events (frequency)					
	Flehmen		Copulation		Olfaction		Kicking		Mount	
Season	n	LSM ± SE	N	LSM ± SE	n	LSM ± SE	N	LSM ± SE	n	LSM ± SE
Spring	18	14.4 ± 2.2	80	59.9 ± 5.1 <sup>b</sup>	79	2.5 ± 0.11 <sup>a</sup>	45	2.8 ± 0.60 <sup>b</sup>	79	2.0 ± 0.18
Summer	31	14.6 ± 1.6	115	58.7 ± 4.3 <sup>b</sup>	112	2.1 ± 0.10 <sup>ab</sup>	74	2.7 ± 0.50 <sup>b</sup>	113	2.0 ± 0.15
Autumn	29	18.9 ± 1.8	119	62.8 ± 4.2 <sup>b</sup>	112	1.8 ± 0.10 <sup>b</sup>	67	3.0 ± 0.51 <sup>b</sup>	118	2.0 ± 0.15
Winter	32	16.5 ± 1.6	155	88.7 ± 3.7 <sup>a</sup>	128	2.1 ± 0.09 <sup>ab</sup>	80	6.6 ± 0.49 <sup>a</sup>	140	2.3 ± 0.14
P Value		0.223		0.0001		0.0003		0.0001		0.538

Table 2. Statistical analysis of conditioned sexual behavior in rams (states and events) according to the season of year

Different superscript literals in the same column indicate significant differences (a, b, c) ( $P < 0.05$ ).



The olfaction event occurred with more frequency in the spring than in any other season, it was statistically different from autumn, which was the season with lowest frequency ( $p < 0.05$ ). When comparing olfaction frequency for Spring Summer and Winter, no differences were observed ( $P > 0.05$ ). The kicking event was observed with highest frequency during the winter period ( $P < 0.05$ ). The other seasons showed no differences among them ( $P > 0.05$ ). No significant differences ( $P > 0.05$ ) were found for the mounting event throughout the year.

A result that should be considered with some limitation in this study due to the low number of sires per breed is that for the mounting Event, Suffolk and Dorper had highestest number of episodes ( $P < 0.05$ ) in comparison with all other breeds, while Dorset, Hampshire and Katahdin did not show significant differences ( $P > 0.05$ ) among them.

#### 4 | DISCUSSION

Changes in light periods of exposure have an impact in melatonin secretion level, which in turn has an impact on gonadotropins and other hormones such as testosterone. These hormonal changes are responsible for the seasonality of sexual behavior observed in rams, which are characterized for a reduced activity during spring and early summer, when the day light length increases (Orihuela, 2014). In the present report, we found no significant differences ( $P > 0.05$ ) throughout the year in the mounting Event or in the “flehmen” State. Rams did not lose interest in sexual activity throughout the year and remained active in exploring the physiological condition of the ewe and were responsive to estrous cycle.

Perkins and Roselli (2007) reported that in most breeds, rams are seasonal breeders and therefore show better libido during the short light days period of the year, when ewes resume ovarian activity and the consequent secretion of pheromones. On the other hand, Aguirre *et al.* (2005) showed that the magnitude of the seasonal effect was not enough to prevent rams from being used as reproducers throughout the year. Findings of the present report support Aguirre and co-workers’ findings, because we observed that rams display copulation state throughout the year, although they showed longer episodes. Furthermore, the olfaction event recorded was as frequent in the spring as in winter ( $P > 0.05$ ), presenting the same interest in olfaction of the female for the mount, regardless of whether ewe was or not in estrus. Additionally, the kicking event tended to be more frequent in winter, however no statistical differences with the other seasons of the year were registered, showing that some behavioral patterns typical of courtship can be found throughout the year.

## 5 | CONCLUSIONS

The rams used in this investigation were included in a classic conditioning artificial semen collection program, where the animals were trained to mount a dummy or on an anestrus ewe and collected with an artificial vagina. These rams showed better sexual behavior patterns during winter than in any other season of the year. Some behavioral differences were found among breeds, where the Katahdin and Dorset showed better performance in terms of the courtship and semen collection service. These result may be useful as additional selection criteria of rams used for semen collection and processing in artificial insemination facilities.

## ACKNOWLEDGEMENTS

To the Center of Ovine Genetic Improvement (CeMeGO) of the Autonomous University of the State of Mexico, Mexico, for the given easiness to the observation of the sexual conduct of rams.

## REFERENCES

- Aguirre, FV, Orihuela, A, Vázquez, RR. 2005. **Seasonal variations in sexual behaviour, testosterone, testicular size and semen characteristics, as affected by social dominance, of tropical hair rams (*Ovis aries*)**. *Brain Research*, 78 (4):417-423.
- Ferreira, A, 2009. **Un enfoque psicobiológico del comportamiento sexual. Sección de Fisiología y Nutrición**. Universidad de la República. Montevideo, Uruguay.
- Hernández, S, 2011. Departamento de Etología y Fauna Silvestre. **Conducta en ovinos**. <http://amaltea.fmvz.unam.mx/etologia/temas/ovinos/conducta%20en%20ovin>, (accessed 15 May 2018).
- García, AR, 2004. **Comportamiento reproductivo**. Departamento de producción animal. Etología aplicada, protección animal y etnología. Universidad de Córdoba, España.
- Odagiri, K, Matsuzawa, Y, Yoshikawa, Y, 1995. **Analysis of sexual behavior in rams (*Ovis aries*)**. *Association for Laboratory Animal Sciencia Journal Impact*, Vol. 3 (44); 87-192.
- Orihuela, AT, 2014. **La conducta sexual del carnero**. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias Mérida*, 5 (1).
- Perkins, A, Roselli, CE, 2007. **The ram as a model for behavioural neuroendocrinology**. *Hormones and Behavior Journal*, 52 (1):70-77.

## APPENDIX 1. BEHAVIORAL CATALOG

States	Description
<b>Flehmen</b>	Retraction movement in the lips in some mammals that consists in collecting odorous stimuli through the vomeronasal organ, linked to estrus.
Copulation	Set of behavioral guidelines that range from when the male enters the area where the female dummy is for the mount; It is positioned on one side of it, passes in front or failing to surround it, in addition to a constant tongue, either directed to the air or directed to some part of the body of the female, before and after mount.
Events	Description
Olfaction	Procedure aimed at the female to detect odors through chemical-sensory perception by the nasal contact, this can be done in the lateral portions of the female or in her posterior train.
Kicking	Movement consisting of raising and lowering one of its previous limbs, keeping it rigid and making a “knock” on the lateral or posterior portion of the female.
Mount	It is defined as mount the sexual union of a male with a female to fertilize it. Procedure in which the male mounts the female with one or several attempts, until ending with the ejaculate in the artificial vagina.

## EVOLUÇÃO DA UTILIZAÇÃO DE ESPERMATOZOIDES SEXADOS

Data de aceite: 01/08/2020

Data de submissão: 04/05/2020

### UTILIZATION

**ABSTRACT:** Spermatozoa sexing has an important application for livestock production. Results have been published worldwide that demonstrate effectiveness of the flow cytometer sexing process based on sorting sperm with differential DNA content as the X and Y sperm marker. Major improvements in the sexing sorting process had led to the decrease of sperm damage and increase of sperm viability.

**KEYWORD:** Sexed semen, artificial insemination, embryo production.

**Vera Fernanda Martins Hossepian de Lima**

Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal, Unesp, Jaboticabal, SP, <http://lattes.cnpq.br/9831308726191367>

**Ricardo Perecin Nociti**

Departamento de Medicina Veterinária, USP, Pirassununga, SP, <http://lattes.cnpq.br/9022854280455709>

**RESUMO:** A sexagem de espermatozoides tem relevante aplicação na produção animal. Várias publicações demonstram a eficiência do processo de sexagem por citometria de fluxo que separa os espermatozoides X ou Y em função do conteúdo de DNA. Importantes modificações no processo de sexagem por citometria de fluxo tem levado à diminuição dos danos nos espermatozoides e aumentado a viabilidade dos mesmos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Sêmen sexado, inseminação artificial, produção de embriões.

### INTRODUÇÃO

Em espécies de interesse zootécnico, o desenvolvimento da sexagem de espermatozoides intensificou-se a partir da década de 80. Foi esse um processo diretamente ligado ao aprimoramento e à difusão das técnicas de reprodução assistida (Moore e Hasler, 2017).

Vários autores registraram, ao longo da década de 80 e seguintes, o valor econômico significativo da seleção de sexo na pecuária onde a produtividade é favorecida quando a progênie é constituída, em sua maioria, por

### EVOLUTION OF SEXED SPERMATOZOA

um dos sexos (Holden e Butler, 2018).

Além do aspecto zootécnico, deve-se considerar a base científica da sexagem de espermatozoides que evolui rapidamente, originando conhecimentos que permitem desenvolver processos mais eficientes.

### **A evolução da sexagem de espermatozoides**

Em 1983, Garner *et al.*, vislumbrando o desenvolvimento de uma metodologia comercial e automatizada para sexagem de espermatozoides, validaram a diferença citogenética que indicava que cromossomo X possuía cromátides maiores que o cromossomo Y.

Como a ideia era conseguir a automação da sexagem de espermatozoides (células achatadas) utilizando um citômetro de fluxo, que naquela época era um equipamento utilizado apenas na versão para análise de células arredondadas, começaram por utilizá-lo para quantificar o DNA dos núcleos dos espermatozoides de várias espécies de animais para se estabelecer às diferenças na quantidade de DNA entre os espermatozoides portadores do cromossomo X ou Y. As diferenças médias de 3,9%, 3,7%, 4,1% e 3,9% a mais de DNA nos núcleos contendo o cromossomo X para bovinos, caprinos, ovinos e coelhos, respectivamente (Garner *et al.*, 1983).

No início, foi difícil distinguir as pequenas diferenças do conteúdo de DNA entre as populações de espermatozoides X ou Y porque a intensidade do sinal de fluorescência era afetado devido às irregularidades da cromatina compactada, da morfologia da cabeça (achatada) e da orientação da cabeça dentro do citômetro. A intensidade de fluorescência do corante ligado ao DNA era maior na borda do que na face plana do espermatozoide porque a cromatina densa causava um alto índice de refração. A diferença do índice de refração entre a cabeça do espermatozoide e o meio de cultura circundante, associados à forma achatada da cabeça do espermatozoide, resultava em uma emissão de luz, preferencialmente, a partir da extremidade da cabeça do espermatozoide (Johnson e Pinkel, 1986).

Em 1986, foi anunciada a Beltsville Sperm Sexing Technology por Johnson e Pinkel que consistia na modificação do citômetro de fluxo convencional pela adaptação de um detector adicional de fluorescência colocado na frente e a 0° do laser de modo que o sinal de fluorescência fosse captado em outro ângulo além daquele de 90° do detector do aparelho original. Assim, o sinal fluorescente da face plana era captado pelo detector posicionado a 0° em relação ao laser e aquele emitido pela extremidade da cabeça era captado pelo posicionado a 90° em relação ao laser. Isto minimizava a heterogeneidade do sinal de fluorescência, permitindo a separação dos espermatozoides X ou Y. Outra modificação foi na agulha (tubo) do fluxo que passou a ter a forma de bisel o que permitia que apenas 20 a 40% dos espermatozoides fossem orientados corretamente em relação ao laser. Os espermatozoides orientados incorretamente, ou seja, com a face plana

voltada para o detector de 90°, emitiam menos fluorescência para esse detector o que permitia que eles fossem retirados da análise, eletronicamente. Apenas 350-400 mil espermatozoides eram sexados por hora (25-28 horas para produzir uma dose com 10 milhões de espermatozoides segundo Garner e Seidel, 2008).

Isso ocorria em função ao formato da agulha que orientava corretamente apenas 20 a 40% dos espermatozoides em relação ao feixe de laser (Garner e Seidel, 2008). A pequena quantidade de espermatozoides sexados por hora (cerca de 2 milhões) não permitia a subsequente congelação. Os espermatozoides eram resfriados e utilizados para inseminação cirúrgica, inseminação intrauterina profunda (Cran *et al.*, 1995, Seidel *et al.*, 1997) ou produção de embriões *in vitro* (Cran *et al.*, 1993). Nessas tentativas, as taxas de prenhez na inseminação artificial e na produção *in vitro* de embriões chegavam a ser 10% e 20% menores que aquelas conseguidas com sêmen convencional (Garner e Seidel, 2008).

A agulha em formato de bisel foi substituída por bocal de forma elíptica que aumentou para 70% a porcentagem de espermatozoides corretamente orientados em relação ao laser (Rens *et al.*, 1998). Essa melhor orientação deveu-se ao fato do formato elíptico exercer e manter uma força hidrodinâmica nos espermatozoides até eles se posicionarem na frente do laser, diminuindo a chance deles mudarem a orientação correta. Essa modificação foi refinada pela XY, Inc. (Fort Collins, Colorado) e denominada CytoNozzle™ que fazia parte do equipamento MoFlo® SX Sex Selection Sperm Sorter (comercializado pela Cytomation) que produz 15 milhões de espermatozoides por hora com pureza acima de 85% devido a um aumento da pressão imposta aos espermatozoides para passarem pelo tubo elíptico (Johnson e Welch, 1999; Johnson, 2000; Garner e Seidel, 2008).

Basicamente, para a sexagem, o ejaculado é fracionado e os espermatozoides incubados em corante fluorescente com afinidade para DNA (Hoeschst 33342) por cerca de 1 hora. Este corante liga-se a dupla hélice evidenciando as diferenças de conteúdo de DNA entre os espermatozoides X ou Y. Os espermatozoides são colocados no citômetro de fluxo e passam em fila única em um tubo elíptico. No fim do trajeto os espermatozoides saem individualizados em gotas (devido à vibração durante o trajeto) e sobre elas incide um feixe de laser que evidencia a fluorescência. Os sinais fluorescentes emitidos pelo núcleo dos espermatozoides são coletados, simultaneamente, por detectores ópticos posicionados a 0° e 90° em relação à face plana e extremidades da cabeça, respectivamente. Os detectores convertem estes sinais para sinais elétricos que carregam positivamente ou negativamente as gotas contendo o espermatozoide X ou Y, respectivamente, de acordo com a intensidade de fluorescência. As gotas passam por um campo eletrostático e são coletadas em dois tubos distintos de acordo com a carga elétrica. Esses tubos contêm tampões apropriados para manter a viabilidade espermática e preparar as células para o resfriamento. As gotas vazias e aquelas que não estão dentro dos padrões de fluorescência estabelecidos (por exemplo, que contêm mais que um espermatozoide) continuam no feixe central e caem em um tubo de descarte (Seidel, 2007).

O processo de resfriamento, congelação, e controle de qualidade seguem os padrões



semelhantes ao sêmen convencional com as modificações necessárias para atenuar os possíveis danos que as várias etapas do processo podem causar (Garner e Seidel, 2008).

Após as modificações e refinamentos que originaram o MoFlo® SX Sex Selection Sperm Sorter, e ajustes na congelação (Garner e Seidel, 2008) iniciou-se a produção comercial de doses de sêmen congelado sexado bovino o que gerou uma série de publicações que nortearam a utilização e uma nova etapa de aperfeiçoamento do processo.

Utilizando-se espermatozoides sexados para **inseminação artificial**, a diminuição das taxas de **concepção** (Baruselli *et al.*, 2007; Borchersen e Peacock, 2009; Norman *et al.*, 2010; Healy *et al.*, 2013; Naniwa *et al.*, 2019) e de **prenhez** (Bodmer *et al.*, 2005; Andersson *et al.*, 2006; Seidel e Schenck, 2008; Schenk *et al.*, 2009; Underwood *et al.*, 2010) variam, em média, entre 10 a 25 % quando comparado com o sêmen convencional. DeJarnette *et al.* (2011) relataram uma redução de 16% na taxa de concepção após a inseminação artificial com doses de 10 milhões de espermatozoides sexados quando comparado com o sêmen convencional com a mesma concentração.

Na **inseminação artificial com tempo fixo**, Baruselli *et al.*, (2007) relataram resultados semelhantes ao sêmen convencional enquanto Sales *et al.* (2011), Ingenhoff *et al.* (2017) e Noonan *et al.*, 2016) cerca de 20% a menos de taxa de prenhez e de concepção.

Sá Filho *et al.* (2013) encontraram uma variação na taxa de prenhez entre 11,6 a 46,1% em função do touro utilizado na IATF com espermatozoides sexados.

As pesquisas continuam no sentido de ajustar protocolos e a escolha de touros para melhorar taxas de fertilidade após a utilização de espermatozoides sexados na IATF (Pellegrino *et al.*, 2016; Silva *et al.*, 2018).

Na **produção in vivo de embriões** observou-se redução de cerca de 50% nos oócitos fecundados e 30% no número de embriões viáveis em relação ao sêmen convencional, provavelmente, devido ao menor número de espermatozoides por dose de sêmen sexado (Baruselli *et al.*, 2007; Larson *et al.*, 2010). As taxas de prenhez após a transferência de embriões produzidos com espermatozoides sexados e não sexados melhoraram em função do aumento do número de espermatozoides por dose de sêmen (Schenk *et al.*, 2006; Hayakawa *et al.*, 2009).

An *et al.* (2010) demonstraram que a taxa de prenhez após a inseminação artificial intracornual com espermatozoides sexados foi semelhante a do sêmen convencional depositado no corpo do útero ou no corno uterino.

Soares *et al.* (2011) relataram produção de embriões cerca de 50% menor em relação ao sêmen convencional em doadoras que foram inseminadas 12 e 24 horas com espermatozoides sexados. Quando os horários da inseminação artificial foram 18 e 30 horas a produção de embriões não diferiu estatisticamente.

Na **produção in vitro de embriões**, inicialmente, as taxas de blastocisto eram significativamente menores (Zhang *et al.*, 2003; Lu e Seidel, 2004; Puglisi *et al.*, 2006; Wilson *et al.*, 2006). Contrastantemente, Carvalho *et al.*, 2010 não encontraram diferença significativa

na cinética espermática e taxa de blastocistos quando compararam espermatozoides sexados com não sexados.

Lopez *et al.* (2015), em bovinos, demonstraram que a taxa de blastocisto também pode ser influenciada pela subespécie da fêmea doadora de oócitos.

Apesar da diminuição significativa na taxa de prenhez após a transferência de embriões produzidos com espermatozoides sexados (Xu *et al.*, 2009; Mikkola *et al.*, 2015), em média, a taxa de nascimento pode ser semelhante àquela conseguida com embriões produzidos com sêmen convencional (Rasmussen *et al.* 2013).

Inicialmente, a utilização de espermatozoides sexados, associado a técnicas de reprodução assistida, diminuía a fertilidade, em média de 20 a 30% (Schenk *et al.*, 2009; Norman *et al.*, 2010) e foi a principal razão da tecnologia não ter sido amplamente difundida (Seidel, 2014). Essa diminuição era resultado dos danos sofridos pelos espermatozoides nas várias etapas do processo de sexagem o que promovia alterações na integridade de membrana e na motilidade (Suh *et al.*, 2005), a fragmentação do DNA e redução da longevidade (Gosálvez, *et al.*, 2011) além da capacitação (Bucci *et al.*, 2012).

Concomitante a utilização no campo e os estudos da viabilidade espermática *in vitro*, ajustes eram feitos no processo de sexagem no que se referia à pressão (Suh *et al.*, 2005; Schenk *et al.*, 2009), concentração do Hoechst (Lu e Seidel, 2004), potência do laser (Guthrie *et al.*, 2002), número de espermatozoides por dose de sêmen (Schenk *et al.*, 2009), protocolos de congelamento (Schenk *et al.*, 2009). O local de deposição do sêmen na inseminação artificial (Seidel e Schenk, 2009; Chang *et al.*, 2017), o efeito do touro (Sá Filho *et al.*, 2013) também foram avaliados.

Na tentativa de elucidar os possíveis danos às estruturas espermáticas e ao genoma durante o processo de sexagem, que se traduziam pela diminuição nas taxas de fertilidade, as investigações também avançaram para o campo celular e molecular.

Demonstrou-se que os embriões produzidos *in vitro* com sêmen sexado apresentavam uma alta proporção de mitocôndrias imaturas e membranas nucleares danificadas (Palma *et al.*, 2008) e expressão reduzida de genes importantes para o desenvolvimento embrionário e placentação (Morton *et al.*, 2007; Bermejo-Álvarez, *et al.*, 2010). Essas diferenças explicariam as altas taxas de perda embrionária nos períodos de 30 a 90 dias de gestação após a inseminação artificial (Bodmer *et al.*, 2005; Underwood *et al.*, 2010).

Como reflexo, além das modificações no processo de sexagem, surgem os relatos que demonstram que os resultados de taxa de prenhez variam em função da fertilidade e manejo das fêmeas, categorias de fêmeas a serem utilizadas para inseminação (Rhinehart *et al.*, 2011; Healy *et al.*, 2013; Karakaya *et al.*, 2014; Naniwa *et al.*, 2019) e da fertilidade dos touros doadores de sêmen (De Jarnette *et al.*, 2011; Sales *et al.*, 2011). O efeito do touro (Lu e Seidel, 2004; Wheeler *et al.*, 2006; Xu *et al.*, 2009; Sá Filho *et al.*, 2013) e do protocolo de produção *in vitro* de embriões (Blondin *et al.*, 2009; Barceló-Fimbres, 2011; Missio *et al.*, 2018; Naniwa *et al.*, 2019) podem ser responsáveis pelas baixas taxas de blastocisto.

Também a intensidade de pressão do citômetro diminui aquela taxa (Barceló -Fimbres, 2011).

Os danos no DNA, apontados como a causa da menor fertilidade, aparentemente foram eliminados com as modificações do processo de sexagem.

Pozzi *et al.* (2014) concluíram que a coloração com Hoechst 33342 e ao laser durante a sexagem não alteraram significativamente a estrutura do DNA dos espermatozoides e embriões produzidos com os mesmos.

Nociti *et al.*, 2018 não encontraram diferença na expressão gênica entre blastocistos produzidos com espermatozoides sexados (X e Y) (XY Technology Inc.) sêmen sexado e convencional.

Os benefícios que a utilização da sexagem por citometria de fluxo promove em rebanhos bovinos e diferentes sistemas de produção fez com que ela se consolidasse e dificilmente será substituída num futuro próximo (Seidel, 2014; Holden e Butler, 2018). Assim, a tecnologia XY (Johnson e Welch, 1999; Garner e Seidel, 2008) foi modificada originando a tecnologia SexedULTRA™ (Navasota, TX, USA) que promoveu modificações (pH, carga oxidativa, poder tampão) que possibilitam a proteção dos espermatozoides durante o processo de sexagem (González-Marin *et al.*, 2018). Assim, a comparação das tecnologias SexedULTRA™ e XY após a descongelação dos espermatozoides sexados demonstrou que a **fragmentação de DNA** foi menor na primeira. Também, a **motilidade progressiva e longevidade** às 0h (50.7 v. 44.9%) e 3h (31.5 v. 4.4%), a **integridade de acrossoma** (78.0 v. 64.0%), a **taxa de blastocistos** grau 1 e 2 (13.2% v.9.2%) foram significativamente maiores do que aquelas de espermatozoides sexados pela tecnologia XY Inc. (González-Marin *et al.*, 2018; Vishwanath e Moreno, 2018).

Conforme revisado por Vishwanath e Moreno (2018), a taxa de concepção (cerca de 7%) após a **inseminação artificial** aumentou significativamente em relação à metodologia anterior.

Na **inseminação artificial com tempo fixo** os resultados iniciais demonstraram taxa de prenhez menor (8%) que sêmen convencional (Marques *et al.*, 2018; Thomas *et al.*, 2017), aumento significativo na taxa de prenhez (9%) em comparação a metodologia anterior (Marques *et al.*, 2018) e taxa de concepção semelhante ao sêmen convencional (Crites *et al.*, 2018). Entretanto, os resultados variaram em função do touro (Thomas *et al.*, 2019).

O impacto das tecnologias da reprodução nos sistemas de produção depende de quão amplamente e eficientemente possam ser implementadas (Moore e Hasler, 2017).

No caso do sêmen sexado o aumento da utilização é função da interação entre o mercado (preços e custos), práticas de manejo e eficiência tecnológica em termos de acuidade e fertilidade (McCulloch *et al.*, 2013). Assim, a sua utilização em novilhas aumentou de 9,4% (2007) para 30,7% (2015) e, em vacas, de 0,2% para 1% no mesmo período (Hutchison e Bickhart, 2016) coincidindo com as modificações no processo que levaram ao aumento da fertilidade (Vishwanath e Moreno, 2018).

Estima-se que produção de sêmen sexado de alta fertilidade acelerará a sua ampla utilização nos rebanhos promovendo a maximização do progresso genético, além de minimizar as perdas, melhorar o bem estar animal e aumentar a lucratividade nos sistemas de produção (Holden e Butler, 2018).

## REFERÊNCIAS

- Na, L.; Wu, Z.-H.; Wu, Y.-F.; Zhang, X.-L.; Liu, X.; Zhu, Y.-B.; Cheng, W.-M.; Gao, H.-M.; Guo, M.; Tian, J.-H. Fertility in Single-ovulating and Superovulated Dairy Heifers after Insemination with Low Dose Sex-sorted Sperm. **Reproduction in Domestic Animals**, v.45, p.344–50, 2010.
- Andersson, M.; Taponen, J.; Kommeri, M.; Dahlbom, M. Pregnancy rates in lactating Holstein-Friesian cows after artificial insemination with sexed sperm. **Reproduction in Domestic Animals**, n. 41, p. 95-7, 2006.
- Barceló-Fimbres, M.; Campos-Chillón, L.F.; Seidel, G.E. Jr. In vitro fertilization using non-sexed and sexed bovine sperm: sperm concentration, sorter pressure, and bull effects. **Reproduction in Domestic Animals**, v.46, n.3, p.495-502, 2011.
- Baruselli, P.S.; Souza, A.H.; Martins, C.M.; Gimenes, L.U.; Sales, J.N.S.; Ayres, H.; Andrade, A.F.C.; Raphael, C.F.; Arruda, R.P. Sêmen sexado: inseminação artificial e transferência de embriões. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.31, n.3 p.374-381, 2007.
- Bermejo-Álvarez, P.; Lonergan, P.; Rath, D.; Gutiérrez-Ádan, A.; Rizos, D. Developmental kinetics and gene expression in male and female bovine embryos produced *in vitro* with sex-sorted spermatozoa. **Reproduction Fertility Development**, v. 22, p. 426-36, 2010.
- Blondin, P.; Beaulieu, M.; Fournier, V.; Morin, N.; Crawford, L.; Madan, P.; King, W.A. Analysis of bovine sexed sperm for IVF from sorting to the embryo. **Theriogenology**, v.71, p.30-8, 2009.
- Bodmer, M.; Janett, F.; Hässig, M.; den Daas, N.; Reichert, P.; Thun, R. Fertility in heifers and cows after low dose insemination with sex-sorted and non-sorted sperm under field conditions. **Theriogenology**, v.64, p.1647-55, 2005.
- Borchersen, S.; Peacock, M. Danish AI field data with sexed semen. **Theriogenology**, v. 71, p.59-63, 2009.
- Bucci, D.; Galeati, G.; Tamanini, C.; Vallorani, C.; Rodriguez-Gil, J.E.E.; Spinaci, M. Effect of sex-sorting on CTC staining, actin cytoskeleton and tyrosine phosphorylation in bull and boar spermatozoa. **Theriogenology**, v.77, p.1206-16, 2012.
- Carvalho, J.O.; Sartori, R.; Machado, G.M.; Mourão, G.B.; Dode, M.A.N. Quality assessment of bovine cryopreserved sperm after sexing by flow cytometry and their use in *in vitro* embryo production. **Theriogenology**, v. 74, p.1521-30, 2010.
- Chang, L.B.; Chou, C.-J.; Shiu, J.-S.; Tu, P.-A.; Gao, S.-X.; Peng, S.-Y.; Wu, S.-C. Artificial insemination of Holstein heifers with sex-sorted semen during the hot season in a subtropical region. **Tropical Animal Health Production**, v.49, p.1157-62, 2017.
- Cran, D.G.; Johnson, L.A.; Miller, N.G.; Cochrane, D.; Polge, C. Production of bovine calves following separation of X- and Y-chromosome bearing sperm and *in vitro* fertilization. **Veterinary Record**, v.132, p.40-1, 1993.
- Cran, D.G.; Johnson, L.A.; Polge, C. Sex preselection in cattle: a field trial. **Veterinary Record**, v.136, p.495-96, 1995.

- Crites, B.R.; Vishwanath, R.; Arnett, A.M.; Bridges, P.J.; Burris, W.R.; McLeod, K.R.; Anderson, L.H. Conception risk of beef cattle after fixed-time artificial insemination using either SexedUltra™ 4M sex-sorted semen or conventional semen. **Theriogenology**, v.15, n.118, p.126-29, 2018.
- DeJarnette JM, Leach MA, Nebel RL, Marshall CE, Cleary CR and Moreno JF. Effects of sex-sorting and sperm dosage on conception rates of Holstein heifers; is comparable fertility of sex-sorted and conventional semen plausible? **Journal of Dairy Science**, v.94, n.3477-83, 2011.
- Garner, D.L.; Gledhill, L.; Pinkel, D.; Lake, S.; Stephenson, D.; Van Dilla, M.A.; Johnson, L.A. Quantification of the X- and Y- chromosome-bearing spermatozoa of domestic animals by flow cytometry. **Biology of Reproduction**, v.28, p.312-21, 1983.
- Garner, D.L.; Seidel, G.E. History of commercializing sexed semen for cattle. **Theriogenology**, v.69, p.886-95, 2008.
- Gosálvez, J.; Ramirez, M.A.; López-Fernández, C.; Crespo, F.; Evans, K.M.; Kjelland, M.E.; Moreno, J.F.; Sex-sorted bovine spermatozoa and DNA damage: II. Dynamic features. **Theriogenology**. v.75, n.2, p.206-11, 2011.
- González-Marín, C.; Góngora, C.E.; Gilligan, T.B.; Evans, K.M.; Moreno, J.F.; Vishwanath, R. In vitro sperm quality and DNA integrity of SexedULTRA™ sex-sorted sperm compared to non-sorted bovine sperm. **Theriogenology**, v.114, p.40-5, 2018.
- Guthrie, H.D.; Johnson, L.A.; Garret, W.M.; Welch, G.R.; Dobrinsky, J.R. Flow cytometric sperm sorting: Effects of varying laser power on embryo development in swine. **Molecular Reproduction Development**, v.61, n.1, p.87-92, 2002.
- Hayakawa, H.; Hirai, T.; Takimoto, A.; Ideta, A.; Aoyagi Y. Superovulation and embryo transfer in Holstein cattle using sexed sperm. **Theriogenology**, v.71, n.1, p.68-73, 2009.
- Healy, A.A.; House, J.K.; Thonson, P.C. Artificial insemination field data on the use of sexed and conventional semen in nulliparous Holstein heifers. **Journal of Dairy Science**, v.96, p.1905-14, 2013.
- Holden, A.S.; Butler, S.T. Review: Applications and benefits of sexed semen in dairy and beef herds. **Animal**, v.12, n.1, p.97-103, 2018.
- Hutchison, J.L.; Bickhart, D.M. Sexed-semen usage for Holstein AI in the United States. **Journal of Animal Science**. v.94(E-Suppl. 5), p.176(abstr. 0372), 2016.
- Ingenhoff, L.; Hall, E.; Ranjbar, N.I.; House, J.K. Effect of insemination site and diameter of the pre-ovulatory follicle on the odds of pregnancy in heifers using sexed or non-sexed semen. **Production Animals**, v., n.9, p. 317-24, 2017.
- Johnson, L.A.; Pinkel, D. Modification of a laser-based flow cytometer for high resolution DNA analysis of mammalian spermatozoa. **Cytometry**, v.7, p.268-73, 1986.
- Johnson, L.A.; Welch, G.R. Sex selection: high-speed flow cytometric sorting of X and Y sperm for maximum efficiency. **Theriogenology**, v.52, p.1323-42, 1999.
- Karakaya, E.; Yilmazbas-Mecitoglu, G.; Keskin, A.; Alkan, A.; Tasdemir, U.; Santos, J.E.P.; Gumen, A. Fertility in dairy cows after artificial insemination using sex-sorted sperm or conventional semen. **Reproduction in Domestic Animals**, v.49, n.2, p.333-37, 2014.
- Larson, J.E.; Lamb, G.C.; Funnell, B.J.; Bird, S.; Martins, A.; Rodgers, J.C. Embryo production in superovulated Angus cows inseminated four times with sexed-sorted or conventional, frozen-thawed semen. **Theriogenology**, v.73, n.5, p.698-703, 2010.



- Lopez, W.O.; Alvis-Miranda, H.R.; Gamarra, A.F.; Rendon, B.; Borda, D.A.; Albicker, U.; Fonoff, E.T.; Martinez-Diaz, M. Effects of sexed semen and interactive effects on commercial *in vitro* embryo production when oocytes are collected from cows of *Bos indicus*, and *Bos taurus* breeding and crossbred cows of these subspecies. **Animal Reproduction Science**, v.156, p.58-63, 2015.
- Lu, K.H.; Seidel, G.E. Effects of heparin and sperm concentration on cleavage and blastocyst development rates of bovine oocytes inseminated with flow cytometrically-sorted sperm. **Theriogenology**, v.62, p.819-30, 2004.
- McCulloch, K.; Hoag, D.L.K.; Parsons, J.; Lacy, M.; Seidel, G.E.; Wailes, W. Factors affecting economics of using sexed semen in dairy cattle. **Journal of Animal Science**, v.96, p.6366–77, 2013.
- Marques, M.O.; Morotti, F.; Lorenzetti, E.; Bizarro-Silva, C.; Seneda, M.M. Intensified use of TAI and sexed semen on commercial farms. **Animal Reproduction Science**, v.15, n.3, p.197-203, 2018.
- Mikkola, M.; Andersson, M.; Taponen, J. Transfer of cattle embryos produced with sex-sorted sêmen results in impaired pregnancy rate and increased male calf mortality. **Theriogenology**, v.84, p.1118-22, 2015.
- Missio, D.; Folchini, N.P.; Leivas, F.G.; Pavin, C.I.I.U.M.; Pinto, H.F.; Cibir, F.W.S.; Brum, D.D.S. Reduction in Percoll volume increases recovery rate of sex-sorted semen of bulls without affecting sperm quality and early embryonic development. **Animal Reproduction Science**, v.192, p.146-153, 2018.
- Moore, S.G.; Hasler, J.F. A 100-Year Review: Reproductive technologies in dairy science. **Journal of Animal Science**, v.100, p.10314-31, 2017.
- Morton, K.M.; Herrmann, D.; Sieg, B.; Struckmann, C.; Maxwell, W.M.C.; Rath, D.; Evans, G.; Lucas-Hahn, A.; Niemann, H.; Wrenzycki, C. Altered mRNA expression patterns in bovine blastocysts after fertilization *in vitro* using flow-citometrically sex-sorted sperm. **Molecular Reproduction Development**, v.74, p.931-40, 2007.
- Naniwa, Y.; Sakamoto, Y.; Toda, S.; Uchiyama, K. Bovine sperm sex-selection technology in Japan. **Reproductive Medicine and Biology**, v.18, p.17-26, 2019.
- Nociti, R.P. *Transcriptoma de embriões bovinos produzidos in vitro com espermatozoides sexados por citometria de fluxo*. 2018. p 110. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2018.
- Noonan, E.J.; Kelly, J.C.; Beggs, D.S. Factors associated with fertility of nulliparous dairy heifers following a 10-day fixed-time artificial insemination program with sex-sorted and conventional semen. **Australian Veterinary Journal**, v.94, n.5, p.145-48, 2016.
- Norman, H.D.; Hutchison, J.L.; Miller, R.H. Use of sexed semen and its effect on conception rate, calf sex, dystocia, and stillbirth of Holsteins in the United States. **Journal of Animal Science**, v.93, p.3880-90, 2010.
- Palma, G.A.; Olivier, N.S.; Neumüller, C.H.; Sinowatz, F. Effects of sex-sorted spermatozoa on the efficiency of *in vitro* fertilization and ultrastructure of *in vitro* produced bovine blastocysts. **Anatomia Histologia Embriologia**, v.37, p.67–73, 2008.
- Pellegrino, C.A.G.; Morotti, F.; Untura, R.M.; Pontes, J.H.F.; Pellegrino, M.F.O.; Campolina, J.P.; Seneda, M.M.; Barbosa, F.A.; Henry, M. Use of sexed sorted semen for fixed-time artificial insemination or fixed-time embryo transfer of *in vitro*–produced embryos in cattle. **Theriogenology**, v.86, p.888-93, 2016.
- Pozzi, A.; Previtali, C.; Lukaj, A.; Galli, A.; Bongioni, G.; Puglisi, R. High-resolution melt analysis does not reveal mutagenic risk in sexed sperm and *in vitro*-derived bovine embryos. **Stichting International Foundation for Animal Genetics**, v.45, p.473–78, 2014.



Puglisi, R.; Vanni, R.; Galli, A.; Balduzzi, D.; Parati, K.; Bongioni, G.; Crottim G.; Galli, C.; Lazzari, G.; Alendri, R. *In vitro* fertilization with frozen-thawed bovine sperm sexed by flow cytometry and validated for accuracy by real-time PCR. **Reproduction**, v.132, p.519-26, 2006.

Rasmussen, S.; Block, J.; Seidel, G.E.; Brink, Z.; McSweeney, K.; Farin, P.W.; Bonilla, L.; Hansen, P.J. Pregnancy rates of lactating cows after transfer of in vitro produced embryos using X-sorted sperm. **Theriogenology**, v.79, n.3, p.453-61, 2013.

Rens, W.; Welch, G.R.; Johnson, L.A. A novel nozzle for more efficient sperm orientation to improve sorting efficiency of X and Y chromosome-bearing sperm. **Cytometry**, v.33, n.4, p.476-81, 1998.

Rhinehart, J.D.; Arnett, A.M.; Anderson, L.H.; Whittier, W.D. Conception rates of sex-sorted semen in beef heifers and cows. **Journal of Animal Science**, v.89, s.2, 2011.

Sá Filho, M.F.; Penteado, L.; Reis, E.L.; Reis, T.A.N.P.S.; Galvão, K.N.; Baruselli, P.S. Timed artificial insemination early in the breeding season improves the reproductive performance of suckled beef cows. **Theriogenology**, v.79, p.625-32, 2013.

Sales, J.N.S.; Neves, K.A.L.; Souza, A.H.; Crepaldi, G.A.; Sala, R.V.; Fosado, M.; Campos-Filho, E.P.; de Faria, M.; Sá Filho, M.F.; Baruselli, P.S. Timing of insemination and fertility in dairy and beef cattle receiving timed artificial insemination using sex-sorted sperm. **Theriogenology**, v.76, n.3, p.427-35, 2011.

Schenk, J.L.; Cran, D.G.; Everett, R.W.; Seidel, G.E. Pregnancy rates in heifers and cows with cryopreserved sexed sperm: effects of sperm numbers per inseminate, sorting pressure and sperm storage before sorting. **Theriogenology**, v.71, p.717-28, 2009.

Schenk, J.L.; Suh, T.K.; Seidel, G.E. Embryo production from superovulated cattle following insemination of sexed sperm. **Theriogenology**, v.65, n.2, p.299-307, 2006.

Seidel, G.E. Overview of sexing sperm. **Theriogenology**, v.68, p.443-46, 2007.

Seidel, G.E. Update on sexed semen technology in cattle. **Animal**, v.8, s.1, p.160–64, 2014.

Seidel, G.E.; Allen, C.H.; Johnson, L.A.; Holland, M.D.; Brink, Z.; Welch, G.R.; Graham, J.K.; Cattell, M.B. Uterine horn insemination of heifers with very low numbers of non-frozen and sexed spermatozoa. **Theriogenology**, v.48, p.1255-65, 1997.

Seidel, G.E.; Schenk, J.L. Pregnancy rates in cattle with cryopreserved sexed sperm: effects of sperm numbers per inseminate and site of sperm deposition. **Animal Reproduction Science**, v.105, p.129-138, 2008.

Sharpe, J.C.; Evans, K.M. Advances in flow cytometry for sperm sexing. **Theriogenology**, v.71, p.4–10, 2009.

Silva, M.A.V.; Santos, C.S.; França, I.G.; Pereira, H.G.; Sá Filho, M.F.; Freitas, B.G.; Guerreiro, B.M.; Faquim, A.; Baruselli, P.S.; Torres-Júnior, J.R.S. Hormonal strategy to reduce suckled beef cow handling for timed artificial insemination with sex-sorted semen. **Theriogenology**, v.114, p.159-164, 2018.

Soares, J.G.; Martins, C.M.; Carvalho, N.A.; Nicacio, A.C.; Abreu-Silva, A.L.; Campos Filho, E.P.; Torres Júnior, J.R.; Sá Filho, M.F.; Baruselli, P.S. Timing of insemination using sex-sorted sperm in embryo production with *Bos indicus* and *Bos taurus* superovulated donors. **Animal Reproduction Science**, v.127, n.3-4, p.148-53, 2011.

Suh, T.K.; Schenk, J.L.; Seidel, G.E. High pressure flowcytometric sorting damages sperm. **Theriogenology**, v.64, p.1035-48, 2005.

Thomas, J.M.; Locke, J.W.C.; Bonacker, R.C.; Knickmeyer, E.R.; Wilson, D.J.; Vishwanath, R.; Arnett, A.M.; Smith, M.F.; Patterson, D.J. Evaluation of SexedULTRA 4M™ sex-sorted semen in timed artificial insemination programs for mature beef cows. **Theriogenology**, v.1, n.123, p.100-7, 2019.

Thomas, J.M.; Locke, J.W.C.; Vishwanath, R.; Hall, J.B.; Ellersieck, M.R.; Smith, M.F.; Patterson, D.J. Effective use of SexedULTRA™ sex-sorted semen for timed artificial insemination of beef heifers. **Theriogenology**, v.98, p.88-93, 2017.

Underwood, S.L.; Bathgate, R.; Ebsworth, M.; Maxwell, W.M.C.; Evans, G. Pregnancy loss in heifers after artificial insemination with frozen-thawed, sex-sorted, re-frozen-thawed dairy bull sperm. **Animal Reproduction Science**, v.118, p.7-12, 2010.

Vishwanath, R.; Moreno, J.F. Review: semen sexing—current state of the art with emphasis on bovine species. **Animal**, v.12, n.1, p.85–96, 2018.

Wheeler, M.B.; Rutledge, J.J.; Fischer-Brown, A.; VanEtten, T.; Malusky, S.; Beebe, D.J. Application of sexed semen technology to in vitro embryo production in cattle. **Theriogenology**, v.65, n.1, p.219-27, 2006.

Wilson, R.D.; Fricke, P.M.; Leibfried-Rutledge, M.L.; Rutledge, J.J.; Penfield, C.M.S.; Weigel, K.A. *In vitro* production of bovine embryos using sex sorted sperm. **Theriogenology**, v.65, p.1007-15, 2006.

Xu, J.; Chaubal, S.A.; Du, F. Optimizing IVF with sexed sperm in cattle. **Theriogenology**, v.71, n.1, p.39-47, 2009.

Zhang, M.; Lu, K.H.; Seidel, G.E. Development of bovine embryos after in vitro fertilization of oocytes with flow cytometrically sorted, stained and unsorted sperm from different bulls. **Theriogenology**, v.60, p.1657-63, 2003.

## **SOBRE OS ORGANIZADORES**

**ALÉCIO MATOS PEREIRA** - Possui graduação em Medicina Veterinária (2004), Mestrado (2008) e Doutorado (2014) em Ciência Animal (área de concentração em Reprodução Animal) pela Universidade Federal do Piauí. Atualmente é Professor da Universidade Federal do Maranhão, Campus IV, da disciplina de Anatomia e Fisiologia, nos cursos de Zootecnia, Agronomia e Biologia. Tem experiência na área de Medicina Veterinária e Zootecnia, com ênfase em endocrinologia e piscicultura. E-mail para contato: [aleciomatos@gmail.com](mailto:aleciomatos@gmail.com); Lattes: <http://lattes.cnpq.br/2057530058619654>

**SARA SILVA REIS** - Possui graduação em Zootecnia pela Universidade Federal do Maranhão (2019). Mestranda em Ciência Animal pelo Programa de Pós-graduação PPGCA pela Universidade Federal do Maranhão - Campus IV. Tem experiência na área de Zootecnia, com ênfase em Zootecnia. E-mail para contato: [sara.reis652@gmail.com](mailto:sara.reis652@gmail.com); Lattes: <http://lattes.cnpq.br/9200770549379851>

**WESKLEN MARCELO ROCHA PEREIRA** - Graduando do curso Zootecnia na Universidade Federal do Maranhão no Centro de Ciências Agrárias e Ambientais (UFMA/CCAA) cursando o sétimo período - Campus IV- Chapadinha-MA. E-mail para contato: [wesklen.1@gmail.com](mailto:wesklen.1@gmail.com); Lattes: <http://lattes.cnpq.br/8497094072446956>

## ÍNDICE REMISSIVO

### A

Acidente Ofídico 19

Alimentos 11, 15, 17, 31, 33, 46, 47, 48, 49

Animais 9, 3, 4, 5, 8, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 26, 27, 28, 29, 33, 34, 39, 40, 42, 43, 48, 50, 51, 52, 54, 55, 56, 59, 61, 62, 63, 65, 71, 74, 77, 78, 86, 89, 107, 109, 110, 112, 120

Animais peçonhentos 19, 20, 21, 22, 23, 26, 27, 28, 29

### B

Blefaroplastia 106, 108

Boar Semen 12, 92, 93, 94, 97, 98, 99, 100, 101

### C

Cão 10, 12, 1, 3, 5, 6, 9, 35, 38, 52, 54, 77, 83, 85, 105, 106, 108, 109, 110

Capim elefante 30, 32, 33, 34

Cavalos 130

Cirúrgico 6, 86, 89, 106, 109

Criopreservação 76, 77, 78, 83, 84, 85

### D

Diagnóstico 1, 4, 6, 7, 8, 35, 39, 42, 45, 50, 51, 52, 54, 55, 56, 59, 86, 88, 89, 90, 108, 130, 131, 132, 133, 135, 137, 138, 143

Dimethylformamide 92, 93, 94, 97, 100, 101, 102, 103

Dispneia 35, 36, 38

### E

Éguas 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 87, 88, 89, 91

Endocrinologia 65, 146

Endotélio 1, 2, 7

Epidemiologia 9, 19, 28, 29, 44, 86

Equino 86, 130, 131, 132, 133, 134, 136, 137, 138, 139, 141, 142, 143

Ethogram 112, 113, 114

Events 111, 112, 114, 115, 118

## F

Falência 50, 51, 54

Fermentação 30, 31, 33

Forragem 9, 30, 31, 33, 34

## G

glycerol 92, 93, 94, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102

## H

Hemangiossarcoma 10, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9

Hormonioterapia 65

Hotz-Celsus 106, 108

## I

IATF 11, 56, 57, 59, 60, 61, 62, 63, 122

Indução da ciclicidade 11, 56, 57, 58, 62, 63

Inseminação Artificial 59, 78, 119, 121, 122, 123, 124, 125

## L

L-carnitine 12, 92, 93, 94, 96, 97, 98, 99, 101

## M

Medicina de Rua 11, 12, 14

Medicina Veterinária 2, 9, 5, 8, 9, 11, 13, 14, 18, 30, 32, 35, 38, 42, 43, 45, 50, 54, 55, 74, 86, 108, 110, 119, 130, 146

Medicina Veterinária do Coletivo 11, 14

Monitoria 10, 41, 42, 43, 44, 45

## N

Neoplasia 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 91

Nódulo 1, 2, 6

Nordeste 9, 21, 28, 30, 31, 33, 34

Novilhas 11, 34, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 124

## O

Oftalmologia 9, 106, 110

Ortopedia 130

Ovariana 86, 88

## P

Pálpebra 1, 2, 3, 4, 6, 7, 105, 106, 107, 108, 109

Pneumonia 10, 35, 36, 38, 39

Produção de embriões 119, 121, 122

Pyruvate 12, 92, 93, 94, 96, 97, 98, 99, 100

## R

Radiografia 35, 36, 37, 38, 39

Rams 12, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117

Refluxo 35, 36, 38, 39

Reprodução 9, 66, 72, 77, 85, 90, 119, 123, 124, 125, 146

Resíduos 11, 11, 18, 46, 47, 48, 49, 51

Rim 50

## S

Saúde Coletiva 11, 12, 14, 28

Saúde Única 10, 10, 11, 14, 18

Segurança alimentar 46

Sêmen 79, 85, 125

Sêmen sexado 119, 122, 123, 124, 125

Semiologia veterinária 10, 41, 42

Sexual behavior 12, 111, 112, 113, 115, 116, 117

Sistema locomotor 130

States 111, 112, 114, 115, 118, 126, 127

## T

Transferência de embriões 65, 66, 69, 70, 71, 72, 122, 123, 125

Tratamento 1, 5, 6, 10, 15, 35, 39, 51, 52, 53, 56, 59, 60, 69, 71, 72, 73, 74, 86, 88, 90, 106, 109, 131, 140

## V

Vulnerabilidade 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 18



**Inovação e Pluralidade na**

**Medicina Veterinária 3**

[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br) 

[contato@atenaeditora.com.br](mailto:contato@atenaeditora.com.br) 

[@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora) 

[www.facebook.com/atenaeditora.com.br](https://www.facebook.com/atenaeditora.com.br) 

**Inovação e Pluralidade na**

**Medicina Veterinária 3**

[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br) 

[contato@atenaeditora.com.br](mailto:contato@atenaeditora.com.br) 

[@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora) 

[www.facebook.com/atenaeditora.com.br](https://www.facebook.com/atenaeditora.com.br) 