

ACHADOS LABORATORIAIS DE CÃES COM CINOMOSE ATENDIDOS NO PERÍODO DE 2001 A 2006 NO HOSPITAL VETERINÁRIO DA UNOESTE	331
AVALIAÇÃO DA MICROBIOTA OCULAR FÚNGICA E BACTERIANA DE CÃES COM CONJUNTIVITE VIRAL POR CINOMOSE.....	335
CARACTERIZAÇÃO CLÍNICO-LABORATORIAL DE CÃES INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE COM O ISOLADO SÃO PAULO DE <i>EHRlichia canis</i>	340
COMPARAÇÃO DO EFEITO ANALGÉSICO DA METADONA VIA INTRAMUSCULAR OU EPIDURAL EM GATAS SUBMETIDAS A OVARIOSSALPINGOHISTERECTOMIA.....	344
EFEITO DA DILUIÇÃO E MÉTODOS DE PROCESSAMENTO NA REFRIGERAÇÃO DE SÊMEN ASININO	348
ELETROANALGESIA PREEMPTIVA PARA O CONTROLE DA DOR PÓS-OPERATÓRIA EM CÃES ..	352
PADRONIZAÇÃO DE TÉCNICA PARA RECUPERAÇÃO DE OVOS DE <i>Toxocara canis</i> EM SOLO.....	357
VIABILIDADE DO SÊMEN EQUINO REFRIGERADO: EFEITO DA DILUIÇÃO E DOS MÉTODOS DE REFRIGERAÇÃO	361

ACHADOS LABORATORIAIS DE CÃES COM CINOMOSE ATENDIDOS NO PERÍODO DE 2001 A 2006 NO HOSPITAL VETERINÁRIO DA UNOESTE

Édina Fernanda Marchinski¹, Cecília Braga Laposy²

1. Discente Curso de Medicina Veterinária – Unoeste- Bolsita .PROBIC- Unoeste-fermarch@ig.com.br
 2. Prof. Dra. Patologia Clínica Veterinária Curso de Medicina Veterinária- Unoeste- claposy@unoeste.br
- Instituição Fomentadora: Unoeste. PROBIC -049/08
Palavras- chave: cinomose, cães, achados laboratoriais.

Introdução

A cinomose é uma doença viral, altamente contagiosa e severa de cães e de outros carnívoros. Atualmente, a doença vem sendo observada mundialmente, não escolhendo sexo ou raça, nem a época do ano. Ocorre em animais mais jovens, mas idosos podem se infectar caso não tenham sido vacinados (MCCANDLISH, 2001; SHERDING, 2003). No Brasil a infecção pelo vírus da cinomose canina (*canine distemper virus* - CDV) é endêmica e pode resultar em doença multissistêmica aguda ou subaguda. Com frequência, sinais clínicos neurológicos podem ocorrer durante a fase aguda da doença, várias semanas ou meses após (GREENE; APPEL, 1998; AMUDE et al., 2006). Os animais infectados, tanto na forma sintomática quanto assintomática, são importantes na cadeia epidemiológica da cinomose canina como fonte de contaminação para os animais susceptíveis (APPEL;SUMMERS, 1995).

Os sinais clínicos variam de acordo com a virulência da cepa viral, condições ambientais, idade e estado imunológico do hospedeiro, sendo que tosse, diarreia, vômitos, anorexia, desidratação, e perda de sangue com debilitação são comumente observados em cães com cinomose aguda. Corrimentos oculonasais mucopurulentos e pneumonia frequentemente resultam de infecções bacterianas secundárias. Uma erupção cutânea progredindo para pústula pode ocorrer, especialmente no abdômen e os sinais neurológicos começam uma a três semanas após a recuperação da doença sistêmica e incluem hiperestesia, rigidez cervical, convulsões, sinais cerebelares e vestibulares e ataxia (SWANGO, 1992; MERIC, 1994).

Nos casos suspeitos de cinomose, tornam-se úteis uma análise sangüínea completa para se avaliar as respostas eritrocitárias, leucocitárias e radiografias torácicas para se avaliar a pneumonia. Leucopenia precoce associada à elevação da temperatura inicial e posteriormente leucocitose neutrofílica são achados hematológicos descritos na literatura (SCHERDING, 2003).

As inclusões virais podem algumas vezes ser encontradas em eritrócitos, leucócitos e precursores de leucócitos de cães infectados. A presença dos corpúsculos de inclusão corresponde à replicação viral em tecidos linfóides, estando geralmente presentes em hemácias, linfócitos, neutrófilos e monócitos, por somente dois a nove dias após a infecção, de modo que com frequência elas não são encontradas quando os sinais clínicos ocorrem (BOUNOUS; HOSKINS; BOUDREAUX, 1993).

Justificativa e Objetivo da Pesquisa

Por ser uma doença multissistêmica, altamente contagiosa e que pode afetar cães de diferentes faixas etárias, o presente estudo teve como principal objetivo avaliar as alterações laboratoriais de cães acometidos pelo vírus da cinomose que foram atendidos no Hospital Veterinário da Unoeste no período de 2001 a 2006.

Material e Métodos

Foram utilizados os arquivos dos animais atendidos no período de 2001 a 2006 do Laboratório Clínico do Hospital Veterinário. Entraram para o projeto, as fichas dos cães com suspeita da doença, seguindo um protocolo pré-determinado. Foram estudadas raças, idade, medicação realizada, outras suspeitas além da cinomose, além das alterações eritrocitárias, leucocitárias, das proteínas plasmáticas totais e do fibrinogênio plasmático.

Resultados e Discussão

No período de 2001 a 2006 foram atendidos no Hospital Veterinário da Unoeste 765 cães com suspeita de cinomose. Destes animais, 53,3% eram machos e com idade variando de um mês a 15 anos. Os cães sem raça definida corresponderam a 50,45% (cerca de 386 animais), seguido da raça poodle (com 8,36%).

Foi observado também que em 74,37% (569 cães) não foi administrada qualquer tipo de medicação prévia ao hemograma. Com relação a suspeita clínica, a ehlichiose (21,96%) e a parvovirose (6,27%) foram as doenças que os clínicos suspeitavam com maior frequência, provavelmente pelo fato da sintomatologia ser semelhante à cinomose nos estágios iniciais.

Quando avaliamos o eritrograma, em 74,24% foi observada anemia. Destes casos, 31,37% apresentavam o tipo normocítico normocrômico, o que pode ser atribuído ao aumento da destruição dos eritrócitos ou pela diminuição de sua produção, pois a inclusão viral pode estar presente também nas hemácias ou em seus precursores. A anemia pode ocorrer como resultado da redução da eritropoietina e da subsequente hipoplasia das células eritróides na

medula óssea. Durante a avaliação da anemia, devem-se levar em consideração o estado de hidratação e a correlação dos achados das proteínas totais com as hemácias, hemoglobina e hematócrito (WINGFIELD et al., 1998; BUSH, 2004; MEYER et al., 1999; NELSON; COUTO, 2001).

Na anemia normocítica normocrômica em cães infectados com cinomose, Jain (1993) atribuiu ao aumento da destruição dos eritrócitos pela presença do vírus no interior da célula ou pela diminuição de sua produção. Meyer et al. (1999) refere-se ao fato de uma deficiência da medula óssea. Na maioria dos casos, os eritrócitos apresentaram-se normocíticos e normocrômicos e sem sinais de regeneração medular.

Com relação ao proteinograma, observou-se que dos 765 animais estudados neste levantamento, 441 não apresentaram alterações nos valores das proteínas plasmáticas totais. Cerca de 26,01% dos cães tiveram hipoproteinemia e somente 16,33% apresentaram hiperproteinemia.

As lesões no epitélio intestinal causadas pelo vírus, com conseqüente diarreia, além da própria apatia determinada pela doença levam o animal a recusar o alimento. Dessa forma, a diminuição da ingestão protéica bem como o comprometimento intestinal são fatores determinantes na redução dos níveis séricos da albumina na cinomose. Isso justifica a hipoproteinemia observada nos animais (ETTINGER; FELDMAN,2004).

Quando comparados com os valores normais de referência, pudemos observar que em 59,21% dos animais os leucócitos totais estavam dentro dos valores normais. A linfopenia e monocitose foram as alterações mais observadas, representando 46,53% e 34,27%, respectivamente. Estes achados concordam com Greene e Appel (1998) que relatou que a linfopenia é causada pelo dano viral às células linfóides, afetando tanto linfócitos T como B. Dos 765 cães, apenas 8,75% apresentaram corpúsculos de Lentz.

Conclusão

Este trabalho permitiu chegarmos a conclusão que os cães com cinomose atendidos no Hospital Veterinário da Unoeste apresentaram uma anemia do tipo normocítica normocrômica e as alterações observadas no leucograma foram predominantemente a linfopenia e monocitose. Embora o aparecimento do corpúsculo de Lentz seja considerado um achado patognomônico da doença, este não foi um dado freqüente nestes animais.

Referências Bibliográficas

- AMUDE, A.M.; ALFIERI, A.A.; BALARIN, M.R.S. Severe lymphocytic pleocytosis in cerebrospinal fluid from a dog with neurological deficits. **Vet. Clin. Pathol. J.**, v.35, p.119-122, 2006.
- APPEL, M.J.G.; SUMMERS, B.A. Pathogenicity of morbilliviruses for terrestrial carnivores. **Vet. Microbiol.**, v.44, p.187-191, 1995.
- BOUNOUS, D.I.; HOSKINS, J.D.; BOUDREAUX, M.K. O Sistema Hematopoiético. In: HOSKINS, J.D. **Pediatria veterinária**. São Paulo: Manole, 1993, p.317-352.
- BUSH, M.B. **Interpretação de Resultados Laboratoriais para Clínicos de Pequenos Animais**. Roca, São Paulo, v III. 2004, 376p.
- ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. Tratado de medicina interna veterinária : doenças do cão e do gato. 5.ed. Rio de Janeiro . Kogan, 2004. v.2, p.1802-1841.
- GREENE, G.E.; APPEL, M.J. Canine distemper. In: GREENE, G.E. **Infectious diseases of the dog and the cat**. Philadelphia: W.B.Saunders, 1998. p.9-22.
- JAIN, N.C. **Essentials of Veterinary hematology**. Philadelphia: Lea & Fabiger, 1993. 417p.
- MCCANDLISH, I.A.P. Infecções específicas caninas. In: DUNN, J.K. **Tratado de Medicina de Pequenos Animais**. 1 ed. São Paulo: Roca Ltda, 2001, p.915-952.
- MERIC, S.M. Distúrbios Neuromusculares. In: NELSON, R.W.; COUTO, C.G. **Medicina Interna de Pequenos Animais**, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A, 1994, p.568.
- MEYER, D.J.; COLES, E.H.; RICH, L.J. **Medicina de laboratório veterinário: interpretação e diagnóstico**. 2.ed. São Paulo: Roca, 1999, p.78.
- NELSON, R.W.; COUTO, C.G. **Medicina Interna de Pequenos Animais**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 2001, 1084 p.
- SHERDING, R.G. Cinomose In: BICHARD, S.J.; SHERDING, R.G. **Manual Saunders Clínica de Pequenos Animais**. 2 ed. São Paulo: Roca, 2003, p.117.
- SWANGO, L.S. Moléstias virais caninas. In: ETTINGER, S.J. **Tratado de Medicina Interna Veterinária**. 3ed. São Paulo: Manole, 1992, v.1. p.312.
- WINGFIELD, W.E. et al. **Segredos em Medicina Veterinária**. Porto Alegre: Artmed, 1998, 546p.

AValiação DA MICROBIOTA OCULAR FÚNGICA E BACTERIANA DE CÃES COM CONJUNTIVITE VIRAL POR CINOMOSE

Rogério Giuffrida¹

1- Prof. Dr. Curso de Medicina Veterinária da Universidade do Oeste Paulista, Rod. Raposo Tavares, km 572, Bairro Limoeiro, Presidente Prudente, SP, CEP: 19067-175, telefone: (18) 3229-2066

Palavras-chave: cinomose, conjuntivite, cães

Introdução

A cinomose é uma enfermidade viral de distribuição mundial causada por um *Morbillivirus* e que acomete cães jovens. A doença manifesta-se normalmente por sintomas respiratórios na fase aguda e sintomas neurológicos na fase crônica. Durante a fase aguda da enfermidade, o tropismo viral pelo epitélio conjuntival e sua replicação neste tecido leva ao aparecimento de um conjuntivite purulenta bilateral que pode vir acompanhada de um quadro imunossupressivo (Greene, 1998).

Quando a conjuntivite viral está presente, muitos microrganismos de potencial patogênico, pertencentes à microbiota ocular dos cães, são capazes de se multiplicar e agravar as lesões. Os dois principais grupos considerados são os microrganismos fúngicos e bacterianos. Entre as bactérias, o gênero *Staphylococcus* e *Streptococcus* são os agentes mais prevalentes em tais infecções. Outros potencialmente perigosos como *Pseudomonas* e *E. coli* também já foram relatados (Murphy et al., 1978; Gerding et al., 1998). Entre os fungos, destacam-se as leveduras como *Malassezia pachydermatis* que podem estar presentes em elevados percentuais nas estruturas oculares de cães com conjuntivite estabelecida (Prado et al., 2004) e o organismo fúngico considerado oportunista *Aspergillus fumigatus* (Pal & Mehrotra, 1986).

Justificativa e objetivos

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a microbiota fúngica e ocular de cães com conjuntivite viral causada pelo vírus da cinomose canina.

Materiais e métodos

Foram avaliados dois grupos: G1 composto por dez cães com diagnóstico de cinomose confirmado pela presença de corpúsculos de inclusão de Lentz na conjuntiva ocular ou nas células sanguíneas e G2 composto por dez cães hígidos. Suabes oculares dos animais

de ambos os grupos foram semeados em placas contendo ágar-sangue enriquecido com 5% de sangue ovino e em placas com ágar McConkey. Após a semeadura, as placas foram incubadas à 35°C, em aerobiose por 72 horas. As colônias bacterianas isoladas foram classificadas segundo suas características morfo-tintoriais e comportamento bioquímico (Holt et al., 1994). Paralelamente, os suabes foram semeados em duplicata em tubos contendo ágar Sabouraud-dextrose, acrescido de cloranfenicol para inibição de contaminantes bacterianos. Um dos tubos foi incubado à 37°C e outro à 25°C, sendo realizadas leituras a cada 48 horas. As colônias fúngicas isoladas foram classificadas segundo suas características macro e microscópicas e bioquímicas (Lacaz et al., 1998).

Resultados e Discussão

Na tabelas 1 e 2 estão descritos os resultados das frequências de isolamento de microrganismos bacterianos e fúngicos, respectivamente. Todos os microrganismos bacterianos isolados foram sensíveis aos antimicrobianos testados.

Tabela 1- Frequências de isolamento de microrganismos bacterianos isolados de 10 cães com conjuntivite viral por cinomose e 10 cães hípidos.

Microrganismo	Cinomose		Hípidos	
	Esquerdo N(%)	Direito N(%)	Esquerdo N(%)	Direito N(%)
<i>Proteus spp</i>	1(10%)	0(0%)	0 (0%)	0 (0%)
<i>E. coli</i>	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (10%)
<i>Hafnia alvei</i>	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (10%)
<i>Staphylococcus intermedius</i>	4 (40%)	4 (40%)	8 (80%)	8 (80%)
<i>Streptococcus alfa-hemolítico</i>	3 (30%)	1(10%)	1(10%)	0 (0%)
<i>Streptococcus beta-hemolítico</i>	0 (0%)	1(10%)	1(10%)	2 (20%)
<i>Corynebacterium spp</i>	1 (10%)	1(10%)	0(0%)	2 (20%)
<i>Micrococcus</i>	1(10%)	1(20%)	(0%)	0 (0%)
Negativos	3(30%)	3 (30%)	1(10%)	0 (0%)

Tabela 2- Frequências de isolamento de microorganismos fúngicos isolados de 10 cães com conjuntivite viral por cinomose e 10 cães hígidos.

Microorganismo	Cinomose		Hígidos	
	Esquerdo N(%)	Direito N(%)	Esquerdo N(%)	Direito N(%)
<i>Acremonium spp</i>	1 (10%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
<i>Aspergillus fumigatus</i>	1 (10%)	0 (0%)	3 (30%)	0 (0%)
<i>Aspergillus niger</i>	0 (0%)	4 (40%)	2 (20%)	4 (40%)
<i>Cladosporium spp</i>	0 (0%)	1 (10%)	2 (20%)	0 (0%)
<i>Epicococum spp</i>	1 (10%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
<i>Fusarium spp</i>	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (10%)
<i>Geotrichum spp</i>	0 (0%)	1 (10%)	0 (0%)	0 (0%)
<i>Malassezia pachydermatis</i>	2 (20%)	1 (10%)	0 (0%)	2 (20%)
<i>Mucor spp</i>	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (10%)
<i>Phoma spp</i>	1 (10%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (20%)
<i>Penicillium spp</i>	0 (0%)	0 (0%)	3 (30%)	0 (0%)
<i>Rhodotorulla rubra</i>	0 (0%)	0 (0%)	1 (10%)	1 (10%)
<i>Scopulariopsis spp</i>	0 (0%)	1 (10%)	1 (10%)	0 (0%)
<i>Verticillium spp</i>	0 (0%)	1 (10%)	0 (0%)	0 (0%)
Negativos	3 (30%)	2 (20%)	0 (0%)	1 (10%)

Foram isolados sete gêneros bacterianos dez gêneros fúngicos dos olhos dos animais pesquisados. Em dois cães hígidos (20%), não foram isoladas bactérias em nenhum dos olhos. A ausência de microorganismos nos olhos de cães hígidos já foi relatada, pois microorganismos bacterianos parecem ser mais frequentemente isolados dos olhos de cães com patologias oculares estabelecidas (Prado et al., 2005). É possível que patologias oculares existentes nos olhos dos animais predisponham a colonização dos tecidos pela microbiota residente.

Isolou-se microorganismos bacterianos de ambos os olhos de todos os animais com cinomose. Em cinco animais hígidos (50%) os resultados de cultura bacteriana de ambos os olhos foram concordantes. Em nove (90%) dos animais com cinomose pesquisados o mesmo agente bacteriano foi isolado de ambos os olhos.

Os microorganismos gram-positivos predominaram sobre os Gram negativos, com destaque para *S. intermedius*, isolado de 80% das amostras oriundas de cães com conjuntivite viral por cinomose em contraste com cães hígidos, onde isolou-se este agente de 40% das amostras. Esta espécie bacteriana é comumente isolada de cães com lesões oftálmicas (Prado et al., 2005), tendo potencial para agravar as injúrias oculares. O segundo gênero mais frequente foi *Streptococcus*, que também é considerado como importante em lesões oftálmicas dos cães (Gerding et al., 1998).

Em apenas um animal hígido e um animal com cinomose isolou-se o mesmo agente fúngico de ambos os olhos. Apenas um animal com cinomose apresentou cultura fúngica

ocular negativa em ambos os olhos. A espécie mais frequentemente isolada dos olhos de animais com cinomose e hígdios foi *Aspergillus niger*. Esta espécie não é comumente isolada de lesões oculares de animais, sendo o *A. fumigatus* mais importante como óculopatógeno (Pal e Mehrotra, 1986).

Malassezia pachydermatis foi isolada dos olhos de animais com e sem cinomose em cultura pura. Ela é tida como agente agravante de patologias oculares como a úlcera de córnea (Prado et al., 2004), atuando como agente oportunista. Seu papel nas oculopatias secundárias a cinomose, uma enfermidade imunossupressiva que predispõe a infecções secundárias, deve ser melhor estudado. Os outros agentes fúngicos observados são agentes comuns no ambiente em que o cães vivem, podendo apresentar algum potencial para causar infecções oportunistas (Bernays e Peiffer, 1998).

A cinomose é uma enfermidade considerada imunossupressora (Toman et al., 1998). E todos os patógenos secundários presentes nos cães podem manifestar-se como agravantes de enfermidades, inclusive as oftálmicas. O diagnóstico microbiológico e o conhecimento do microrganismos presentes nas infecções oculares dos cães são fundamentais para estabelecer tratamento correto, pois muitos dos agentes infecciosos presentes, são capazes de provocar infecções agressivas, podendo levar a cegueira (Olivier, 2003).

Conclusões

Conclui-se que *Staphylococcus intermedius* é um agente comumente presente na conjuntiva de cães com conjuntivite viral por cinomose. *Malassezia pachydermatis* pode ser isolada em cultura pura da conjuntiva de animais com e sem cinomose e seu papel como agravante de infecções deve ser melhor estudado.

Referências Bibliográficas

- BERNAYS, M.E., PEIFFER, R.L. JR. Ocular infections with dematiaceous fungi in two cats and a dog. **J Am Vet Med Assoc**. Ithaca, v.213, n.4, p.507-9, aug 1998.
- GERDING JR, P.A., MCLAUGHLIN, S.A., TROOP, M.W. Pathogenic bacteria and fungi associated with external ocular diseases in dogs: 131 cases (1981-1986). **J Am Vet Med Assoc** Ithaca, v.193, n.2, 242-4, jul 1998.
- GREENE, C.E. **Infectious diseases of the dog and cat**. Philadelphia: Saunders, 2 ed., 1998.
- HOLT, J. G., KRIEG, N. R. SNEATH, P.H.A., STALEY, J.T. WILLIAMS, S.T. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**. Baltimore: Williams and Wilkins, 9 ed. 1994.
- LACAZ, C.S. PORTO, E., HEINS-VACCARI, E.M., MELO, N. T. **Guia para identificação fungos, actinomicetos, algas de interesse médico**. São Paulo: Sarvier/FAPESP, 1 ed., 1998.
- MURPHY, J.M., LAVACH, J.D., SEVERIN, G.A. Survey of conjunctival flora in dogs with clinical signs of external eye disease. **J Am Vet Med Assoc**, Ithaca, v.172, n.1, p.66-8, jan 1978.
- OLIVIER, F.J. Bacterial corneal diseases in dogs and cats. **Clin Tech Small Anim Pract**, Philadelphia, v.18, n.3, p.193-8, aug 2003.

PAL, M., MEHROTRA, B.S. Studies on the association of *Aspergillus fumigatus* with ocular infections in animals. **Vet Rec**, London, v.118, n.2, p.42-4, jan 1986.

PRADO, M.R., BRITO, E.H., GIRAO, M.D., MONTEIRO, A.J., SIDRIM, J.J., ROCHA, M.F. Higher incidence of *Malassezia pachydermatis* in the eyes of dogs with corneal ulcer than in healthy dogs. **Vet Microbiol**, Amsterdam, v.100, n.1-2, p.115-20, may 2004.

PRADO, M.R., ROCHA, M.F., BRITO, E.H., GIRAO, M.D., MONTEIRO, A.J., TEIXEIRA, M.F., SIDRIM, J.J. Survey of bacterial microorganisms in the conjunctival sac of clinically normal dogs and dogs with ulcerative keratitis in Fortaleza, Ceara, Brazil. **Vet Ophthalmol**, Osney Mead, v.8, n.1, p.33-7, jan-feb 2005.

TOMAN, M., SVOBODA, M., RYBNICEK, J., KREJCI, J., SVOBODOVA, V. Secondary immunodeficiency in dogs with enteric, dermatologic, infectious or parasitic diseases. **Zentralbl Veterinarmed B**, v.45, n.6, p.321-34, 1998.

CARACTERIZAÇÃO CLÍNICO-LABORATORIAL DE CÃES INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE COM O ISOLADO SÃO PAULO DE *EHRlichia CANIS*

Fernanda Diekmann Mantovani¹, Cecília Braga Laposy², Vamilton Álvares Santarém³

¹ Discente Curso de Medicina Veterinária. Unoeste- PEIC (193/07)-fernandadiek@hotmail.com

² Prof. Dra. Patologia Clínica Veterinária. Curso de Medicina Veterinária- Unoeste- clappsy@unoeste.br

³ Prof. Dr. Enfermidades Parasitárias. Curso de Medicina Veterinária-Unoeste-vamilton@unoeste.br

Instituição Fomentadora: FAPESP

Palavras- chave: *Ehrlichia canis*. Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR). Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI).

INTRODUÇÃO

A erliquiose canina no Brasil vem apresentando casuística crescente em hospitais e clínicas veterinárias. É considerada na atualidade como uma das mais importantes doenças transmissíveis em pequenos animais, principalmente pela elevada infestação do carrapato *Rhipicephalus sanguineus* e pela ausência de vacinas. Caracteriza-se por ser uma doença multissistêmica, de sintomatologia complexa, que varia na intensidade de acordo com a fase clínica da doença. A patogenia envolve um período de incubação de oito a vinte dias. Em animais naturalmente infectados, é difícil definir a fase da doença, uma vez que a apresentação clínica e os achados laboratoriais são similares, e a duração e severidade dos sinais clínicos são variáveis (Harrus et al., 1997).

No tocante a caracterização dos isolados brasileiros, as cepas Jaboticabal e a oriunda do Rio de Janeiro foram estudadas do ponto de vista imunopatológico (Hasegawa, 2005; Aguiar et al., 2007). Entretanto, a cepa São Paulo ainda não foi estudada segundo esses parâmetros. A dinâmica de anticorpos anti-*E. canis* em cães experimentalmente infectados tem sido pouco avaliada no Brasil. Segundo a literatura nacional consultada, Torres et al. (2002) avaliando a cepa originária do Rio de Janeiro constataram a soroconversão a partir do 10º dia pós-infecção (RIFI; ponto de corte de 1:40) com título inicial de 320 e ao 40º dia com títulos chegando a 1.280. Hasegawa (2005), estudando a cepa Jaboticabal observou a soroconversão ao 14º dia pós-infecção com título inicial de 40, e títulos máximos observados entre os dias 56º e 70º dia.

Com o objetivo de aumentar a sensibilidade de detecção de mórulas, pesquisadores têm descrito novos métodos de avaliar as estruturas de *E. canis* (Elias, 1991). A utilização da leucoconcentração tem sido adotada para a pesquisa de mórulas (Santarém, 2003), bem como o cultivo celular e a detecção molecular de *E. canis* (Aguiar et al., 2007). Entretanto, na rotina da clínica médica de pequenos animais, o diagnóstico final ainda tem sido baseado na

associação entre os sinais clínicos, e os achados laboratoriais, principalmente resultados de hemogramas.

JUSTIFICATIVA E OBJETIVO DA PESQUISA

Considerando a importância da erliquiose canina na clínica médica de pequenos animais, aliada a carência de estudos envolvendo novas cepas de *E. canis* no Brasil, o presente estudo propôs caracterizar o isolado São Paulo, avaliando parâmetros clínicos e laboratoriais através da infecção experimental de cães saudáveis, subsidiando assim mais informações sobre esta importante infecção no Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Os animais utilizados no presente estudo permaneceram no Canil do Hospital Veterinário da Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE. Os exames hematológicos foram realizados no Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da Unoeste, enquanto que a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) e a Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR) foram realizadas no Laboratório de Sanidade Animal do Pólo Regional da Alta Sorocabana, Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA).

Foram analisados 37 animais de ambos os sexos, sem raça definida, com idades variando entre cinco a 84 meses, das quais, selecionaram-se quatro, por estarem em estado de higiene e apresentarem sorologia e PCR negativa para *E. canis*. Os cães foram desverminados e vacinados de acordo com o programa de sanidade empregado pelo Canil da Universidade. Foi adotado também um programa de controle intensivo contra ectoparasitas. Os animais permaneceram em baias individualizadas durante todo o experimento, recebendo água *ad libitum* e ração comercial.

Amostras de sangue para hematologia e PCR (com EDTA) e sorologia (soro sanguíneo) foram colhidas por punção venojugular com utilização de tubos a vácuo (Vacuntainer®), no dia 0 (inoculação) e após inoculação nos dias 7, 14, 21, 28, 42, 56, 100. As amostras de soro foram estocadas a -20°C para serem analisadas pela RIFI.

O processamento das amostras de sangue para hematologia foi executado de acordo com Jain (1993) e Kaneko (1997). A pesquisa de *E. canis* foi obtida pela técnica de leucoconcentração segundo método descrito por Santarém (2003).

A Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) realizou-se a partir de células DH82 infectadas com os isolados de *E. canis* obtidos e fixados em lâminas de imunofluorescência, como descrito por Ristic et al. (1972). As amostras consideradas

positivas foram sucessivamente diluídas na razão dois para obtenção do título final. Em cada lâmina adicionaram-se soros controles sabidamente positivo e negativo. A alíquota sanguínea enviada em solução de EDTA foi submetida ao processo de extração de DNA utilizando Tiocianato de Guanidina.

Ao término do estudo os animais foram tratados com Doxiciclina®, na dosagem de 10 mg/kg, por via oral, com intervalo de 24 horas, durante 28 dias, conforme preconizado pela clínica médica de pequenos animais do Hospital Veterinário da Unoeste. Após o tratamento, e a confirmação de negatividade, os cães voltaram ao convívio com os outros animais do Canil.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As alterações clínicas observadas foram todas sugestivas do quadro agudo de erliquiose canina. A partir do 14º dia pós-inoculação os cães apresentaram queda de apetite, que foi evoluindo para uma leve emaciação. Durante a evolução clínica foi observada palidez de mucosa e os linfonodos periféricos se tornaram mais facilmente palpáveis, mas em nenhum momento foi observado um grande aumento de volume, da mesma forma que não foi notado esplenomegalia. A frequência dos sinais clínicos, com poucas exceções, foi similar à descrita por Harrus et al.(1997), em Israel, que por sua vez consideraram-na semelhante às de estudos americanos e sul-africanos.

A detecção molecular de *E. canis* foi observada a partir do 14º dia em todos os cães infectados, já a pesquisa sorológica a partir do 7º dia em dois animais. Entretanto, a detecção citológica (pesquisa de mórulas) foi observada no 21º dia em dois cães.

Os valores hematológicos começaram a declinar no decorrer da segunda semana. A anemia é um distúrbio comum em animais com ehrlichiose e pode ser consequência do encurtamento da vida e comprometimento na produção de hemácias e perda de sangue (Jain, 1993). Já a diminuição no leucograma também foi observada nos estudos conduzidos por Kuehn e Gaunt (1985).

A queda do número de plaquetas foi evidente a partir da segunda semana, em todos os animais chegando a ficar abaixo de 100.000 plaquetas/ μ l da terceira semana em diante. Embora a frequência de animais trombocitopênicos tenha sido alta, Bulla (2003) referiu que a contagem plaquetária é importante no diagnóstico da ehrlichiose, mas deve ser associada a um teste mais específico, uma vez que esta alteração é comum em outros distúrbios ou infecções.

CONCLUSÃO

No presente trabalho concluiu-se que o isolado São Paulo de *E. canis* induziu os cães à sintomatologia, como apatia, emagrecimento, febre e linfadenopatia a partir da segunda semana pós-infecção e os achados laboratoriais apresentaram discreta anemia acompanhada de leucopenia e trombocitopenia.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUIAR, D.M.; SAITO, T.B.; HAGIWARA, M.K.; MACHADO, R.Z.; LABRUNA, M.B. Diagnóstico sorológico de erliquiose canina com antígeno brasileiro de *Ehrlichia canis*. **Ciência Rural**, v. 37, n.3, p. 796-802, 2007.
- BULLA, C. **Contagem de plaquetas como um teste de triagem para o diagnóstico da infecção por *Ehrlichia canis***. 2003. 65f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2003.
- CASTRO, M.B.; MACHADO, R.Z.; AQUINO, L.P.C.T.; ALESSI, A.C.; COSTA, M.T. Experimental acute canine monocytic ehrlichiosis: clinicopathological and immunopathological findings. **Veterinary Parasitology**, v. 119, p. 73-86, 2004.
- ELIAS, E. Diagnosis of ehrlichiosis from the presence of inclusion bodies or morulae of *E. canis*. **Journal of Small Animal Practice**, v.33, p.540-543, 1991.
- HARRUS, S.; WANER, T.; BARK, H. Canine monocytic ehrlichiosis: an update. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**. v. 36, p. 431-447, 1997.
- HASEGAWA, M.Y. **Dinâmica da infecção experimental de cães por *Ehrlichia canis*: aspectos clínicos, laboratoriais e resposta imune humoral e celular**. 2005. 134 f. Tese (Doutorado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.
- JAIN, N.C. **Essentials of Veterinary hematology**. Philadelphia: Lea & Fabiger, 1993. 417p.
- KANEKO, J.J. Serum proteins and dysproteinemias. In: Kaneko, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5th ed. San Diego: Academic Press, p.117-138, 1997.
- KUEHN, N.F.; GAUNT, S.D. Clinical and hematologic findings in canine ehrlichiosis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v.186, p.355-358, 1985.
- OLIVEIRA, D.; NISHIMORI, C.T.; COSTA, M.T.; MACHADO, R.Z.; CASTRO, M.B. Anti-*Ehrlichia canis* antibodies detection by DOT-ELISA in naturally infected dogs. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.9, n.1, p.1-6, 2000.
- RISTIC, M.; HUXSOLL, D.L.; WEISIGER, R.M.; HILDEBRANDT, P.K.; NYINDO, B.A. Serological diagnosis of tropical canine pancytopenia by indirect immunofluorescence. **Infection and Immunity**, v. 6, p. 226-231, 1972.
- SANTARÉM, V.A. **Achados epidemiológicos, clínicos e hematológicos e comparação de técnicas para diagnóstico de *Ehrlichia canis***. 2003. 127 f. Tese (Doutorado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho”, Botucatu, São Paulo, 2003.
- TORRES, H.M.; MASSARD, C.L.; FIGUEIREDO, M.J.; FERREIRA, T.; ALMOSNY, N. R.P. Isolamento e propagação da *Ehrlichia canis* em células DH82 e obtenção de antígeno para a reação de imunofluorescência indireta. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 9, n. 2, p. 77-82, 2002.

COMPARAÇÃO DO EFEITO ANALGÉSICO DA METADONA VIA INTRAMUSCULAR OU EPIDURAL EM GATAS SUBMETIDAS A OVARIOSSALPINGOHISTERECTOMIA

Camila Angela Bernardi, Renata Navarro Cassu^{*}, Juliana Osório Balan, Danieli Alexandre Costa, Danila Fini, Rogério Giuffrida

Instituição: Universidade do Oeste Paulista, Curso de Medicina Veterinária, Faculdade das Ciências Agrárias, UNOESTE, Rodovia Raposo Tavares, km 572, Bairro Limoeiro, Presidente Prudente-SP, CEP: 19050-900. email: camila@unoeste.br, navarro@unoeste.br

^{*} Orientador do Projeto.

Palavras-chaves: metadona, analgesia, gato.

INTRODUÇÃO

A dor pós-cirúrgica subsequente a ovariossalpingohisterectomia (OSH) está bem caracterizada, sendo associada às alterações comportamentais em cães e gatos, porém ainda existe negligência com relação ao tratamento antiálgico, sobretudo em gatos (Slingsby e Waterman-Pearson, 1998, Lascelles et al., 1999).

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos cardiorrespiratório, analgésico e sedativo da metadona, quando utilizada pela via epidural ou intramuscular em gatas submetidas a OSH.

MATERIAL E MÉTODOS

Em estudo cego, foram avaliadas 24 gatas, adultas, SRD, clinicamente saudáveis, provenientes do Hospital Veterinário da Unoeste, encaminhadas para realização de OSH eletiva. Todos os animais foram tranqüilizados com acepromazina (0,1mg/kg IM), a indução anestésica foi realizada com tiopental sódico (12mg/kg IV), com posterior manutenção em anestesia inalatória com halotano. Após a estabilização anestésica, os animais foram distribuídos aleatoriamente em um dos grupos: G1(n=8): metadona (0,2mg/kg, diluída em solução salina, com volume final de 1ml/5kg) via epidural; G2 (n=8): metadona (0,2mg/kg, diluída em solução salina, com volume final de 1ml/5kg) via intramuscular; G3 (n=8): foi administrado o volume de 1ml/5kg de solução salina pela via intramuscular e epidural.

Foram avaliados: frequência cardíaca (FC), com estetoscópio esofágico e oxímetro de pulso; pressão arterial sistólica não invasiva (PAS), com Doppler vascular; frequência respiratória (f), mediante a observação dos movimentos torácicos em um minuto; saturação de oxigênio na hemoglobina (SpO₂); temperatura retal (T); tempo cirúrgico; tempo médio para extubação e período de recuperação anestésica. Ao término do procedimento cirúrgico, foram

avaliados: efeito analgésico, mediante escala analógica visual (EAV) e escala analógica visual interativa (EAVI); necessidade de analgesia resgate e grau de sedação.

A estatística foi realizada com análise de variância e teste de Tukey, considerando-se nível de 5% de significância ($p < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve diferença entre os grupos nos escores de analgesia (Tab 1), corroborando os resultados relatados por Gassel et al (2005). No entanto, os animais tratados com metadona pela via epidural apresentaram os menores escores de dor, bem como necessitaram de analgesia resgate com menor frequência, quando comparados aos demais grupos. Embora sem diferença estatística, escores de sedação mais elevados foram observados no G3 (Tab 1), de modo que 62,5% (5 de 8) dos animais desse grupo não receberam analgesia resgate na 1ª hora de avaliação (Fig 1), em função da ausência de sinais elucidativos de dor, concordando com a hipótese de que o desconforto tenha sido mascarado pela sedação, em função do efeito residual dos anestésicos. Os animais tratados com metadona (G1 e G2) apresentaram escores de sedação inferiores (Tab 1) na 1ª hora de avaliação e apenas 02 animais do G2, foram tratados com resgate de metadona. Possivelmente, a maioria dos animais desses grupos, ainda estava sob o efeito desse analgésico, cujo período de ação está compreendido entre 4 a 6 horas, independente, da via de administração (Bley et al., 2004; Leibetseder et al, 2006).

Bradycardia foi observada aos 15 minutos após a indução da anestesia nos animais do G1 e G2 (Tab 2). Em estudo semelhante, Leibetseder et al (2006) observaram maior tendência à bradicardia em cães tratados com metadona intravenosa, quando comparados aos tratados pela via epidural, divergindo dos resultados do presente estudo, no qual as alterações de FC não diferiram entre os grupos. Hipotensão foi observada em todos os animais durante o procedimento anestésico (Tab 2), de modo que este efeito não foi revertido pelo estímulo cirúrgico, divergindo dos relatos de Leibetseder et al (2006), que observaram compensação do efeito hipotensor mediado pela metadona, em função da resposta simpática nociceptiva cirúrgica. Com relação ao padrão respiratório, todos os animais foram mantidos sob ventilação espontânea, sendo observada depressão pronunciada da *f* apenas em um animal no grupo tratado com metadona via epidural, que necessitou da ventilação controlada por pressão positiva intermitente (VPPI). Em estudos prévios realizados em gatos tratados com metadona não foi constatada depressão respiratória (Dobromylskyj, 1993; Bley et al., 2004).

O tempo de extubação e deambulação (Tab 3) não foram alterados em função da metadona, divergindo dos resultados de Bley et al (2004) que observaram recuperação mais longa nos gatos do grupo controle, em relação aos animais tratados com opióides, inferindo que a dor possa induzir sinais de imobilidade, de modo a sugerir um falso efeito sedativo.

Conclui-se que a administração preemptiva de metadona determina efeitos depressores cardiovasculares durante o procedimento cirúrgico, em associação à anestesia inalatória com halotano. Paralelamente, a metadona é um analgésico viável para a modulação da dor pós-operatória em gatas submetidas à OSH, com maior redução do requerimento analgésico pós-operatório mediante a administração epidural desse opióide.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BLEY, C. R.; AESCHBACHER, G. N.; BUSATO, A. et al. Comparison of perioperative racemic methadone, levo-methadone and dextromoramide in cats using indicators of post-operative pain. **Vet. Anaesth. Analg.**, v. 31, p. 175-182, 2004.

DOBROMYLSKYJ, P.; FLECKNELL, P.A.; LASCELLES, B. D. et al. Pain assessment. In: Flecknell, P. A., Waterman- Pearson, A. **Pain management in animals**. London: Saunders, 2000. p.53-79.

GASSEL, A. D.; TOBIAS, K. M.; EGGER, C. M. et al. Comparison of oral and subcutaneous administration of buprenorphine and meloxicam for preemptive analgesia in cats undergoing ovariohysterectomy. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 227, p.1937-1944, 2005.

LASCELLES, B. D. X.; CAPNER, C. A.; WATERMAN-PEARSON, A. E. Current British veterinary attitudes to perioperative analgesia for cats and small mammals. **Vet. Rec.**, v. 145, p. 601-604, 1999.

LEIBETSEDER, E. N.; MOSING, M.; JONES, R. S. A. Comparison of extradural and intravenous methadone on intraoperative isoflurane and postoperative analgesia requirements in dogs. **Vet. Anaesth. Analg.**, v. 33, p. 128-136, 2006.

[SLINGSBY, L. S.](#); [WATERMAN-PEARSON, A. E.](#) Comparison of pethidine, buprenorphine and ketoprofen for postoperative analgesia after ovariohysterectomy in the cat. **Vet. Rec.**, v.143, p.185-189, 1998.

Figuras

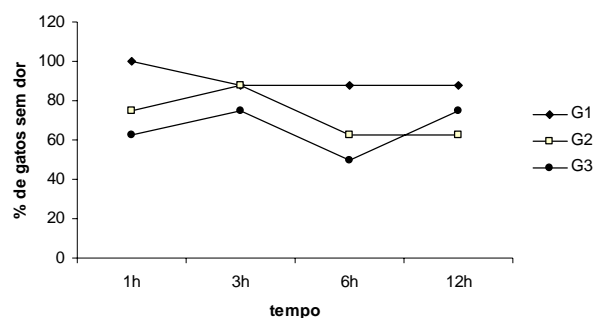


Figura 1. Porcentagem de animais sem dor às 1, 3, 6 e 12 horas após o término da cirurgia em gatas tratadas com metadona epidural (G1), metadona intramuscular (G2) e solução salina (G3).

TABELAS

Tabela 1. Valores médios e desvio padrão dos escores avaliados em função da Escala Analógica Visual (EAV) e Escala Analógica Visual Interativa (EAVI) e grau de sedação em gatas tratadas com metadona epidural (G1), metadona intramuscular (G2) e solução salina (G3).

GRUPOS	1h	3h	6h	12h
IVAS				
G1	20±7	26±11	26±10	27±12
G2	30±16	34±12	36±15	37±14
G3	34±24	36±15	44±15	35±12
VAS				
G1	11±6	15±9	14±5	15±6
G2	14±9	18±7	20±11	19±13
G3	21±21	16±12	21±10	18±6
Escore de sedação				
G1	1±1	0,4±0,7	0,2±0,3	-----
G2	1,2±1	0,5±0,5	-----	-----
G3	1,5±1	0,7±0,3	0,6±1	-----

Tabela 2. Valores médios e desvio padrão da frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (*f*), pressão arterial sistólica (PAS), saturação de pulso oxigênio (SpO₂) e temperatura retal (T) em gatas sob anestesia geral inalatória, tratadas com metadona epidural (G1), metadona intramuscular (G2) e solução salina (G3).

GRUPOS	Basal	30 min MPA	15	30	45	60
FC (bat.min)						
G1	207±15 ^A	209±22 ^{AB}	136±26 ^B	160±15 ^B	154±13 ^B	139±13 ^B
G2	227±17 ^A	210±25 ^A	141±24 ^B	164±27 ^B	155±28 ^B	156±31 ^B
G3	198±38 ^A	205±15 ^A	154±15 ^B	152±24 ^B	138±14 ^B	139±25 ^B
<i>f</i> (mov.min)						
G1	43±13 ^{AB}	47±10 ^A	21±9 ^C	23±11 ^B	21±9 ^C	24±9 ^B
G2	39±13 ^{AB}	44±10 ^B	22±7 ^A	24±7 ^{AB}	22±6 ^A	24±8 ^{AB}
G3	49±12	47±18	33±13	35±15	32±11	33±13
PAS (mmHg)						
G1	124±27 ^A	110±19 ^{AB}	78±19 ^B	97±10 ^{AB}	91±14 ^{AB}	91±7 ^{AB}
G2	125±25 ^A	105±18 ^{AB}	78±30 ^B	98±13 ^{AB}	80±17 ^B	89±13 ^B
G3	118±24 ^A	112±10 ^A	86±24 ^B	88±20 ^B	96±21 ^B	88±12 ^B
SpO₂ (%)						
G1	-----	-----	98±0,5	99±1	99±1	98±1,5
G2	-----	-----	98±1	99±0,5	99±1	99±0,5
G3	-----	-----	98±0,5	98±0,5	98±0,5	98±1
T (C)						
G1	38,4±0,7 ^A	37,8±0,8 ^{AB}	36,4±0,7 ^{BC}	35,9±0,7 ^C	35,6±0,9 ^C	35,5±1 ^C
G2	38,6±0,5 ^A	38,3±0,4 ^{AB}	36,8±0,6 ^{BC}	36,1±0,6 ^C	35,5±0,9 ^C	35,4±1 ^C
G3	38,5±0,7 ^A	38,1±0,5 ^A	36,3±1 ^B	35,4±1 ^B	35±1 ^B	35,2±1 ^B

Nas linhas: médias de momentos seguidas de letras maiúsculas diferentes diferem entre si. Nas colunas: médias de momentos seguidas de letras minúsculas diferentes diferem entre si. $p < 0,05$.

Tabela 3. Valores médios e desvio padrão do tempo cirúrgico, tempo de extubação e deambulação em gatas sob anestesia geral inalatória, tratadas com metadona epidural (G1), metadona intramuscular (G2) e solução salina (G3).

GRUPOS	Tempo cirúrgico	Extubação	Deambulação
G1	35±18	14±9	50±24
G2	39±8	20±15	46±16
G3	34±6	19±13	44±27

EFEITO DA DILUIÇÃO E MÉTODOS DE PROCESSAMENTO NA REFRIGERAÇÃO DE SÊMEN ASININO

Marcelo George Mungai Chacur*, João Lawrence Ortigosa,
Rogério Giuffrida, Marina Grandi

*FCA-UNOESTE, Lab. Reprodução Animal, Rod. Raposo Tavares - km 572, Campus II,
CEP: 19067-175, Pres. Prudente-SP, chacur@unoeste.br

Palavras-chave: jumento, meio diluente, sêmen resfriado.

Introdução.

O Brasil tem ocupado lugar de destaque na utilização de biotecnologias da reprodução, ao lado de países como os Estados Unidos (Squires, 2005). O transporte de sêmen refrigerado possibilita o aproveitamento de animais de grande potencial genético (Papa *et al.*, 2005). Apesar da maioria dos meios utilizados para diluição de sêmen equino refrigerado ser composta de leite desnatado em pó e glicose, baseados na fórmula de Kenney *et al.* (1975), variações estão comercialmente disponíveis e diferem principalmente em relação à composição de antibióticos e açúcares (Varner, 2003).

Justificativa

A biotécnica de refrigeração do sêmen pode ser largamente utilizada nos plantéis de asininos, facilitando a troca de material genético entre os criatórios sem a necessidade de deslocamento físico dos reprodutores, além de maximizar o uso de um único ejaculado para várias inseminações artificiais.

Objetivo

O presente estudo teve o objetivo de avaliar o efeito das diluições 1:1 e 2:1, e dos métodos de refrigeração de sêmen asinino em refrigerador comercial e caixa de transporte, perante meio modificado a base de leite em pó desnatado.

Material e Métodos

Foram utilizados quatro ejaculados de um jumento da raça Pega com 4,5 anos de idade, alojado no Hospital Veterinário da UNOESTE, Presidente Prudente-SP, alimentado com feno, ração, sal mineral e água *ad libitum*. As colheitas foram realizadas com vagina artificial modelo Botucatu a 42°C, com o auxílio de manequim. Para a refrigeração do sêmen,

foram utilizados refrigerador comercial a 6°C e caixa térmica para transporte a 12°C (Botu Box®).

Os ejaculados foram analisados segundo normas do CBRA (1998). As amostras foram avaliadas a fresco e nos momentos zero hora (M0) e seis horas (M6), para as características motilidade e vigor espermáticos. As amostras de sêmen foram fracionadas em quatro alíquotas, diluídas nas proporções de 1:1 e 2:1, com meio modificado à base de leite desnatado, segundo fórmula abaixo descrita, a partir do meio de Kenney *et al.* (1975). O sêmen foi processado em dois tratamentos: diluição de 1:1 e 2:1 em banho-maria a 37°C, transferido ao refrigerador comercial a 6°C, o mesmo procedimento foi feito com as outras duas alíquotas nas diluições de 1:1 e 2:1, armazenadas em caixa de transporte, equilibrando-se a 14°C, após 4 horas de estocagem.

Fórmula do meio modificado utilizado no experimento: leite em pó desnatado 25g, glicose 25g, H₂O dd q.s.p. 500mL. Para comparar os percentuais médios de motilidade espermática observada em dois diferentes momentos utilizou-se o teste t pareado. Para comparar as medidas de escores de vigor espermático observados em dois diferentes momentos utilizou-se o teste não paramétrico de Wilcoxon. As médias de motilidade espermática para as quatro técnicas estudadas foram comparadas utilizando-se análise de variância (ANOVA). As medianas de escores de vigor obtidas para as quatro técnicas estudadas foram comparadas utilizando-se o teste não paramétrico de Friedman (ANOVA).

Resultados e discussão

Devido à rusticidade dos muares, a espécie asinina foi pouco pesquisada quando comparada à espécie eqüina. Atualmente, os cruzamentos entre essas duas espécies vem tendo destaque para uso no trabalho em pequenas propriedades rurais, sendo a utilização do sêmen refrigerado uma alternativa para a multiplicação dos animais. No presente estudo, as médias de motilidade espermática das colheitas nos momentos M0 e M6 de refrigeração nas diferentes diluições e métodos utilizados estão ilustradas na tabela 1.

Tabela 1 – Comparação entre médias de percentuais estimados de motilidade espermática, utilizando duas diluições e dois métodos de refrigeração de sêmen asinino, Presidente Prudente-SP.

Técnica	Motilidade (%)		<i>p-value</i>
	M0	M6	
Caixa 1:1	85	62,5	0,185
Caixa 2:1	82,5	60	0,185
Refrigerador 1:1	85	42,5	0,042*

Refrigerador 2:1	82,5	50	0,143
------------------	------	----	-------

*significância estatística

Verificou-se que a motilidade espermática foi significativamente superior quando do emprego da diluição 2:1 na refrigeração realizada no refrigerador comercial e não houve diferença para as diluições na caixa de transporte. A queda da motilidade espermática do sêmen refrigerado ocorre com o passar do tempo, pois a membrana plasmática afetada pelo frio pode sofrer mudanças na sua permeabilidade (Amann e Graham, 1993). As variáveis diluição e métodos de refrigeração para o vigor espermático estão ilustrados na tabela 2.

Tabela 2 – Comparação entre medianas de escores estimados para vigor espermático, utilizando duas diluições e dois métodos de refrigeração de sêmen asinino, Presidente Prudente-SP.

Técnica	Vigor (escores)		p-value
	M0	M6	
Caixa 1:1	4	3,5	0,252
Caixa 2:1	4	3,5	0,181
Refrigerador 1:1	4	3	1,000
Refrigerador 2:1	4	3	0,194

Para o vigor espermático não houve diferença significativa entre diluições ou métodos de refrigeração de sêmen. O sêmen de garanhões foi estocado a 15°C por 24 horas, sendo mais eficiente que a 5°C, com aumento da longevidade espermática e melhores índices de prenhez Batellier *et al.* (2001). Em contrapartida, Ball (1998) relata que existe uma redução significativa da fertilidade quando o sêmen é estocado por 24 horas a 20°C, comparada àquela obtida após preservação a 5°C. Uma taxa de diluição adequada é fundamental para a preservação da viabilidade espermática quando sob refrigeração. Jasko *et al.* (1992) verificaram que taxas de diluição variando entre 1:4 a 1:19 são adequadas para a preservação do sêmen equino refrigerado a 5°C.

Conclusões

Perante a formulação sugerida para o meio modificado a base de leite em pó desnatado para refrigeração de sêmen asinino, a motilidade espermática foi melhor preservada com a diluição 2:1 para o método de estocagem em refrigerador comercial. Para a caixa de transporte, as duas diluições não diferiram para a motilidade espermática.

Referências

- Amann, R.P.; Graham, J.K. Spermatozoal function. *In: McKinnon, A.O.; Voss, J.L. Equine Reproduction*. Philadelphia, Lea & Febiger, p.715-745, 1993.
- Ball, B.A. Evaluation and use of transported equine semen. *In: Equine Assisted Reproductive Technology Workshop, 1998, Davis. Proceedings...Davis: s.n., p.18-24, 1998.*
- Batellier, F.; Vidament, M.; Fauquant, J.; Duchamp, G.; Arnaud, G.; Yvon JM, Magistrini M. Advances in cooled semen technology. *Anim Reprod Sci*, v.68, p.181-190, 2001.
- Jasko, D.J.; Hathaway, J.A.; Schaltenbrand, V.L.; Simper, W.D.; Squires, E.L. Effect of seminal plasma and egg yolk on motion characteristics of cooled stallion spermatozoa. *Theriogenology*, v.37, p.1241-1252, 1992.
- Kenney, R.M.; Bergman, R.V.; Cooper, W.L. Minimal contamination techniques and preliminary findings. *Proc. Am. Assoc. Equine Pract.*, v.21, p.327-336, 1975.
- Papa, F.O.; Melo, C.M.; Dell'Aqua J.A.; Macedo, L.P.; Carvalho, A.G.; Alvarenga, M.A.; Medeiros, A.S.L. Inovações metodológicas na biotecnologia de refrigeração e congelamento de sêmen equino. *Acta Scientiae Veterinariae*. v.33 (Supl 1), p.19-27, 2005.
- Squires, E.L. Perspectivas para o uso de biotecnologias na reprodução equina. *Acta Scientiae Veterinariae*. 33 (Supl 1): 69-82, 2005.
- Varner, D.D. Technical considerations for cool transported equine semen. *In: Congresso Nazionale Multisala Sive, 9, 2003, Pisa. Proceedings... 7p.* Disponível em: <http://www.evsre.it/vet.journal/scheletro_output_ricerca.php>. Acesso em: 20 de setembro de 2005.

ELETROANALGESIA PREEMPTIVA PARA O CONTROLE DA DOR PÓS-OPERATÓRIA EM CÃES

Túlio Genari Filho, Renata Navarro Cassu*, Larissa Maria Abreu, Daniele Alves da Silva, Guilherme Manioli Von Ha, Sérgio do Nascimento Kronka

Instituição: Universidade do Oeste Paulista, Curso de Medicina Veterinária, Faculdade das Ciências Agrárias, UNOESTE, Rodovia Raposo Tavares, km 572, Bairro Limoeiro, Presidente Prudente-SP, CEP: 19050-900. email: navarro@unoeste.br

* Orientador do Projeto.

Palavras chave: eletroanalgesia, eletroacupuntura, cão.

INTRODUÇÃO

Resultados satisfatórios têm sido demonstrados com o emprego da eletroacupuntura (EA) para o tratamento da dor pós-operatória, determinando a redução do requerimento de opióides, de modo favorecer a recuperação pós-cirúrgica (Kotani et al., 2001; Cassu et al., 2008).

Objetivou-se avaliar os efeitos cardiorrespiratório, neuroendócrino, sedativo e analgésico pós-operatório, mediados pela aplicação de EA nos pontos estômago 36, baço pâncreas 6, vesícula biliar 34, bem como o uso do estímulo elétrico nos dermatomos peri-incisionais, além da associação de ambas as técnicas, em cadelas submetidas à ovariossalpingohisterectomia (OSH).

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram avaliadas 24 cadelas, sem raça definida, adultas, com peso médio de 11 ± 12 , selecionados mediante exames físico e laboratorial (hemograma, função hepática e renal), provenientes da rotina cirúrgica do Hospital Veterinário da Unoste, encaminhados para realização de OSH. Todos os animais tranqüilizados com acepromazina 0,2% (0,05 mg/kg iv), seguindo-se a indução anestésica com tiopental sódico (12 mg/kg iv) e posterior manutenção sob anestesia geral inalatória, com halotano, em ventilação espontânea. Os animais foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos: GEA (n=6): foi realizada EA, nos pontos Estômago 36 (E36), Baço-pâncreas 6 (BP6), Vesícula biliar 34 (VB34), bilateralmente aplicada durante 45 minutos antes da indução da anestesia. GD (n=6): tratamento semelhante ao realizado em GEA, porém a aplicação de estímulo elétrico foi realizada nos dermatomos peri-incisionais, de modo que as agulhas de acupuntura foram inseridas longitudinalmente, do lado direito e esquerdo, ao longo da incisão cirúrgica, de aproximadamente 4 cm, que foi

realizada na linha alba, abaixo da cicatriz umbilical. GEAD: foi realizado estímulo elétrico em acupontos, semelhante ao descrito em GEA, além do estímulo em dermatômos semelhante ao descrito em GD. Gsham: tratamento semelhante ao descrito em GEA, porém as agulhas foram introduzidas em pontos falsos de acupuntura, os eletrodos do aparelho de EA foram acoplados nas mesmas, no entanto o estímulo elétrico não foi aplicado. Os pontos falsos foram selecionados em regiões próximas aos referidos acupontos utilizados, porém em grupos musculares, nos quais não percorrem meridianos principais.

Foram avaliados: frequência cardíaca (FC); pressão arterial sistólica não invasiva (PAS); frequência respiratória (*f*); saturação de pulso de oxigênio na hemoglobina (SpO₂); temperatura retal (TR); variáveis hemogasométricas; concentração sérica de cortisol; tempo médio para extubação e período de recuperação anestésica.

Após o término da cirurgia os animais foram submetidos à avaliação cega em relação ao: grau de analgesia e sedação, mediante escala descritiva numérica, com mensuração, 1, 3, 6, 12 e 24 horas e necessidade de analgesia resgate.

A estatística foi realizada com análise de variância e teste de Tukey, considerando-se nível de 5% de significância ($p < 0,05$) (Zar, 1996).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo demonstraram efeito analgésico mais efetivo nos animais tratados com estímulo elétrico nos pontos de acupuntura, observando-se escores inferiores de dor nos animais do GEA (Tab 1) em relação aos demais grupos, embora sem diferença significativa. O mecanismo de ação da acupuntura não está totalmente elucidado, porém alguns estudos concordam com a teoria clássica do “portão de controle”, na qual o estímulo proporcionado pelas agulhas é capaz de alterar a percepção da dor na medula espinhal. Ademais, a EA estimula o sistema inibitório da dor, além de determinar a liberação de opióides endógenos, favorecendo a modulação nociceptiva (Kotani et al., 2001).

A associação do estímulo dos acupontos aos dermatômos peri-incisionais não determinou incremento na modulação da dor. Embora a média dos escores (Tab 1) observados na 1ª hora de avaliação tenha sido inferior no GEAD em relação aos demais grupos, não houve diferença significativa. Efeito analgésico semelhante foi observado nos grupos GEA e GEAD, com necessidade de analgesia resgate (Fig 1) em apenas 33% dos animais. Paralelamente, o tratamento com o estímulo dos dermatômos peri-incisionais não resultou em analgesia satisfatória, de modo que 83% dos animais do GD necessitaram de

analgesia resgate, sendo esta resposta semelhante à observada no Gsham, onde 100% dos animais necessitaram de analgesia resgate (Fig.1).

Houve aumento significativo do cortisol em todos os grupos em relação aos valores basais (Tab 3) na 1ª hora após o término da cirurgia, o qual manteve-se elevado durante as primeiras 12 horas, retornando aos valores basais, 24 horas após a cirurgia, corroborando resultados prévios (Johnston, 1964). Porém, não existe uma correlação direta entre a intensidade do efeito analgésico e a concentração de cortisol, de modo que a resposta endócrina não é um fator limitante para o sucesso da EA (Bossut et al., 1983).

Durante o procedimento anestésico, as variáveis cardiorrespiratórias e hemogasométricas mantiveram-se estáveis, com redução da temperatura retal em todos os grupos, em função da queda do metabolismo e depressão hipotalâmica determinadas pela anestesia geral (Hall & Clarke, 1991).

Com relação à recuperação anestésica, os tempos médios de extubação e deambulação não diferiram entre os grupos, bem como o grau de sedação, sugerindo que as técnicas de eletroanalgesia utilizadas neste estudo não interferiram na recuperação pós-operatória.

Conclui-se que a aplicação preemptiva de estímulo elétrico nos acupontos E36, VB34 e BP6 determina efeito analgésico satisfatório em cadelas submetidas à OSH, favorecendo a redução do requerimento analgésico no período pós-operatório. O estímulo de dermatomos peri-incisionais promove discreta analgesia pós-operatória, enquanto o estímulo de pontos falsos de acupuntura não induz efeito analgésico satisfatório.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BOSSUT, D.F.B.; LESHIN, L.S.; STROMBERG, M.W. et al. Plasma cortisol and beta-endorphin in horses subjected to electro-acupuncture for cutaneous analgesia. **Peptides**, v.4, p.501-517, 1983.
- CASSU, R.N.; LUNA, S.P.L.; CLARKE, R.M. et al. Electroacupuncture analgesia in dogs: is there a difference between uni or bilateral stimulation? **Vet. Anaesth. Analg.**, v.35. p.52-61, 2008.
- HALL, L.W.; CLARKE, K. W. (Eds.). Principles of sedation, analgesia and premedication. **Veterinary Anaesthesia**. 9.ed. Londres: Baillière Tindall, 1991. p.51-79.
- KOTANI, N.; HASHIMOTO, H.; YUATAKA, S. et al. Preoperative intradermal acupuncture reduces postoperative pain, nausea and vomiting, analgesic requirement, and sympathoadrenal responses. **Anesthesiology**, v.95, p.349-356, 2001.
- ZAR, J.H. (Ed). **Biostatistical Analysis**. New Jersey: Prentice-Hall Upper Saddle River, 1996. 718p.

Tabelas

Tabela 1. Valores médios e desvio padrão dos escores de dor e sedação em cadelas submetidas a ovariossalpingohisterectomia nos grupos: GEA (n=6), aplicação de estímulo elétrico em pontos de acupuntura; GD (n=6), aplicação de estímulo elétrico em dermatômos peri-incisionais; GEAD (n=6), aplicação de estímulo elétrico em pontos de acupuntura e em dermatômos peri-incisionais e Gsham (n=6): sem tratamento.

GRUPOS	1h	3h	6h	12h	24h
Escores de dor					
GEA	6,5±2 ^A	3±0,5 ^B	2±1 ^B	2,5±1 ^B	2±1,5 ^B
GD	8±2 ^A	3±1,5 ^B	2,5±2 ^B	2,5±2 ^B	2±1,5 ^B
GEAD	5±2 ^A	3,5±1 ^{AB}	3,5±1 ^{AB}	3±1,5 ^{AB}	2±1 ^B
Gsham	7,25±2 ^A	2,6±2,5 ^B	3,5±2 ^B	2±1 ^B	2±1 ^B
Escores de sedação					
GEA	2±1	2±2	1,5±1	----	----
GD	2,5±1,5	3±2	1,5±1,5	----	----
GEAD	2,5±1,5	1±1,5	0,5±0,5	----	----
Gsham	2±1	1±0,5	0,5±0,5	----	----

Nas linhas: médias de momentos seguidas de letras maiúsculas diferentes diferem entre si. Nas colunas: médias de momentos seguidas de letras minúsculas diferentes diferem entre si. p<0,05.

Tabela 2. Valores médios e desvio padrão do tempo cirúrgico, tempo de extubação e deambulação de cadelas submetidas a ovariossalpingohisterectomia nos grupos: GEA (n=6), aplicação de estímulo elétrico em pontos de acupuntura; GD (n=6), aplicação de estímulo elétrico em dermatômos peri-incisionais; GEAD (n=6), aplicação de estímulo elétrico em pontos de acupuntura e em dermatômos peri-incisionais e Gsham (n=6): sem tratamento.

GRUPOS	Tempo cirúrgico (min)	Extubação (min)	Deambulação (min)
G1	37±13	15±7	51±10
G2	32±8	12±3	42±11
G3	38±8	12±8	43±11
G4	37±9	12±7	40±9

Figuras

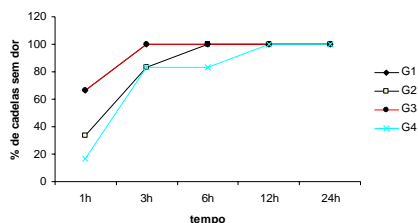


Figura 1. % de animais sem dor às 1, 3, 6, 12 e 24 horas após o término da cirurgia nos grupos: GEA (n=6), aplicação de estímulo elétrico em pontos de acupuntura; GD (n=6), aplicação de estímulo elétrico em dermatômos peri-incisionais; GEAD (n=6), aplicação de estímulo elétrico em pontos de acupuntura e em dermatômos peri-incisionais e Gsham (n=6): sem tratamento.

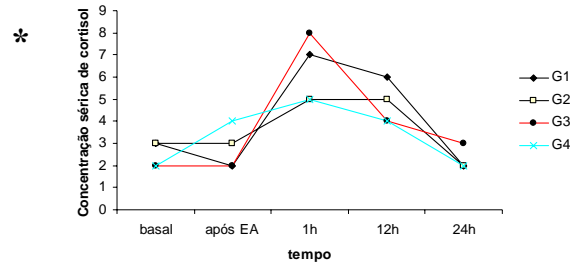


Figura 4. Valores médios de concentração sérica de cortisol ($\mu\text{g/dl}$) de cadelas submetidas a ovariossalpingohisterectomia nos grupos: GEA ($n=6$), aplicação de estímulo elétrico em pontos de acupuntura; GD ($n=6$), aplicação de estímulo elétrico em dermatomos peri-incisionais; GEAD ($n=6$), aplicação de estímulo elétrico em pontos de acupuntura e em dermatomos peri-incisionais e Gsham ($n=6$): sem tratamento.

PADRONIZAÇÃO DE TÉCNICA PARA RECUPERAÇÃO DE OVOS DE *Toxocara canis* EM SOLO

Luciana Puga Magoti¹, Tathiana Dias Sichieri², Vamilton Alvares Santarém³

1. Pós-graduanda- Mestrado em Ciência Animal - Universidade do Oeste Paulista (Unoeste)-
omagoti@terra.com.br
 2. Discente Curso de Medicina Veterinária – Unoeste. Bolsista FAPESP 07/54934-3. tathisic@uol.com.br
 3. Orientador: Prof. Dr. Cursos de Medicina Veterinária e Mestrado em Ciência Animal- Unoeste -
vamilton@unoeste.br
- Instituição Fomentadora: Universidade do Oeste Paulista – PPD 157/06.

Palavras-chave: *Toxocara* spp, Diagnóstico, Contaminação ambiental.

INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A toxocaríase é uma enfermidade ocasionada pela ingestão de ovos embrionados de *Toxocara canis* ou, menos comumente, de *T. cati*. Ao eclodir, as larvas atravessam a parede do intestino delgado e ganham a circulação pela via hepática, migrando para diversos órgãos, causando a síndrome de larva *migrans* visceral; ou olhos, dando origem à síndrome de larva *migrans* ocular, que são conhecidas atualmente como toxocaríase visceral e ocular, respectivamente (MAGNAVAL et al., 2001).

A principal via de transmissão da toxocaríase humana se dá pela ingestão de ovos larvados presentes em solo, especialmente de parques e jardins. A doença é mais comum em crianças, que tem maior contato com solo contaminado, além dos hábitos de geofagia e onicofagia, que facilitam a ingestão de ovos de *Toxocara* spp (SCHANTZ, 1989).

Vários fatores podem estar envolvidos na contaminação do solo, como as condições climáticas e ambientais, a textura do solo, e a presença de cães e de gatos (MURADIAN et al., 2005). Além desses fatores, existe uma variabilidade muito grande nas metodologias empregadas para recuperação dos ovos de *Toxocara* spp, que pode levar a resultados falso-negativos e, conseqüentemente, uma subestimação da frequência da contaminação do solo (COELHO et al., 2001). Segundo os autores, os métodos empregados nesse tipo de pesquisa são extremamente variáveis, impedindo uma comparação confiável entre os estudos.

Dessa forma, justificou-se a realização da presente pesquisa cujo objetivo foi a padronização de recuperação de ovos de *T. canis*, utilizando-se um estudo seriado, comparando variáveis presentes na técnica de centrífugo-flutuação.

MATERIAL E MÉTODOS

A avaliação das interferências das variáveis sobre o processo de recuperação baseou-se no seguinte organograma:

Passo 1- Tempo de filtragem do material antes do processo de recuperação de ovos.

Passo 2- Interferência do tipo de lavagem.

Passo 3- Re-lavagem com solução decinormal de hidróxido de sódio (NaOH 0,1N).

Passo 4- Interferência de uma ou duas lavagens com água destilada.

Passo 5- Interferência do tempo de homogeneização.

Passo 6- Interferência da re-suspensão.

Como ponto de partida para comparação das variáveis, foi utilizada a técnica de Dunsmore et al. (1984) com pequenas modificações, uma vez que a mesma foi considerada como a mais eficiente para recuperação de ovos de *T. canis* em amostras artificialmente contaminadas (OGE; OGE, 2000).

Após realização das comparações, estabeleceu-se os procedimentos obtidos nos passos 1 a 6, para comparação das soluções de flutuação (cloreto de sódio, dicromato de sódio, nitrato de sódio, sulfato de magnésio, e sulfato de zinco), com o padrão de densidade (1.20), e avaliar posteriormente as duas melhores soluções em diferentes densidade (1.20; 1.25 e 1.30).

Para cada etapa foram realizadas dez repetições, com três leituras para cada repetição, sendo a média utilizada para comparação entre técnicas. As médias obtidas com a recuperação de ovos foram submetidas ao teste de Wilcoxon, enquanto para comparar as densidades das soluções utilizou-se ANOVA, com nível de significância de 5% (TRIOLA, 1999).

RESULTADOS

No primeiro passo, observou-se que a filtragem interfere de forma negativa na recuperação dos ovos, reduzindo drasticamente o número destes. Quando o material não foi filtrado, a média foi significativamente superior, 21,5 ovos obtidos com Zn_2SO_4 contra 8,5 com a utilização de NaCl ($p < 0,001$). Na segunda etapa, avaliou-se o repouso das amostras antes do seu processamento, porém não houve diferença quando esse tempo decorre em 2 horas ou em *overnight* ($p = 0,6523$). Da mesma forma, não houve diferença ($p = 0,8764$) quando foi empregada a água destilada ou a solução aniônica de Tween 80 (0,2%) para lavagem do solo, e também quando da segunda lavagem com água destilada ou solução decinormal de NaOH ($p < 0,9453$).

Quando se comparou a lavagem do solo contaminado com água destilada, a repetição do processo duas vezes foi significativamente superior a uma única lavagem ($p=0,0039$).

As amostras nesse estudo foram homogeneizadas por um período de dois ou 30 minutos antes do processo de recuperação com solução hipertônica. Entretanto, não houve diferença entre esses períodos ($p=0,1934$). Quando comparadas a re-suspensão ou não do sedimento, houve aumento significativo quando as amostras foram re-suspensas ($p<0,0059$).

A recuperação de ovos foi maior quando da utilização do sulfato de zinco, embora estatisticamente, a única diferença significativa foi obtida quando comparou-se essa solução com o cloreto de sódio ($p<001$). Não houve diferença significativa no número de ovos recuperados com a alteração da densidade das substâncias. Esses mesmos resultados foram obtidos quando se comparou o desempenho das densidades das soluções isoladamente.

DISCUSSÃO

Nesse estudo, a filtragem do material reduziu significativamente a quantidade de ovos recuperados, diferentemente do que ocorreu com o estudo realizado por Oge e Oge (2000) ao comparar cinco técnicas diferentes. Provavelmente a filtragem em gaze reteve ovos presentes no solo. A lavagem de solo antes de seu processamento tem sido utilizada para promover a liberação de sujidades dos ovos, especialmente com o uso de Tween (SANTARÉM et al., 1998). Esse achado foi confirmado nos resultados do presente estudo, onde tanto o uso de Tween como de hidróxido de sódio não diferiram quando do uso de água destilada, que tem sido adotada por ser de fácil aquisição e baixo custo (NUNES et al., 2000).

O tempo de repouso de 12 horas (overnight) tem sido proposto antes do processo de flutuação (NUNES et al., 2000) Entretanto, nesse estudo não houve diferença na obtenção de ovos quando se utilizou o período de duas horas. Da mesma forma, não houve diferença no tempo de homogeneização das amostras, ao comparar dois e 30 minutos. Conseqüentemente, o processo pode ser realizado com repouso de duas horas e homogeneização por dois minutos.

Houve aumento significativo do número de ovos recuperados quando feita a re-suspensão do material, corroborando Oge e Oge (2000).

Em alguns estudos observou-se um aumento na recuperação de ovos com soluções com densidades maiores que 1.20, tais como $\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_4$ ($d=1.35$) (NUNES et al., 1994), o MgSO_4 associado ao iodeto de potássio ($d=1.27$) (QUINN et al., 1980) e NaNO_3 ($d=1.22$) (DUNSMORE et al., 1984). Utilizando soluções com a mesma densidade que a do presente trabalho ($d=1.20$), Oge e Oge (2000) verificaram que o ZnSO_4 mostrou-se como a melhor solução. Na comparação das soluções hiper-saturadas, a recuperação foi maior quando do uso

de ZnSO₄, embora a diferença só foi observada em relação ao cloreto de sódio. A elevação da densidade do Na₂Cr₂O₄ e do sulfato de zinco não mostrou vantagem nesse procedimento.

Dessa forma, as chances de recuperação de ovos de *T. canis* podem ser ampliadas pela re-suspensão do sedimento, enquanto que a filtragem reduz consideravelmente o número de ovos, e a água destilada apresenta propriedades que permitem seu uso na lavagem do solo. A densidade da solução, por sua vez não altera a recuperação de ovos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- COELHO, L. M. P. S. et al. *Toxocara* spp. eggs in public squares of Sorocaba, São Paulo State, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 43, p. 189-191, 2001.
- DUNSMORE, J. D.; THOMPSON, R. C. A.; BATES, I. A. Prevalence and survival of *Toxocara canis* eggs in the urban environment of Perth, Australia. **Veterinary Parasitology**, v. 16, p. 303-311, 1984.
- MURADIAN, V. et al. Epidemiological aspects of visceral larva migrans in children living at São Remo community, São Paulo (SP), Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 134, p. 93-97, 2005.
- NUNES, C. M.; SINHORONI, I. L.; AGASSAWARA, S. Influence of soil texture in the recovery of *Toxocara canis* eggs by a flotation method. **Veterinary Parasitology**, v. 53, p. 269-274, 1994.
- NUNES, C. M. et al. Ocorrência de larva migrans na areia de áreas de lazer das escolas municipais de ensino infantil, Araçatuba, SP, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 34, p. 656-658, 2000.
- OGE, H.; OGE, S. Quantitative comparison of various methods for detecting eggs of *Toxocara canis* in samples of sand. **Veterinary Parasitology**, v. 92, p. 75-79, 2000.
- QUINN, R.; SMITH, H. V.; GIRDWOOD, R. W. A. Studies on the incidence of *Toxocara* and *Toxascaris* spp. ova in the environmental. 1. A comparison of flotation procedures for recovery of *Toxocara* spp. ova from soil. **Journal of Hygiene**, v. 84, p. 83-89, 1980.
- SANTARÉM, V. A.; SARTOR, I. F.; BERGAMO, F. M. M. Contaminação, por ovos de *Toxocara* sp, de parques e praças públicas de Botucatu, São Paulo, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 31, p. 529-532, 1998.
- SCHANTZ, P. *Toxocara* larva migrans now. **American Journal Tropical Medicine and Hygiene**, v. 41, p. 21-34, 1989.
- TRIOLA, M.F. Introdução à estatística. 7.ed. Rio de Janeiro: LTC, 1999. 410p.

VIABILIDADE DO SÊMEN EQUINO REFRIGERADO: EFEITO DA DILUIÇÃO E DOS MÉTODOS DE REFRIGERAÇÃO

Marcelo George Mungai Chacur*, João Lawrence Ortigosa,
Rogério Giuffrida, Marina Grandi

*FCA-UNOESTE, Lab. Reprodução Animal, Rod. Raposo Tavares - km 572, Campus II,
CEP: 19067-175, Pres. Prudente-SP, chacur@unoeste.br

Palavras-chave: garanhão, meio diluente, sêmen resfriado.

Introdução

A inseminação artificial tem sido utilizada pelos criadores devido ao melhor aproveitamento do garanhão, proporcionando a utilização do sêmen para várias éguas, onde a utilização de sêmen refrigerado ou congelado reduz o risco de transmissão de doenças venéreas, associado em geral ao trânsito de animais entre os haras (Squires *et al.*, 1999). Apesar da maioria dos meios utilizados para diluição de sêmen equino refrigerado ser composta de leite desnatado em pó e glicose, baseados na fórmula de Kenney *et al.* (1975), variações estão comercialmente disponíveis e diferem principalmente em relação à composição de antibióticos e açúcares (Squires *et al.*, 1999).

Justificativa

A biotécnica de refrigeração do sêmen pode ser largamente utilizada nos plantéis de equinos, facilitando a troca de material genético entre os criatórios sem a necessidade de deslocamento físico dos reprodutores, além de maximizar o uso de um único ejaculado para várias inseminações artificiais.

Objetivo

O presente estudo teve o objetivo de avaliar o efeito das diluições 1:1 e 2:1, e dos métodos de refrigeração de sêmen equino em refrigerador comercial e caixa de transporte, perante meio modificado a base de leite em pó desnatado.

Material e métodos

Utilizou-se quatro ejaculados de um garanhão da raça Mangalarga com 12 anos de idade, alojado no Hospital Veterinário da UNOESTE, Presidente Prudente-SP, alimentado com feno, ração, sal mineral e água *ad libitum*. As colheitas foram realizadas com vagina artificial modelo Botucatu a 42°C, com o auxílio de uma égua como manequim, devidamente contida. Para a refrigeração do sêmen, foram utilizados refrigerador comercial a 6°C e caixa

térmica para transporte a 12°C (Botu Box®). As amostras foram analisadas a fresco e nos momentos zero hora (M0) e seis horas (M6), para as características motilidade e vigor espermáticos.

As amostras de sêmen foram fracionadas em 4 alíquotas, diluídas nas proporções de 1:1 e 2:1, com meio modificado à base de leite desnatado, segundo fórmula abaixo descrita, à partir do meio de Kenney et al. (1975). O sêmen foi processado em dois tratamentos: diluição de 1:1 e 2:1 em banho maria à 37°C, transferido ao refrigerador comercial calibrado a 6°C, o mesmo procedimento foi feito com as outras 2 alíquotas nas diluições de 1:1 e 2:1, armazenadas em caixa de transporte, equilibrando-se a 14°C, após 4 horas de estocagem.

Fórmula do meio modificado utilizado no experimento: leite em pó desnatado 25g, glicose 25g, H₂O dd q.s.p. 500mL. Para comparar os percentuais médios de motilidade espermática observada em dois diferentes momentos utilizou-se o teste t pareado. Para comparar as medidas de escores de vigor espermático observados em dois diferentes momentos utilizou-se o teste não paramétrico de Wilcoxon. As médias de motilidade espermática para as quatro técnicas estudadas foram comparadas utilizando-se análise de variância (ANOVA). As medianas de escores de vigor obtidas para as quatro técnicas estudadas foram comparadas utilizando-se o teste não paramétrico de Friedman (ANOVA).

Resultados e discussão

Os diluidores de sêmen são soluções destinadas a proteger os espermatozóides de condições desfavoráveis e prolongar sua sobrevivência durante a refrigeração e o transporte, além de apresentarem a vantagem de aumentar o volume da dose inseminante e auxiliarem na análise microscópica dos ejaculados (Pickett e Shiner, 1994; Darenius, 1998). As médias de motilidade das colheitas nos momentos M0 e M6 de refrigeração nas diferentes diluições e métodos utilizados estão ilustradas na tabela 1.

Tabela 1 - Comparação entre médias de percentuais estimados de motilidade espermática, utilizando duas diluições e dois métodos de refrigeração de sêmen eqüino, Presidente Prudente-SP.

variáveis	Motilidade (%)		<i>p-value</i>
	M0	M6	
Caixa 1:1	70%	32,5%	0,057
Caixa 2:1	67,5%	25%	0,042*
refrigerador 1:1	70%	30%	0,046*
refrigerador 2:1	67,5%	27,75%	0,063

* significância estatística.

Apesar da diluição 2:1, oferecer uma maior proporção de meio diluente para o metabolismo espermático, verificou-se que a motilidade espermática foi significativamente superior quando do emprego da diluição 1:1 na refrigeração realizada no refrigerador comercial e na caixa de transporte. Diante desse resultado, sugere-se que a diluição 1:1, para o meio modificado sugerido seja a mais indicada para a refrigeração de sêmen equino dentro do período de 6 horas de estocagem.

A queda da motilidade espermática do sêmen refrigerado ocorre com o passar do tempo, pois a membrana plasmática afetada pelo frio pode sofrer mudanças na sua permeabilidade, que resulta em alterações funcionais e metabólicas, prejudicando a motilidade e a capacidade fecundante dos espermatozoides (Amann e Graham, 1993). As variáveis diluição e método de refrigeração relacionados ao vigor espermático estão ilustrados na tabela 2.

Tabela 2 – Comparação entre medianas de escores estimados para vigor espermático, utilizando duas diluições e dois métodos de refrigeração de sêmen equino, Presidente Prudente-SP.

variáveis	Vigor espermático		p-value
	M0	M6	
Caixa 1:1	3,5	2,5	0,37
Caixa 2:1	3,5	2,5	0,37
refrigerador 1:1	3,5	2,5	0,25
refrigerador 2:1	3,5	2,0	0,25

Para o vigor espermático não houve diferença significativa entre diluições ou métodos de refrigeração de sêmen. Supostamente, essa ausência de significância possa estar relacionada ao número de ejaculados processados, uma vez que a sua ampliação poderia resultar em nível de significância. Alguns garanhões tiveram o sêmen estocado a 15°C por 24 horas, sendo mais eficiente que a 5°C, com aumento da longevidade espermática e melhores índices de prenhez Batellier *et al.* (2001).

Os resultados de Kankofer *et al.* (2005) sugerem que, para uma maior atividade de algumas enzimas antioxidantes, certa quantidade de plasma seminal deve ser mantida no ejaculado no momento da sua diluição. Uma taxa de diluição adequada é fundamental para a preservação da viabilidade espermática quando sob refrigeração. Jasko *et al.* (1992) verificaram que taxas de diluição variando entre 1:4 a 1:19 são adequadas para a preservação do sêmen equino refrigerado a 5°C, e a presença de pelo menos 5% de plasma seminal é importante para a manutenção da viabilidade do sêmen.

Novos testes deverão ser realizados com a formulação sugerida para confirmação dos resultados, propiciando uma nova opção para o emprego da biotécnica de inseminação artificial com sêmen equino refrigerado.

Conclusões

Perante a formulação sugerida para o meio modificado a base de leite em pó desnatado para refrigeração de sêmen equino, sugere-se a utilização da diluição na proporção de 1:1 para os métodos de estocagem em refrigerador comercial e caixa de transporte.

Referências

- Amann, R.P.; Graham, J.K. Spermatozoal function. *In: McKinnon, A.O.; Voss, J.L. (Ed.). Equine reproduction*. Philadelphia: Lea & Febiger, p.715-745, 1993.
- Batellier, F.; Vidament, M.; Fauquant, J.; Duchamp, G.; Arnaud, G.; Yvon, J.M.; Magistrini, M. Advances in cooled semen technology. *Anim Reprod Sci*, v.68, p.181-190, 2001.
- Darenius, A. Experiences with chilled, transported equine semen. *In: Stallion Reproduction Symposium, 1998. Proceedings...* Montgomery, AL: Society for Theriogenology, American Association of Equine Practitioners, p.60-70, 1998.
- Jasko, D.J.; Hathaway, J.A.; Schaltenbrand, V.L.; Simper, W.D.; Squires, E.L. Effect of seminal plasma and egg yolk on motion characteristics of cooled stallion spermatozoa. *Theriogenology*, v.37, p.1241-1252, 1992.
- Kankofer, M.; Kolm, G.; Aurich, J.; Aurich, C. Activity of glutathione peroxidase, superoxide dismutase and catalase and lipid peroxidation intensity in stallion semen during storage at 5°C. *Theriogenology*, v.63, p.1354-1365, 2005.
- Kenney, R.M.; Bergman, R.V.; Cooper, W.L. Minimal contamination techniques and preliminary findings. *Proc. Am. Assoc. Equine Practice*. v.21, p.327-336, 1975.
- Pickett, B.W.; Shiner, K.A. Recent developments in artificial insemination in horses. *Liv. Prod. Sci*. v.40, p.31-36, 1994.
- Squires, E.L.; Pickett, B.W.; Graham, J.K.; Vanderwall, D.K.; McCue, P.M.; Bruemmer, J.E. Cooled and frozen stallion semen. Fort Collins: Animal Reproduction and Biotechnology Laboratory, p.1-38. (Bulletin, 9), 1999