



COMUNIDADE EVANGÉLICA LUTERANA "SÃO PAULO"

Presidente

Delmar Stahnke

Vice-Presidente

João Rosado Maldonado



UNIVERSIDADE LUTERANA DO BRASIL

Reitor

Ruben Eugen Becker

Vice-Reitor

Leandro Eugênio Becker

Pró-Reitor de Administração

Pedro Menegat

Pró-Reitor de Graduação da Unidade Canoas

Nestor Luiz João Beck

Pró-Reitor de Graduação das Unidades Externas

Osmar Rufatto

Pró-Reitor de Pesquisa e Pós-Graduação

Edmundo Kanan Marques

Capelão Geral

Gerhard Grasel

Ouvidor Geral

Eurilda Dias Roman

COMISSÃO EDITORIAL

Prof. MS. Carlos Santos Gottschall

Profa. Dra. Norma Centeno Rodrigues

Prof. Dr. Sérgio José De Oliveira

CONSELHO EDITORIAL

Prof. Dr. Adil K. Vaz (Univ Estadual de Lages)

Prof. Dr. Angelo Berchieri Jr. (UNSSP-Jaboticabal)

Prof. Dr. Antonio Bento Mancio (UFMG)

Prof. Dr. Carlos Tadeu Pippi Salle (UFRGS)

Prof. Dr. Francisco Gil Cano (Univ. Murcia/Espanha)

Prof. Dr. Franklin Riet-Correa (UFPEL)

Prof. Dr. Hamilton Luiz de Souza Moraes (ULBRA e UFRGS)

Prof. Dr. Joaquim José Ceron (Univ. Murcia/Espanha)

Prof. Dr. Julio Otávio Jardim Barcellos (UFRGS)

Prof. Dr. Luiz Alberto Oliveira Ribeiro (UFRGS)

Profa. MSC. Mariangela da Costa Allgayer (ULBRA)

Prof. MSC. Roberto Grecelé (ULBRA)

Dra. Sandra Borowski (FEPAGRO)

Prof. Dr. Victor Cubillo (Univ Austral do Chile)

Prof. Dr. Waldyr Stumpf Junior (EMBRAPA)

EDITORA DA ULBRA

Diretor

Valter Kuchenbecker

Coordenador de periódicos

Roger Kessler Gomes

Capa

Juliano Dall'Agnol

Projeto Gráfico

Isabel Kubaski

Editoração

Roseli Menzen

E-mail: editora@ulbra.br

SECRETARIA DO CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

ULBRA - Av. Farroupilha, 8001 - Canoas - Prédio 14 - Sala 125

Fone/fax: 3477.9284

CEP: 92425-900

E-mail: secagrarias@ulbra.br

Carlos Gottschall: carlosgott@cpovo.net

Sergio Oliveira: serjol@terra.com.br

Endereço para permuta

Universidade Luterana do Brasil

Biblioteca Central - Setor Aquisição

Av. Farroupilha, 8001 - Prédio 05

CEP: 92425-900 - Canoas/RS, Brasil

E-mail: bibpermuta@ulbra.br

Indexadores

AGROBASE - Base de Dados da Pesquisa Agropecuária

(BDPA)

CAB Abstracts

Disponível eletronicamente no site

www.editoradaulbra.com.br ou www.ulbra.br/veterinaria

Solicita-se permuta.

We request exchange.

On demande l'échange.

Wir erbitten Austausch.

O conteúdo e estilo lingüístico são de responsabilidade exclusiva dos autores.

Direitos autorais reservados.

Citação parcial permitida, com referência à fonte.

V586	Veterinária em foco / Universidade Luterana do Brasil.
	- Vol. 1, n. 1 (maio/out. 2003) - . - Canoas :
	Ed. ULBRA, 2003.
	v. ; 27 cm.
	Semestral.
	ISSN 1679-5237

Revista Veterinária em Foco

ISSN 1679-5237

Vol.4, n.1, jul./dez. 2006

Sumário

- 03 Editorial
- 5 Avaliação do bem-estar animal em bovinos abatidos para consumo em frigorífico do Rio Grande do Sul
Moira Pieta Civeira, Rafael Moraes Renner, Rui Eduardo Saldanha Vargas, Norma Centeno Rodrigues
- 13 Bactérias isoladas de ovos de avestruz descartados no período de incubação
Juliano Bocudo Hoffelder, Mariangela da Costa Allgayer, Mariane Feser, Edilson F. Ramos, Fernanda S. Abilleira, Sérgio José de Oliveira
- 21 Verificação do “status” microbiológico de carcaças de frangos a partir de técnicas complementares à Portaria Ministerial nº 210
Leonardo Thielo de La Vega, Fernanda de Souza Abilleira, Sérgio J. de Oliveira
- 31 Detecção de *Listeria monocytogenes* em amostras de queijo colonial maturadas a temperatura ambiente e sob refrigeração
Lucas Vinicius Vargas, Celso Pianta, Nilo Ikuta, Sérgio J. de Oliveira
- 45 Isolamento e classificação de espécies de *Listeria* em queijos tipo colonial da região Centro-Serra do Estado do Rio Grande do Sul
Rafael Bernardy, Lisane G. Tochetto, Suzana H. Fonseca, Celso Pianta
- 53 Envenenamento por picada de serpente, gênero *micrurus* (coral): revisão
Gloria Jancowski Boff
- 65 Imagem radiográfica, ultra-sonográfica e por tomografia computadorizada de cálculos vesicais de estruvita em um cão (relato de caso)
Ricardo Luis Grün, Márcio Aurélio da Costa Teixeira, Virgínia Bocorny Lunardi, Cristine Dossin Bastos Fischer, Karina Garrafiel, Ana Paula Morel, Luis Cardoso Alves
- 73 Avaliação da função respiratória de suínos submetidos a anestesia geral balanceada sob ventilação controlada em cirurgia torácica experimental
Renato Silvano Pulz, Antônio de Pádua F. Silva Filho, Rafael Stedile, Fabiana Schiochet, Rodrigo Fiori S. Silveira, Flávia Facin, Thaís Lawal
- 87 Desempenho reprodutivo de novilhas acasaladas com 18 meses de idade provenientes de desmame precoce ou convencional
Carlos S. Gottschall, Guilherme de O. Lourenzen, Eduardo T. Ferreira, Leonardo C. Canellas
- 95 Ocorrência de enterolitíase em eqüinos no 3º Regimento de Cavalaria de Guarda – Porto Alegre/RS
Renato Silvano Pulz, João Carlos M. Maia, Alexandre F. Pezzi, Clério A. Silva, Camila Silva, Rodrigo Fiori
- 105 Normas Editoriais

Editorial

A criação, no ano de 2006, da Área de Ciências Agrárias na Universidade Luterana do Brasil (ULBRA) consolidou o esforço contínuo do grupo de professores que atuam e fazem parte diretamente da referida área. A importância do Curso de Engenharia Agrícola, que deu origem aos demais cursos de engenharia dessa instituição, que neste ano completou 20 anos, bem como a qualidade que o Curso de Medicina Veterinária vem imprimindo na comunidade, através de seus serviços e egressos, capacitaram-nos a criar o Curso de Agronomia, que nada mais foi do que o amadurecimento natural de nossas atividades.

A revista *Veterinária em Foco*, enquanto veículo de divulgação, está pronta a receber artigos dos diversos cursos que compõem a área de Ciências Agrárias, não se atrelando somente à ciência veterinária, mas buscando inserir-se dentro das diferentes cadeias produtivas que têm como objetivo final o bem-estar do homem. Para tanto, na medida em que surgirem artigos científicos que tenham como viés o animal e/ou o homem e abordem as ciências do solo ou de edificações agrícolas, uma seção será aberta para agregar esses trabalhos. Com isso, quem ganha é a ciência como um todo.

Continuamos, assim, abrindo espaço para pesquisadores e bolsistas tanto da nossa como de outras instituições, uma vez que, pelo esforço de nossos colaboradores, mantemos uma revista indexada, com versão eletrônica disponível na íntegra e com peridiocidade e regularidade comprovada.

Comissão Editorial

Avaliação do bem-estar animal em bovinos abatidos para consumo em frigorífico do Rio Grande do Sul

Evaluation of animal welfare in a cattle abattoir house of the State of Rio Grande do Sul, Brazil

CIVEIRA, Moira Pieta – Médica Veterinária

RENNER, Rafael Moraes – Médico Veterinário, Esp., Frigorífico Mercosul

VARGAS, Rui Eduardo Saldanha – Médico Veterinário, MSc, Ministério da Agricultura

RODRIGUES, Norma Centeno – Médica Veterinária, Dra., Curso de Medicina Veterinária – ULBRA/RS; Instituto de Pesquisas Veterinárias “Desidério Finamor”/Fepagro

Data de recebimento: junho 2006

Data de aprovação: outubro 2006

Endereço para correspondência: Rua Farroupilha, 8001, Prédio 14, Sala 125, Canoas/RS. CEP: 92.425-900. E mail: moira.civeira@frangosul.com.br

RESUMO

São avaliadas as contusões em um grupo de animais abatidos em um frigorífico do Estado do Rio Grande do Sul, verificando sua localização e classificação e relacionando-as com o bem-estar dos animais abatidos e a etapa do processo onde ocorreu o problema. As contusões nos quartos, tanto nas fêmeas como nos machos, foram as mais freqüentes. Em relação ao número de contusões presentes nas carcaças avaliadas, verificou-se que a maior prevalência de lesões situa-se entre duas a quatro contusões por carcaça. No que se refere à extensão das lesões, observou-se que nos quartos traseiros as contusões superficiais, que afetavam somente o tecido subcutâneo (Grau I), foram as mais prevalentes nos machos, enquanto que nas fêmeas, 50,8% das contusões foram de Grau II, afetando também o tecido muscular.

Palavras-chave: bem-estar animal, bovinos, frigorífico.

ABSTRACT

In this work the injuries found in a group of male and female cattle slaughtered in an abattoir of the State of Rio Grande do Sul – Brazil are presented and discussed. The geography and severity of the lesions are described as well as the relationship with the animal welfare. The phase in which the lesions occurred during the killing process is also commented. The hind leg injuries were the most frequent in both male and female cattle. The average number of injuries found per carcass varied from 2 to 4. Regarding to the severity of the lesions it was observed that the superficial ones which affect only the subcutaneous tissue (Score I) were the most prevalent in male cattle, while in female cattle 50.8 per cent of the injuries were score II, that includes the muscular tissue.

Key words: animal welfare, bovine, abattoir.

INTRODUÇÃO

Há algumas décadas, o abate de animais era considerado uma operação tecnológica de baixo nível científico e não se constituía em um tema pesquisado seriamente por universidades, institutos de pesquisa e indústrias.

A tecnologia do abate de animais destinados ao consumo somente assumiu importância quando se observou que os eventos que ocorrem desde a propriedade rural até o abate do animal tinham grande influência na qualidade da carne (ROÇA, 2002).

Portanto, o abate humanitário pode ser definido como o conjunto de procedimentos técnicos e científicos que garantem o bem-estar dos animais desde o embarque na propriedade rural até a operação da sangria no abatedouro. Deste conceito, infere-se a importância de que o abate seja realizado sem sofrimentos desnecessários aos animais. Existem vários critérios que definem um bom método de abate: os animais não devem ser tratados com crueldade e estressados desnecessariamente, a sangria deve ser a mais rápida e completa possível, as contusões nas carcaças devem ser mínimas e, finalmente, o método de abate deve ser higiênico, econômico e seguro para os operadores (ROÇA, 2002).

Partindo desta idéia, atitudes como o lançamento de um selo de criação e manejo humanitário dos animais, e a organização de protestos e boicotes contra importantes cadeias de alimentos nos Estados Unidos, vem intensificando a idéia de que os alimentos ditos “éticos” são a nova vertente do mercado mundial de carnes (BARBOSA e SILVA, 2004). Assim, para atender às normas de bem-estar dentro das etapas de abate dos animais, criou-se então o termo “abate humanitário” dos animais que, como

definição, pode adotar-se a que consta no anexo da Instrução Normativa Nº 3, de 17 de janeiro de 2000 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), que define abate humanitário como sendo o “conjunto de diretrizes técnicas e científicas que garantam o bem-estar dos animais desde a recepção até a operação de sangria”.

De outra parte, para assegurar maior produtividade, o trato humanitário dos animais destinados ao sacrifício repercute em benefícios como: menos danos para a carne, menos perdas e maior valor atribuído devido principalmente aos poucos defeitos e lesões; menor mortalidade dos animais; melhor qualidade da carne, graças a redução do estresse; melhor qualidade e valor do couro e da pele (FAO, 2001).

De acordo com Grandin (2000a), o gado manejado de forma brusca tem maior incidência de contusões comparados com os manejados de forma cuidadosa e, ao contrário do que se pensa, os animais também podem ser contundidos momentos antes da insensibilização e até quando estão sendo sangrados.

A presença de hematomas são um indicativo de um manejo inadequado, manejo esse que pode ter ocorrido em qualquer etapa do processo: na propriedade rural, durante o transporte, no desembarque e no próprio frigorífico.

Os hematomas podem variar desde os leves (aproximadamente 10 cm de diâmetro) e superficiais, até os maiores e severos que envolvem toda uma extremidade. A carne com hematomas significa uma perda, já que não é apta para alimento, não é aceita pelo consumidor, não pode ser usada na preparação de carnes processadas e decompõem-se rapidamente, uma vez que é meio ideal para crescimento de bactérias contaminantes (PELLEGRINI et al., 1989). Em estudo realizado por Renner (2005), verificou-se que, em 20.000 carcaças avaliadas, 49% apresentavam algum tipo de contusão, e que as regiões mais afetadas eram os locais considerados mais nobres: 52% das contusões localizavam-se no quarto, 19% no vazio, 13% nas costelas, 9% na paleta e 7% no lombo.

A extensão das contusões nas carcaças é um indicativo de problemas com bem-estar animal e representa uma forma de avaliação (COSTA et al., 2003). As contusões podem ser classificadas de acordo com o tempo de aparecimento e o grau de lesão. As contusões novas ou recentes, com menos de um dia de lesão, apresentam-se hemorrágicas e com uma coloração vermelha escura, enquanto que as consideradas velhas ou antigas, com mais de um dia ou até semanas, mostram-se com uma coloração amarelada. Em relação ao grau de lesão, aquelas que afetam somente o tecido subcutâneo são consideradas de Grau I; Grau II são para aquelas contusões que afetam também o tecido muscular e Grau III, para aquelas contusões que atingem, além dos tecidos subcutâneo e muscular, o tecido ósseo (RENNER, 2005).

O presente trabalho teve com objetivo avaliar as contusões em um grupo de animais abatidos em um frigorífico do Estado do Rio Grande do Sul, verificando sua localização e classificação e relacionando-as com o bem estar dos animais abatidos e a etapa do processo onde ocorreu o problema.

MATERIAL E MÉTODOS

De um total de 1044 animais, 536 fêmeas e 508 machos, provenientes de várias localidades do Rio Grande do Sul, foram escolhidos e selecionados, aleatoriamente, 194 fêmeas e 190 machos. Após a retirada do couro, as contusões foram contadas e marcadas em *croquis*, delimitando suas localizações. As contusões localizadas nos quartos traseiro e dianteiro foram classificadas em graus, segundo a extensão da lesão. Para aquelas lesões que afetavam somente o tecido subcutâneo foi conferida a classificação de Grau I; para aquelas contusões que afetavam, além do tecido subcutâneo, também o tecido muscular foi conferido o Grau II e, para aquelas contusões, que atingiam o tecido ósseo, além dos tecidos já citados foi conferido o Grau III.

RESULTADOS

A Tabela 1 mostra que as contusões nos quartos, tanto nas fêmeas como nos machos, foram as mais freqüentes, seguidas, nos machos, pelas contusões localizadas no vazio, lombo, paleta e costelas. Nas fêmeas, o segundo local que mais apareceu contusões foi o vazio, seguido pelo lombo, paleta e costela.

Tabela 1 – Localização das contusões (CT) nos bovinos abatidos.

	CT Quarto	CT Lombo	CT Vazio	CT Costela	CT Paleta
Machos	55%	11,8%	16,6%	6,8%	10,5%
Fêmeas	47,2%	16,4	16,9%	7,3%	12,2%

Em relação ao número de contusões presentes nas carcaças avaliadas, verificou-se que a maior prevalência de lesões situa-se entre duas a quatro contusões por carcaça (Tabela 2).

Tabela 2 – Número de contusões (CT) por carcaças bovinas avaliadas (%).

Número de CT	1	2	3	4	5	6	7	8	9	+10
Machos	13	18	22,6	19,8	13	4,5	4	1,7	1,7	0
Fêmeas	9,7	16,8	21,6	16,2	13,5	11,4	3,2	4,9	0	2,7

Em relação à extensão das lesões verificou-se que nos quartos traseiros, as contusões superficiais, que afetavam somente o tecido subcutâneo (Grau

I) foram as mais prevalentes nos machos, enquanto que nas fêmeas, 50,8% das contusões foram de Grau II, afetando também o tecido muscular. Em relação aos quartos dianteiros, as contusões mais superficiais foram as mais prevalentes tanto nos machos como nas fêmeas, respondendo por 64,3% nos bovinos machos e 66,1% nas fêmeas (Tabela 3).

Tabela 3 – Percentual de acordo com a classificação do Grau de contusões nos quartos, traseiros e dianteiros dos bovinos abatidos.

	Traseiro			Dianteiro		
	Grau I	Grau II	Grau III	Grau I	Grau II	Grau III
Machos	65,1%	34,7%	0,2%	64,3%	35,7%	Zero
Fêmeas	49,2%	50,8%	zero	66,1%	33,9%	Zero

DISCUSSÃO

As principais causas de contusões são decorrentes da movimentação muito rápida de animais, pisos molhados, escorregadios e irregulares, projeções pontiagudas em portões, paredes, etc, bovinos aspados, densidades de carga muito baixas ou elevadas durante o transporte e períodos longos de dieta e estresse crônico (RENNER, 2005), causas essas que irão se refletir em perdas da qualidade de carcaças nos frigoríficos, prejudicando economicamente tanto os produtores rurais, os frigoríficos, e os consumidores, como, principalmente, o responsável pela existência desta cadeia produtiva, o animal.

O presente trabalho, semelhante ao já observado por Renner (2005), mostrou que a maior prevalência de contusões foi nos quartos, tanto nos machos como nas fêmeas, sendo que metade delas foram de Grau I (Figura 1), provavelmente devido a utilização de guizos e paus para a condução dos animais. Seguiram-se as contusões no lombo e vazio, o que pode estar relacionado à queda de portões dos caminhões durante o desembarque (Figura 2) conforme observado por Rodrigues et al. (2003), que verificaram lesão semelhante em bovino que veio a óbito após desembarque em caminhão boiadeiro.

Um número expressivo de animais, tanto machos quanto fêmeas, apresentou contusões caracterizadas como Grau II, que afetavam além do tecido subcutâneo, o tecido muscular. Esse tipo de contusão invariavelmente promove significativa perda econômica para o produtor além da perda de qualidade de carcaça, pois deve ser retiradas nas operações de toillete, antes da pesagem da mesma (ROÇA, 2003).



Figura 1 – Contusão Grau I.



Figura 2 – Contusão Grau III.

Em relação à prevalência de contusões em machos e fêmeas, não foram observadas diferenças significativas, discordando de Grandin (2000b) que diz que as fêmeas apresentam mais lesões do que os machos devido ao manejo que as vacas são submetidas nas propriedades para o entoure.

O manejo pré-abate tem uma importância fundamental podendo diminuir os riscos de hematomas nas carcaças. O manejo inadequado dos animais nos currais das propriedades e no embarcadouro, instalações e transporte inadequados, caminhões e estradas em mau estado de conservação e animais muito agitados em decorrência de manejo muito agressivo são fatores de risco e que podem levar a contusões e perdas significativas na qualidade e valor da carne (COSTA, 2000).

CONCLUSÃO

O manejo é uma das principais causas que pode infringir danos ao bem-estar animal. Para seguir as regras de respeito ao bem-estar dos animais destinados ao abate, deve-se levar em consideração a maneira como esses animais são criados na propriedade rural, o manejo que esses animais são submetidos desde seu nascimento, as instalações onde são criados até o momento onde os mesmos são embarcados para o frigorífico, bem como o transporte, o desembarque e as instalações de pré-abate e de abate.

Conclui-se que métodos e melhorias para a obtenção de carne com padrões superiores passam necessariamente pela maneira como os animais são tratados, devendo ser levado em consideração e assegurado o bem-estar dos animais destinados ao abate.

REFERÊNCIAS

- BARBOSA, J. A; SILVA, I. J. Abate humanitário: ponto fundamental do bem-estar animal. *Revista Carne*. Ed e n. 328. 2004.
- COSTA, M. P. *Algumas informações importantes sobre o embarque, o transporte e o desembarque de bovinos durante o manejo pré-abate*. [S.l.: s.n.], 2000.
- COSTA, M. P.; SILVA, E. V.; CHIQUITELLI, N.; ROSA, M. S. Manejo e qualidade da carne: bem-estar animal. *Revista Gestão Pecuária*, n.23, p. 30, 2003.
- FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations Regional Office for Asia and Pacific. *Abate Humanitário*, 2001.
- Disponível em: <<http://www.fao.org>>. Acesso em: 25/09/2005.
- GRANDIN, T. *La conducta animal y sua importânciia en el manejo del ganado*. 2000 (a). Disponível em: <<http://www.grandin.com/spanish/spanish2.html>>. Acesso em: 22/07/2005.
- GRANDIN, T. *Cómo detectar la causa de las contusiones*, 2000 (b). Disponível em : <<http://www.grandin.com/spanish/como.detector.cause.contusimes.html>>. Acesso em: 20/09/2005.
- PELLEGRINI, E. A.; SILVESTRE, A. A.; LAPUENTE, D. I. O. *Inspección y control de productos zoogenos – carnes y derivados*. Editorial Hemisferio Sur, v.1, 1998.
- RENNER, R. M. *Fatores que afetam o comportamento, transporte, manejo e sacrifício de bovino*. Tese de Especialização UFRGS, 2005. 87p.
- ROÇA, R. O. *Abate humanitário de bovinos*. I Conferência Virtual Global sobre Produção Orgânica de Bovinos de Corte, 2002. Disponível em: <www.cpap.embrapa.br/agencia/congressovirtual/pdf/portugues/02pt03.pdf>. Acesso em 12/10/2005.
- ROÇA, R. O. Bem-estar animal no Brasil: receita de primeiro mundo. *Revista Carne* n.320, 2003.
- RODRIGUES, N. C.; FALLAVENA, L. C.; PIANTA, C.; RIBEIRO, L. A. O. Causas de óbitos em animais durante exposições agropecuárias (Expointer) nos anos de 1996 a 2001. *A Hora Veterinária*. Porto Alegre: v.132, p.24–30, 2003.

Bactérias isoladas de ovos de avestruz descartados no período de incubação

Bacteria isolated from ostrich culled eggs examined on incubation period

HOFFELDER, Juliano Bocudo – Méd. Vet. Autônomo

ALLGAYER, Mariangela da Costa – Méd. Vet., MSc. Professora do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Luterana do Brasil – RS

FESER, Mariane – Méd. Vet. Autônomo

RAMOS, Edilson F. – Aluno de Graduação do Curso de Agronomia da Universidade Luterana do Brasil – RS

ABILLEIRA, Fernanda S. – Méd. Vet. Aluna da Pós-Graduação em Residência Médico Veterinária da Universidade Luterana do Brasil – RS

OLIVEIRA, Sérgio José de – Méd. Vet., Doutor, Professor do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Luterana do Brasil – RS

Data de recebimento: maio 2006

Data de aprovação: agosto 2006

Endereço para correspondência: Sérgio J. de Oliveira. Av. Farroupilha, nº 8001, Bairro São Luiz. CEP 92450-900. Prédio 25, ULBRA, Canoas RS. E-mail: serjol@terra.com.br

RESUMO

Na verificação das bactérias presentes em ovos de avestruz durante o período de incubação, pode-se evidenciar que, de 21 ovos descartados, 17 (81%) apresentavam contaminação bacteriana. A bactéria mais freqüentemente isolada foi a *Escherichia coli*, encontrada em 7 ovos (33%); a segunda mais freqüente foi a *Pseudomonas* sp., encontrada em 4 ovos (19,05%), e a combinação das duas esteve presente em 3 ovos (14,29%). Acredita-se que exista ligação entre as condições climáticas do dia da postura e a contaminação bacteriana, pois foi observado que 10 ovos dos

21 descartados tiveram sua postura em dias chuvosos e 5 em dias úmidos. Ressalta-se que falhas no manejo, como a coleta dos ovos somente pela manhã e a lavagem ao invés de fumigação, possam contribuir para a contaminação dos ovos, agindo de forma coadjuvante ao clima úmido e chuvoso no dia de postura.

Palavras-chave: bactérias, ovos descartados, avestruz.

ABSTRACT

It was observed bacterial contamination in 17 (81 %) out of 21 culled eggs from ostrich, during incubation period. *Escherichia coli* was the most frequent microorganism isolated (7 samples, 33 %), followed by *Pseudomonas* sp (4 samples, 19.05 %), being found cross contamination into 3 eggs with both microorganisms (14.29 %). It is believed that there is correlation between climatic conditions at the day of laying eggs and bacterial contamination, since 10 out of 21 culled eggs were laid in rainy days and 5 under high humidity conditions. Also, management practices as collection of eggs only in the morning, washing instead of the use of fumigation could be influencing for bacterial contamination.

Key words: bacteria, culled eggs, ostrich

INTRODUÇÃO

Na agropecuária brasileira, a criação comercial de avestruzes vem se desenvolvendo de maneira progressiva, incentivando universidades, centros de pesquisas e órgãos governamentais a estudarem o avestruz como uma alternativa de produção agropecuária.

A incubação artificial de ovos é uma das fases mais críticas dentro de um criatório de avestruzes, podendo inviabilizar economicamente todo processo de criação pelos altos investimentos em instalações, aquisição de matrizes e funcionários treinados. Estabelecer controles sanitários e de biossegurança são essenciais para que não ocorram problemas na fase inicial da criação, e para que todo o potencial natural das avestruzes possa evidenciar-se tornando o processo bastante lucrativo.

A contaminação fúngica ou bacteriana através da casca do ovo pode ocorrer no ninho, durante o manuseio, na lavagem do ovo e na incubação. O embrião pode morrer a qualquer tempo durante a incubação, mas geralmente a morte acontece nos estágios finais. Quando um embrião que morreu nos estágios iniciais é aberto, um odor forte de putrefação geralmente é sentido. Se estes ovos forem deixados na incubadora, o

acúmulo de gases no seu interior pode provocar sua explosão e contaminar todos os outros ovos (HUCHZERMEYER, 2000).

Na ovoscopia, as mortes embrionárias precoces geralmente não podem ser diferenciadas dos ovos inférteis. Contudo, quando os ovos são abertos, pode-se encontrar um embrião muito pequeno, embora, ocasionalmente no momento em que o ovo é examinado ele já tenha se dissolvido. Segundo Huchzermeyer (2000) a morte embrionária em ovos de avestruzes pode ter como principal etiologia a contaminação bacteriana através da casca devido ao manejo incorreto.

Este trabalho teve como objetivo a verificação da presença e identificação das bactérias em ovos descartados durante o período de incubação dos avestruzes do Campo Experimental da ULBRA (CEULBRA), localizado no município de Montenegro, RS, no período de julho a outubro de 2005.

MATERIAL E MÉTODOS

Durante o procedimento da ovoscopia que foi realizado dentro da máquina de incubação, no 14º e 28º dia, os ovos foram avaliados pelo grau de sombreamento e classificados como inférteis (sem sombreamento), contaminados (quando possuíam áreas claras e escuras irregulares) sendo observado em alguns deles aspecto suado com odor fétido (Figura 1) e em férteis (40% sombreamento). Os ovos inférteis e contaminados foram descartados da incubação.



Figura 1 – Ovo descartado devido a contaminação com aspecto suado, expelindo conteúdo pelos poros.

Todos os ovos descartados da incubação foram colocados em sacos plásticos enviados refrigerados para o Laboratório de Bacteriologia do HV-ULBRA. No laboratório os ovos sofreram desinfecção externa com álcool iodado e foi feito um orifício em cada um deles, para a retirada de material para exame bacteriológico.

O material de cada ovo foi colhido com auxílio de agulha e seringa estéril (Figura 2) e inoculado em meios de cultura sólidos de Agar Sangue e Mac Conkey, em placas, sendo também inoculado caldo BHI em tubos. As placas e tubos foram incubados por 14 e 48 horas em estufa a 37°C e as colônias bacterianas identificadas através de coloração por Gram e realização de testes bioquímicos (OLIVEIRA, 2000).

Após a colheita do material para microbiologia, se realizava a abertura do ovo para evidenciar a presença de embrião (Figura 3).



Figura 2 – Colheita do material do ovo de avestruz através da utilização de seringa e agulha estéreis.



Figura 3 – Visualização do embrião (mortalidade tardia) após abertura do ovo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram incubados 107 ovos sendo que 21 foram descartados (Tabela 1). Após a realização do exame bacteriológico nos ovos descartados da incubação, foi confirmada a presença de contaminação bacteriana em 81% destes ovos (Tabela 2). Foi observado que a grande maioria dos ovos descartados foi colhida durante dias que se apresentavam úmidos e com chuva (Tabela 3).

Tabela 1 – Relação do número total e percentual de ovos incubados, descartados e contaminados.

Ovos incubados		Ovos descartados		Ovos com contaminação bacteriana	
Nº total	%	Nº total	%	Nº total	%
107	100	21	19,6	17	15,9

Tabela 2 – Relação do número total e percentual de ovos descartados e contaminados.

Ovos descartados		Ovos com contaminação bacteriana	
Nº total	%	Nº total	%
21	100	17	81

Tabela 3 – Condições climáticas do dia da postura dos 21 ovos descartados.

Condições climáticas			
Sol	Úmido / Nublado	Chuva	
Nº ovos	6	5	10

O descarte dos ovos ocorreu em períodos distintos durante a incubação (Tabela 4). Na primeira ovoscopia foram descartados 9 ovos (42,9%), na segunda, 3 ovos (14,3%) e na terceira, 9 ovos (42,9%). O maior percentual de ovos contaminados foi evidenciado na 2^a ovoscopia (100%). Dos 21 ovos descartados 10 tinham embrião formado, ou seja 47,6% dos ovos.

Tabela 4 – Número de ovos descartados em cada ovoscopia, evidenciando a presença ou ausência de contaminação bacteriana e de embrião.

Ovoscopia	Nº de ovos descartados	Ovos com contaminação		Ovos sem contaminação		Ovos com embrião	
		Nº total	%	Nº total	%	Nº total	%
1 ^a (14º dia)	9	6	66,7	3	33,3	---	
2 ^a (28º dia)	3	3	100	---		1	33,3
3 ^a (39º dia)	9	8	88,9	1	11,1	9	100
TOTAL	21	17		4		10	

Os resultados dos exames bacteriológicos estão listados na Tabela 5, onde se evidencia que *Escherichia coli* e *Pseudomonas* sp. foram às bactérias isoladas com maior freqüência nos ovos descartados.

Tabela 5 – Bactérias isoladas dos ovos de avestruzes descartados da incubação.

Bactérias isoladas	Nº ovos	%
<i>Escherichia coli</i>	7	33,33
<i>Pseudomonas sp</i>	4	19,05
<i>Pseudomonas sp + E. coli</i>	3	14,29
<i>Proteus + E. coli</i>	1	4,76
<i>Streptococcus sp</i>	1	4,76
<i>Bacillus sp</i>	1	4,76
Sem crescimento	4	19,05
TOTAL	21	100%

De acordo com Quinn et al. (2005), as espécies de *Pseudomonas* são microorganismos ambientais de ocorrência mundial, tanto na água como no solo. *Pseudomonas aeruginosa* também é encontrada na pele, nas mucosas e fezes. *Escherichia coli* são enterobactérias, isto é, encontram-se e multiplicam-se no trato intestinal. Os isolamentos de *E. coli* que se verificam na Tabela 5 podem ter ocorrido devido à contaminação do ovo durante sua passagem pela cloaca por ocasião da postura.

Kornfeld et al. (2001) citam que ovos aparentemente limpos com ausência de terra ou fezes na superfície da casca, podem conter contaminação bacteriana em potencial adquirida na passagem pela cloaca, no contato com o solo, com as mãos ou caixas de transporte.

O grande percentual de contaminação dos ovos descartados neste período de incubação está, provavelmente, relacionado com o período de grande umidade ocorrido durante a postura dos mesmos, manejo realizando apenas uma coleta de ovos pela manhã, ocorrendo o pernoite dos mesmos ao relento. Estes dois fatores citados como causas de contaminação estão de acordo com as afirmações de Stewart (1996) e Huchzermeyer (2000), que citam que os ovos de avestruzes são postos geralmente durante à tarde e ao anoitecer e se deixados no ninho durante a noite a casca ficará exposta à umidade sendo um veículo para a entrada de bactérias pelos poros. Estes autores ainda relatam à probabilidade de maior contaminação bacteriana em ovos colocados em dias de chuva.

Feser (2005) relata que obteve uma queda no número de ovos contaminados entre as estações reprodutivas de 2003 e 2004 após adotar medidas de manejo relacionadas com coleta de ovos pela manhã e no final da tarde e menor contato com os ovos durante a ovoscopia.

Outro fator que é importante salientar como provável causa potencial de contaminação, está relacionada ao manejo utilizado no recebimento do ovo, onde sempre ocorreu a lavagem do mesmo com água morna. Pérez (2003) relata que somente se não for possível limpar completamente a

casca usando um papel absorvente descartável é que se lavaria com uma mínima quantidade de água morna secando rapidamente. No entanto Deeming (1997) e Huchzermeyer (2000) afirmam que a lavagem dos ovos não é um problema desde que realizada corretamente.

Pérez (2003) e Kornfeld (2004) relatam que após a higienização, os ovos devem ir para câmara de fumigação com paraformaldeído onde ficam por 10 a 15 minutos, a fim de reduzir a proliferação bacteriana. Kornfeld (2004) salienta que a dosagem do paraformaldeído deve ser de 5 a 7 g/m³, pois dosagens menores serão ineficientes na desinfecção do ovo e dosagens maiores desencadeiam a morte embrionária do mesmo. Este procedimento de desinfecção não foi realizado durante o período de incubação, podendo ser outro fator relevante na contaminação bacteriana dos ovos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos nos exames bacteriológicos evidenciaram que a grande maioria dos ovos descartados apresentava contaminação bacteriana. Alternativas simples para melhora no manejo dos ovos devem ser implementadas. Entre elas a coleta dos ovos ao final de tarde, desinfecção freqüente da caixa de transporte, evitar a lavagem dos ovos e deve ser realizada da fumigação dos mesmos. Estas alterações devem diminuir os índices de ovos contaminados com bactérias.

REFERÊNCIAS

- DEEMING, D. C. *El aveSTRUZ: biología, producción y sanidad*. Zaragoza: Editorial Acribia, 2000.
- FESER, M. Análise de índices reprodutivos de avestruzes de um criatório no Rio Grande do Sul. *A Hora Veterinária*, ano 24, n.143, jan.-fev. 2005. p.48-50.
- HUCHZERMAYER, F. W. *Doenças de avestruzes e outras ratitas*. Jaboticabal: Funep, 2000.
- KORNFELD, M. E. Introdução e histórico. In: CARRER, C. C.; KORNFELD, M. E.; ELMÔR, R. A. *Apostila do Curso de Criação de Avestruzes – Elaborado pela Equipe Técnica da ACAB (Associação dos Criadores de Avestruzes do Brasil)*. São Paulo. 2004.
- KORNFELD, M. E.; ELMÔR, R. A.; CARRER, C. C. *Avestruzes no Brasil: incubação e criação de filhotes*. Pirassununga: Brasil Ostrich, 2001.

OLIVEIRA, S. J. *Microbiologia veterinária: guia bacteriológico prático*. 2.ed. Canoas: Editora ULBRA, 2000.

PÉREZ, J. Sistemas de producción y manejo en la fase de incubación. In: CARBÓ, C. B. *Producción del avestruz: aspectos claves*. Madrid: Mundiprensa, 2003.

STEWART, J. S. Hatchery management in ostrich production. In: TULLY, T. N.; SHANE, S. M. *Ratite: management, medicine and surgery*. Florida: Krieger, 1996.

Verificação do “status” microbiológico de carcaças de frangos a partir de técnicas complementares à Portaria Ministerial nº 210

Microbiological “status” of poultry carcasses using complementary techniques to the Ministry Instruction 210

LA VEGA, Leonardo Thielo de - Médico Veterinário

ABILLEIRA, Fernanda de Souza - Médica Veterinária, Residente de Microbiologia, Laboratório de Microbiologia de Alimentos, Hospital Veterinário, ULBRA

PASSOS, Daniel T. - Dr., Prof. do Curso de Medicina Veterinária, Lab. de Biotecnologia

HEPP, Diego - Biólogo, Lab. de Biotecnologia

OLIVEIRA, Sérgio J. de - Dr., Professor do Curso de Medicina Veterinária, Laboratórios de Microbiologia, Hospital Veterinário, ULBRA, Canoas, RS.

Data de recebimento: abril 2006

Data de aprovação: agosto 2006

Endereço para correspondência: Sérgio J. de Oliveira. Rua Mauro Mendes Totta, 493, Eldorado do Sul, RS, 92990-000. E-mail: serjol@terra.com.br

RESUMO

Foi realizada avaliação microbiológica de carcaças de frango com temperaturas superiores a 10°C ao término do processo de pré-resfriamento, em um matadouro-frigorífico localizado no Rio Grande do Sul. Avaliou-se o resfriamento e o congelamento imediato das carcaças como modelos de ação corretiva, através da contagem de coliformes, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp, *Clostridium* spp e *Arcobacter* spp. Foram observados comportamentos microbiológicos semelhantes entre os produtos testados, sugerindo que o congelamento imediato pode substituir o resfriamento intermediário para carcaças comercializadas na forma congelada, proporcionando ganho em tempo e diminuição de custos.

Palavras-chave: microbiologia, carcaças de frango, técnicas complementares.

ABSTRACT

Poultry carcasses at temperature above 10°C after pre shilling in an abattoir in Rio Grande do Sul, Brazil, were submitted to bacteriological tests. It was evaluated shilling and freezing processes by bacteriology, counting coliforms, *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp, *Clostridium* spp and *Arcobacter* spp. Similar results were obtained suggesting that immediate freezing could substitute intermediary processes for carcasses submitted to freezing and being commercialized, reducing costs to the abattoir.

Key words: microbiology; poultry carcasses; complementary techniques.

INTRODUÇÃO

A eficiência do processo de pré-resfriamento de carcaças de frango por imersão em água gelada com adição de gelo, subordina-se ao controle de diversas variáveis. O domínio dos elementos de influência sob esta etapa industrial demanda inúmeros cuidados do ponto de vista técnico e gerencial.

A complexidade de uma modelagem fenotípica compõe-se dos seguintes aspectos, como cita Klassen (2004): variação do peso médio de lotes; velocidade de abate; vazão da água de renovação dos módulos; temperatura da água; temperatura inicial do frango; tempo de retenção nos chillers; eficiência do borbulhamento; massa de gelo adicionada (total e por módulo); temperatura do gelo; temperatura de umidade do ar; espessura e materiais de isolamento; área de lâmina d'água; correntes de ar na seção dos tanques, entre outros.

A Portaria nº 210 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (1998) determina temperatura inferior a 7°C para carcaças no final da etapa de pré-resfriamento, tolerando temperaturas entre 7 e 10°C para carcaças destinadas ao congelamento imediato. Entretanto, de um modo geral, algumas situações cotidianas ou acidentais dentro do contexto industrial podem implicar em um descumprimento não proposital dos termos legais.

A lacuna deixada pela referida Portaria e demais legislações específicas, abre precedentes para diversas discussões a respeito de qual o melhor procedimento a ser tomado frente a uma não conformidade de temperatura de carcaça após o estágio de pré-resfriamento.

Algumas empresas buscam sugerir ao Ministério da Agricultura ações corretivas viáveis do ponto de vista econômico e higiênico-sanitário. Duas ações foram testadas experimentalmente: a) Refrigeração em Câmara de Resfriamento até que o produto alcance a temperatura regulamentar de 7°C (modelo corretivo utilizado pela empresa). b) Congelamento Imediato em Túnel de Congelamento Rápido.

As bactérias pesquisadas, bem como as técnicas utilizadas, foram definidas através de orientação do Mara (1992). Além de coliformes, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp e *Clostridium* spp, visou-se também verificar a presença de *Arcobacter* spp.

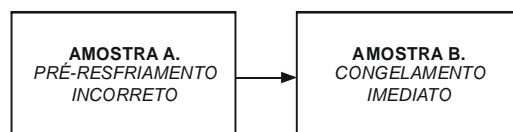
MATERIAIS E MÉTODOS

Seqüestrou-se um lote inicial de 150 carcaças de frango no início do chiller. As carcaças possuíam peso médio de 1.700g. A temperatura variou entre 11,3°C a 15,7°C, com média de 12,5°C. Acondicionaram-se as carcaças em caixas plásticas sobrepostas em palete. Colheram-se para análise imediata 10 carcaças do lote, verificando-se a condição microbiológica da partida (Amostra A). Colheram-se outras 10 carcaças, que foram embaladas de forma rotineira e submetidas ao congelamento rápido em túnel de congelamento a 36°C negativos (Amostra B). As carcaças restantes (130) foram direcionadas para a câmara de refrigeração com temperatura de 0°C, onde permaneceram por aproximadamente 7 horas, atingindo temperatura média de 5,6°C. Colheram-se 20 carcaças resfriadas (lote inicial), das quais 10 passaram por análise microbiológica imediatamente após o resfriamento (Amostra C) e 10 foram embaladas de forma rotineira e submetidas ao túnel de congelamento rápido à temperatura de 36°C negativos (Amostra D). Por fim, analisou-se a microbiota dos lotes congelados (Amostras B e D).

Procurou-se traçar um perfil microbiano das carcaças em diferentes momentos de cada técnica de frigorificação. Considerou-se o “status” microbiológico do momento zero (Amostra A) como ponto de referência para uma análise comparativa entre as amostras colhidas em instantes distintos do experimento, levando-se em consideração a variação do tempo e temperatura.

O esquema abaixo demonstra as etapas industriais de onde se originaram as amostras:

- Congelamento imediato em túnel de congelamento rápido:



- Refrigeração em câmara de resfriamento para alcance da temperatura regulamentar:



O plano amostral teve como base um programa computacional chamado *Win Epscope*, presumido em confiabilidade de 99%. Este programa calcula o tamanho da amostragem a partir do número de animais abatidos; prevalência dos patógenos que se busca quantificar e o nível de confiabilidade desejado. Foram analisadas 40 carcaças de frango ao total.

As amostras foram analisadas no Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Hospital Veterinário da ULBRA. No laboratório foram realizados exames bacteriológicos, conforme Mara (1992).

A Figura 1 fornece a ordem seqüencial das amostras analisadas:

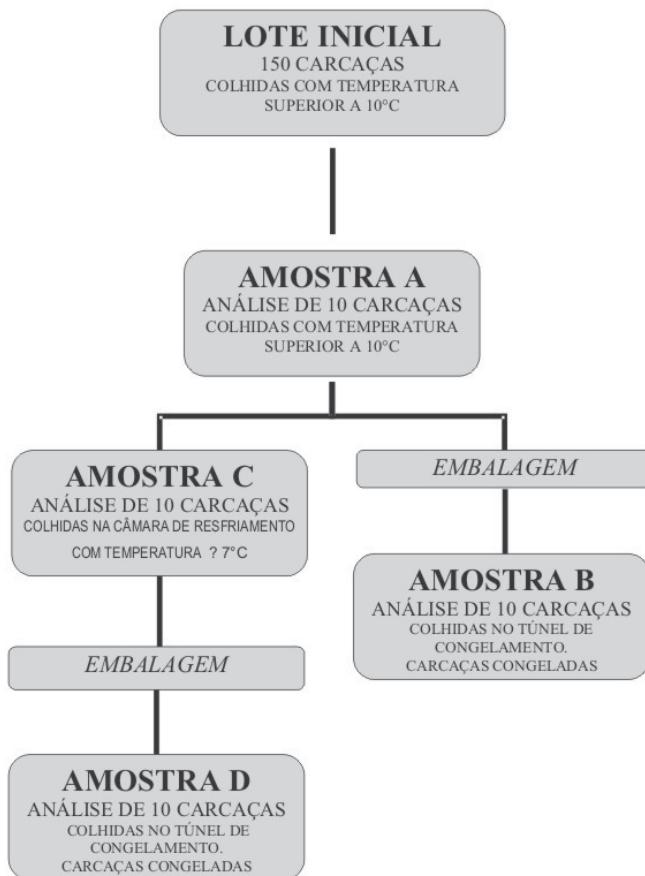


Figura 1 – Carcaças analisadas.

Os exames visaram determinar o número de Unidades Formadoras de Colônia (UFC) de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp e Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais, coliformes fecais e *Clostridium* spp, bem como a presença de *Arcobacter* spp.

Os materiais foram encaminhados ao laboratório acondicionados, logo

após a colheita no frigorífico, consistindo em carcaças inteiras de frango. Foram feitas pesagens de duas porções de 25 gramas de cada material. Em seqüência, uma porção foi inoculada em meio de água peptonada a 1% em frascos contendo 225mL, e este foi incubado por 24 horas a 37°C, visando o cultivo de *Salmonella* spp . Outra porção de 25g foi triturada, diluída e homogeneizada em 225 mL de água peptonada a 0,1%, durante 1 minuto, utilizando-se o aparelho “Stomacher”.

Após a homogeneização, foram feitas diluições 10^{-2} e 10^{-3} , 10^{-4} e 10^{-5} , em água peptonada a 0,1% em tubos contendo 9mL, a partir do homogeneizado diluído a 10^{-1} . A seguir, cada diluição foi inoculada (0,1mL) em 3 tubos contendo caldo lactosado (Difco) com um tubo de Duran invertido, sendo estes incubados a 37°C, por 24 – 48 horas, visando o cultivo de coliformes totais. As três primeiras diluições foram também inoculadas respectivamente em 3 placas de meio sólido de Baird-Parker, 0,1 mL, espalhado o inóculo com alça de Drigalski. As placas foram incubadas a 37°C durante 48 horas. Em seqüência, as diluições em água peptonada foram também inoculadas em meio DRCM para cultivo de *Clostridium* spp, 3 tubos para cada diluição. Estes, depois de inoculados, foram submetidos a aquecimento de 75°C em banho-maria por 15 minutos, visando a eliminação de bactérias não esporuladas. Após, os tubos com DRCM foram incubados em estufa a 37°C, por 48 horas.

Passadas 24–48 horas das inoculações foram feitas as leituras dos tubos para coliformes totais, separando-se aqueles em que houve visualização de formação de gás no tubo de Duran, nas diluições correspondentes, interpretando-se os resultados utilizando a tabela, traduzindo-se em número mais provável de colônias por grama (NMP/g). Estes foram inoculados em meio EC (Difco) em tubos contendo também tubo de Duran e incubados a 45°C em banho-maria por 24 – 48 horas, visando detectar coliformes fecais.

Os frascos para cultivo de *Salmonella* spp foram retirados da estufa e foram inoculados 0,05 e 0,5 mL respectivamente em caldo de Rappaport e caldo selenito e estes foram incubados juntamente com os tubos de meio EC, a 45°C, por 24 – 48 horas em banho-maria. Após o período de incubação, a partir dos tubos com Rappaport e caldo selenito foram inoculadas respectivamente duas placas com meio sólido de XLD para isolamento de *Salmonella* spp. As placas foram incubadas até o dia seguinte, a 37°C.

Os tubos com meio EC, incubados a 45°C foram lidos, verificando-se a formação de gás no tubo de Duran, nas respectivas diluições, utilizando-se a tabela para determinar o número mais provável (NMP/ g).

Passadas 48 horas de incubação, as placas de Baird-Parker foram lidas

visando verificar a presença de colônias de *Staphylococcus aureus* e realizando-se a contagem. Os tubos inoculados para cultivo de *Clostridium* spp foram lidos: naqueles em que havia mudança de coloração do meio, estes eram inoculados em placas de ágar sangue e estas incubadas em anaerobiose a 37° C por 48 horas, quando era feita a leitura.

Para o cultivo de *Arcobacter* spp, fragmentos de cada carcaça foram inoculados em meio de cultura EMJH líquido, em tubos e incubados a 30°C, sendo visualizados ao microscópio e realizados testes de PCR, conforme Oliveira et al., (2001).

O DNA total de cada isolamento caracterizado como *Arcobacter* spp. foi extraído de acordo com o protocolo de Boom et al., (1990).

As seqüências de *primers* foram desenhadas para amplificar um fragmento de 1202-pb com uma região de código 16S RNAr do gênero *Arcobacter*. Esse desenho foi baseado num alinhamento de 16S RNAr de seqüências de diferentes espécies de *Arcobacter* que demonstram regiões conservadas em comum e que serviram para apontar os *primers*. Os iniciadores usados neste estudo são ARC-1: 5' – AGA GAT TAG CCT GTA TTG TAT C- 3' e ARC-2: 5' – TAG CAT CCC CGC TTC GAA TGA – 3' (HARMON e WESLEY, 1996; OLIVEIRA et al., 2001).

A amplificação foi realizada inicialmente com uma desnaturação por 3 minutos em 94°C, seguido por 30 ciclos de amplificações, cada um consistindo de 94°C por 60 segundos, 56°C por 60 segundos e 72°C por 60 segundos para os *primers* ARC-1 e ARC-2, e 40 ciclos de 94°C por 20 segundos, 60°C por 40 segundos e 72°C por 60 segundos para os *primers* ARC-5 e ARC-6. Uma extensão final em 72°C por 5 minutos foi incluída.

Seguindo a amplificação, o produto amplificado dos *primers* ARC-1 e ARC-2 (gênero específico) foi digerido pela enzima *Ssp I* para descriminar entre as espécies *A. butzleri* e *A. cryaerophilus* com base nos fragmentos gerados para restrição. O produto de *A. butzleri* formou fragmentos de 142, 358 e 701 pares de base, enquanto as amostras de *A. cryaerophilus* formaram fragmentos de 142 e 1060 pb.

Os produtos da amplificação e digestão foram visualizados através de gel de poliacrilamida a 10,5% em eletroforese corados com nitrato de prata (SANGUINETTI et al., 1994).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados são apresentados nas Figuras 2, 3, 4, 5 e 6.

Exames	1	2	3	4	5
Col. Totais	150/g	93/g	43/g	93/g	23/g
Col. Fecais	43/g	15/g	43/g	11/g	9/g
<i>S. aureus</i>	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Ausentes
<i>Salmonella</i>	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Ausentes
Clostrídios	3/g	3/g	3/g	3/g	3/g
Exames	6	7	8	9	10
Col. Totais	93/g	2400/g	23/g	460/g	93/g
Col. Fecais	21/g	1100/g	23/g	93/g	15/g
<i>S. aureus</i>	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Ausentes
<i>Salmonella</i>	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Ausentes
Clostrídios	3/g	3/g	3/g	3/g	3/g

Figura 2 – Resultados dos exames bacteriológicos em carcaças pré-resfriadas a temperatura acima de 10°C (pré-resfriamento inadequado).

Exames	11	12	13	14	15
Col. Totais	150/g	93/g	93/g	460/g	75/g
Col. Fecais	75/g	93/g	150/g	150/g	75/g
<i>S. aureus</i>	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Ausentes
<i>Salmonella</i>	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Ausentes
Clostrídios	3/g	3/g	3/g	3/g	3/g
Exames	16	17	18	19	20
Col. Totais	23/g	43/g	43/g	240/g	43/g
Col. Fecais	23/g	43/g	23/g	240/g	23/g
<i>S. aureus</i>	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Ausentes
<i>Salmonella</i>	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Ausentes
Clostrídios	3/g	3/g	3/g	3/g	3/g

Figura 3 – Resultados dos exames realizados em carcaças resfriadas a temperatura igual ou inferior a 7°C (câmara de resfriamento).

Exames	1	2	3	4	5
Col. Totais	23/g	93/g	240/g	150/g	150/g
Col. Fecais	23/g	93/g	240/g	150/g	150/g
<i>S. aureus</i>	Ausentes	Ausentes	20/g	Ausentes	10/g
<i>Salmonella</i>	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Ausentes
Clostrídios	3/g	3/g	3/g	3/g	3/g
Exames	6	7	8	9	10
Col. Totais	240/g	23/g	75/g	93/g	93/g
Col. Fecais	43/g	9/g	75/g	93/g	4/g
<i>S. aureus</i>	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Ausentes
<i>Salmonella</i>	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Ausentes
Clostrídios	3/g	3/g	3/g	3/g	3/g

Figura 4 – Resultados dos exames bacteriológicos em carcaças congeladas que anteriormente estavam a temperatura acima de 10°C.

Exames	11	12	13	14	15
Col. Totais	23/g	75/g	43/g	43/g	150/g
Col. Fecais	9/g	43/g	23/g	9/g	7/g
<i>S. aureus</i>	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Ausentes
<i>Salmonella</i>	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Ausentes
Clostrídios	3/g	3/g	3/g	3/g	3/g
Exames	16	17	18	19	20
Col. Totais	43/g	240/g	240/g	75/g	93/g
Col. Fecais	15/g	43/g	93/g	75/g	23/g
<i>S. aureus</i>	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Ausentes
<i>Salmonella</i>	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Ausentes
Clostrídios	3/g	3/g	3/g	3/g	3/g

Figura 5 – Resultados dos exames bacteriológicos em carcaças congeladas, que anteriormente estavam em temperatura igual ou inferior a 7°C.

Foram isoladas 8 amostras do gênero *Arcobacter spp*, respectivamente 3 de carcaças pré-resfriadas em temperatura acima de 10°C, duas de carcaças resfriadas até 7°C e 3 de amostras colhidas de carcaças congeladas. As amostras foram classificadas como *A. butzleri* (2) e *A. cryaerophilus* (6), através de técnica molecular, utilizando-se o método de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) (Figura 6).

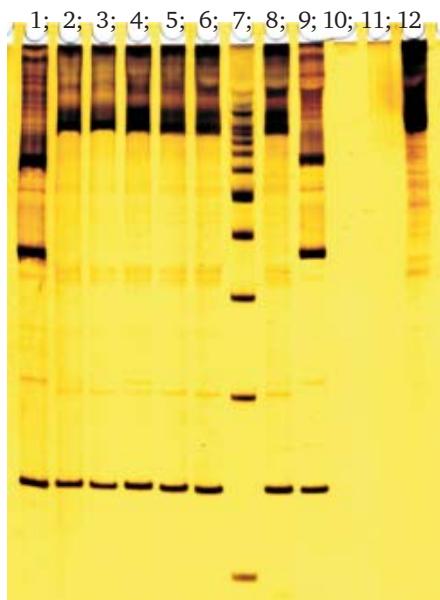


Figura 6 – Gel de poliacrilamida: Coluna 1: *A. butzleri*; Colunas 2, 3, 4, 5 e 6: *A. cryaerophilus*. Coluna 7: marcador de peso molecular de 1202 pb. Coluna 8: *A. cryaerophilus*. Coluna 9: *A. butzleri*. Coluna 12: controle não clivado.

Analizando as Figuras 2, 3, 4 e 5, observam-se resultados semelhantes para os diferentes tipos de materiais examinados, excetuando-se a carcaça nº 7 pré-resfriada a temperatura acima de 10°C, a qual apresentou

contagem de número mais provável de coliformes totais e fecais acima das demais carcaças. No entanto ainda se enquadra dentro das normas estabelecidas pela Resolução RDC nº 12, Anvisa (2001). Em nenhuma das carcaças examinadas foi detectado *S. aureus* ou *Salmonella* spp. Portanto, para fins de inspeção para o consumo humano, todos os produtos foram aprovados.

Os resultados obtidos nesta pesquisa piloto deverão ser confirmados examinando-se número maior de carcaças. No entanto, há indícios de que se pode evitar perda de tempo e perda econômica resfriando carcaças que estavam inicialmente acima de 10°C, esperando que atinjam temperatura igual ou inferior a 7°C para depois irem ao congelamento.

No presente trabalho verificou-se que carcaças congeladas sem passar por novo resfriamento estavam aptas ao consumo. Não está calculada ainda a economia do tempo e dos custos inerentes ao resfriamento corretivo, mas a pesquisa contribui de forma objetiva neste sentido. Para uma avaliação com relação à economia de tempo e de custos, consideram-se os fatores correlacionados à interrupção do processo fabril e, por outro lado, a mão-de-obra e o custo de produção de frio intrínsecos ao resfriamento.

Quanto à presença de *Arcobacter* spp em carcaças de frangos, tem sido descoberta freqüente em diversos países, incluindo o Brasil (OLIVEIRA et al., 2001). No entanto, o presente trabalho registra pela primeira vez no nosso País a ocorrência das bactérias em frangos congelados. Este fato torna-se importante, visto que *Arcobacter* spp, especialmente *A. butzleri* tem sido causa de diarréia persistente em seres humanos (WESLEY, 1996).

CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos pode-se concluir que foi atingido o objetivo principal do presente estudo. Segundo os achados, há indícios de que se pode utilizar o congelamento imediato como modelo corretivo de temperatura, uma vez que o mesmo se mostrou capaz de otimizar recursos industriais e garantir a inocuidade dos alimentos. Entretanto, uma avaliação estatística, a partir de um plano amostral amplo, deve confirmar os resultados aqui publicados.

Considerando-se a patogenicidade do gênero *Salmonella*, salienta-se a negatividade dos cultivos do microrganismo nas 40 carcaças submetidas à análise.

Considerando-se relevante o isolamento do gênero *Arcobacter* nas carcaças analisadas, especialmente em congeladas pelo fato de não haver publicação no país até o presente momento, aponta-se um novo horizonte de pesquisa no que se refere à biologia desse microrganismo.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à colaboração da Técnica em Laboratório Jane Mendez Brasil.

REFERÊNCIAS

- BOOM, R.; SOL, C. J. A.; SALIMANS, M. M. M.; JANSEN, C. L.; WERTHEIM-VAN DILLEN, P. M. E.; VAN DER NOORDAA, J. Rapid and simple method for purification of nucleic acids. *Journal of Clinical Microbiology*, v.28, n.3, p.495-503, 1990.
- MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento: *Regulamento Técnico de Carne de Aves*; (Portaria N° 210). Brasília, 1998.
- HARMON, K. M.; WESLEY, I. V. Identification of *Arcobacter* isolates by PCR. *Letters Applied Microbiology*, v. 23, p. 241-244, 1996.
- KLASSEN, T. *Modelagem do Sistema de Refrigeração de Carcaças de Frangos com Redes Neurais Artificiais*. Toledo, 2004.
- MARA – Ministério da Agricultura, do Abastecimento e Reforma Agrária – *Métodos de análise microbiológica para alimentos* 2. ed. Brasília, 1992.
- OLIVEIRA, S. J. de; MORAES, H. L. S.; KUCHENBECKER, B. S.; IKUTA, N.; LUNGE, V. R.; FONSECA, A.; COIRO, J. R. Isolation of *Arcobacter spp* from poultry carcasses in Brazil. *Ciência Rural*, v.31, n.4, p.639-643, 2001.
- SANGUINETTI, C. J. et al. Rapid silver staining and recovery of PCR products separated on polyacrylamide gels. *Biotechniques*, v.17, p.915-919, 1994.
- WESLEY, I. V. *Helicobacter* and *Arcobacter* species: risks for foods and beverages. *Journal of Food Protection*, v.59, n. 10, p.1127-1132, 1996.

Detecção de *Listeria monocytogenes* em amostras de queijo colonial maturadas a temperatura ambiente e sob refrigeração

Detection of *Listeria monocytogenes* in samples of cheese matured at the environment and under refrigeration

VARGAS, Lucas Vinicius – Médico Veterinário

PIANTA, Celso – Dr., Professor do Curso de Medicina Veterinária, ULBRA

IKUTA, Nilo – Dr., Laboratório de Diagnóstico Molecular, ULBRA

OLIVEIRA, Sérgio J. de – Dr., Professor do Curso de Medicina Veterinária, ULBRA

Data de recebimento: março 2006

Data de aprovação: junho 2006

Endereço para correspondência: Sérgio J. de Oliveira. Rua Mauro Mendes Totta, 493, Eldorado do Sul, RS. CEP 92990-000. E-mail: serjol@terra.com.br

RESUMO

Foram analisadas porções de queijo colonial contaminadas experimentalmente em laboratório com amostra padrão de *Listeria monocytogenes*, sendo 50% das amostras mantidas a temperatura ambiente e 50% em refrigeração a 5°C. Foram feitas 13 colheitas de queijo no período de 28 dias. Nestas amostras foram feitos exames bacteriológicos visando a contagem de *E. coli*, coliformes, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes*, sendo também testados por PCR para detecção de DNA de *Listeria* sp. Observou-se que *Listeria monocytogenes* foram cultivadas de amostras sob refrigeração até o final do experimento, enquanto que, em amostras mantidas a temperatura ambiente, os microorganismos foram isolados somente até 21 dias após a inoculação das mesmas. Em todas as amostras de queijo houve contagem elevada de coliformes totais e *E. coli*.

Através de PCR, foi detectado DNA de *L. monocytogenes* em todas as amostras resfriadas a 5°C nos meios de cultura Fraser e LEB e até o dia 21 após a inoculação nas amostras mantidas em temperatura ambiente em meio LEB, sendo negativas no Fraser no dia 28.

Palavras-chave: *Listeria monocytogenes*, queijo, maturação.

ABSTRACT

Portions of cheese experimentally contaminated with *Listeria monocytogenes* were kept, some of them (50%) at environmental temperature and others under refrigeration at 5°C. Thirteen samples were obtained on 28 days, been submitted to bacteriological examination to detect *E. coli*, coliforms, *S. aureus*, *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes*. PCR tests were performed to detect *Listeria* DNA. *L. monocytogenes* was grown onto Fraser and LEB medium, until the end of the experiment, from samples kept under refrigeration, while the microorganisms were found only until day 21 from samples kept at the environment. All the cheese samples showed elevate counts of *E. coli* and coliforms. PCR tests detected *L. monocytogenes* DNA until day 21 on samples kept at the environment, from Fraser medium, although samples kept at 5°C were PCR positive until the end of the experiment.

Key words: *Listeria monocytogenes*, cheese, maturation.

INTRODUÇÃO

Diversos microorganismos patogênicos podem ser encontrados contaminando o queijo, destacando-se *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes*.

Visando atender à Legislação Brasileira e às exigências dos países importadores, os diversos segmentos da indústria alimentícia brasileira têm dado maior atenção à pesquisa de *Listeria*, tanto em seus produtos quanto no ambiente de produção (RODRIGUES et al., 2003).

De acordo com Silva et al. (1998), a listeriose humana acomete principalmente recém-nascidos, gestantes e idosos. A percentagem de casos fatais é elevada (30%). As manifestações clínicas comumente associadas a tal contaminante são: meningite, septicemia, formas tifóidicas e pulmonares, granulomatose séptica e aborto. Nas bactériemias por *L. monocytogenes* em adultos, o sintoma mais comum é a febre, podendo ocorrer fadiga, mal estar, náusea, vômitos, dores e diarréia.

A *L. monocytogenes* pode ser encontrada tanto em animais infectados, como no ambiente onde os animais se encontram, portanto, pode-se deduzir que cuidados na produção dos queijos tipo “frescal” tornam-se essenciais para evitar a contaminação dos mesmos.

O presente trabalho procura agregar conhecimentos sobre a multiplicação e estabilidade da *L. monocytogenes* em queijos.

Qualidade microbiológica do queijo tipo “colonial” no Rio Grande do Sul

Dentre os produtos derivados do leite, o queijo é considerado um veículo freqüente de patógenos de origem alimentar e, em especial, os queijos frescos artesanais por serem, na maioria das vezes, elaborados a partir de leite cru e não sofrerem processo de maturação. A contaminação microbiana desses produtos assume destacada relevância tanto para a indústria, pelas perdas econômicas, como para a saúde pública, pelo risco de causar doenças transmitidas por alimentos (FEITOSA et al., 2003).

A indústria de laticínios processa em torno de 60% do total de leite produzido no Brasil, sendo o restante consumido diretamente pelo mercado informal sem qualquer processamento industrial e sem qualquer fiscalização higiênico-físico ou sanitária, onde do total processado 20% são comercializados em forma de queijos (ARAÚJO et al., 2001).

Os queijos tipo “colonial” no Rio Grande do Sul não apresentam padrões físico-químicos nem microbiológicos definidos. Alguns são consumidos após 2 ou 3 dias de maturação em ambiente refrigerado, sem apresentar a formação de casca; e outros são maturados por períodos de 15 a 20 dias no mínimo, em temperatura ambiente (BERNARDY, 2003).

O gênero Listeria

Listeria spp. são bastonetes pequenos, mesófilos, gram-positivos, não esporulados, aeróbicos, facultativamente anaeróbicos, catalase positiva e oxidase negativa, sem cápsula, hemolíticos. São móveis a 28°C (CARTER et al., 1995; OLIVEIRA, 2000).

L. monocytogenes é patogênica para o homem e diversos animais e sua ampla distribuição ambiental, igual às outras espécies, é favorecida pela capacidade de se desenvolver entre 0°C e 44°C e, embora sua faixa ótima seja entre 30°C e 37°C, pode sobreviver em alimentos congelados. Tolerá pH extremos de 5 e 9, baixa atividade da água e concentrações de NaCl de 10% e até superiores. Este conjunto de características faz com que *Listeria* spp. e *L. monocytogenes*, em especial, sejam um patógeno emergente de grande interesse na área de alimentos e explica

o destaque que estes microrganismos vêm ocupando nos últimos anos no controle de qualidade na indústria de alimentos, visto as dificuldades de sua eliminação, assim como, a possibilidade de causar uma doença grave no consumidor (LANDGRAF, 1997; NOJIMOTO, 1994; CATÃO e CEBALLOS, 2001).

A listeriose ocorre esporadicamente no homem e pode apresentar uma variedade de formas clínicas: oculoglandular (conjuntivite), cervicoglandular (freqüentemente associado à faringite), pneumônica (freqüentemente com sintomas generalizados simulando febre tifóide) ou cutânea. As manifestações mais comumente encontradas são meningoencefalite, infecção genital com aborto habitual e septicemia infantil perinatal (KONEMAN et al., 1989).

São considerados como grupo de risco, em casos de contaminação por *L. monocytogenes*, crianças recém-nascidas (podendo a infecção ter sido adquirida *in útero* através da mãe), crianças maiores e adultos com resistência comprometida, particularmente naqueles com neoplasias avançadas, após transplantes renais ou com diabetes melito descompensada (KONEMAN et al., 1989).

Ação antagonista da microbiota do queijo frente aos patógenos

Uma grande variedade de espécies microbianas participa da constituição dos queijos. A população total supera geralmente 10^9 UFC/g. Este número varia muito pouco ao longo da maturação, contudo o equilíbrio entre os distintos grupos microbianos e, por consequência, a importância relativa das populações está em constante evolução. Este equilíbrio depende das condições de crescimento próprias de cada grupo. As características fisicoquímicas do meio (pH) e do ambiente (temperatura, composição da atmosfera) são definitivas no que se refere à evolução dos grupos microbianos. Ainda, entre os diferentes microorganismos pode-se observar fenômenos de associação, estimulação e inibição (ECK, 1990).

Atualmente, as bactérias láticas vêm assumindo grande importância na indústria de alimentos e em saúde pública por serem produtores de substâncias com conhecido potencial inibitório a microrganismos patogênicos. Essa atividade ocorre devido ao crescimento competitivo com outros microrganismos nos alimentos, potencializado pelos efeitos inibitórios de seus metabólitos (MARTINIS et al., 2003). A sua principal produção, o ácido lático, associado aos outros ácidos, como acético e propiônico, gera no alimento uma acidez que usualmente não é favorável à multiplicação e sobrevivência de bactérias Gram positivas e negativas, bem como de fungos e leveduras (GUERRA e BERNARDO, 2001). Alguns destes compostos também são responsáveis pelas características

organolépticas dos queijos e ao mesmo tempo inibem parte dos microorganismos da microflora indesejável (RACAH et al., 1979). Os principais grupos bacterianos que interferem ao longo da maturação dos queijos são os estreptococos lácticos (*Streptococcus lactis*, *S. cremoris* e *S. lactis* subsp, *diacetylactis*), os *Leuconostoc*, os lactobacilos (*Lactobacillus lactis*, *L. bulgaricus* e *L. helveticus*), as bactérias propiônicas (*Propionibacterium freudenreichi*, *P. jensenii*, *P. shermanii*), além dos micrococos e das corinebactérias (ECK, 1990).

Além das bactérias lácticas, outros microrganismos são capazes de produzir bacteriocinas: desde Gram negativos, como *Escherichia coli* produtora de colicinas, até outros microrganismos Gram positivos, como algumas espécies de *Staphylococcus* (CARR et al., 2002). Entretanto, as bactérias lácticas são consideradas atualmente os microrganismos produtores de bacteriocinas mais importantes (CARR et al., 2002).

Avaliação da capacidade de resistência da Listeria monocytogenes durante a maturação do queijo tipo colonial

Foi desenvolvida pesquisa no Laboratório de Microbiologia de Alimentos, Hospital Veterinário da ULBRA, visando verificar a presença de *Listeria monocytogenes* em queijo durante o processo de maturação, em vários dias de observação.

MATERIAIS E MÉTODOS

A partir de um queijo tipo “colonial” coletado aleatoriamente, foram separadas 39 frações de 25g para a realização das culturas microbianas. Para cada ponto de análise utilizou-se 3 frações de 25g de queijo para a realização do exame microbiológico (uma fração para a pesquisa de *L. monocytogenes*, uma fração para pesquisa de coliformes totais e *Escherichia coli* e outra fração para pesquisa de *Salmonella* spp.). O primeiro ponto de análise foi definido como sendo o queijo tal qual coletado, a fim de se conhecer a presença ou não, de bactérias em estudo, bem como o pH deste queijo. Os pontos de análise foram obedecendo à ordem natural dos dias de maturação do queijo e suas diferentes temperaturas de maturação previamente estabelecidas (Tabela 1).

Tabela 1 – Pontos de análise das amostras de queijo, em temperatura ambiente (TA) ou a 5°C.

PONTOS	MATURAÇÃO	TEMPERATURA
01	0h	5°C
02	24h	TA
03	24h	5°C
04	48h	TA
05	48h	5°C
06	7 dias	TA
07	7 dias	5°C
08	14 dias	TA
09	14 dias	5°C
10	21 dias	TA
11	21 dias	5°C
12	28 dias	TA
13	28 dias	5°C

Após o fracionamento do queijo, aquelas alíquotas que posteriormente foram submetidas à avaliação microbiológica receberam inoculo com *L. monocytogenes* ATCC 7644. O inoculo foi preparado a partir de um cultivo da bactéria padrão em Caldo BHI em estufa a 37°C por 48 horas. Passando este período, uma alíquota de 1,5ml deste caldo foi pipetada para cada eppendorf estéril, num total de 30 eppendorf, que posteriormente foram submetidos à centrifugação de 15000 rpm por 15 minutos. O caldo em excesso foi desprezado e o centrifugado foi ressuspenso em solução salina estéril, sendo inoculado posteriormente uma suspensão destas para cada alíquota de 25g de queijo, anteriormente fracionadas.

A inoculação foi realizada com o auxílio de Stomacher, homogeneizando-se as alíquotas de queijo.

Foi avaliada a resistência da bactéria *L. monocytogenes*, assim como dos coliformes totais e *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. e *Staphylococcus aureus* durante os diferentes períodos de maturação do queijo previamente inoculado com *L. monocytogenes*, e submetido à maturação, em temperaturas diferentes. Também foi realizada a mensuração do pH do queijo para cada uma das condições acima descritas.

Detecção de Listeria monocytogenes

Utilizou-se a metodologia descrita pela Instrução Normativa Nº 62, de 26 de agosto de 2003, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

Uma alíquota de 25g de queijo (previamente pesada e inoculada com *L. monocytogenes*), foi adicionada a 225ml de LEB (Listeria Enrichment Broth), constituindo-se no primeiro enriquecimento seletivo, que foi incubado a 30°C por 48 horas, depois de homogeneização em aparelho de “Stomacher”. Após este período, uma fração de 0,1ml do cultivo em LEB foi semeada em Caldo Fraser (segundo enriquecimento seletivo), e incubado novamente a 30°C por 48 horas. Passando-se este período, avaliou-se os frascos do caldo Fraser e aqueles que se apresentaram enegrecidos tiveram o inóculo repicado para Ágar Oxford (AO), Ágar Palcam (AP) e Ágar Triptose enriquecido com Ácido Nalidíxico (ATN). As placas de meio sólido foram incubadas em estufa a 30°C por 48 horas. As colônias típicas de *L. monocytogenes* foram repicadas em agar sangue de carneiro, para a visualização de hemólise e submetidas à identificação bioquímica (catalase, fermentação de açúcares – glicose, rhamnose, xilose, manitol, indol, VMVP, motilidade a 25°C), assim como a realização de coloração de Gram para visualização da morfologia dos microorganismos (Figura 1).

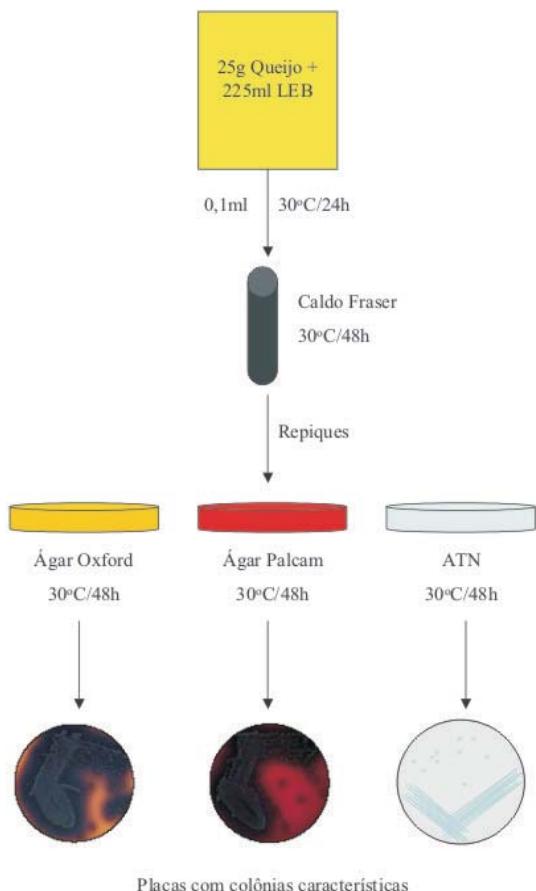


Figura 1 – Esquema demonstrando a metodologia utilizada para o isolamento da bactéria *Listeria monocytogenes*.

Detecção de Salmonella spp.

Foram adicionados 225ml de Água Peptonada a 1% em uma quantidade de 25g de queijo, homogeneizando-se a amostra com o auxílio do “Stomacher”. Colocou-se esta amostra em estufa a 37°C por 24h, conforme descrito por Silva et al. (1997).

Após, deste primeiro enriquecimento retirou-se uma alíquota de 0,05ml que foi inoculada em meio líquido Rappaport e outra alíquota de 0,5ml que foi inoculada em meio líquido Selenito-Cistina. Estes foram colocados em banho-maria a 45°C por 24h. A partir dos cultivos obtidos em Selenito-Cistina e Rappaport, realizou-se a semeadura destes caldos em meio sólido Agar XLD (com o auxílio de uma alça de platina), sendo colocado em estufa a 37°C por 24h, para ao final deste período ser realizada a leitura das placas (Figura 2).

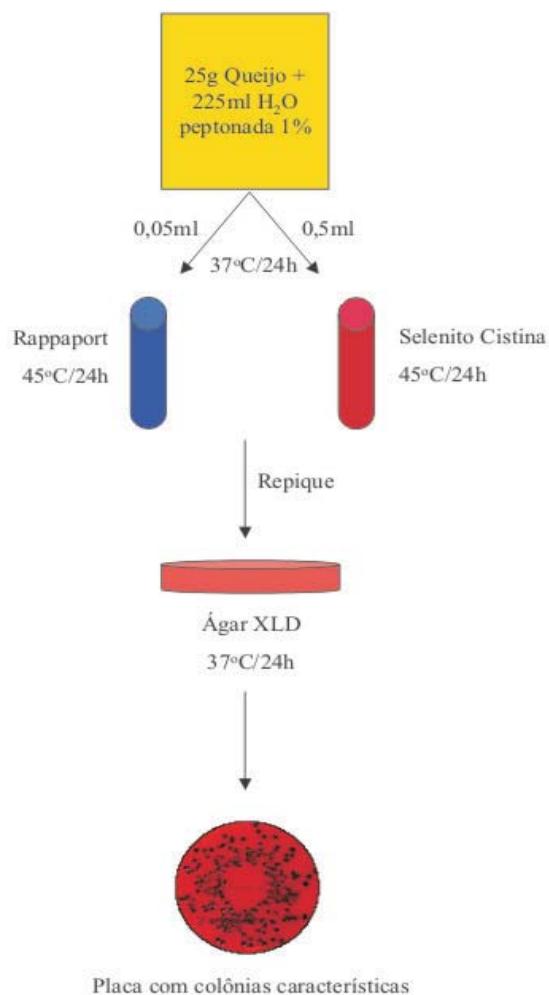


Figura 2 – Esquema demonstrando metodologia utilizada para o isolamento de *Salmonella* spp.

Detecção de coliformes totais e Escherichia coli

A contagem foi realizada conforme Silva et al. (1997).

Adicionou-se 25g de queijo em um frasco contendo 225ml de água peptonada a 0,1%, homogeneizando-se em stomacher, obtendo-se com isso a primeira diluição (10^{-1}) da amostra. A partir desta primeira diluição, foram realizadas outras 4 diluições, repassando-se 1ml da diluição anterior para tubos contendo 9ml de água peptonada a 1%, obtendo-se as diluições 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} e 10^{-5} .

Para cada diluição, realizou-se semeadura de 0,1ml em triplicata em tubos contendo 9ml de Caldo Lactosado, os quais foram colocados em estufa a 37°C por 48h. Após este período, observou-se a presença ou não de borbulhas nos frascos semeados, sendo os positivos (com gás) semeados em Caldo EC, e incubados em banho-maria a 45°C por 48h (Figura 3). Após este período, realizou-se a leitura dos tubos de EC, observando-se a formação de borbulhas ou não. O resultado foi expresso de acordo com a tabela de Mac Crady.

Detecção de Staphylococcus aureus

Para a realização desta etapa do trabalho, utilizou-se a técnica descrita por Silva et al. (1997). Semeou-se em placas de agar Bayrd-Parker, alíquotas de 0,1ml dos inóculos, provenientes das primeiras 3 diluições realizadas do queijo (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}), conforme descrito no item acima, sendo estas placas semeadas colocadas em estufa a 37°C por 48h, para posterior leitura.

Realizou-se a leitura das placas observando-se colônias características (negras, com um halo ao redor), com a consequente contagem das mesmas, para cada diluição. No caso de dúvida, a colônia em questão passou por repique para agar sangue, onde após incubação de 37°C por 24h, analisou-se a produção de b-hemólise, colônias brilhosas, regulares, caracterizando o *S. aureus*. Por fim, efetuou-se a prova da catalase, sendo o *S. aureus* positivo para esta prova.

Detecção de Listeria monocytogenes através de provas moleculares

Foram realizadas provas de PCR visando detectar DNA de *L. monocytogenes* em todas as etapas onde se realizava exames bacteriológicos, examinando-se cultivos em meios de LEB e Fraser, num total de 26 exames.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se a inexistência de amostra positiva para *Salmonella* spp. (Tabela 2) A legislação brasileira estabelece a necessidade de ausência desta bactéria em alimentos (MAPA, 2003; FEITOSA et al., 2003).

Ao longo da maturação das amostras, observamos contagens altas tanto para coliformes totais, como para *Escherichia coli* (Tabela 2) Para coliformes totais a 45°C, a legislação brasileira confere um limite de 5×10^3 UFC/g de queijo (MAPA, 2003). Não foram isolados *Staphylococcus aureus* das amostras maturadas, apenas no queijo recém coletado, ou seja, na amostra 001 (Tabela 2) A legislação brasileira confere como limite deste microorganismo, uma quantidade de 10^3 UFC/g (MAPA, 2003; FEITOSA et al., 2003).

Pôde-se observar crescimento de *Listeria monocytogenes* a partir das amostras, previamente coletas e inoculadas experimentalmente, até 21 dias de maturação nos queijos submetidos à temperatura ambiente, sendo após este período constatado o não crescimento da bactéria. Nos repiques provenientes das amostras mantidas sob refrigeração, visualizou-se crescimento da *L. monocytogenes*, pelo menos, até os 28 dias. Ainda, a partir dos 14 dias de maturação, os queijos maturados em temperatura ambiente proporcionaram um crescimento menor de listérias, em detrimento dos queijos maturados à 5°C (Tabela 2). Giombelli (2000) apresenta referências a respeito da melhor adaptação da *L. monocytogenes* em relação às demais bactérias presentes no leite e queijo quando submetida a temperaturas mais baixas. Morgan et al. (2001) já havia evidenciado em um estudo feito com leite de cabra cru, uma redução significativa da população de *L. monocytogenes* inoculadas após os 14 dias, sendo creditado este efeito à redução de pH e à provável produção de substâncias antagonistas, como bacteriocinas. A legislação brasileira determina que para queijos de alta e média umidade não haja presença de *L. monocytogenes* (ANVISA, 2001). Os exames moleculares através de PCR revelaram DNA de *L. monocytogenes* em cultivos obtidos de queijo com até 28 dias de maturação sob refrigeração (5°C), tanto em LEB quanto em Fraser. No entanto, para amostras mantidas em temperatura ambiente (amostra 012, Tabela 2), não foi detectado *L. monocytogenes* por PCR no meio de Fraser, sendo positivo apenas no LEB. Desta amostra 012 não foi possível cultivar *L. monocytogenes* pelo exame bacteriológico, confirmando a ausência de bactérias em queijo naquela temperatura, comparado à cultivos positivos até 28 dias e possivelmente mais tempo caso fosse prolongada a observação, em amostras mantidas sob refrigeração.

Amos	Matur	T(°C)	pH	CT	EC	Sau	Salm	Lis
001	0	5	4,82	>2,4x10 ³	>2,4x10 ³	5,5x10 ²	-	-
002	24h	TA	5,64	>2,4x10 ³	>2,4x10 ³	-	-	+
003	24h	5	5,57	>2,4x10 ³	>2,4x10 ³	-	-	+
004	48h	TA	5,28	>2,4x10 ³	>2,4x10 ³	-	-	+
005	48h	5	5,12	>2,4x10 ³	>2,4x10 ³	-	-	+
006	7 dias	TA	5,98	>2,4x10 ³	>2,4x10 ³	-	-	+
007	7 dias	5	5,91	>2,4x10 ³	>2,4x10 ³	-	-	+
008	14 dias	TA	5,78	>2,4x10 ³	>2,4x10 ³	-	-	+
009	14 dias	5	5,92	>2,4x10 ³	>2,4x10 ³	-	-	+
010	21 dias	TA	5,68	>2,4x10 ³	>2,4x10 ³	-	-	+
011	21 dias	5	5,84	>2,4x10 ³	1,1x10 ³	-	-	+
012	28 dias	TA	5,62	>2,4x10 ³	>2,4x10 ³	-	-	-
013	28 dias	5	5,76	>2,4x10 ³	1,1x10 ³	-	-	+

Tabela 2 – Resultados obtidos após o processamento das amostras de queijo.

Onde Amos = nº da amostra testada; Matur = tempo de maturação do queijo com o inóculo; T(°C) = temperatura de maturação do queijo; TA = temperatura ambiente; Lis = *Listeria monocytogenes*; CT = coliformes totais (NMP); EC = *Escherichia coli* (NMP); Sau = *Staphylococcus aureus* (UFC/g); Salm = *Salmonella* spp. O sinal + representa presença do agente, o sinal – representa ausência do agente.

CONCLUSÃO

Devido à elevada contagem de UFC/g de coliformes totais e *Escherichia coli*, podemos entender que se fazem necessários métodos melhores, adaptados para a produção do queijo tipo “colonial”, evitando, portanto, a contaminação do produto.

No trabalho desenvolvido, observa-se que *Listeria monocytogenes* obteve maior estabilidade, e por consequência maior tempo de sobrevivência, quando estando presente nos queijos maturados em temperatura de 5°C. Houve viabilidade de *L. monocytogenes* até 21 dias de maturação do queijo, após sua inoculação, tanto em temperatura ambiente quanto refrigeração de 5°C. No entanto, aos 28 dias, apenas nos cultivos originários das amostras refrigeradas, evidenciaram-se colônias.

Percebeu-se um nítido decréscimo nas contagens de *L. monocytogenes*, nas placas derivadas das amostras anteriormente inoculadas e maturadas a partir de 14 dias à temperatura ambiente, o mesmo não ocorrendo com

amostras resfriadas, as quais decresceram quanto à multiplicação das bactérias aos 28 dias de maturação do queijo.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a colaboração da Técnica em Laboratório Jane Mendez Brasil.

REFERÊNCIAS

ANVISA. Agência Nacional da Vigilância Sanitária. *Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos*. Resolução – RDC nº12, de 02 de janeiro de 2001, publicado no Diário Oficial da União de 10 de janeiro de 2001.

ARAÚJO, W. N.; SILVA, M. N.; MARTINEZ, T. C.; SILVEIRA, V. F.; BARROS, S. L. B.; SILVA, A. V. A. F. Isolamento e identificação de coliformes no queijo Minas comercializado na região metropolitana de Salvador/Bahia. *Revista Brasileira Saúde e Produção Animal*. v.2, n.2, p.37-42, 2001.

BERNARDY, R. *Pesquisa de Listeria sp. em queijos tipo colonial na região Centro-Serra do Rio Grande do Sul*. Trabalho de Conclusão de Curso, ULBRA. Canoas, Rio Grande do Sul, 2003.

CARR, F. J.; CHILL, D.; MAIDA, N. The lactic acid bacteria: a literature survey. *Critical Reviews in Microbiology*. v.28, n.4, p.281-370, 2002.

CARTER, G. R.; CHENGAPPA, M. M.; ROBERTS, A. W. *Essentials of veterinary microbiology*. 5.ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1995.

CATÃO, R. M. R.; de CEBALLOS, B. S. O. *Listeria spp.*, coliformes totais e fecais e *Escherichia coli* no leite cru e pasteurizado de uma indústria de laticínios, no estado da Paraíba (Brasil). *Ciênc. Tecnol. Aliment.* v.21, p.281-287, Campinas, 2001.

ECK, A. *O queijo*. v.1. Portugal: Publicações Europa-América Ltda., 1990.

FEITOSA, T.; BORGES, M. F.; NASSU, R. T.; AZEVEDO, E. H. F.; MUNIZ, C. L. Pesquisa de *Salmonella* sp., *Listeria* sp. e microorganismos indicadores higiênico sanitários em queijos produzidos no estado do Rio Grande do Norte. *Ciência e Tecnologia Alimentar*. v.23, p.162-165, 2003.

GIOMBELLI, A. Método tradicional clássico para detecção de *Salmonella* em alimentos: um problema técnico bastante complexo. *Higiene Alimentar*. v.14, n.68/69, p.58-61, 2000.

GUERRA, M. M. M.; BERNARDO, F. M. A. Caracterização de efeitos inibidores de *Listeria monocytogenes* Scott A, produzidos pela microflora de maturação de queijos do Alentejo. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*. v.96, n.538, p.65-69, 2001.

KONEMAN, E. W.; ALLEN, S. D.; DOWELL Jr., V. R. et al. *Diagnóstico Microbiológico: texto e atlas colorido*. São Paulo: Panamericana, 1989.

MAPA. Ministério da Agricultura e Abastecimento. *Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água*. Diário Oficial da União. Instrução Normativa nº 62. Brasília, 26 de agosto de 2003.

MARTINIS, E. C. P; ALVES, V. F; FRANCO, B. D. G. M. Bioconservação de alimentos: aplicação de bactérias láticas e suas bacteriocinas para a garantia da segurança microbiológica de alimentos. *Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento*, v.29, p.114-119, 2003.

MORGAN, F.; BONNIN, V.; MALLEREAU, M. P.; PERRIN, G. Survival of *Listeria monocytogenes* during manufacture, ripening and storage of soft lactic cheese made from raw goat milk. *International Journal of Food Microbiology*. v.64, p.217-221, 2001.

OLIVEIRA, S. J. *Microbiologia veterinária: guia bacteriológico prático*. 2.ed. Canoas: ULBRA, 2000.

RACCAH, M.; BAKER, R. C.; REGENSTEIN, J. M.; MULNIX, E. J. Potential Application of Microbial Antagonism to Extend Storage Stability of a Fresh Type of Food. *Journal of Food Science*, n.44, p.43-46, 2003.

RODRIGUES, D. A.; FRANCO, B. D. G. M; LANDGRAF, M.; DESTRO, M. T. Avaliação da eficiência de três ágaros seletivos no isolamento de *Listeria monocytogenes*. *Ciência e Tecnologia Alimentar*, v.23, p.87-92, 2003.

SILVA, M. C. D.; VILARDI, T. C. C.; TIBANA, A. Avaliação de métodos para a detecção de *Listeria* em queijos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. v.18, p.150-155, 1998.

Isolamento e classificação de espécies de *Listeria* em queijos tipo colonial da região Centro-Serra do Estado do Rio Grande do Sul

Detection of *Listeria* spp. in colonial cheese in Rio Grande do Sul, Brazil

BERNARDY, Rafael – Médico Veterinário Autônomo, Graduado do Curso de Medicina Veterinária pela ULBRA, Canoas, RS

TOCHETTO, Lisane G. – Farmacêutica, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Lanagro, RS

FONSECA, Suzana H. Médica Veterinária, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Lanagro, RS

PIANTA, Celso – Médico Veterinário, Doutor, Professor do Curso de Medicina Veterinária, ULBRA, Canoas, RS

Data de recebimento: abril 2006

Data de aprovação: setembro 2006

Endereço para correspondência: rsbernardy@yahoo.com.br

RESUMO

O presente trabalho mostra os resultados da pesquisa de *Listeria* spp. realizada em 61 amostras de queijo tipo colonial, artesanal e industrializado, adquiridas em pontos comerciais ou diretamente de produtores da região Centro-Serra do Estado do Rio Grande do Sul, no período de março a abril de 2004. A presença de *Listeria* spp. foi detectada em 9,8% (6/61) das amostras, sendo que *Listeria innocua* foi detectada em 4 amostras de queijo artesanal elaborado com leite cru e *Listeria monocytogenes* em 2 amostras de queijo industrializado. Os testes de sorotipagem permitiram classificar as cepas de *L. monocytogenes* no sorotíp 1/2a e as cepas de *L. innocua* no sorotíp 6a.

Palavras-chave: queijo tipo colonial, *Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua*.

ABSTRACT

This paper describes the isolation of *Listeria* spp. in 61 samples of “colonial” cheese (farm made cheese and industrial cheese), acquired in local market or directly from the farmers. Samples were collected in municipalities located in the central region of Rio Grande do Sul State (South of Brazil). It was possible to detect *Listeria* spp. in 6 of the 61 samples (9,8%). Four of these six positive cheese samples were made with raw cow's milk and the other 2 samples were from industrial origin. *Listeria innocua* was recovery just from the farm made cheese samples, while *Listeria monocytogenes* was isolated from-industrial cheese samples. These two species were serologically classified as *L. monocytogenes* 1/2 a and *L. innocua* 6a.

Key words: “colonial” cheese, *Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua*.

INTRODUÇÃO

A listeriose, uma doença de natureza não entérica, apesar de ser transmitida principalmente por alimentos, tem merecido grande atenção no âmbito da saúde pública devido à severidade das lesões que causa no homem (ROCOURT, 1997). Segundo Murray et al. (1995), a listeriose ocorre em surtos epidêmicos ou em casos esporádicos, e nestas duas situações, os alimentos contaminados são os veículos responsáveis pela transmissão ao homem.

Diferentemente das enfermidades alimentares que se desenvolvem com sintomas gastrintestinais, a listeriose manifesta-se inicialmente por sinais semelhantes aos de um resfriado, como febre baixa e mal-estar, podendo progredir para septicemia, meningite e meningo-encefalite. Em gestantes, quando a infecção ocorre no segundo ou terceiro trimestre da gestação, pode provocar aborto e parto prematuro (SILVA et al., 1997; FORSYTHE, 2002).

A identificação das espécies de *Listeria* isoladas é importante, pois apenas *L. monocytogenes* representa sério risco para a saúde pública, por ser a única espécie patogênica para o homem, embora todas as espécies do gênero possam contaminar os alimentos. Para a diferenciação das espécies, são realizadas provas bioquímicas, observação da produção de hemolisinas e CAMP teste. A produção de hemolisinas é uma característica das espécies *L. monocytogenes*, *L. ivanovii* e *L. seeligeri*. De acordo com Murray et al. (1995), a hemolisina é considerada o principal fator de virulência da *L. monocytogenes*. No entanto, não se pode considerar unicamente esta característica como indicadora da presença da espécie patogênica, pois *L. ivanovii* e *L. seeligeri*, embora hemolíticas, não são patogênicas.

Na prova do CAMP teste, culturas de *L. monocytogenes* e *L. seeligeri* produzem reação de CAMP positiva com o *Staphylococcus aureus*. Porém,

na prova de carbohidratos, *L. seeligeri* fermenta a xilose com produção de ácido, enquanto *L. monocytonegens* não utiliza este açúcar (MC LAUCHLIN, 1997). *L. ivanovii* reage positivamente frente ao *Rhodococcus equi* e não frente ao *S. aureus*, segundo Murray et al.(1995).

A *L. innocua* se caracteriza por sua incapacidade de produzir hemolisinas e não potencializar a hemólise parcial (b) do *S. aureus* na prova de CAMP. A espécie *L. grayi* pode ser diferenciada da *L. innocua* pela reação positiva de utilização do manitol, o que não ocorre com *L. innocua*. Assim também, a capacidade de utilização da xilose e a incapacidade de utilizar a ramnose, apresentada pela espécie *L. welshimeri*, permitem diferencia-la da *L. innocua* (MC LAUCHLIN, 1997).

O primeiro surto envolvendo produtos lácteos foi relatado em Boston (EUA), onde foram registrados 42 casos, sendo que o estudo epidemiológico concluiu que o veículo do agente infeccioso foi o leite. Em 1985, na Califórnia (EUA), um surto de listeriose com 142 casos teve o queijo tipo mexicano como provável fonte de contaminação. Na Suíça, um queijo macio contaminado por *L. monocytogenes* foi o responsável por um surto que persistiu durante 4 anos, com 122 casos (RO COURT, 1997).

O isolamento de *Listeria monocytogenes* em queijos frescos ou maturados foi relatado em diversos outros países europeus, como Espanha, Dinamarca e França (GAYA, 1998; RYSER, 1999).

No Rio Grande do Sul, as espécies *L. monocytogenes* e *L. innocua* foram isoladas em amostras de queijo colonial comercializadas na cidade de Porto Alegre, segundo SCHWAB et al. (1996). Em estudo realizado por Schittler (2002), na região noroeste do Estado, foi isolada *L. innocua* em apenas uma das 75 amostras analisadas e não houve o isolamento de *L. monocytogenes*.

Listeria innocua foi a única espécie isolada em 6 de 100 amostras de queijo colonial elaborado na região serrana do Rio Grande do Sul (PIANTA, 2003), enquanto na região Sul, Jantzen et al. (2004) detectaram *L. innocua* em todas as três amostras de queijo artesanal adquiridas na cidade de Pelotas.

No presente artigo, são relatados os resultados obtidos na pesquisa, identificação e tipificação sorológica de *Listeria spp.* em amostras de queijo tipo colonial (artesanal e industrializado) produzido na região Centro-Serra do Estado do Rio Grande do Sul.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas 61 amostras de queijo tipo colonial de 31 produtores diferentes, adquiridas em estabelecimentos comerciais ou diretamente dos

produtores, em porções de no mínimo 250g cada. Desse total, 58 amostras foram produzidas de maneira artesanal e 3 foram elaboradas através de processo industrial.

Tanto nos estabelecimentos comerciais, como na compra direta do produtor, os queijos foram fracionados pelo próprio comerciante ou produtor, com o mesmo tipo de manipulação usado durante a venda rotineira, com o auxílio de facas ou outro instrumento disponível. As porções de queijo assim obtidas foram pesadas conforme a rotina do estabelecimento e, após, embaladas em sacos plásticos de primeiro uso.

As 3 amostras de queijo colonial industrializado foram adquiridas no comércio local, em suas embalagens originais intactas, sem a manipulação direta do queijo pelo comerciante.

As amostras foram devidamente identificadas, armazenadas e transportadas ao laboratório, em caixas isotérmicas.

As porções adquiridas não possuíam uniformidade de maturação, sendo algumas de queijos maturados por três dias (sem formação de casca) enquanto outros tinham sido submetidos a uma maturação mais longa, ao redor de 20 dias (com formação de casca e massa apresentando menor teor de umidade).

As amostras foram analisadas no Setor de Microbiologia do Lanagro/RS, utilizando-se a metodologia oficial do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2003).

Os sacos plásticos contendo as amostras, antes de serem abertos, foram desinfetados com ácido peracético 0,02%. A seguir, em câmara de fluxo laminar, unidades de $25 \pm 0,1$ g. foram retiradas e transferidas para sacos plásticos estéreis de “Stomacher”. Após esse procedimento, as amostras foram refrigeradas até o início da análise.

O próximo passo foi o enriquecimento seletivo, realizado em duas etapas, a primeira em caldo LEB e a segunda em caldo Fraser. O enriquecimento seletivo tem a finalidade de inibir a flora acompanhante e permitir a recuperação de baixos números de *Listeria* spp. O efeito seletivo do caldo LEB é exercido pela associação de ácido nalidíxico e acriflavina, e do caldo Fraser pela associação de ácido nalidíxico, acriflavina e cloreto de lítio. Este último tem a função de inibir os enterococos que também hidrolizam a esculina.

Às unidades analíticas (amostras de 25g) foram acrescentados 225 mL de caldo de enriquecimento seletivo (LEB). Em seguida, as amostras foram homogeneizadas em “Stomacher” por cerca de 60 segundos e incubadas a $30 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 horas.

No dia seguinte, transferiu-se 0,1mL do caldo LEB para tubos contendo

caldo Fraser suplementado com 0,1 ml de citrato de amônio e ferro III a 5%. A seguir, esses tubos foram incubados a $30 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 a 48 horas.

O enegrecimento do meio está relacionado com a produção da enzima b-D-glicosidase que as listerias possuem. Esta enzima promove a hidrólise da esculina em esculetina, a qual se une aos íons férricos, formando um composto de cor preta.

Após a observação do enegrecimento do caldo Fraser, procedeu-se ao repique dos tubos com positividade presuntiva para placas de Ágar Oxford (AO) e Ágar Palcam (AP), com auxílio de alça de platina. As placas foram incubadas a $30 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 a 48 horas. A ação impediente nos meios sólidos é exercida pela associação de sulfato de polimixina B, acriflavina, cloreto de lítio e ceftazidina no AP; e pela associação de cloreto de lítio, acriflavina, sulfato de colistina, cefotetan, cicloheximida e fosfomicina no AO.

Após esse período, com o auxílio de lupa (conta-colônias) e estereoscópio com iluminação angular de 45°C , realizou-se a seleção das colônias típicas (verde acinzentadas, circundadas por halo escuro no AP e marrom esverdeadas no AO), repicando 3 colônias suspeitas de AO e 3 de AP para placas contendo Ágar Triptose (AT). As placas foram incubadas por 24 horas em estufa a $30 \pm 1^\circ\text{C}$. No dia seguinte, as culturas que se apresentaram puras foram repicadas para Ágar Estoque (meio de manutenção para as análises posteriores).

A prova da catalase, quando positiva, foi considerada como mais um indício da presença de *Listeria* spp., assim como a presença de cocobacilos ou bastonetes curtos Gram positivos observados através de microscopia de imersão.

A prova de motilidade foi realizada em Ágar Motilidade, e os tubos incubados a $22\text{-}25^\circ\text{C}$ por 2 a 5 dias. As cepas de *Listeria* spp. são móveis e desenvolvem uma zona de migração típica, espalhando-se na parte superior do meio. Esse tipo de migração produz uma massa de crescimento característica, lembrando um guarda-chuva.

Culturas apresentando resultados positivos presuntivos de *Listeria* spp. foram submetidas a provas bioquímicas para diferenciar e classificar as espécies do gênero. Para a verificação da produção de b- hemólise, os isolados suspeitos foram estriados em Ágar Sangue de Cobaio. Ao mesmo tempo, controles positivos (*Listeria monocytogenes*) e negativos (*Listeria innocua*) foram também inoculados. As placas foram incubadas a $30 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 a 48 horas. A formação de zonas claras e transparentes ao redor dos estriados foi indicativa de positividade para esta prova.

O CAMP teste foi realizado em placas contendo Ágar Columbia adicionado de 5% de sangue desfibrinado de carneiro. Foram semeadas duas linhas paralelas de *Staphylococcus aureus* (Sa) produtor de hemólise parcial, e perpendicularmente a estas (sem tocar nas linhas de Sa), foram traçadas

linhas com as culturas suspeitas de *Listeria spp.*, além de um controle positivo de *L. monocytogenes* e um controle negativo de *L. innocua*. As placas foram incubadas em estufa a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 72 horas em atmosfera de 2 a 5% de dióxido de carbono (CO_2). As espécies *L. monocytogenes* e *L. seeligeri* produzem zona de hemólise total, acentuada próximo à linha de crescimento do *S. aureus*.

A prova de fermentação de carboidratos foi realizada pela inoculação das culturas isoladas em 3 placas de Ágar triptona com púrpura de bromocresol adicionadas de soluções de manitol, xilose e ramnose, respectivamente. As placas foram incubadas por a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 36 horas. Neste meio, a viragem de cor do indicador púrpura de bromocresol (de azul para amarelo) foi indicativa da fermentação do açúcar presente.

Após identificação bacteriológica, as culturas foram enviadas ao Instituto Oswaldo Cruz/ Rio de Janeiro (IOC/RJ) para a sorotipagem.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 61 amostras de queijo tipo *colonial* analisadas, 6 apresentaram contaminação por microrganismos do gênero *Listeria*, evidenciada por provas morfológicas, tintoriais e bioquímicas, resultando na identificação das espécies *L. innocua* e *L. monocytogenes*.

Testes de sorotipagem identificaram que as espécies de *L. innocua* pertenciam ao sorotipo 6a e as de *L. monocytogenes* ao sorotipo 1/2a.

Os resultados dos testes realizados e as reações utilizadas para a identificação e classificação das espécies isoladas podem ser observados na Tabela I.

Tabela 1 – Principais reações bioquímicas realizadas para a diferenciação entre as espécies *L. innocua* e *L. monocytogenes*.

Prova ou teste	<i>L.innocua</i> (3)	<i>L.monocytogenes</i> (2)	<i>L.monocytogenes</i> (1)
Gram	+	+	+
Catalase	+	+	+
Motilidade	+	+	+
β -hemólise	-	+	-
CAMP teste (<i>S. aureus</i>)	-	+	+
Fermentação do Manitol	-	-	-
Fermentação da Xilose	-	-	-
Fermentação da Ramnose	+*	+	+
Sorotipagem (IOC)	Linn 6a	Lm 1/2a	Lm 1/2a

o nº entre parênteses indica o total de isolados identificados

* 98% das culturas de *L. innocua* isoladas de alimentos no Lanagro/RS são fermentadoras da ramnose (Lisane G. Tochetto). Comunicação pessoal, setembro de 2004.

Os resultados encontrados confirmam os achados de outros autores que trabalharam com o mesmo tipo de queijo comercializado em nosso Estado (SCHWAB et al., 1996; SCHITTLER, 2002; PIANTA, 2003 e JANTZEN et al., 2004).

As características higiênico-sanitárias da produção artesanal desse tipo de queijo, associada à qualidade da matéria-prima (principalmente a elaboração do queijo a partir do leite sem tratamento térmico) e às condições de fracionamento e manuseio durante a comercialização, justificam os resultados encontrados nas amostras de queijo artesanal. As amostras industrializadas, que não foram submetidas aos riscos de contaminação durante a comercialização, provavelmente eram provenientes de lotes submetidos a processo tecnológico inadequado ou foram contaminadas durante o fracionamento ou embalagem na própria indústria.

A presença da espécie *L. innocua* no queijo ou em qualquer outro tipo de alimento, por si só, não representa risco para a saúde pública, tendo em vista que *L. monocytogenes* é considerada a única espécie patogênica para o homem. No entanto, a presença de *L. innocua* em um alimento pode servir de alerta sobre a probabilidade da presença concomitante de *L. monocytogenes* no mesmo alimento, de acordo com Murray et al. (1995).

CONCLUSÃO

O isolamento de *L. innocua* e *L. monocytogenes* em queijos artesanais e industrializados indica que nem sempre os procedimentos tecnológicos e higiênico-sanitários empregados são suficientes para evitar a presença e multiplicação desses microorganismos, o que mostra a necessidade de intensificação do controle oficial sobre a produção de queijos, tanto artesanais, sem qualquer tipo de aval oficial, bem como sobre os industrializados.

Deve-se levar em consideração que o queijo tipo colonial artesanal é oferecido por preços mais baixos que os queijos produzidos industrialmente, e, por este motivo, consumido por grande número de pessoas. Além disso, por ocasião do consumo, nenhum tratamento prévio, capaz de eliminar a *L. monocytogenes*, é normalmente aplicado.

Conclui-se que o consumo desse tipo de alimento pela população pode representar um sério risco à saúde pública, especialmente para pessoas do grupo de risco, como crianças, idosos, imuno-comprometidos e gestantes.

REFERÊNCIAS

- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa Nº 62, de 26 de agosto de 2003. Publicado no D.O.U. Brasília, DF, 18 de setembro de 2003 – Seção I.
- FORSYTHE, S. J. *Microbiologia da segurança alimentar*. Porto Alegre, Artmed, 2002.
- GAYA, P.; SANCHEZ, J.; MEDINA, M.; NUNEZ, M. Incidence of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* species in raw milk produced in Spain. *Food Microbiology*. V.15, p. 551-555, 1998.
- JANTZEN, M. M. Bactérias potencialmente enteropatogênicas em queijo e carne moída comercializados em Pelotas/RS. In: SIMPÓSIO DE SEGURANÇA ALIMENTAR, 1, 2004, Gramado. *Anais digitais*. Porto Alegre: SBCTA – RS, 2004. CD ROOM. p.83.
- McLAUCHLIN, The identification of *Listeria* species. *Int. J. Food Microbiol.*, v.38, p. 77-81, 1997.
- MURRAY, P. R.; BARON, E. J.; PFALLER, M. A.; TENOVER, F. C.; YOLKEN, R. H. *Manual of Clinical Microbiology*. 6.ed. American Society for Microbiology Press, Washington, D. C., 1995.
- PIANTA, C. Calidad Higiénico-Sanitaria del queso colonial. Tese de Doutorado, Universidade de León, Espanha, 168p., 2003
- ROCOURT, J.; COSSART, P. *Listeria monocytogenes* . Em: DOYLE, M.P.; BEUCHAT, L. R.; MONTVILLE, T. J. *Food Microbiology, Fundamentals and Frontiers*. ASM Press, Washington, D. C., p. 337-351, 1997.
- RYSER, E.T. Foodborne listeriosis. Em: RYSER, E. T.; MARTH, E. H. *Listeria, Listeriosis and Food Safety*. Marcel and Dekker, Inc. New York, 1999.
- SCHWAB, J. P.; BECHTEL, M. A. B.; SCHUCH, D. M. T. Listeria monocytogenes em queijo colonial artesanal comercializado em Porto Alegre. *Arq. Fac. Vet. UFRGS*. PAlegre, v.24, n.1, 95-106, 1996.
- SCHITTLER, L.; FIORENTINI, A. M.; VICENZI, R.; RIEGER, A.; TONDO, E.; SERRO, A. KLAJN, V. M. Avaliação da incidência de *Listeria monocytogenes* em queijos coloniais. In: XVIII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos. Porto Alegre, RS. *Anais...* 2002.
- SILVA, N. D.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. *Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos*. São Paulo, Varela, 1997.

Envenenamento por picada de serpente, gênero *micrurus* (coral): revisão

Snakebite poisoning, genus micrurus: review

BOFF, Gloria Jancowski – Médica Veterinária e Doutora em Veterinária pela Universidade de León/Espanha; Toxicologista do Centro de Informação Toxicológica (CIT) da Secretaria da Saúde do Estado do RS; Professora de Toxicologia dos Cursos de Medicina Veterinária, Farmácia, Graduação Tecnológica em Segurança do Trabalho, Pós-Graduação em Engenharia de Segurança do Trabalho e Residência Médica Veterinária – ULBRA, Canoas/RS; Pós-Graduada em Toxicologia Aplicada – PUCRS

Data de recebimento: março 2006

Data de aprovação: agosto 2006

Endereço para correspondência: Gloria Jancowski Boff. Rua Monsenhor Veras, 186 – Bairro Santana – Porto Alegre/RS. CEP 90610.010. E-mail: gjancowski@yahoo.com.br

RESUMO

Acidentes por picada de serpentes peçonhentas em animais domésticos são comuns, principalmente nas zonas rurais do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Esta revisão caracteriza os acidentes produzidos por serpentes do gênero *Micrurus* através das características biológicas e comportamentais destes animais, do mecanismo de ação do veneno e do manejo na conduta do acidente.

Palavras-chave: picada de cobra; envenenamento; *Micrurus* sp.

ABSTRAT

Domestic animals accidents caused by poisonous snakebite are common in rural areas in the Rio Grande do Sul State, Brazil. This review analyzes

the biology and behaviour of the genus *Micrurus*, the knowledge of its poison action and gives an overview on therapy, care and management of snakebites.

Key words: snakebite; poisoning; *Micrurus* sp.

1 INTRODUÇÃO

Os animais domésticos, tanto de produção, quanto de companhia, são vítimas freqüentes de acidentes produzidos por ofídios peçonhentos (CARDOSO et al., 2003). Os acidentes com ofídios do gênero *Micrurus* (coral verdadeira), apesar de serem pouco comuns (NISHIOKA, 1994; NUNES, 1994), são de grande importância não só no Estado do Rio Grande do Sul (RS), como em todo o país (TU, 1991), devido à gravidade dos mesmos. As estatísticas sobre picadas de ofídios em animais domésticos, não expressam a realidade (BARRAVIERA, 1994), devido à falta da obrigatoriedade da notificação compulsória, o que não ocorre em pacientes humanos (CARDOSO et al., 2003). Raramente nos acidentes com animais domésticos, a serpente é reconhecida ou mesmo capturada. Normalmente o diagnóstico do acidente ofídico é baseado em critérios clínicos e epidemiológicos, e complementado pelas análises laboratoriais. A presente revisão tem por objetivo facilitar o diagnóstico diferencial, através dos sinais e sintomas causados pelo mecanismo de ação do veneno e recomendar o tratamento adequado aos animais domésticos que sofrem picadas por serpentes do gênero *Micrurus*.

2 DESCRIÇÃO E DISTRIBUIÇÃO DOS OFÍDIOS DO GÊNERO *Micrurus*

Os ofídios do gênero *Micrurus*, representantes da família Elapidae no Brasil (BRASIL, 2005), tem ampla distribuição, podendo ser encontrados na África, Ásia, Austrália (CARDOSO, 2003; HABERMEHL, 1981) e na América (BARRAVIERA, 1994b; CARDOSO, 2003; TU, 1991) onde se distribuem por todo o continente (BARRAVIERA, 1994; CARDOSO, 2003; DUNCAN et al., 2004; NUNES, 1994; TU, 1991), desde os Estados Unidos até o sul da Argentina (CARDOSO, 2003; NICOLELLA et al., 1997). A família Elapidae tem 61 gêneros e 297 espécies distribuídas no mundo (CARDOSO, 2003; DART, 2004), sendo 22 espécies distribuídas no Brasil (BRASIL, 2005; CARDOSO, 2003), sendo três no Estado de Rio Grande do Sul (CAMPBELL e LAMAR, 1989; NICOLELLA et al., 1997) Habitam os bosques tropicais e subtropicais, campos, savanas e áreas pedregosas (CAMPBELL e LAMAR, 1989; NICOLELLA et al., 1997).

Habitualmente, apresentam uma combinação de cores vistosa, vermelho,

amarelo e negro (CAMPBELL e LAMAR, 1989; NICOLELLA et al., 1997), distribuídos em tríades (LEITÃO-DE-ARAÚJO e ALVES, 1976), mas na Amazônia se conhece *Micrurus* sp. com coloração escura (DUNCAN et al., 2004). São animais de pequeno a médio porte, medindo entre 70 e 80 cm (GUIMARÃES, 1974), ainda que se possam encontrar exemplares de até 1m (BRASIL, 1998; MORA et al., 1996) como a *M. surinamiensis* na Amazônia. Caracteriza-se pela ausência de fosseta loreal (BRASIL, 2005; MOSMANN, 2001).

No Estado do Rio Grande do Sul, encontramos:

***Micrurus frontalis*:** Não se trata de uma espécie, mas de um complexo de 7 espécies. Destas, 4 são encontradas no Brasil, como antigas subespécies e sua distribuição é ampla, no Brasil (CARDOSO, 2003). ***Micrurus altirostris*:** Encontrada na região sul, nos Estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná (BRASIL, 1991; BARRAVIERA, 1994; CAMPBELL e LAMAR, 1989; CARDOSO, 2003; FREITAS, 2003; NICOLELLA et al., 1997). É bastante comum na região de Porto Alegre e grande Porto Alegre (LEITÃO-DE-ARAÚJO e ALVES, 1993), assim como nos países vizinhos como o Uruguai, Paraguai e algumas províncias do norte da Argentina (CARDOSO, 2003), Figura 1.



Figura 1 – *Micrurus altirostris*.

***Micrurus decoratus*.** Esta espécie é rara e está restrita a região montanhosa litorânea (CARDOSO, 2003; NICOLELLA et al., 1997) do nordeste do Rio Grande do Sul e nos Estados de São Paulo (leste e sul), sul e sudeste do Rio de Janeiro e Minas Gerais, e sul de Santa Catarina (CAMPBELL e LAMAR, 1989; CARDOSO, 2003; FREITAS, 2003).

***Micrurus corallinus*.** Distribui-se pelo Paraguai, Argentina e Brasil (CAMPBELL e LAMAR, 1989), no litoral da região sul (BRASIL, 1991; BARRAVIERA, 1994; CARDOSO, 2003; FREITAS, 2003) e sudeste, desde Ilhéus, na Bahia até Santa Catarina e noroeste do Rio Grande do Sul (CARDOSO, 2003; FREITAS, 2003).

3 GENERALIDADES

As cobras corais são ofídios conhecidos popularmente como cobra coral, coral verdadeira (BRASIL, 1998; BARRAVIERA, 1994a; NISHIOKA, 1994), boicorá (BRASIL, 1998), coral venenosa, ibiboca, ibioca (CAMPBELL e LAMAR, 1989). Não são agressivas (GUIMARÃES, 1974; HEARD et al., 1999), ao pressentir o perigo se enrodilham dando a impressão de que a cauda se trata da cabeça, atacando unicamente nos casos de estímulo muito forte (LEITÃO-DE-ARAÚJO e ALVES, 1976; MORA et al., 1996). A língua bífida tem função olfativa e estes animais a utilizam para sentir o odor dos alimentos, mudanças de temperatura, contato sexual (MORA et al., 1996), reconhecer os indivíduos da mesma espécie e possibilidades de predadores (BUONONATO, 2001; MORA et al., 1996).

Alimenta-se de lagartos ápidos que se encontram debaixo da terra e de outros ofídios (GUIMARÃES, 1974; LEITÃO-DE-ARAÚJO e ALVES, 1976). As cobras corais preferem abrigos subterrâneos (BRASIL, 1991; BARRAVIERA, 1994a; NUNES, 1994; ROSENFIELD, 1961), vivendo em formigueiros ou em galerias debaixo da terra (LEITÃO-DE-ARAÚJO e ALVES, 1976). Possuem hábitos diurnos (LEITÃO-DE-ARAÚJO e ALVES, 1976; MORA et al., 1996) e noturnos (BRASIL, 1991; BARRAVIERA, 1994a; NUNES, 1994; ROSENFIELD, 1961), e gostam de expor-se ao sol sobre rochedos (LEITÃO-DE-ARAÚJO e ALVES, 1976).

Possuem o corpo cilíndrico, recoberto por escamas lisas e quase não se ressalta a região do pescoço com a da cauda (CARDOSO, 2003; LEITÃO-DE-ARAÚJO e ALVES, 1976), o que justifica o termo “*Micrurus*” de origem grega, que significa “pequena cauda” (CARDOSO, 2003). A cabeça é pequena, redonda e a boca é pequena com dentição tipo proteróglifa (LEITÃO-DE-ARAÚJO e ALVES, 1976; NISHIOKA, 1994; NUNES, 1994), com dentes pequenos inoculadores de veneno (JORGE e RIBEIRO, 1990; LEITÃO-DE-ARAÚJO e ALVES, 1976; MARQUES et al, 2001; NUNES, 1994), sulcados e não articulados (MORA et al., 1996), situadas na região frontal do maxilar superior (BARRAVIERA, 1994; ROSENFIELD, 1961) que atuam como uma seringa hipodérmica (GOYFFON e CHIPPAUX, 1990), Figura 2.



Figura 2 – Denticção proteróglifa.

Os ofídios com esse tipo de dentição, não “picam” suas vítimas, em verdade as mordem e permanecem mastigando-a, pressionando fortemente os maxilares para que o veneno flua (BUONONATO, 2001), Figura 3.



Figura 3 – Dentição dos ofídios do gênero *Micrurus*.

4 MECANISMO DE AÇÃO DOS VENENOS ELAPÍDICOS

A composição os venenos elapídicos é a menos conhecida entre os venenos ofídicos. Estudos sistemáticos das atividades biológicas e enzimáticas de algumas espécies elapídicas, demonstram a presença moderada ou alta de fosfolipase A₂, hialuronidase, fosfodiesterase, 5'-nucleotidase, leucina-amino-peptidase, ácido L-amino desidrogenase, fosfomonoesterase alcalina, acetilcolinesterase, ácido L-aminoxidase e, dependendo da espécie, um certo componente anticoagulante (LEE HO, 1995). Estes venenos são em sua totalidade neurotóxicos (BARRAVIERA, 1994; BRASIL, 2005; HABERMEHL, 1981; NISHIOKA, 1994; ROSENFELD, 1961; TU, 1991) e não produzem lesões locais, pois são completamente desprovidos de atividade proteolítica (BARRAVIERA, 1994; NICOLELLA et al., 1997; LEE HO, 1995).

As neurotoxinas elapídicas podem atuar nas junções neuromusculares de ação pré e pós-sinápticas (BARRAVIERA, 1994; ELLENHORN, 1997; HEARD et al., 1999; NISHIOKA, 1994). Essas neurotoxinas são peptídeos de baixo peso molecular, o que permite sua distribuição rápida pelo organismo, produzindo paralisia flácida da musculatura esquelética (BARRAVIERA, 1994; COOK, 1996; PINHO e PEREIRA, 2001). Atacam o sistema nervoso central nos pares de núcleos dos nervos cranianos, situados no mesencéfalo, afetando o terceiro e quarto par cranial provavelmente nos núcleos bulbarés (ROSENFELD, 1965).

As neurotoxinas de ação pré-sinaptica (*M. Corallinus*), são proteínas de peso molecular entre 12 a 60 kDa com atividade fosfolipásica. Atuam nas terminações axônicas sobre o metabolismo do cálcio, impedindo a liberação da acetilcolina na fenda sináptica das junções neuromusculares dos nervos motores (COOK, 1996; NICOLELLA et al., 1997). As neurotoxinas de ação pós-sinápatica (espécies de *M. frontalis*), são proteínas menores com peso

molecular entre 6 a 14 kDa, desprovidas de ação enzimática. Atuam por fixação competitiva dos receptores colinérgicos das membranas pós-sinápticas nas junções neuromusculares dos nervos motores (de forma análoga ao curare) (NICOLELLA et al., 1997).

Uma dose de 1 mg/kg de peso de veneno elapídico é suficiente para produzir sintomas de envenenamento (OSWEILER, 1996).

5 SINTOMATOLOGIA DOS ACIDENTES ELAPÍDICOS

Nos acidentes elapídicos, a sintomatologia pode aparecer rapidamente (BRASIL, 1991; CARDOSO, 1990; PINHO e PEREIRA, 2001) entre os 30 (DUNCAN et al., 2004; GUIMARÃES, 1974) e 75 minutos (GUIMARÃES, 1974; NICOLELLA et al., 1997), como consequência do baixo peso molecular das neurotoxinas (BRASIL, 1991; NICOLELLA et al., 1997; PINHO e PEREIRA, 2001). O local da picada apresenta os sinais da implantação das presas (OSWEILER, 1996; ROSENFIELD, 1961). Estes acidentes não apresentam sinais de inflamação local (NISHIOKA, 1994), pouca dor (BRASIL, 2005; GUIMARÃES, 1974; HABERMEHL, 1981; NICOLELLA et al., 1997; OLSON, 1994; PINHO e PEREIRA, 2001), paresias (BRASIL, 1998; GOYFFON e CHIPPAUX, 1990; GUIMARÃES, 1974; HABERMEHL, 1981; NICOLELLA et al., 1997; NISHIOKA, 1994; ROSENFIELD, 1961) e parestesias (BRASIL, 2005; COOK, 1996; OLSON, 1994).

Sonolência (COOK, 1996; NICOLELLA et al., 1997), a expressão das facies neurotóxica ou miastênica com ptose palpebral, diplopia, anisocoria e oftalmoplegia (BRASIL, 1998; BARRAVIERA, 1994; COOK, 1996; DUNCAN et al., 2004; GOLDSFRANK'S et al., 1994; GOYFFON e CHIPPAUX, 1990; GUIMARÃES, 1974; HABERMEHL, 1981; NICOLELLA et al., 1997; PEREIRA, 1992; PINHO e PEREIRA, 2001). Disartria, fasciculações musculares (GOLDSFRANK'S et al., 1994; OLSON, 1994), debilidade muscular, perda do equilíbrio (BRASIL, 1998; NICOLELLA et al., 1997; PEREIRA, 1992; PINHO e PEREIRA, 2001) e, paralisia flácida dos membros (DUNCAN et al., 2004; GOYFFON e CHIPPAUX, 1990). A paralisia corporal total pode durar entre 3 a 5 dias e demorar semanas para voltar à normalidade (GOLDSFRANK'S et al., 1994).

Os acidentes elapídicos são considerados mais graves (GUIMARÃES, 1974; NICOLELLA et al., 1997; PINHO e PEREIRA, 2001), que os acidentes crotálicos e botrópicos, devido ao quadro de insuficiência respiratória restritiva (COOK, 1996; GOYFFON e CHIPPAUX, 1990; RIBEIRO et al., 1995) por paralisação do diafragma e da musculatura do tórax (BRASIL, 1991; COOK, 1996; DUNCAN et al., 2004; ELLENHORN, 1997; GOLDSFRANK'S et al., 1994; GUIMARÃES, 1974; NICOLELLA et al., 1997; NISHIOKA, 1994; PINHO e PEREIRA, 2001; ROSENFIELD, 1961).

Como consequência aparece taquipnêia, movimentos respiratórios

superficiais e incoordenados, batimento das aletas nasais e tiragem intercostal pela tentativa de utilização da musculatura acessória da respiração e apnéia (BARRAVIERA, 1994; BRASIL, 1998; DUNCAN et al., 2004; NICOLELLA et al., 1997; OLSON, 1994; OSWEILER, 1996). Acidose respiratória (BARRAVIERA, 1994), hipoxemia (BARRAVIERA, 1994; COOK, 1996), hipotensão (DUNCAN et al., 2004; PEREIRA, 1992), bradicardia, depressão miocárdica direta (PEREIRA, 1992), desorientação (OLSON, 1994; OSWEILER, 1996) e convulsões (COOK, 1996; HABERMEHL, 1981). Náuseas, vômitos (COOK, 1996; HABERMEHL, 1981; NICOLELLA et al., 1997), sialorréia e dificuldade de deglutição devido à paralisia do velo palatino (BRASIL, 1998; COOK, 1996; GUIMARÃES, 1974; PEREIRA, 1992; ROSENFELD, 1961), afonia (GUIMARÃES, 1974; NICOLELLA et al., 1997; OLSON, 1994; OSWEILER, 1996; PINHO e PEREIRA, 2001). Os óbitos ocorrem por paralisia respiratória de 4 (HABERMEHL, 1981) a 6 horas após a picada (PEREIRA, 1992).

6 TRATAMENTO DOS ACIDENTES ELAPÍDICOS

Os acidentes elapídicos, do ponto de vista clínico, devem ser sempre considerados graves (BRASIL, 2005; NICOLELLA et al., 1997; PINHO e PEREIRA, 2001). Da mesma maneira que ocorre com qualquer outro acidente causado por ofídio peçonhento, a soroterapia é o tratamento de eleição (BARRAVIERA, 1994; BRASIL, 2005; OSWEILER, 1996; PINHO e PEREIRA, 2001).

Deve-se utilizar a via endovenosa, em quantidade suficiente para neutralizar 150 mg de provável veneno inoculado (BRASIL, 2005; BARRAVIERA, 1994; CAMPBELL e LAMAR, 1989; DUNCAN et al., 2004; NICOLELLA et al., 1997; PINHO e PEREIRA, 2001), podendo ser diluído em solução fisiológica ou glicosada (BRASIL, 2005; COOK, 1996; GOYFFON e CHIPPAUX, 1990). A insuficiência respiratória aguda que deve ser tratada com ventilação adequada, com aplicação de uma máscara, intubação traqueal e ventilação mecânica (BRASIL, 1998; BARRAVIERA, 1994a; CAMPBELL e LAMAR, 1989; ELLENHORN, 1997; GOLDSFRANK'S et al., 1994; NICOLELLA et al., 1997; NISHIOKA, 1994; OLSON, 1994) e oxigenoterapia (OLSON, 1994).

Nos acidentes onde ocorre bloqueio das placas neuromusculares pós-sinápticas (*M. frontalis*), se recomenda o uso de fármacos anticolinesterásicos (BARRAVIERA, 1994a; COOK, 1996; HABERMEHL, 1981; NISHIOKA, 1994) como a neostigmina. Está igualmente recomendado o uso de atropina, prévio a administração de neostigmina (COOK, 1996; ELLENHORN, 1997; NICOLELLA et al., 1997; NISHIOKA, 1994; OSWEILER, 1996; PINHO e PEREIRA, 2001). A atropina é um antagonista competitivo dos efeitos muscarínicos da acetilcolina e combate principalmente a bradicardia e a hipersecreção brônquica (BRASIL, 1998; CAMPBELL e LAMAR, 1989) e deve anteceder a administração da neostigmina (BARRAVIERA, 1994a). O cloridrato de edrofônio

(BARRAVIERA, 1994; CAMPBELL e LAMAR, 1989; COOK, 1996; ELLENHORN, 1997), é um fármaco anticolinesterásico de ação rápida, post-sináptica (BARRAVIERA, 1994; ELLENHORN, 1997), no momento não disponível no Brasil (BRASIL, 1998).

Aconselha-se a observação clínica do paciente durante 24 a 48 horas, de forma preventiva a presença dos sintomas tardios (BRASIL, 1998; GOLDSFRANK'S et al., 1994; HABERMEHL, 1981; NICOLELLA et al., 1997). Deve-se de rotina realizar a profilaxia do tétano (COOK, 1996; CAMPBELL e LAMAR, 1989; DUNCAN et al., 2004; ELLENHORN, 1997; GOYFFON e CHIPPAUX, 1990; OLSON, 1994; PINHO e PEREIRA, 2001).

Não se recomenda a antibioticoterapia profilática (BRASIL, 1991; DUNCAN et al., 2004). Recomendam-se banhos anti-sépticos no local da picada (BRASIL, 1991; DUNCAN et al., 2004; ELLENHORN, 1997). Até o presente momento, não existe no Brasil, soro antielapídico disponível para animais domésticos (BARRAVIERA, 1994). Não existem no Brasil exames laboratoriais específicos para o diagnóstico dos acidentes causados por ofídios peçonhentos do gênero *Micrurus* (BRASIL, 2005; OSWEILER, 1996).

7 PROGNÓSTICO DOS ACIDENTES ELAPÍDICOS

No caso de acidentes em humanos, o prognóstico é favorável, inclusive nos casos graves, sempre que houver um tratamento específico rápido (soroterapia) e assistência ventilatória (BRASIL, 1998). As manifestações neurológicas, como ptose palpebral, diminuição ou perda de visão e obnubilação, desaparecem, sem deixar vestígios (NAHAS et al., 1963; ROSENFIELD, 1961). A recuperação completa da paralisia respiratória se produz em torno de 24 horas (BARRAVIERA, 1994). Recomenda-se a observação clínica do paciente durante 24 horas (BARRAVIERA, 1994; GOLDSFRANK'S et al., 1994; NICOLELLA et al., 1997). O prognóstico dos acidentes elapídicos em medicina veterinária é desfavorável, visto que não existe até o presente momento soro antiveneno (BARRAVIERA, 1994), e o tratamento sintomático não é efetivo (RODER, 2001).

8 CONCLUSÃO

A evolução favorável do envenenamento elapídico dependerá da precocidade do tratamento adequadamente instituído, da manutenção dos sinais vitais, bem como da funcionalidade do sistema respiratório do paciente. A soroterapia específica é o único tratamento existente para picada por *Micrurus* sp. e deve estar em acordo com classificação de gravidade do acidente. No caso de acidentes com animais domésticos, o rápido inicio de ação e a letalidade do veneno inviabiliza qualquer chance

de atendimento. Isso pode ser alterado nos casos onde o acidente seja presenciado, os sintomas ainda não tenham se manifestado e o ofídio tenha veneno de ação pós-sináptica. Nesses casos, apesar de não existir, no presente momento, no Brasil, soro antiveneno elapídico, o tratamento de manutenção, com ventilação mecânica e substâncias anticolinesterásicas, pode servir como conduta salva vidas.

REFERÊNCIAS

- BARRAVIERA, B. *Venenos animais: uma visão integrada*. Editora de Publicações Científicas, Rio de Janeiro, RJ, 411 p. 1994.
- BARRAVIERA, B. Animais peçonhentos de importância médica no Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 27, 690-695. 1994a.
- BRASIL, Ministério da Saúde do. *Manual de diagnóstico e tratamento de acidentes ofídicos*. Brasília, DF, 1991. 53p.
- BRASIL, Ministério da Saúde do. *Manual de diagnóstico e tratamento de acidentes por animais peçonhentos*. Brasília, DF, 1998. 131p.
- BRASIL, Ministério da Saúde do. *Guia de vigilância epidemiológica*. Secretaria de vigilância em saúde. 6.ed. Brasília/DF, 2005. 816p.
- BUONONATO, M. Serpentes. www.bioterium.com.Br/bioterium/animais/serpentes/00serpentes.htm.2001.
- CAMPBELL, J. A.; LAMAR, W. W. *The venomous, reptiles of Latin America*. Comstock Publishing Associates, Ithaca, NY, 425 p. 1989.
- CARDOSO, J. L. C.; FRANÇA, F. O. de S.; WEN, F. H.; MÁLAQUE, C. M. S.; HADDAD JR, V. *Animais peçonhentos no Brasil: biologia, clínica e terapêutica dos acidentes*. São Paulo: Sarvier, 2003. 468p.
- COOK, G. C. *Manson's tropical diseases*. WB Saunders Company, London. 20.ed. 1996.
- DART, R. C. *Medical toxicology*. 3.ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004. 1914p.
- DUNCAN, B. B.; SCHMIDT, M. I.; GIUGLIANI, E. R. J. *Medicina ambulatorial: condutas clínicas em atenção primária*. 3.ed. Artes Médicas, Porto Alegre, RS, 1600 p. 2004.
- ELLENHORN, M. J. *Ellenhorn's medical toxicology: diagnosis and treatment of human poisoning*. 2.ed. Williams & Wilkins, Baltimore, 1997. 2047p.

- FREITAS, M. A. de. *Serpentes brasileiras*. Lauro de Freitas: s.n., 2003. 119p.
- GOLDSFRANK, L. R.; FLOMENBAUM, N. E.; LEWIN, N. A.; WEISMAN, R. S.; HOWLAND, M. A.; HOFFMAN, R. S. *Goldfrank's toxicology emergencies*. 5.ed. Appleton & Lange, Norwalk, 1994. 1917p.
- GOYFFON, M.; CHIPPAUX, J. P. *Encyclopédie Médico-Chirurgicale*. Editions Techniques, Paris, France. 1990.
- GUIMARÃES, B. *Serpentes, escorpiões e aranhas: identificação, prevenção e tratamento*. Estudo e Pesquisa, São Paulo, SP, 1974. 64p.
- HABERMEHL, G. G. *Venomous animals and their toxins*. Springer – Verlag. New York, NY, 1981. 195p.
- HEARD, K.; O'MALLEY, G. F.; DART, R. C. Antivenom therapy in the Americas. *Drugs* 58, 5-15. 1999.
- JORGE, M. T.; RIBEIRO, L. A. Acidentes por serpentes peçonhetas do Brasil. *Revista da Associação Médica Brasileira* 36, 66-67. 1990.
- LEITÃO-DE-ARAÚJO, M.; ALVES, M. L. M. As serpentes peçonhetas do Rio Grande do Sul. *Natureza em Revista* 1, 20-26. 1976.
- LEITÃO-DE-ARAÚJO, M.; ALVES, M. L. M. Relatório apresentando à Fundação Nacional de Saúde, Ministério da saúde. Dados sobre a distribuição geográfica das serpentes peçonhetas do Rio Grande do Sul. 11p. Núcleo de Ofidismo de Porto Alegre (NOPO) da Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul. 1993.
- LEE HO, R. Reverse biology applied to *Micrurus corallinus*, a south american coral snake. *Journal of Toxicology – Toxin Reviews* 14, 327-337. 1995.
- MARQUES, O. A. V.; ETEROVIC, A.; SAZIMA, I. Serpentes da Mata Atlântica. *Guia Ilustrado para a Serra do Mar*. Holos Ltda. Ribeirão Preto, São Paulo. 184p. 2001.
- MORA, F. C.; ALVARADO, J. A.; BLEN, R. A.; LÓPEZ, A. S. Aspectos básicos sobre las serpientes de Costa Rica. Oficina de publicaciones de la Universidad de Costa Rica. Instituto Clodomiro Picado, 3.ed. 1996. 62p.
- MOSMANN, M. N. *Guia das principais serpentes do mundo*. Ed. ULBRA, Canoas – RS. 2v. 2001. 367p.
- NAHAS, L.; ROSENFELD, G.; CILLO, D. M.; FLEURY, C. T. Envenenamento por Serpentes, Aranhas e Escorpiões. *Coletânea de Trabalhos do Instituto Butantã*. Volume IX. 1963.
- NICOLELLA, A.; BARROS, E.; TORRES, J. B.; MARQUES, M. G. B. *Acidentes com animais peçonhentos: consulta rápida*. ATOX, Porto Alegre, RS, 207 p. 1997.

- NISHIOKA, S. A. Diagnóstico e conduta nos acidentes ofídicos. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 27, 674-678. 1994.
- NUNES, T. B. Distribuição das serpentes peçonhentas. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 27, 662- 667. 1994.
- PINHO, F. M. O.; PEREIRA, I. D. Ofidismo. *Revista da Associação Médica Brasileira* 47, 24-29. 2001.
- OLSON, K. R. Poisoning and drug overdose. 2.ed. Prentice Hall International, New Jersey, 1994. 569p.
- OSWEILER, G. D. *Toxicology*. Williams & Wilkins, Philadelphia, 1996. 491p.
- PEREIRA, C. A. *Plantas Tóxicas e Intoxicações na Veterinária*. Centro Editorial e Gráfico/UFG – Goiânia, 1992. 279p.
- RIBEIRO, L. A.; JORGE, M. T.; IVERSSON, L. B. Epidemiologia do acidente por serpentes peçonhentas: estudo de casos atendidos em 1988. *Revista de Saúde Pública* 29, 380-388. 1995.
- RODER, J. D. *Veterinary toxicology*. Woburn: Butterworth-Heinemann, 2001. 403p.
- ROSENFIELD, G. Acidentes por animais peçonhentos: serpentes, aranhas e escorpiões. In: VERONESI, R. Doenças infecciosas e parasitárias. São Paulo: Livraria Luso-Espanhola e Brasileira, pp 1269-1289. In: *Coletânea de Trabalhos do Instituto Butantã*, vol. VIII. 1961.
- TU, A.T. Handbook of natural toxins, vol.5. Reptile venoms and toxins. Marcel Dekker, New York, NY, 827 p.1991.

Imagen radiográfica, ultrasonográfica e por tomografia computadorizada de cálculos vesicais de estruvita em um cão (relato de caso)

Radiography, ultrasound, computed tomography showing bladders uroliths of struvitis in a dog (case report)

GRÜN, Ricardo Luis – Médico Veterinário Residente do Setor de Diagnóstico por Imagem da Universidade Luterana do Brasil (ULBRA)

TEIXEIRA, Márcio Aurélio da Costa – Doutor, Professor Adjunto da Disciplina de Diagnóstico por Imagem no Curso de Medicina Veterinária da Universidade Luterana do Brasil (ULBRA)

LUNARDI, Virgínia Bocorny – Msc. Professora Adjunta da Disciplina de Cirurgia no Curso de Medicina Veterinária da Universidade Luterana do Brasil (ULBRA)

FISCHER, Cristine Dossin Bastos – Msc. Professora Adjunta da Disciplina de Cirurgia no Curso de Medicina Veterinária da Universidade Luterana do Brasil (ULBRA)

GARRAFIELO, Karina – Aluna da Graduação do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Luterana do Brasil (ULBRA)

MOREL, Ana Paula – Aluna da Graduação do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Luterana do Brasil (ULBRA)

ALVES, Luis Cardoso – Doutor, Professor Adjunto das Disciplinas de Diagnóstico por Imagem, Semiologia e Clínica I, no Curso de Medicina Veterinária da Universidade Luterana do Brasil (ULBRA)

Data de recebimento: julho 2006

Data de aprovação: outubro 2006

Endereço para correspondência: Av. Farroupilha, 8001. Canoas, RS. Bairro São José. Prédio 14, Sala 125. CEP: 92425-900. Luis Cardoso Alves. E-mail: vetcardoso@pop.com.br

RESUMO

Os urólitos se formam quando a urina fica supersaturada com minerais calculogênicos e há fatores que promovem a cristalização. O diagnóstico do cálculo vesical é feito pela integração da história clínica, do exame físico e dos exames laboratoriais e de imagem, como radiográficos, ultrasonográficos e/ou tomográficos. O presente relato descreve um caso de urolítase vesical por estruvita em um canino fêmea, no qual foram obtidas imagens radiográficas, ultra-sonográficas e tomográficas, a fim de compará-las. Concluiu-se que todos os exames confirmaram a presença dos urólitos na bexiga, mas a radiografia simples foi a que melhor demonstrou o tamanho e a quantidade dos urólitos radiopacos presentes.

Palavras-chave: cão, raio X, tomografia computadorizada, ultra-sonografia, urólitos.

ABSTRACT

The uroliths grow when the urine becomes supersaturated with calculogenic minerals and there are factors that promote its crystallization. The diagnosis of vesical calculi is made with the integration of clinical history, physical exam and laboratorial and imaging study such radiography, ultrasonography and/or tomography. The present report describes a case of vesical struvite urolithiasis in a female dog in which was obtained radiographic, ultra-sonographic and tomographic images to compare them. It was concluded that all exams confirmed bladder uroliths, but the simple radiographic studie was the best in demonstrating the size and number of the uroliths present.

Key words: canine, computed tomography, ultrassound, urolithiasis, X ray.

INTRODUÇÃO

Os urólitos são concreções de minerais que se formam no trato urinário e a bexiga constitui o local mais comum destas formações em cães (BARTGES, 2003). Conforme Osborne et al. (2003) as três doenças que acometem o trato urinário inferior mais relatadas em caninos são a cistite (40%), a incontinência urinária (24%) e a urolítase (18%).

Formam-se urólitos quando a urina fica supersaturada com minerais. A supersaturação ocorre quando a quantidade e a concentração de minerais calculogênicos aumentam, fatores tais como pH urinário favorecem a diminuição na solubilidade dos minerais calculogênicos e há promotores ou falta de inibidores de cristalização (LULICH et al., 2004; BARTGES,

2003; OSBORNE et al., 2003). Para Bartges (2003) alguns tipos de urólitos se formam devido a alterações metabólicas e a doenças como o hiperparatireoidismo. Defeitos anatômicos como o desvio portossistêmico pode levar ao surgimento de cálculos de urato em cães jovens de qualquer raça (WALDRON, 1998).

Os urólitos podem ser compostos de diferentes tipos de minerais, sendo a estruvita o de maior aparecimento em cães (BARTGES, 2003; OSBORNE et al., 2003; DUNN, 2001). Para Osborne et al. (2003), aproximadamente 50% das pedras que afetam o trato urinário inferior e 33% das que afetam o trato urinário superior correspondem aos urólitos de estruvita. Infecções do trato urinário inferior com micróbios produtores de urease promovem a formação de estruvita, pois resultam em urina alcalina e aumento do nível de íon amônia na urina (DUNN, 2001; OSBORNE et al., 2003).

Em ordem decrescente de incidência, os outros tipos de cálculos encontrados em cães são o oxalato de cálcio, urato, cistina, silicato e fosfato de cálcio LULICH et al., 2004).

Os cálculos são mais comuns em fêmeas (85%) que em machos (15%), a idade média do aparecimento é de seis anos, as raças mais acometidas são os Schnauzers, Poodles, Shih Tzus, principalmente as raças miniatura, porém qualquer raça pode ser afetada (OSBORNE et al., 2003).

Os sintomas dependem da localização, do tamanho e do número de urólitos (LULICH et al., 2004; OSBORNE et al., 2003). Os sinais clínicos típicos de urólitos vesicais incluem polaquiúria, disúria e hematúria (BARTGES, 2003; OSBORNE et al., 2003). Os urólitos vesicais podem, algumas vezes, ser sentidos apalpando a parede abdominal (LULICH et al., 2004).

O tratamento da urolitíase canina nas últimas décadas era baseado somente em cirurgia, hoje, sabe-se que, com dietas específicas associadas a drogas pode-se terapeuticamente promover a dissolução ou, pelo menos, a prevenção de alguns tipos de urólitos (BELONE, 2002). É essencial para a prevenção e a erradicação do urólito a identificação das doenças e dos fatores de risco subjacentes à formação, à retenção e ao crescimento do cristal, sendo de grande importância o conhecimento da composição mineral do urólito na formulação de protocolos clínicos eficazes (LULICH, et al., 2004).

O principal objetivo da avaliação radiográfica ou ultra-sonográfica dos pacientes é verificar a presença, a localização, o número, o tamanho, a densidade e o formato do urólito O aspecto radiográfico ou ultra-sonográfico dos urólitos é influenciado por tamanho, número, localização e composição mineral (LULICH et al., 2004; HUDSON et al., 2003; WALDRON, 1998).

A radiografia é uma técnica valiosa no diagnóstico das urolitíases do trato urinário inferior, as simples são adequadas para urólitos radiopacos e as

realçadas por contraste para os urólitos radiolucentes (LULICH et al., 2004; HUDSON et al., 2003; RUBIN, 2002). Se a suspeita for de urólito radiotransparente, estudos de contraste positivo e de duplo contraste devem ser executados (FARROW, 2006; LULICH et al., 2004; RUBIN, 2002). A distinção de calcificação distrófica da bexiga de urolítase deve-se a sua localização periférica e seu contorno linear (KEALY e Mc ALLISTER, 2005).

Há possibilidade que um urólito seja maior do que aquilo retratado pela sua radiopacidade se apenas uma porção dele contiver minerais radiopacos, ocorrendo principalmente em urólitos de estruvita com crescimento rápido (LULICH et al., 2004).

Na ultra-sonografia os cálculos são, com freqüência, identificados como focos ou massas hiperecônicas no interior do lúmen da bexiga. O sombreamento acústico é marcado, especialmente com transdutores de alta freqüência (FARROW, 2006; KEALY e Mc ALLISTER, 2005). Urólitos muito pequenos podem não lançar uma sombra acústica e não serem visualizados (KEALY e Mc ALLISTER, 2005). Bartges (2003) acrescenta que além de não ser útil para estimar o conteúdo mineral do urólito ou determinar o número de urólitos só se pode avaliar a uretra proximal através da ultra-sonografia. Segundo Keally e McAllister (2005), a uretra estará cranialmente dilatada se houver obstrução completa.

A presença de gás intra-abdominal e opacidades sobrepostas no intestino podem interferir na obtenção da imagem, podendo-se confundir com cálculos, não ocorrendo quando há uma preparação apropriada do paciente antes da realização do exame (KEALY e Mc ALLISTER, 2005; CARVALHO, 2004; BARTGES, 2003). Para Waldron (1998) no intuito de facilitar o exame, os pacientes que serão submetidos a ultra-sonografia abdominal devem realizar jejum de 12 horas e enema de limpeza.

O objetivo deste trabalho é o relatar o caso de um cão que apresentando 91 urólitos de estruvita, no qual para diagnóstico foram empregados a ultrasonografia, radiografia simples e tomografia computadorizada, relacionando as vantagens e desvantagens de cada um destes métodos.

RELATO DE CASO

Uma cadela com 9 anos de idade, da raça poodle, foi atendida no HV-ULBRA com hematúria, polaquiúria, disúria, polidipsia e anorexia repentinhas. Ao exame clínico constatou-se hipotermia, abdômen distendido, algia abdominal e hematúria.

Foi solicitada uma ultra-sonografia abdominal realizada utilizando-se um aparelho marca Perception, modelo GPS 500, equipado com transdutor linear de 7,5 MHz. Através desta, mais precisamente, durante o exame da região hipogástrica em uma seqüência de cortes transversais no sentido

caudo-cranial, constatou-se inicialmente, uma área circular não ecogênica indicando tratar-se da luz da bexiga. Movimentando o transdutor no sentido cranial observou-se uma meia lua ecogênica com sombra acústica posterior, imagem típica de cálculo. Segundo a varredura os limites não ficavam bem definidos, percebiam-se linhas ecogênicas com sombra acústica, entretanto a imagem ficava muito semelhante a observação de conteúdo fecal no reto ou gás no abdômen. Após exame minucioso foi possível concluir que havia pelo menos um cálculo com aproximadamente um centímetro de diâmetro na bexiga, e que os limites mais craniais da mesma não eram bem definidos, conforme ilustra a Figura 1. Optou-se por um exame radiográfico complementar, onde então foi observado presença de vários (um número superior a 12) urólitos radiopacos com tamanhos variados na vesícula urinária, conforme ilustra a Figura 2.

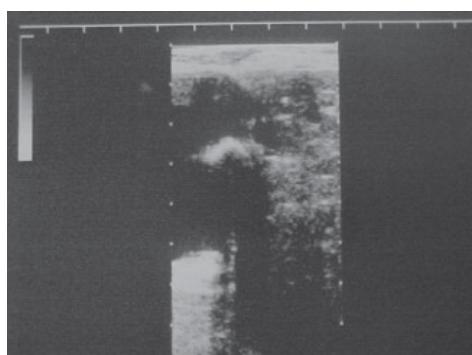


Figura 1 – Imagem ultra-sonográfica abdominal evidenciando a presença de sombra acústica.



Figura 2 – Imagem da radiografia latero-lateral do abdômen evidenciando a presença dos cálculos radiopacos na região da bexiga.

Previvamente ao animal ser encaminhado ao procedimento cirúrgico para retirada dos urólitos, e estando o mesmo anestesiado, foi realizado o exame tomográfico da cavidade abdominal. O exame foi realizado com um aparelho marca General Eletric (GE), modelo CT pace. Neste exame foram obtidas imagens em plano transverso da região hipogástrica. Utilizando uma janela para tecidos moles foi possível observar a bexiga, os cálculos mais densos no seu interior com densidade superior a 1500 unidades Hounsfield (HU). Em uma janela para osso ficaram igualmente evidentes os cálculos com densidade típica de osso, conforme mostra a Figura 3.

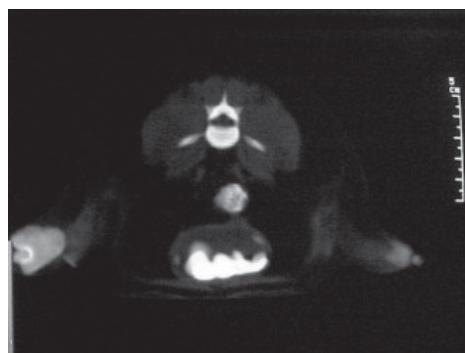


Figura 3 – Imagem do corte transversal pela tomografia computadorizada com janela para tecidos duros evidenciando a presença dos cálculos vesicais.

Além dos métodos de diagnóstico por imagem também foram utilizados outros exames como hemograma, perfil bioquímico e pesquisa de hemoparasitas, que não demonstraram alterações dignas de nota. Também foi coletado urina por cistocentese e solicitado urinálise, onde constatou-se presença de bactériuria moderada, cristais de estruvita e cristais amorfos e também urocultura na qual houve crescimento de *Staphylococcus spp.*

Posteriormente, foi realizada cistotomia, onde foram retirados um total de 91 urólitos, sendo um com aproximadamente 3 cm de diâmetro, oito com aproximadamente 2 cm de diâmetro e os demais ao redor de 1 cm de diâmetro ou menores (Figura 4). Os urólitos foram encaminhados para análise físico-química onde a predominância na composição foi de estruvita.



Figura 4 – Imagem dos urólitos de estruvita após realização da cistotomia.

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Houve eficácia dos três métodos no diagnóstico do urólito vesical de estruvita, porém a radiografia simples e a tomografia computadorizada foram os que forneceram uma maior segurança com relação a quantidade e tamanho dos urólitos. Por ser um exame simples e de pouco custo, a radiologia, ainda tem sido o mais utilizado na identificação destas estruturas, principalmente tratando-se de urólitos radiopacos.

A alta densidade do urólito facilitou sua visualização na radiografia

simples e na tomografia computadorizada, não sendo necessário a utilização de exames contrastados como ocorre em suspeitas de urólitos radiolucentes.

A boa visualização da quantidade e tamanho dos urólitos através da radiografia simples, está de acordo com o preconizado por Keally e McAllister (2005) que citam não haver problema nenhum na identificação e estimativa da quantidade de urólitos radiopacos presentes com a realização deste tipo de exame.

Durante o exame ultra-sonográfico constatou-se dificuldade de visualização na delimitação dos urólitos dentro da vesícula urinária, devido a grande quantidade e tamanho variado dos urólitos, pouca urina residual e conteúdo fecal nas alças intestinais gerando imagem semelhante, sendo considerada a experiência do operador um fator importante para minimizar essa dúvida.

Os cálculos muito pequenos podem não lançar uma sombra acústica e consequentemente não serem visualizados através da ultra-sonografia conforme afirmam (FARROW, 2006; KEALLY e MCALLISTER, 2005), porém, não há registro na literatura citando que a presença de grande quantidade de urólitos ocupando a vesícula urinária dificulta o diagnóstico destas estruturas através do exame ultra-sonográfico.

A ultra-sonografia, apesar de sua grande eficácia descrita na literatura, pode gerar resultados errôneos caso o paciente não esteja preparado adequadamente para o exame.

A tomografia computadorizada, apesar de sua precisão, necessita que o animal esteja anestesiado e ainda possui grande custo como exame complementar para diagnóstico dos urólitos vesicais.

REFERÊNCIAS

- BARTGES, J. W. Vesicopatias. In: BIRCHARD, S. J.; SHERDING, R. G. *Manual Saunders – Clínica de Pequenos Animais*. 2.ed. São Paulo: Roca, 2003.
- BELONE, S. N. E. Terapêutica do Sistema Renal em Pequenos Animais. In: ANDRADE, S. F. *Manual de Terapêutica Veterinária*. 2.ed. São Paulo: Roca, 2002.
- CARVALHO, C. F. Sistema Urinário: Rins, Ureteres, Bexiga e Uretra. In: _____. *Ultra-Sonografia em Pequenos Animais*. São Paulo: Roca, 2004.
- DUNN, J. K. Hematuria. In: _____. *Tratado de Medicina de Pequenos Animais*. São Paulo: Roca, 2001.

FARROW, C. S. Litíase Vesical. In: _____. *Diagnóstico por Imagem do Cão e do Gato*. São Paulo: Roca, 2006.

HUDSON, J. A.; BRAWNER, J. W. R.; HOLLAND, M.; BLAIK, M. A. Sistema Urinário. In: _____. *Radiologia Abdominal para o Clínico de Pequenos Animais*. São Paulo: Roca, 2003.

KEALLY, J. K.; McAllister, H. A Bexiga. In: _____. *Radiologia e Ultra-Sonografia do Cão e do Gato*. 3.ed. São Paulo: Manole, 2005.

LULICH, J. P.; OSBORNE, C. A.; BARTGES, J. W.; POLZIN, J. D. Afecções do Trato Urinário Inferior de Caninos. In: ETTINGER, S. J. E FELDMAN, E. C. *Tratado de Medicina Interna Veterinária – Moléstias do Cão e do Gato*. 5.ed. São Paulo: Manole, 2004.

OSBORNE, C. A.; LULICH, J. P.; POLZIN, D. J. Urolitíase de Estruvita em Cães. In: TILLEY, L. P.; SMITH, J. F. W. K. *Consulta Veterinária em 5 Minutos – Espécies Canina e Felina*. 2.ed. São Paulo: Manole, 2003.

RUBIN, S. I. Exame Clínico do Sistema Urinário. In: RADOSTIS, O. M.; MAYHEW, I. G.; HOUSTON, D. M. *Exame Clínico e Diagnóstico em Veterinária*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

WALDRON, D. R. Bexiga. In: SLATTER, D. *Manual de Cirurgia de Pequenos Animais*. 2.ed. São Paulo: Manole, 1998.

Avaliação da função respiratória de suínos submetidos a anestesia geral balanceada sob ventilação controlada em cirurgia torácica experimental

Evaluation of the respiratory function of swine submitted to the balanced general anesthesia under controlled ventilation in experimental thoracic surgery

PULZ, Renato Silvano – Médico Veterinário, MSc. Professor da Disciplina de Cirurgia da ULBRA

SILVA FILHO, Antônio de Pádua F. – Doutor; Professor de Cirurgia Experimental do Programa de Pós-Graduação da UFRGS

STEDILE, Rafael – Médico Veterinário. MSc. Aluno de Doutorado da UFRGS

SCHIOCHET, Fabiana – Médica Veterinária, MSc.

SILVEIRA, Rodrigo Fiori S. – Médico Veterinário

FACIN, Flavia – Aluna de Graduação da ULBRA

LAWAL, Thaíse – Aluna de Graduação da ULBRA

Data de recebimento: agosto 2006

Data de aprovação: outubro 2006

RESUMO

Os suínos são comumente utilizados em cirurgias como modelo experimental, devido as suas semelhanças fisiológicas e anatômicas com os seres humanos. A gasometria sangüínea do porco, pressão parcial de gás carbônico (PaCO_2) e pressão parcial de oxigênio (PaO_2), em geral assemelha-se mais à do homem que à do cão. É importante o

conhecimento dos efeitos fisiológicos das drogas anestésicas, durante a experimentação animal, pois a anestesia pode interferir nos resultados. Os efeitos dos anestésicos podem ser diferentes se usados isoladamente ou em combinações. Todo novo modelo experimental exige discussão da potencial interferência entre a anestesia e os resultados e para comparar os resultados obtidos com os diferentes protocolos. Na anestesia em experimentação animal, existe uma variedade de fármacos e os seus efeitos nas diferentes espécies devem ser bem conhecidos. O presente trabalho teve por objetivo avaliar a função respiratória de suínos submetidos à anestesia geral balanceada em cirurgia torácica experimental. Foram utilizados 08 suínos da raça landrace pesando entre 15 a 20 Kg. Os suínos foram pré-medicados com midazolam, na dose de 0,4 mg. kg⁻¹ e atropina 0,03 mg. kg⁻¹, por via intramuscular. A anestesia foi induzida por uma associação de fentanil, na dose de 20 mcg . kg⁻¹, midazolan na dose de 0,5 mg . kg⁻¹, administrados por via intravenosa, seguidos ainda da administração de tiopental sódico (5 mg . kg⁻¹) e pancurônio (0,1 mg . kg⁻¹). Imediatamente após, os suínos foram submetidos à intubação orotraqueal e conectados ao respirador. A manutenção da anestesia foi realizada com oxigênio e isoflurano e pela administração contínua de fentanil (50 mg. kg⁻¹. min. ⁻¹) e pancurônio (0,1 mg. kg⁻¹) a cada 20 minutos. Os suínos foram mantidos sob ventilação artificial e submetidos a toracoscopia lateral. As colheitas de dados nos dois grupos foram realizadas a cada 15 minutos durante 60 minutos. Foram avaliados a PaO₂ e PaCO₂ e através da oximetria de pulso foi verificada a saturação arterial de oxigênio. Nos parâmetros relacionados à função respiratória, verificou-se uma redução nos valores médios da PaO₂, imediatamente após a indução (T₀), a PaO₂ em mmHg foi de 332,06 ± 55,81. Esta redução não foi significativa quando comparada aos outros tempos. Na PaCO₂ verificou-se uma redução significativa nos valores médios em todos os tempos avaliados no grupo II, abaixo dos valores médios normais. A oximetria de pulso não demonstrou alterações significativas na saturação arterial de oxigênio. Concluiu-se que em cirurgias torácicas em suínos sob anestesia geral balanceada a ventilação artificial foi fundamental para manter os níveis da PaO₂ nos padrões aceitáveis, mas deve-se evitar a hiperventilação.

Palavras-chave: anestesia balanceada, suíno, toracoscopia, gasometria, oximetria.

ABSTRACT

Pigs are frequently used as experimental model in surgeries, due to their anatomic and physiological similarities with human being. The blood gasometry of the pig (PaCO₂ and PaO₂) is more similar than that of the dog comparing to human gasometry. It is important to know the physiologic effects of anesthetic drugs on the animals because anesthesia can influence the results. The anesthetic effects can vary if are to be used alone or in

combination. Every new experimental model needs to be discussed about the possible role of anesthesia interfering on the results by use of different protocols. Anesthesia in animal experiments is done by a variety of drugs and it is necessary to know their effects in the different species. The present research had as objective to evaluate the respiratory function of pigs submitted to balanced general anesthesia in experimental thoracic surgery. Eight landrace pig weighting 15 a 20 kg were used, medicated with midazolam (0,4 mg/kg) and atropine (0,03 mg/kg) intramuscularly. Anesthesia was induced by an association of fentanyl (20 mcg/kg), midazolam (0,5 mg/kg) by intravenous injection followed by sodium thiopental (5 mg/kg) and pancuronium (0,1 mg/kg). Immediately in sequence, pigs were submitted to endotracheal intubation and connect to the respirator. Oxigen and isoflurane were used for maintenance of the anesthesia, also by the continuous use of fentanyl (50 mcg/kg/min) and pancuronium (0,1 mg/kg) each 20 minutes. Pigs were kept under artificial ventilation and submitted to lateral thoracoscopy. Data were collect each 15 minutes for one hour. Through pulse oximetry it was measured the arterial saturation and also evaluated PaO_2 and PaCO_2 . Respiratory function index showed reduction on values of PaO_2 immediately after induction (T_0). The PaO_2 was $332,06 \pm 55,81$ mmHg. This reduction was not significant. It was shown important reduction in the average values of PaCO_2 on group II, below the normal average values. The pulse oximetry did not show significant changes on the arterial saturation of oxygen. It is concluded that on thoracic surgeries in pigs under general balanced anesthesia, the artificial ventilation was important to keep the levels of PaO_2 in acceptable standards, but it is necessary to avoid hyperventilation.

Key words: balanced anesthesia, swine, thoracoscopy, gasometry, pulse oximetry.

INTRODUÇÃO

O suíno é a espécie mais relacionada ao homem fisiologicamente (THURMON et al. 1996). Devido às suas semelhanças anatômicas e fisiológicas com o homem, é um modelo experimental de eleição para um grande número de procedimentos cirúrgicos e estudos da fisiologia cardiorrespiratória. A gasometria sanguínea do suíno (PaCO_2 e PaO_2) em geral é mais similar a do homem (SWINDDLE, 1984; MARIANO, 2003).

O advento da cirurgia videolaparoscópica tornou indispensável o treinamento da técnica em animais. O suíno é um dos animais mais usados no desenvolvimento de técnicas anestesiológicas que atendam às exigências de treinamento e pesquisa (CLUTTON et al. 1997). Nas cirurgias experimentais, as diferenças fisiológicas entre as raças, espécies, além de outros fatores como a idade, o peso e o sexo do animal. Os efeitos fisiológicos das drogas anestésicas podem ser previstos e conhecidos para

a interpretação dos resultados (HALL e CLARKE, 1991; THURMON et al., 1996; LUKASIK e GILLIES, 2003). A anestesia é necessária na experimentação animal e pode interferir nos resultados e muitos autores salientaram as mínimas referências quanto a parâmetros fisiológicos em suínos anestesiados e à necessidade de estudos para estabelecer as variáveis nas diferentes práticas adotadas na pesquisa nesta espécie (MACK e SONG, 1994; MALAVASY e NYMAN, 2004).

A contenção manual provoca intenso estresse nos suínos, que são facilmente estressados, e algumas raças são portadoras do gene da Síndrome da Hipertermia Maligna, o que aumenta a susceptibilidade do animal ao halotano e outros agentes inalatórios (MALAVASY e NYMAN, 2004; CULAU et al., 2002).

A intubação orotraqueal é fundamental em suínos submetidos a procedimentos com duração maior que 30 minutos. A espécie é suscetível ao laringoespasmo e acúmulo de secreções na região da faringe. O procedimento não é facilmente realizável, pois a visualização da laringe é difícil e suas características anatômicas dificultam a passagem da sonda orotraqueal (HALL e CLARKE, 1991). Os suínos são únicos em relação à resposta a inúmeras drogas anestésicas, podendo ser mais resistentes (MALAVASY e NYMAN, 2004). Hall e Clarke (1991) afirmaram que em muitos casos é necessária a utilização de mais de um fármaco para atingir um plano anestésico adequado.

Para a realização da anestesia geral, podem-se utilizar, em suas diferentes fases, fármacos inalatórios, intravenosos ou uma combinação de drogas destes dois grupos, o que se denomina de anestesia balanceada (RANSON e MUELLER, 1997). Os autores citaram que um dos protocolos de uso clínico corrente em medicina, após medicação pré-anestésica e indução adequadas, inclui a manutenção de inconsciência com halotano e a analgesia com fentanil associado ao midazolam, além do pancurônio.

Um protocolo desta natureza, na inexistência de um agente único ideal, atende as exigências de indução e recuperação rápidas e suaves, analgesia e efeito miorrelaxante adequados, margem de segurança ampla e ausência de efeitos adversos nas doses terapêuticas, características desejáveis em um procedimento anestesiológico (FERREIRA, 1998). Também com este protocolo se faz necessária a monitorização permanente da freqüência cardíaca e da pressão arterial média para detectar eventual diminuição da analgesia.

A combinação de midazolam-fentanil-tiopental-pancurônio-isoflurano é um exemplo de uma anestesia balanceada, onde cada agente tem propriedades características e efeitos desejáveis e indesejáveis. O objetivo da combinação é obter ao máximo os efeitos desejáveis com as menores doses necessárias, evitando assim os efeitos adversos (MASSONE, 1988; THURMON et al., 1996; MUIR e HUBBELL, 2001). Fannelop et al. (2004) afirmaram que é difícil obter informações na literatura sobre o uso de

bloqueadores neuromusculares em animais experimentais. Moon e Smith (1996) indicaram o uso do pancurônio em cirurgia torácicas em suínos e salientaram a melhor intubação orotraqueal. A anestesia de suínos com isoflurano e ventilação controlada é considerada útil e segura para procedimentos experimentais, que exigem exposição múltipla ou longa e com recuperação rápida (MARTINS e MARTINS, 1997).

O suíno é um modelo útil para estudo experimental da toracoscopia. O procedimento requer o pneumotórax artificial através da insuflação com CO₂ sob pressão positiva, o que permite a visualização adequada das estruturas intratorácicas. Em novos procedimentos, como a toracoscopia, ocorrem alterações fisiológicas e, portanto, é necessário o conhecimento das implicações anestésicas intraoperatórias (TOBIN, 2002). O desenvolvimento de técnicas anestésicas e o entendimento da dinâmica da interação entre a técnica cirúrgica e anestésica e a fisiologia do paciente é essencial (FREDMAN, 2001). Alterações pulmonares durante o pneumotórax levam a consequente hipercarbia e hipoxemia (PADDLEFORD, 2001). O uso da ventilação controlada em cirurgia torácicas é fundamental, por permitir um melhor controle do movimento da parede torácica, o que além de proporcionar um plano anestésico mais estável, auxilia o cirurgião (MUIR e HUBBEL, 2001). Os autores relataram que podem ocorrer efeitos indesejáveis da ventilação controlada no sistema circulatório como a redução do débito cardíaco e da pressão arterial. Carvalho e Mangia (2000) também citaram a alcalose respiratória como efeito adverso. Bonassa (2000) recomendou uma pressão de 20 cm de H₂O para ventilação controlada por pressão.

Valores normais de freqüência respiratória de suínos estão entre 8 a 18 movimentos por minuto (MASSONE, 1988). Haskins (1977a) considerou como valores normais do sangue arterial uma faixa de pressão parcial de dióxido de carbono (PaCO₂) de 40 ± 5 mmHg.

Os efeitos depressores dos anestésicos gerais associados à ação mecânica do decúbito, compressão do diafragma, desequilíbrio na relação ventilação-perfusão em geral provocam uma redução significativa da função de pacientes submetidos à anestesia geral (MASSONE, 1988; HALL E CLARKE, 1991; MUIR e HUBBEL, 2001). Paddleford (2001) recomendou a ventilação controlada com oferta de 100% de oxigênio em anestesias com mais de 45 minutos de duração para prevenir a hipercarbia. Ferez (1997) e Heck et al. (1997) consideraram a gasometria arterial o método mais preciso para avaliar a função respiratória. Segundo Tranquilli et al. (1982), os valores médios de PaCO₂ são de 36,4 a 38,6 e da PaO₂ entre 317 a 395 mmHg.

Sakas e Flaherty (1997), ao abordar a fisiologia do sistema respiratório, afirmaram que o CO₂ é o maior produto do metabolismo celular e a concentração excretada pelos pulmões é igual à produzida pelo metabolismo celular. Segundo os autores, a hipocapnia pode ser causada

pelo decréscimo na produção de CO₂, como nos casos de hipotermia, menor metabolismo ou uso de bloqueadores neuromusculares. Poderá haver aumento nos casos de hipoxemia (THURMON et al., 1996). Ferez (1997) ressaltou a ventilação assistida prolongada, o ajuste inadequado do respirador e a hipotensão como potenciais causas de alcalose respiratória. Um aumento na concentração arterial de PaCO₂ é resultado geralmente de uma má ventilação. Ao contrário, uma hipoventilação grave provoca hipoxemia (PADDLEFORD, 2001).

Tremper e Barker (1989) e Heck et al. (1997) recomendaram também a oximetria de pulso para monitorar a saturação de oxigênio da hemoglobina. Segundo Sakas e Flaherty (1997), a oximetria de pulso (Sp O₂) é um método não invasivo e indireto, mas permite uma estimativa parcial do oxigênio arterial (PaO₂). Thurmon et al. (1996) consideraram valores entre 96 a 100%, necessários para assegurar adequada oxigenação tecidual, em pacientes anestesiados. A insuflação do tórax promove hipoventilação e hipercapnia, mas Bailey e Pablo (1998) consideraram estas alterações sem implicações clínicas e aceitáveis em pacientes saudáveis recebendo administração de oxigênio a 100%.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados no estudo 08 suínos da raça landrace, pesando entre 15 a 20 Kg. Foi observado jejum sólido de 12 horas. A pré-anestesia foi realizada com a administração via intramuscular de midazolam (0,5 mg . kg⁻¹) e atropina 0,04 mg . kg⁻¹ por via subcutânea. Após 30 minutos a anestesia foi induzida por uma associação de fentanil, na dose de 20 mcg . kg⁻¹, midazolan na dose de 0,5 mg . kg⁻¹, administrados por via intravenosa, seguidos ainda da administração de tiopental sódico (5 mg . kg⁻¹) e pancurônio (0,1 mg . kg⁻¹). Imediatamente após, foram submetidos à intubação orotraqueal e conectados ao respirador. A ventilação artificial foi realizada com uma freqüência respiratória de 16 movimentos por minuto, e a manutenção da anestesia foi realizada pela administração de oxigênio em fluxo constante de seis litros por minuto e isoflurano e pela administração contínua de fentanil (50 mg. kg⁻¹. min.⁻¹) e pancurônio (0,1 mg. kg⁻¹) a cada 20 minutos. O ajuste na dose de infusão foi realizado manualmente, pela regulagem do gotejamento. A monitorização da concentração do isoflurano variou conforme as alterações na freqüência cardíaca e pressão arterial média. Os animais foram extubados quando tiveram recuperado o reflexo de deglutição.

As colheitas de sangue e registros de dados foram a cada 15 minutos e por um período de 60 minutos. Foi observada a saturação de oxigênio na hemoglobina pela oximetria de pulso e colhidas amostras de sangue arterial para gasometria em condições anaeróbicas, em seringas heparinizadas e por meio de cateterização da artéria femural. Estas amostras foram mantidas sob refrigeração por um período máximo de duas horas.

Os animais dos dois grupos foram submetidos à toracoscopia lateral. Após a preparação pré-operatória, indução anestésica e cateterização da artéria femoral, os suínos foram posicionados em decúbito lateral esquerdo. Não foi realizado outro procedimento cirúrgico, além da toracoscopia, para evitar possíveis interferências nos valores observados e que não tenham relação com a anestesia.

Os dados foram expressos como média \pm desvio padrão. Nas comparações entre os valores das diferentes variáveis entre os dois grupos, nos diferentes tempos, foi utilizado a análise de variância em medidas repetidas. O mesmo teste foi utilizado para comparação entre os valores de uma mesma variável em cada grupo, nos diferentes tempos. Serão consideradas significativas as diferenças cuja probabilidade de erro alfa for menor do que 5% ($p<0,05$).

RESULTADOS

Os valores médios de pressão parcial de oxigênio e pressão parcial de dióxido de carbono dos suínos anestesiados com anestesia balanceada e submetidos à cirurgia torácica estão listados nas Tabelas 1 e 2, respectivamente.

Tabela 1 – Pressão parcial de oxigênio (PaO_2) em mmHg de suínos anestesiados com anestesia inalatória (Grupo 1) e de suínos anestesiados com anestesia balanceada (Grupo 2), valores médios \pm desvio padrão.

Tempo	PaO_2
T_0	332,06 \pm 55,81
T_1	357,69 \pm 55,81
T_2	352,28 \pm 58,27
T_3	363,08 \pm 56,94
Total	351,28 \pm 54,97

Médias seguidas de letras sobreescritas distintas diferem significativamente ($p<0,05$)

T_0 = 15 minutos após a cateterização da artéria femoral

T_1 = 30 minutos após a cateterização da artéria femoral

T_2 = 45 minutos após a cateterização da artéria femoral

T_3 = 60 minutos após a cateterização da artéria femoral

$n = 8$

Através da análise de variância em medidas repetidas, complementada pelo teste de comparações múltiplas de Tukey, em nível de significância de 5%, verifica-se que houve uma redução em T_0 em relação aos outros tempos, porém não foi significativa.

Tabela 2 – Pressão parcial de CO₂ de suínos anestesiados com anestesia balanceada, valores médios ± desvio padrão.

Tempo	PaCO ₂
T ₀	25,55 ± 9,91
T ₁	24,70 ± 12,68
T ₂	20,94 ± 10,42
T ₃	25,61 ± 12,21
Total	24,20 ± 10,98

Médias seguidas de letras sobrescritas distintas diferem significativamente ($p<0,05$)

T₀ = 15 minutos após a cateterização da artéria femural

T₁ = 30 minutos após a cateterização da artéria femural

T₂ = 45 minutos após a cateterização da artéria femural

T₃ = 60 minutos após a cateterização da artéria femural

n = 8

Os valores médios da saturação de oxigênio na hemoglobina estão listados na Tabela 3.

Tabela 3 – Saturação de oxigênio na hemoglobina em porcentagem (Sat Hb%) de suínos anestesiados com anestesia balanceada, valores médios ± desvio padrão.

Tempo	Sat Hb %
T ₀	97,00 ± 1,77
T ₁	96,25 ± 1,98
T ₂	96,88 ± 1,73
T ₃	96,00 ± 2,00
Total	96,53 ± 1,83

T₀ = 15 minutos após a cateterização da artéria femural

T₁ = 30 minutos após a cateterização da artéria femural

T₂ = 45 minutos após a cateterização da artéria femural

T₃ = 60 minutos após a cateterização da artéria femural

n = 8

Através da análise de variância, utilizando o delineamento em medidas repetidas, em nível de significância de 5%, não houve oscilação significativa nesses parâmetros relacionados a função respiratória, entre os tempos. Quanto aos efeitos principais também não foram significativos, ou seja, não houve nenhuma diferença em termos de média, permanecendo entre os valores esperados.

DISCUSSÃO

O suíno é uma das espécies mais utilizadas como modelo experimental (THURMON et al. 1996; SWINDLE, 2002). Segundo Mariano (2003) e Swinddle (1984) as semelhanças fisiológicas e anatômicas tornam o suíno a espécie de eleição para experimentos do sistema respiratório. É fundamental o conhecimento de como os animais são afetados pela anestesia e tipo de cirurgia. Os efeitos dos anestésicos podem ser diferentes

se usados isoladamente ou em combinações e podem interferir nos resultados da pesquisa (LUKASIK e GILLIES, 2003).

Mont e Ingram (1971) afirmaram que a gasometria sanguínea do porco (PaCO_2 e PaO_2) em geral mais similar a do homem que a do cão e por isto é freqüentemente utilizado em estudos da fisiologia cardiorrespiratória e cirurgias torácicas. O conhecimento de variáveis anestesiológicas e diferentes técnicas anestésicas em procedimento vídeo-endoscópico devem ser considerado (CLUTTON et al. 1997). A combinação de agentes proposta visava obter um adequado plano anestésico que permitisse a realização do procedimento com o mínimo de efeitos adversos (HALL e CLARKE, 1991). O protocolo anestésico proporcionou uma fácil intubação, mas foram verificadas as dificuldades anatômicas citadas por Thurmon et al. (1996).

A combinação anestésica proporcionou uma indução rápida e suave, com analgesia e relaxamento muscular adequado. Em T_0 verificou-se uma PaO_2 mais baixa, provavelmente resultado da apnéia produzida pelo uso do pancurônio. Conforme afirmaram Ferreira (1998) e Cullen (1996), os bloqueadores neuromusculares paralisam a musculatura envolvida no processo da respiração e torna-se indispensável a intubação rápida e a ventilação artificial. Como a intubação orotraqueal do suíno é difícil (HALL e CLARKE, 1991), constatou-se que o anestesista deve estar familiarizado com o procedimento e o posicionamento do suíno em decúbito esternal facilitou a intubação. Um laringoscópio adequado e a rapidez no procedimento foram importantes, para a imediata conexão ao ventilador artificial. Foi observado que a demora no acesso das vias aéreas resultou em cianose das mucosas. A combinação permitiu o uso de uma dose reduzida de tiopental sódico, reduzindo os seus efeitos depressores (HALL e CLARKE, 1991).

A colheita das amostras de sangue arterial, para a hemogasometria, foi realizada com facilidade. A dificuldade maior foi na execução da técnica invasiva de cateterização da artéria femoral, o que por vezes prolongou a duração da anestesia. A conservação das amostras em isopor com gelo e o transporte ao laboratório em tempo hábil viabilizou todos os exames.

A PaO_2 em T_0 apresentou uma redução significativa em seus valores médios, quando comparados aos valores do grupo I no mesmo tempo. Apesar da redução, o valor médio verificado ainda se encontrou dentro dos valores normais referidos por Tranquilli et al. (1982). Em nenhum dos tempos houve uma redução significativa dos valores médios da PaO_2 , já que os suínos receberam administração constante de oxigênio a 100% sob ventilação controlada (RIEBOLD e THURMON, 1996; MUIR e HUBBEL, 2001).

A anestesia geral pode provocar uma redução de até 50% na função respiratória do paciente. Vários fatores contribuem para isto, entre eles: a ação depressora dos anestésicos no centro respiratório e na musculatura intercostal, o decúbito e suas pressões mecânicas sobre o diafragma e

pulmões, além do desequilíbrio na ventilação-perfusão do pulmão (THURMON et al., 1996; MUIR e HUBBEL, 2001).

Segundo Freeman (1998), a toracoscopia para exploração diagnóstica implica necessariamente na criação de pneumotórax para criar espaço para exploração e as suas conseqüentes alterações levando a hipercarbia e hipoxemia. Segundo Bailey e Pablo (1998), a observação destes parâmetros foram sem implicações clínicas e aceitáveis em pacientes saudáveis recebendo administração de oxigênio a 100%. A afirmação dos autores corrobora os achados deste trabalho, pois os valores permaneceram dentro dos níveis normais.

O uso da ventilação artificial foi fundamental, melhorou a eficiência respiratória, não permitiu a hipoxemia, mesmo sob pneumotórax e ainda permitiu o controle do movimento pulmão para facilitar o manejo cirúrgico (MAGNEY, 2001). A ventilação artificial contribuiu para a manutenção dos valores médios de PaO₂ dentro dos valores normais, evitando a acidose. Como afirmaram Muir e Hubbel (2001), é fundamental o uso da ventilação controlada em cirurgia torácica.

Os valores médios da PaCO₂ apresentaram uma redução significativa verificado em todos os tempos. Além disto, os valores médios registrados ficaram abaixo dos padrões citados por Tranquilli et al. (1982). Foi verificado uma hipocapnia caracterizando um quadro de alcalose respiratória.

A ventilação artificial pode provocar alterações na fisiologia. O distúrbio primário é a eliminação excessiva de CO₂ pelos pulmões. A alcalose é geralmente conseqüência da hiperventilação pulmonar, freqüentemente produzida pela ventilação artificial com respiradores mecânicos (FEREZ, 1997). Em geral os quadros são de baixa gravidade, o tratamento consiste em remover a causa da hiperventilação. Nos casos mais severos, podem ocorrer arritmias pela entrada rápida de potássio nas células em troca do hidrogênio. Considerando a afirmação de Sakas e Flaherty (1997), que o CO₂ é o maior produto do metabolismo celular e que a hipocapnia pode ser causada pelo decréscimo na produção de CO₂, como nos casos de hipotermia ou uso de bloqueadores neuromusculares, podemos afirmar que o uso dos BNM pode ter reduzido a produção de CO₂. Thurmon et al. (1996) consideraram que, em situações de metabolismo reduzido, a produção de CO₂ pode baixar. Ao considerarmos a combinação de uma ventilação controlada com uma menor produção de CO₂, podemos concluir que os valores médios reduzidos da PaCO₂ podem estar relacionados a hiperventilação artificial e ao uso do pancurônio, possivelmente relacionado à freqüência de 16 movimentos por minuto mantida pelo respirador. Massone (1988) considerou fisiológico um ritmo de 8 a 18 movimentos respiratórios por minuto em pacientes anestesiados, portanto a freqüência ajustada no respirador poderia ter sido menor.

CONCLUSÕES

O suíno é cada vez mais usado na cirurgia experimental. Devido a suas semelhanças fisiológicas e anatômicas com o homem é considerado como modelo animal de eleição para uma série de procedimentos cirúrgicos experimentais. Os agentes anestésicos de uso corrente na anestesia humana são utilizados em experimentos e o pesquisador deve estar familiarizado com os efeitos destes agentes na espécie suína sob diferentes condições.

Ao avaliarmos a função respiratória dos suínos submetidos à anestesia geral balanceada para cirurgia torácica experimental podemos concluir que a intubação rápida e a ventilação controlada são essenciais para que não ocorra redução nos níveis de PaO₂ na fase inicial da anestesia e manter os níveis de PaO₂ entre os valores normais. A saturação de oxigênio na hemoglobina não apresentou alterações e permaneceu nos valores normais. Porém o uso da ventilação artificial deve ser cuidadoso. A hiperventilação associada a um reduzido metabolismo muscular pelo uso dos bloqueadores neuromusculares provocaram uma redução significativa nos valores médios da PaCO₂.

REFERÊNCIAS

- BAYLEY, E. J.; PABLO, L. S. Anesthetic and physiologic considerations for veterinary endosurgery. In: FREEMAN, L. J. *Veterinary endosurgery*. St. Louis: Mosby, 1998. p.24-44.
- BONASSA, J. Princípios básicos dos ventiladores artificiais. In: CARVALHO. C. *Ventilação Mecânica: Vol. 1-Básico*. São Paulo: Ateneu, v. 8, 2000. p.69-124.
- CARVALHO, W. B.; MANGIA, C. M. F. Ventilação pulmonar mecânica convencional em neonatologia. In: CARVALHO, C. R. R. *Ventilação mecânica: Básico*. São Paulo: Ateneu, v. 1, 2000. p.147-88.
- CLUTTON, R. E. et al. Comparison of three injectable anaesthetic techniques in pigs. *Vet Rec*, v.141, p.140-46, 1997.
- CULAU, P. O. V. et al. Influência do gene halotano sobre a qualidade da carne suína. *R. Bras. Zootec.*, v.31, n.2, p.954-61, 2002.
- CULLEN, L. K. Muscle relaxants and neuromuscular block. In: THURMON, J. C.; TRANQUILI, W. J.; BENSON, G. J. *Lumb & Jones' Veterinary anesthesia*. 3^{ed}. Baltimore: Lea & Febiger, 1996, p.337-364.
- FANNELOP T. et al. An anaesthetic protocol in the young domestic pig allowing neuromuscular blockade for studies of cardiac function following cardioplegic arrest and cardiopulmonary bypass. *Acta Anaesthesiol Scand*. v. 48, n. 9, p. 1144-54, 2004.

FEREZ, D. Fisiologia respiratória e ventilação monopulmonar. In: MANICA, J. et al. *Anestesiologia – Princípios e técnicas*. 2.ed. Porto Alegre: Artes Médicas, 1997, p. 435-51.

FERREIRA, M. B. C. Anestésicos gerais e bloqueadores neuromusculares periféricos. In: Fuchs, F. D.; Wannmacher, L. *Farmacologia clínica e fundamentos da terapêutica racional*. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1998, p. 140-56.

FORTIS, E. A. F.; MUNECHIKA, M. Ventiladores em anesthesia. In: MANICA, J. et al. *Anestesiologia – Princípios e técnicas*. 2.ed. Porto Alegre: Artes Médicas, 1997, p.142-167.

FREDMAN, B. Physiologic changes during thoracoscopy. *Anesthesiol Clin North America*, v.19, n.1, p.141-52, 2001.

FREEMAN, L. J. *Veterinary endosurgery*. St. Louis: Mosby, 1998, p.276 p.

HALL, L. W.; CLARKE, K. W. *Veterinary anesthesia*. 9.ed. London: Bailliere Tindal, 1991. 410p.

HASKINS, S. C. An overview of acid-base physiology. *J. A. V. M. A.*, v.170, n.4, p.423-28, 1977a.

HECK, J. R.; BURLAMAQUE, A. A. R.; NORA, F. S. anesthesia em cirurgia torácica. In: MANICA, J. et al. *Anestesiologia – Princípios e técnicas*. 2.ed. Porto Alegre: Artes Médicas, 1997, p.452-67.

LUKASIK, V. M.; GILLIES, R. J. Animal anesthesia for in vivo magnetic resonance. *NMR Biomed*, v.16, n.8, p.459-67, 2003.

MACK, P. O.; SONG, I. C. Anesthesia for experimental research. *Ann Acad Med Singapore*, v.23, n.4, p.470-74, 1994.

MAGNEY, A. R. Recent advances in intubator and mechanical ventilation. *Paediatric Respiratory Reviews*, v.2, p.184-94, 2001.

MALAVASY, L. M.; NYMAN, G. Anestesia e analgesia de suínos utilizados como modelo experimental. *Revista Conselho Federal de Medicina Veterinária*. n.31, suplemento técnico, 2004.

MARIANO, M. Minisuíno na pesquisa biomédica experimental. O minipig br 1. *Acta Cir. Bras.*, v.18, n.5, p.101-11, 2003.

MASSONE, F. *Anestesiologia veterinária – farmacologia e técnicas*. Rio de Janeiro: Guanabara, 1988, 235 p.

MARTINS, R. S.; MARTINS, A. L. C. Bloqueadores neuromusculares. In: MANICA, J. et al. *Anestesiologia – Princípios e técnicas*. 2.ed. Porto Alegre: Artes Médicas, 1997, p.308-31.

- MOON, P. F.; SMITH, L. J. General anesthetic techniques in swine. *Veterinary Clinics of North America.: Food Animal and Practice*, v.12, n.3, p.663-89, 1996.
- MOUNT, L. E.; INGREM, D. L. *The pig as a laboratory animal*. London and New York: Academic press, 1971, 175p.
- MUIR III, W. W.; HUBBEL, J. A. E. *Manual de anestesia veterinária*. 3.ed. Porto Alegre: ArtMed, 2001, 432p.
- PADDLEFORD, R. R. *Manual de anestesia em pequenos animais*. São Paulo: Rocca, 423p., 2001.
- RANSON, E. S.; MUELLER, R. A. Safety considerations in the use of drug combinations during general anaesthesia. *Drug Saf*, v.16, n.2, 1997, p.88-103.
- RIEBOLD, T.; THURMON, J. C. Anesthesia in swine. In: TUMBLESON, M. E. *Swine in Biomedical Research*, v.1. New York: Plenum Press, 1996, p.243-54.
- SAKAS, P.; FLAHERTY, M. Análise dos gases sangüíneos e do equilíbrio ácido-básico. In: DUKE, J.; ROSENBERG, S. G. *Segredos em anestesiologia*. Porto Alegre: Artes Médicas, 1997, p.37-42.
- SWINDLE, M. M. Swine as replacements for dogs in the surgical teaching and research laboratory. *Lab. Anim. Sci.*, v.34, n.4, p.383-85, 1984.
- SWINDLE, M. M. et al. Swine as models in experimental surgery. *J. Invest. Surg.*, v.1, p.65-79, 1988.
- SWINDLE, M. M. Anesthesia, analgesia, and perioperative techniques in swine. Disponível em <<http://sinclairresearch.com>> 2002. p.1-6. Acesso em dez. 2005.
- THURMON, J. C.; TRANQUILI, W. J.; BENSON, G. J. *Lumb & Jones' Veterinary anesthesia*. 3.ed. Baltimore: Lea & Febiger, 1996, 928p.
- TRANQUILI, W. J et al. Organ blood flow and distribution of cardiac output in nonanesthetized swine. *Am. J. Vet. Res.*, v.43, n.5, p.895-7, 1982.
- TREMPER, K. K.; BARKER, S. J. Pulse oximetry. *Anesthesiology*, v.70, p.98, 1989.
- TOBIN, J. D. Anesthesia for minimally invasive surgery in children. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*, v.16, n.1, p.115-130, 2002.

Desempenho reprodutivo de novilhas acasaladas com 18 meses de idade provenientes de desmame precoce ou convencional

Reproductive performance of beef heifers mated at 18 months old deriving from early or conventional weaning

GOTTSCHALL, Carlos S. – Médico Veterinário, MSc. Professor Adjunto da Faculdade de Medicina Veterinária da ULBRA

LOURENZEN, Guilherme de O. – Acadêmico do Curso de Medicina Veterinária da ULBRA – Canoas/RS

FERREIRA, Eduardo T. – Acadêmico em Medicina Veterinária, ULBRA/RS. Bolsista de Iniciação Científica PROBIC/ULBRA

CANELAS, Leonardo C. – Acadêmico em Medicina Veterinária, ULBRA/RS. Bolsista de Iniciação Científica FAPERGS

Data de recebimento: julho 2006

Data de aprovação: outubro 2006

Endereço para correspondência: Av. Farroupilha, 8001. Canoas, RS. Bairro São José. Prédio 14, Sala 125. CEP: 92425-900. Carlos Gottschall. E-mail: carlosgott@cpovo.net

RESUMO

O trabalho objetivou avaliar o desempenho reprodutivo de fêmeas acasaladas aos 18 meses provenientes de desmame precoce ou convencional. Foram coletados dados de 163 terneiras, com base racial britânica e cruzas. Deste total, 59 terneiras foram desmamadas precocemente (DP) com peso médio de 91,61 kg e 104 terneiras foram desmamadas tardivamente e com peso médio de 124,59 kg representando o lote de desmame convencional (DC). As variáveis analisadas nos dois grupos submetidos ao DP e DC foram peso ao desmame (PD), ganho de

peso médio diário do desmame ao acasalamento (GMD-DA), ganho de peso do desmame ao acasalamento (GP-DA), peso ao início do acasalamento (PIA) e taxa de prenhez (TP). O ganho de peso médio diário do desmame ao acasalamento foi de 0,392 kg/dia para o grupo DP e 0,431 kg/dia para o grupo DC ($p<0,05$). O ganho de peso do desmame ao acasalamento foi de 187,66 kg e 154,66 kg para o grupo DP e DC, respectivamente. O peso ao início do acasalamento foi de 279,27 kg para o grupo DP e 278,06 kg para o grupo DC ($p>0,05$). Os animais do grupo DC apresentaram uma taxa de prenhez maior do que os do grupo DP, entretanto não significativa (69,2% x 61,0%; $p>0,05$). Com esses resultados conclui-se que é possível realizar acasalamento, aos 18 meses de idade, de novilhas provenientes de desmame precoce e atingir uma taxa de prenhez similar às de novilhas provenientes de desmame convencional.

Palavras-chave: Desmame precoce, taxa de prenhez, ganho de peso, terneiras.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the reproductive performance of heifer calves deriving from early or conventional weaning mating at 18 months old. The study was based on data from 163 heifer calves (British breeds and cross-breeds), where 59 calves formed a early weaning group (EW) with a mean body weight (BW) of 91.61 Kg, and 104 calves formed a conventional weaning group (CW) with a mean BW of 124.59 Kg. The parameters analyzed between groups were weight at weaning (WW), average weight gain from weaning to mating (AWG-WM), weight gain from weaning to mating (WG-WM), weight at weaning (WW) and pregnancy rate (PR). The AWG-WM was 0.392 kg for EW and 0.431 kg for CW ($t=4.73$; $p<0.05$). The WG-WM was 187.66 kg and 154.66 kg for the EW and CW groups, respectively. The WM was 279.27 Kg for the EW and 278.06 Kg for the CW ($t=0.40$; $p>0.05$). Animals in the EW group had a higher PR than the CW group, however without significance (69.2 % and 61.0 %; $p<0.05$). In conclusion, this study showed that heifer calves weaned at an early age or weaned later can reach similar reproductive performance.

Key words: early weaning, pregnancy rates, weight gain, calves.

INTRODUÇÃO

A pecuária de corte brasileira encontra-se estagnada há mais de 50 anos com baixos índices de eficiência reprodutiva. Dentre as causas responsáveis por esta baixa produtividade se incluem o sistema de produção extensivo, o baixo nível tecnológico adotado pelos produtores associado às deficiências

nutricionais e de manejo dos rebanhos (ANDRADE, 1999). Conforme Rocha e Lobato (2002), o desenvolvimento de sistemas integrados de alimentação e manejo na recria de terneiras, visando a redução da idade de acasalamento, é fundamental para o desenvolvimento da pecuária de corte do Brasil.

Em sistemas de produção que buscam a máxima eficiência biológica, o acasalamento deverá ocorrer aos 14-15 meses de idade (SILVA, 2003), porém esta máxima eficiência biológica pode não estar associada à máxima eficiência econômica em função do custo do nível nutricional necessário nestes sistemas mais intensivos (BARCELLOS et al., 2003a).

A utilização de um período de acasalamento no outono, como uma prática de manejo rotineira dentro dos estabelecimentos que se dedicam a fase de cria realizada extensivamente, pode determinar um incremento significativo nos índices reprodutivos do rebanho (SALOMONI e SILVEIRA, 1996).

Vários autores (SEMMELMANN et al., 2001; BARCELLOS, 2003b; SILVA, 2003; MONTANHOLI et al., 2004) citam o acasalamento aos 18 meses como uma alternativa intermediária entre o sistema de primeiro acasalamento aos 24–26 meses e 14–15 meses, reduzindo os altos custos envolvidos na recria para acasalar fêmeas aos 14–15 meses. Contudo, Silva (2003) adverte que o aumento da utilização desta idade ao primeiro serviço, como prática de manejo, determinará a existência de dois rebanhos distintos em um mesmo sistema de cria, o de primavera e o de outono, o que pode ser considerado desvantagem ao sistema de produção.

Conforme Albospino e Lobato (1993), o desmame precoce deve ser recomendado como uma alternativa de manejo para melhorar a produtividade do rebanho de cria, além de possibilitar aumentos nos índices de prenhez e redução do intervalo entre partos. No entanto, quando se opta por um desmame antecipado é necessário que se ofereça boas condições para que a terneira não tenha seu desenvolvimento reprodutivo comprometido quando atingir a maturidade sexual (GOTTSCHALL et al., 2005). Segundo Gottschall (2002) com um ajuste de dieta e nível nutricional adequado, terneiras desmamadas precocemente atingem peso e desenvolvimento idênticos a animais submetidos a um desmame mais tardio.

Devido aos escassos dados de pesquisa comparando o tipo de desmame e seus posteriores efeitos na vida reprodutiva de novilhas, o presente trabalho tem por objetivo avaliar o desempenho reprodutivo de fêmeas acasaladas aos 18 meses submetidas a desmame precoce ou convencional.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado nos anos de 2000 e 2002 em uma propriedade particular situada no município de Cristal/RS. Foram coletados e

analisados dados de 163 terneiras de corte provenientes de desmame precoce e convencional, e acasaladas aos 18 meses de idade. Deste total, 59 pertencem ao grupo de terneiras desmamadas precocemente (DP) com peso médio de 91,61 kg em 11/01/00 e 104 pertencem ao grupo de terneiras desmamadas tardivamente com peso médio de 124,59 kg em 11/03/00, representando o grupo de desmame convencional (DC).

As terneiras de ambos os grupos foram submetidas ao manejo nutricional da propriedade objetivando atingirem cerca de 300 kg por ocasião da primeira estação de acasalamento. Após o desmame precoce (11/01/2000), o lote de animais pertencente ao DP foi alocado em pastagem nativa com suplementação a base de concentrado formulado na propriedade a base de resíduos de pré limpeza do arroz, concentrado protéico, quirela e farelo de arroz na quantidade de 1,2% do PV, com 18% de PB e 74% de NDT. Já o lote de animais do DC permaneceu ao pé de suas mães em campo nativo até a o dia 11/03/2000 quando ocorreu o desmame convencional. A partir deste momento os dois lotes foram unificados e receberam o mesmo manejo nutricional até outubro de 2000, que consistiu em suplementação a base de concentrado formulado na propriedade contendo resíduos de pré limpeza do arroz, concentrado protéico, quirela e farelo de arroz na quantidade de 1,2% do PV, com 16% de PB e 70% de NDT.

A partir de março de 2001, reiniciou a suplementação a composta por resíduos de pré limpeza do arroz, quirela e farelo de arroz na quantidade de 1,2% do PV, com 14% de PB e 68% de NDT, sendo mantida até o início do acasalamento de outono (11/05/2001).

A estação de acasalamento teve duração de 51 dias ocorrendo entre 11/05/2001 e 01/07/2001. A base racial dos animais era sangue britânico (Angus e Devon) e suas respectivas cruzas com diferentes proporções de sangue zebuíno.

Após o acasalamento, as novilhas tiveram sua alimentação a base de campo nativo, com carga animal ajustada próxima aos 380 kg/ha, também objetivando uma condição corporal ao parto igual ou superior a 3 (escala de 1 a 5).

Os animais foram pesados por ocasião do desmame (11/01/2000 para DP; 11/03/2000 para DC) e ao início do acasalamento: 11/05/2001. As variáveis analisadas foram peso ao desmame (PD), ganho de peso entre o desmame e o acasalamento (GP-DA), ganho de peso médio diário entre o desmame e o início do acasalamento (GMD-DA), peso ao início do acasalamento (PIA), taxa de prenhez (TP).

A análise estatística consistiu da utilização de medidas descritivas convencionais, tais como média e desvio-padrão, do teste *t* de Student para comparação de médias e do teste Qui-quadrado. O banco de dados foi organizado no software Microsoft Excel e analisado no programa estatístico SPSS versão 11.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O peso ao desmame (PD), o ganho médio diário do desmame ao acasalamento (GMD-DA), o ganho de peso das terneiras do desmame ao acasalamento (GP-DA), o peso ao início do acasalamento (PIA) e a taxa de prenhez (TP) podem ser visualizadas na tabela 1.

Tabela 1 – Peso ao desmame (PD), ganho médio diário do desmame ao acasalamento (GMD-DA), ganho de peso do desmame ao acasalamento (GP-DA), o peso ao início do acasalamento (PIA) e taxa de prenhez (TP) de terneiras submetidas ao desmame precoce e convencional.

	n	PD (kg)	GMD-DA (kg/dia)	GP-DA (kg)	PIA (dias)	TP (%)
Desmame Precoce (DP)	59	91,61 ^a	0,392 ^a	187,66 ^a	279,27 ^a	61,0 ^a
Desmame Convencional (DC)	104	124,59 ^b	0,431 ^b	154,66 ^b	278,06 ^a	69,2 ^a

Obs.: Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente pelo teste *t de Student* ao nível de 1%.

Proporções seguidas de mesma letra não diferem significativamente pelo teste Qui-quadrado ao nível de 1%.

O PD foi de 91,61 kg e 124,59 kg para o grupo DP e DC, respectivamente. Essa diferença de peso observada entre o DP e DC deve-se ao maior período de tempo que as terneiras do DC permaneceram ao pé das vacas consequentemente sendo desmamadas com uma idade e um peso superior quando comparado ao DP.

O peso ao desmame verificado no presente trabalho para o grupo DP é superior aos encontrados por Lobato et al., (2000) e Almeida et al., (2002), onde estes autores obtiveram pesos ao desmame precoce de 84,9 kg e 82,3,kg, respectivamente. Este peso também está acima do peso mínimo recomendado por Gottschall (2002), onde terneiros desmamados precocemente devem ter no mínimo 70 kg de peso vivo. Já Poli et al. (1976), preconizam um peso mínimo de 90 kg ao momento do desmame para que esta prática tenha resultados satisfatórios. Porém os valores encontrados no presente trabalho são inferiores aos verificados por Gottschall et al. (2005), onde terneiras provenientes de desmame precoce e convencional pesaram, em média, 119,37 kg e 161,37 kg, respectivamente. Em outro experimento, avaliando o efeito da idade ao desmame sobre o desempenho reprodutivo de novilhas Gottschall et al. (2005), relatam um peso de 95,3 kg e 133,62 kg para novilhas desmamadas precocemente e convencionalmente, respectivamente.

O GMD-DA para o DP e DC foi de 0,392 kg/dia e 0,431 kg/dia, respectivamente. Estes resultados estão abaixo dos obtidos por Albospino e Lobato (1993), onde estes autores trabalhando com terneiras provenientes de desmames aos 100 e aos 150 dias de idade relatam ganhos de peso médio diário de 0,560 kg/dia e 0,531 kg/dia, respectivamente. Semmelmann et al. (2001), obteve ganhos de peso médio diário 0,282 kg/dia e 0,351 kg/dia com terneiras da raça Nelore durante o período de seca e das águas com o objetivo de acasalamento

aos 17/18 meses de idade. Para Barcellos et al. (2002) a necessidade de ganho de peso está relacionada ao peso ao desmame e pela idade de acasalamento. Quanto mais cedo a novilha for acasalada maior a exigência de ganho de peso pós desmama. Observa-se que as terneiras do DP necessitaram um maior GP-DA quando comparadas as terneira do DC para serem acasaladas com PIA semelhantes, isto está relacionado ao baixo peso em que estes animais foram submetidos ao desmame, necessitando um maior ganho de peso do desmame ao inicio do acasalamento. Montanholi et al. (2004), concluíram que a taxa de ganho de peso na recria é um fator importante na determinação da taxa de prenhez em novilhas de corte acasaladas aos 18 meses de idade no outono.

Vários autores afirmam haver uma forte influência do peso ao acasalamento sobre a taxa de prenhez (PATTERSON et al. 1992; SILVA, 2003) sendo o desempenho reprodutivo de novilhas fortemente afetado pelo peso ao inicio do acasalamento porém este peso não é o único parâmetro determinante na concepção de novilhas (SEMMELMANN et al. 2001, GOTTSCHALL et al. 2005). No presente trabalho, o PIA foi de praticamente igual entre o grupo DP (279,27 kg) e DC (278,06 kg) e a taxa de prenhez foi de 61% e 69,2%, respectivamente. Portella et al. (1996) citado por Salomoni (2003), trabalhando com novilhas Ibagé desmamadas aos sete meses idade e posteriormente acasaladas com peso médio de 296 kg aos 16-18 meses obtiveram 73% prenhez, valores superiores ao presente experimento.

Avaliando o ganho de peso na recria e posterior desempenho reprodutivo de novilhas acasaladas ao sobreano, Montanholi et al. (2004) atingiram uma TP de 30,0%, 48,8% e 50,0% com um PIA de 302,8 kg, 299,3 kg e 291,1 kg, respectivamente.

Silva (2003), trabalhando com novilhas acasaladas aos 18 meses de idade com um peso médio de 286,7 kg ao inicio do acasalamento, relata uma TP de 52,2 %. Em trabalho utilizando novilhas 2/3 Hereford – 1/3 Brahman acasaladas aos 18 meses de idade, Sampedro (2002), citado por Silva (2003), obteve taxas de prenhez de 78%, valores também superiores aos obtidos no presente trabalho.

CONCLUSÕES

Terneiras provenientes de desmame precoce, não apresentaram diferenças na taxa reprodutiva, quando comparadas à terneiras desmamadas convencionalmente acasaladas aos 18 meses de idade.

REFERÊNCIAS

- ALBOSPIÑO B. H. J. C.; LOBATO J. F. P. 1993. Efeitos do desmame precoce de bezerras. Desempenho até os 24-26 meses de idade. *Revista Sociedade Brasileira de Zootecnia*. v.22, n.6, 1993.
- ALMEIDA, L. P.; LOBATO, J. F. P.; SCHENKEL, F. S. Data de desmame e desempenho reprodutivo de vacas de corte. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.31, n.3, p.1223-1229, 2002.
- ANDRADE, V. J. Manejo Reprodutivo de Fêmeas Bovinas de Corte. In: *Simpósio de Produção de Gado de Corte* (Viçosa, Minas Gerais). p.85-136. 1999.
- BARCELLOS J. O. J.; PRATES, E. R. SILVA, M. D. Manejo da novilha de corte e a idade à puberdade. In: *Ciclo de Palestras em Produção e Manejo de Bovinos* (VII). Canoas: Ed. ULBRA, 2002. p.95-126.
- BARCELLOS J. O. J.; COSTA, E. C.; SILVA, M. D. et. al. *Crescimento de Fêmeas de Corte Aplicado aos Sistemas de Cria*. Porto Alegre: Departamento de Zootecnia – UFRGS, 2003a. 72p. Crescimento de Fêmeas de Corte Aplicado aos Sistemas de Cria. Publicação Ocasional, 1.
- BARCELLOS, J. O. J.; COSTA, E. C.; SEMMELMANN, C. E. N. et al. Manejo nutricional da novilha até o primeiro acasalamento. 2º SIMPÓSIO DE REPRODUÇÃO DE BOVINOS. *Anais...* Porto Alegre/RS, 2003b., p.79.
- GOTTSCHALL, C. S. *Desmame de Terneiros de Corte: Como? Quando? Por quê?* Ed. Agropecuária, Guafba, RS. 139 p. 2002.
- GOTTSCHALL, C. S.; FERREIRA, E. T.; GALARZA, A. A. et. al. Desempenho reprodutivo de terneiras provenientes de desmame precoce e convencional acasaladas com 14 meses de idade. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.33, n.3, p.303-308, 2005.
- LOBATO, J. F. P.; MÜLLER, A.; PEREIRA NETO, O. A.; OSÓRIO, E. B. Efeitos da idade à desmama dos bezerros sobre o desempenho reprodutivo de vacas de corte primíparas. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.29, n.6, p.2013-2018, 2000 (suplemento 1).
- MONTANHOLI, Y. R.; BARCELLOS J. O. J.; BORGES J. B. et. al. Ganho de peso na recria e desempenho reprodutivo de novilhas acasaladas com sobreano. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.39 n.12, 2004.
- PATTERSON, D. J.; CORAH, L. R.; BRETHOUR, J. R et al. Evaluation of reproductive traits in *Bos taurus* and *Bos indicus* crossbred heifers: relationship of age at puberty to length of the postpartum interval to estrus. *Journal of Animal Science*, v.70, n.5, p.1994-1999, 1992.

POLI J. L. E. H., OSRIO, F. H. S.; BECKER A. S. Desmame de bovinos de corte à 12^a semana de idade; dito precoce. In: *Anuário Técnico do Instituto de Pesquisas Zootécnicas Francisco de Osório v.3* (Porto Alegre, Brasil). 1976. p.169-184.

PORTELLA, J. S. et al. Suplementação com silagem alcalina em primeiro inverno pós-desmame de terneiras de corte. Comunicação pessoal. 1996.

ROCHA, M. G.; LOBATO, J. F. P. Sistemas de alimentação pós-desmama de bezerras de corte para acasalamento com 14/15 meses de idade. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.31, n.4, p.1814-1822, 2002.

SALOMONI, E.; SILVEIRA, C. L. M. *Acasalamento de outono em bovinos de corte: abrace essa idéia*. Ed. Agropecuária, Brasil. 1996. 152p.

SALOMONI, E. Acasalamento de outono em bovinos de corte: por que, quando e como utilizar. 2º SIMPÓSIO DE REPRODUÇÃO DE BOVINOS. Anais... Porto Alegre/RS, 2003. p.56.

SEMMELMANN, C. E. N.; LOBATO, J. F. P.; ROCHA, M. G. Efeito de sistemas de alimentação no ganho de peso e desempenho reprodutivo de novilhas Nelore acasaladas aos 17/18 meses. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.30, p.835-843. 2001.

SILVA, M. D. *Desempenho reprodutivo de novilhas de corte acasaladas aos 18 ou 24 meses de idade*. 100f. Porto Alegre, RS. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2003.

SILVA, M. D.; BARCELLOS, J. O. J.; PRATES, E. R. Desempenho reprodutivo de novilhas de corte acasaladas aos 18 ou aos 24 meses de idade. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.34, n.6, p.2057-2063. 2005.

Ocorrência de enterolítase em eqüinos no 3º Regimento de Cavalaria de Guarda – Porto Alegre/RS

Occurrence of enterolithiasis in equine of the 3rd Cavalry Regiment Guard

PULZ, Renato Silvano – Médico Veterinário – Prof. MSc. da disciplina de cirurgia da ULBRA, 1º Ten. do 3º Regimento de Cavalaria de Guarda

MAIA, João Carlos M. – Médico Veterinário – Cel. R1 do 3º Regimento de Cavalaria de Guarda

PEZZI, Alexandre F. – Médico Veterinário – 1º Ten. do 3º Regimento de Cavalaria de Guarda

SILVA, Clério A. – Médico Veterinário – 1º Ten. do 3º Regimento de Cavalaria de Guarda

SILVA, Camila – Médica Veterinária – 1ª Ten. do 3º Regimento de Cavalaria de Guarda

FIORI, Rodrigo – Médico Veterinário

SCOTTI, Luis Antônio; DELMORÁ, Daniela D.; LAWALL, Thaíse; FACIN, Flávia – Alunos de Graduação do Curso de Medicina Veterinária da ULBRA

Data de recebimento: julho 2006

Data de aprovação: outubro 2006

Endereço para correspondência: Faculdade de Medicina Veterinária, ULBRA. Av. Inconfidência, 101, Prédio 25. Canoas/RS. CEP 92420-280. E-mail: renatopulz@hotmail.com

RESUMO

Os eqüinos podem ser acometidos por concrementos que causam obstruções do intestino grosso. Estas pedras podem permanecer no cólon maior por longos períodos ou serem expelidos nas fezes. Este fenômeno é registrado na literatura

há mais de 100 anos. A doença pode ser considerada multifatorial e são considerados vários fatores predisponentes no seu desenvolvimento. Os eqüinos criados sob confinamento parecem ser mais suscetíveis à doença, mas uma predisposição geográfica pode contribuir para uma maior ocorrência da enfermidade. O presente estudo teve por finalidade avaliar a ocorrência de enterolitíase nos eqüinos mantidos estabulados no 3º Regimento de Cavalaria de Guarda, em Porto Alegre, no estado do Rio Grande do Sul. Foram examinados os registros de casos de abdômen agudo realizados pela Seção Veterinária do 3º RCG, no período de 1995 a 2005. A análise dos dados revelou 30 casos de enterolitíases como responsáveis por obstruções intestinais e a idade média dos eqüinos acometidos foi de 9,7 anos. No período de janeiro de 1995 até dezembro de 2001 os enterólitos representaram 40,4% dos óbitos relacionados com abdômen agudo. Nos anos de 2002 a 2005, quando os eqüinos foram submetidos ao tratamento cirúrgico, as enterolitíases significaram 40% dos casos de cólicas cirúrgicas. Concluiu-se que as enterolitíases foram uma importante causa de obstrução do cólon maior nos eqüinos do 3º Regimento de Cavalaria de Guarda, em Porto alegre no Rio Grande do Sul. Observou-se vários fatores predisponentes envolvidos no desenvolvimento da enfermidade e que o tratamento cirúrgico é essencial.

Palavras-chave: enterolitíases, enterólitos, eqüinos, obstrução intestinal.

ABSTRACT

The equines can be attacked by concretions that cause obstructions in the large intestine. These stones could remain at the bigger colon for long periods or being expelled through the excrements. This phenomenon has been registered in the literature for the past 100 years. The disease may be considered a multifatorial and many factors have influence in its development. The individuals brought up under confinement seem to be more susceptive to the disease; however a geographic circumstance could contribute for a higher incidence of the infirmity. This study aimed to assess the incidence of enterolithiasis on the equines kept in-crib at the Porto Alegre's 3rd Cavalry Regiment Guard, in Rio Grande do Sul. The registers of acute abdominal cases realized at the Veterinary of the 3 rd Cavalry Regiment Guard from 1995 to 2005 were analyzed. The data study revealed 30 enterolithiasis cases as responsible for intestinal obstructions and the attacked equines had an average of 9.7 years. From January 1995 until December 2001, the enteroliths represented 40.4% of the deaths related to acute abdomen. In the between 2002 and 2005, when the equines had undergone a surgery procedure, the enterolitíases totalized 40% of the surgical colic. It has been concluded that the enterolithiasis were an important cause of the bigger colon obstruction in the horses at the Porto Alegre's 3 rd Cavalry Regiment Guard, in Rio Grande do Sul. It was observed the existence of various different factors involved in the development of the infirmity and that the surgical treatment is essential.

Key words: enterolithiasis, enteroliths, equine, intestinal obstruction.

INTRODUÇÃO

Os enterólitos são cálculos intestinais formados no intestino grosso dos eqüinos e também de outros herbívoros; são uma causa significante de obstrução do intestino grosso e de dor abdominal (BOLES e HERTEL, 1987; THOMPSON, 1990). Eles podem permanecer longos períodos no cólon maior sem causar sinais clínicos de obstrução ou até serem expelidos nas fezes (BLUE e WITTKOPP, 1981). Existem registros na literatura de cólicas obstrutivas por enterólitos há mais de 140 anos (HASSEL et al. 1999).

A composição do cálculo consiste principalmente de sais de fósforo e magnésio precipitados de forma concêntrica em um pequeno núcleo (BLUE, 1979). O autor citou pequenos pedaços de plástico, borracha, esponja, arame e pedriscos como exemplos de núcleos e verificou que os enterólitos apresentaram tamanhos entre 5 a 15 centímetros de diâmetro, pesando de 200 gramas a 3,6 quilogramas. Pereira da Costa et. al. (1992) observaram como elemento dominante o magnésio. Os cálculos podem ocorrer de várias formas, as mais comuns são a esférica e a tetraédrica, e o número pode ser de um ou vários (EVANS et al. 1981). A velocidade de formação é desconhecida, segundo Blue (1979) um concreto de 12x09 cm, contendo um dente decíduo como núcleo, levou aproximadamente quatro anos para se formar. Lloyd et al. (1987) afirmaram que um enterólito com tamanho suficiente para obstruir o intestino deve levar aproximadamente dois anos para se formar. Hassel et al. (1999) afirmaram que já foram encontrados cálculos com tamanho suficiente para obstruir o intestino em animais com um ano de idade. Os autores registraram em relação a localização de ocorrência do enterólito: 32% no cólon dorsal direito, 22,5% no cólon transverso e 45% no cólon descendente.

Ao considerar o tempo para a formação do cálculo e a idade dos animais acometidos os registros na literatura são variados. Blue et al. (1979) afirmaram que não encontraram enterólitos em cavalos com menos de cinco anos de idade. Segundo Lloyd et al. (1987), raramente são encontrados em cavalos com menos de quatro anos de idade. Peloso et al. (1992) registraram que a idade média dos eqüinos afetados foi de dez anos. Hassel et al. (1999) verificaram como idade média onze anos, porém relataram achados em animais com menos de dois anos.

Bray (1995) afirmou que a patogenia é incerta, mas que o elevado consumo de proteína e magnésio parecem estar envolvidos. Estes componentes estão presentes em quantidade na alfafa. O autor porém salientou que apesar da possibilidade do envolvimento da alfafa na formação do concreto, a maioria dos cavalos que sempre comeram feno de alfafa não desenvolvem enterólitos. Hassel et al. (1999) corroboraram esta idéia quando afirmaram que a alfafa é freqüentemente acusada devido aos seus altos níveis de magnésio e proteína, assim como o farelo de trigo foi sugerido como fator predisponente devido aos altos níveis de fósforo e magnésio. Os autores também consideraram a capacidade da alfafa em alcalinizar o pH colônico,

entretanto afirmaram que a alfafa sozinha não pode ser responsabilizada pela formação do enterólito. Jones et al. (2000) ao observar este fato concluíram que a patogenia é multifatorial. Os autores consideraram o elevado pH colônico importante no processo de precipitação dos sais minerais. Hassel et al. (2004) também afirmaram, que o pH colônico dos animais acometidos por enterolítases era mais elevado.

Alguns autores consideraram uma maior incidência em determinadas áreas geográficas (BLUE, 1999; COHEN et al. 2000). Hassel et al. (1999) afirmaram que esta doença foi a causa mais comum de cirurgias para tratamentos de abdômen agudo na Universidade de Davis na Califórnia. Os autores especularam as causas geográficas e as razões para isto são obscuras, mas indicaram vários fatores concorrentes, como a maior exposição a núcleos, a influência do solo, características da ração, do pasto, do feno e da água. Cohen et al. (2000) registraram uma ocorrência menor que 2% entre os casos de abdômen agudo atendidos em um hospital veterinário do Texas nos Estados Unidos e consideraram uma causa rara de cólica, principalmente quando comparados aos registros da Califórnia (HASSEL et al., 1999). Blue e Wittkopp (1981) consideraram que as concentrações de magnésio e fósforo na água podem variar conforme a região. Muitas fontes de água de uso doméstico podem conter duas vezes mais cálcio ou magnésio. As características do solo podem influenciar nas concentrações minerais do pasto ou do feno. Lloyd et al. (1987) encontraram alfafa com níveis elevados de fósforo e magnésio em determinadas regiões. Castro Jr (comunicação pessoal) considerou como a maior causa de cólica necessitando tratamento cirúrgico no Hospital do Jockey Club do Rio Grande do Sul. Lobo (comunicação pessoal) registrou oito casos de enterolítases no período de cinco anos (2000 a 2005), nos eqüinos do 4º Regimento de Polícia Montada, em Porto Alegre.

Não foi observada uma predileção por sexo, porém ao avaliar a predisposição racial, foi constatada uma maior incidência na raça árabe. Segundo Lloyd et al. (1987) as razões para isto são incertas, mas múltiplos fatores podem ser considerados como etiologia possível, como a predisposição genética, as particularidades do manejo alimentar e físico. Os autores afirmaram que o comportamento alimentar desta raça aumenta as chances de ingerir corpos estranhos.

Os sintomas clínicos são associados à obstrução intestinal, geralmente a dor é leve e intermitente e pode persistir por vários dias. Os enterólitos podem causar infamação intermitente associada a episódios com sintomas de cólica devido ao movimento através do cólon (BLUE & WITTKOPP, 1981).

A inapetência, motilidade intestinal reduzida, timpanismo e tenesmo, são alguns sinais que podem estar associados ao quadro. O exame clínico pode revelar refluxo intestinal através da sonda nasogástrica, a paracentese geralmente revela um líquido peritoneal sem alterações significativas, exceto nos casos de ruptura intestinal, servindo assim para avaliar o curso da

doença. A palpação do enterólito pela via retal é rara (DART et al., 1999). Conforme salientou Kopf (1997), através deste método é possível inspecionar somente 40% da cavidade abdominal. O diagnóstico conclusivo pode ser extremamente difícil (BLUE, 1979). Boles e Herthel (1987) consideraram o exame radiológico com 120 Kv e 600 mA útil para o diagnóstico. Cohen et al. (2000) em um estudo conseguiram diagnosticar 42% dos casos de enterólitos com o uso do exame radiológico. Knottenbelt e Pascoe (1998) afirmaram que concrementos pequenos podem ser eliminados nas fezes. O tratamento é cirúrgico e a taxa de sobrevida à cirurgia é de 92,5% e a recorrência da doença é de 7,7% (HASSEL et al. 1999).

RESULTADOS

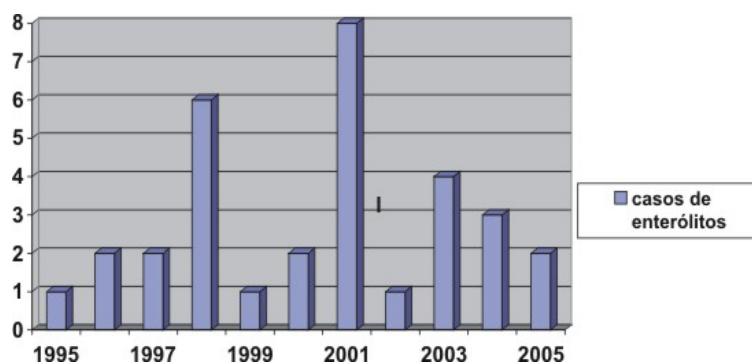


Figura 1 - Número de casos de enterolítases a cada ano no período de 1995 a 2005.

Foram acompanhados 30 casos de obstruções intestinais, registrando-se as idades de ocorrência. Foi observada uma idade média de 9,7 anos nos eqüinos afetados, conforme verifica-se na Figura 2. O eqüino mais jovem tinha 03 anos e o mais velho tinha 19 anos. O peso das pedras variou entre 100 g e 4,1kg, com uma média de 1,35kg.

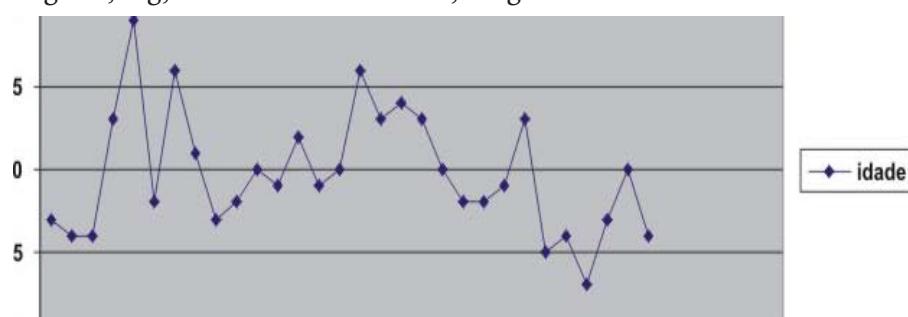


Figura 2 – Idade dos 30 eqüinos que sofreram obstrução intestinal por enterólitos.

DISCUSSÃO

As enterolítases são uma causa importante de obstruções intestinais em eqüinos. Os casos de obstrução completa do lúmen da alça intestinal exigem o tratamento cirúrgico ou acabam evoluindo para o óbito, pois ocorre necrose e ruptura do segmento intestinal afetado. A formação destes cálculos intestinais não é um fenômeno novo e ocorre em outros animais como camelos, lhamas, rinocerontes, elefantes e porcos selvagens (LLOYD et al. 1987). Os autores afirmaram que a incidência parece ter aumentado na década de 1980, mas consideraram o fenômeno obscuro. As publicações sobre a ocorrência desta enfermidade no Brasil são mínimas. O objetivo deste estudo foi de relatar o número de casos de obstruções intestinais causadas por enterólitos no 3º RCG no período de janeiro 1995 a dezembro de 2005, verificando a incidência de enterolítases em eqüinos mantidos sob confinamento.

Em nosso estudo foi verificada uma ocorrência de 30 casos no período de dez anos (1995 a 2005). Lloyd et al. (1987) ao avaliar um período de nove anos (1972 a 1981) registraram 50 casos e consideraram uma importante causa de obstrução intestinal. Cohen et al. (2000) observaram 26 casos em um período de oito anos (1990 a 1998), porém representou somente 1,7% entre todos os tipos de cólicas. Os trabalhos de Lloyd et al. (1987) e Cohen et al. (2000) são de regiões diferentes dos Estados Unidos, o que foi ressaltado pelos autores.

Nos anos de 1995 até 2002, não foram realizados tratamentos cirúrgicos. Foram registradas 52 mortes causadas por distúrbios gastrintestinais. Neste período, os concrementos foram responsáveis por 21 casos, o que representou 40,4% dos óbitos. De 2002 a 2005 foram realizadas laparotomias para o tratamento dos quadros de abdômen agudo e observou-se que os enterólitos foram responsáveis por 6,1% dos casos de cólicas e por 40% dos casos que necessitaram tratamento cirúrgico. A ocorrência diagnosticada nas cirurgias foi semelhante ao número de óbitos no período anterior. Hassel et al. (1999) observaram que 15% entre todos os tipos de cólicas e 27,5% das cólicas cirúrgicas envolveram enterolítases e consideraram a causa mais comum de cólica cirúrgica na Universidade da Califórnia (EUA). Blue (1979) afirmou que 7% dos casos cirúrgicos de abdômen agudo foram causados por enterólitos. Um valor aproximado do verificado neste estudo. Entretanto, Cohen et al. (2000) registraram somente 1,7% de enterolítases entre os casos de abdômen agudo atendidos, uma incidência menor, mas concluíram que representaram 50% dos casos cirúrgicos. Pode-se concluir que os concrementos foram uma importante causa de cirurgia abdominal.

Após a análise dos dados pode-se concluir que a incidência de enterolítases em eqüinos no 3º RCG assemelha-se aos registros dos autores que comentaram a elevada ocorrência da doença em determinadas regiões (BLUE, 1999; COHEN et al. 2000). Segundo afirmaram Blue e Wittkopp

(1981) e Lloyd et al. (1987), as concentrações de magnésio e fósforo na água, no solo e na alfafa podem variar conforme a região. A afirmativa baseia-se no fato de existirem outros centros de criação de eqüinos em outras regiões do país, onde os cavalos também são criados estabulados e com alimentação a base de ração comercial e feno de alfafa. A ocorrência de enterolítases não é um fenômeno comum a todos estes locais. Dart et al. (1999) e Hassel et al. (1999) também consideraram uma predisposição geográfica no desenvolvimento da doença. Chama atenção os dados não publicados observados no hospital do Jockey Club do Rio Grande do Sul e no Regimento da Polícia Montada do estado. São cavalos de diferentes raças e tipos de criação, mas da mesma região.

No 3º RCG os eqüinos bebem água de poço artesiano e a análise da água, pelo laboratório de análise de água e solos da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, revelou uma água de extrema dureza, com elevados níveis de magnésio e carbonato de cálcio. Conforme afirmaram Boles e Herthel (1987), as características da água e do solo podem influenciar.

Vários fatores podem estar concorrendo e contribuindo para esta condição. Os eqüinos têm acesso à ingestão de núcleos, pois são confinados em baias de alvenaria, com portas de madeira, ficam amarrados em cordas e adquirem vícios de roer as instalações (COHEN et al. 2000). Alimentam-se com feno de alfafa e ração comercial, não tem acesso a pastagens e se exercitam em horários limitados. Todos fatores citados também por Hassel et al. (1999).

Hassel et al. (2004) salientaram uma maior porcentagem de feno de alfafa na dieta e menor tempo pastando como fatores envolvidos. No presente trabalho pode-se verificar que muitos cavalos que sempre comeram alfafa, não desenvolveram enterólitos, assim como afirmaram Bray (1995) e Dart et al. (1999). Hassel et al. (1999) ressaltaram que a alfafa não pode ser responsabilizada sozinha pela formação do enterólito. Loyd et al. (1987) consideraram o envolvimento da alfafa circunstancial e não viram razão para recomendar a redução do seu uso na dieta.

Todos os enterólitos encontrados tinham mais de 07 cm de diâmetro. Conforme Wintzer e Jaksch (1999) é necessário mais de um ano para formar uma pedra de 8 cm de diâmetro. Lloyd et al. (1987) concluíram que pode levar até dois anos para formar um concremento com tamanho suficiente para causar obstrução intestinal. Em todos os casos verificados neste estudo, os eqüinos encontravam-se há mais de dois anos sob as mesmas condições de confinamento e manejo alimentar.

No presente estudo a média de idade dos eqüinos afetados foi de 9,7 anos e o mais novo tinha 03 anos de idade. Segundo Blue (1979) a expectativa é de que ocorra em animais mais velhos, mas a alteração tem ocorrido mais comumente em animais de 05 a 10 anos (PELOSO et al. 1992). Os autores registraram uma idade média de 10 anos e o eqüino mais jovem com 04 anos, registros muito próximos dos encontrados neste estudo.

O diagnóstico definitivo foi cirúrgico ou pós-mortem. Somente em um caso foi possível a palpação retal do enterólito. Conforme Dart et al. (1999) a palpação do enterólito não é possível na maioria dos casos, pois a técnica só permite a exploração de 40% da cavidade abdominal (KOPF, 1997). Para o estabelecimento do diagnóstico, o histórico e os sinais clínicos foram fundamentais.

São várias as recomendações para a prevenção da doença. Jones et al. (2000) recomendaram o uso do vinagre para alterar o pH colônico. Hintz e Snyder (1992) também citaram o vinagre e o aumento de grãos na dieta para a prevenção. Hassel et al. (2004) sugeriram que o menor consumo de alfafa e permitir o acesso diário à pastagem de gramíneas pode reduzir o risco de enterolitíases. Cohen et al. (2000) recomendaram uma maior oportunidade de exercícios diários.

CONCLUSÃO

As enterolitíases foram uma importante causa de obstrução intestinal nos eqüinos do 3ºRCG e devem sempre ser consideradas como causa de cólica obstrutiva, principalmente em eqüinos com mais de 05 anos de idade. Ao estudarmos as possíveis causas da doença, podemos afirmar que estão presentes no manejo do local, uma série de fatores predisponentes da doença, associados ao confinamento. Concluímos que o fenômeno é resultado da associação de vários fatores e não foi possível incriminar um fator isoladamente. Consideramos a possibilidade de predisposição geográfica na ocorrência da doença. Novos trabalhos com o objetivo de verificar a incidência no Rio Grande do Sul e nas diferentes regiões do país poderão ser realizados. Estudos sobre a composição dos enterólitos e uma potencial relação com algum fator predisponente existente na região poderão ser realizados. Concluiu-se também que a cirurgia é o tratamento de eleição.

REFERÊNCIAS

- BLUE, M. G. Colonic obstructions due to enteroliths in four horses. *Vet. Rec.*, v. 104, p. 209-211, 1979.
- BLUE, M. G. Enterolitiasis in Horses – a retrospective study of 30 cases. *Equine Vet. J.*, v.11, n.2, p.76-84, 1979.
- BLUE, M. G.; WITTKOPP, R. W. Clinical and structural features of equine enteroliths. *JAVMA*, v.179, n.1, p.79-82, 1981.

- BOLES, C. L.; HERTHEL, D. J. Enteroliths and small colon obstruction. In: ROBINSON, N. E. *Current Therapy in Equine Medicine 2*. Philadelphia: WB Saunders, 1987, p.68-70.
- BRAY, R. E. Enteroliths: feeding and management recommendations. *Journal of Equine Vet. Sci.*, v.15, n.11, p.474-477, 1995.
- COHEN, N. D. et al. Risk factors for enterolithiasis among horses in Texas. *JAVMA*, v.215, n.11, p.1787-1794, 2000.
- DART, J. A. et al. Large intestine. In: AUER, J. A.; STICK, J. A. *Equine surgery*, 2.ed, Philadelphia: WB Saunders, 1999, p.257-285.
- EVANS, D. R. et al. Diagnosis and treatment of enterolithiasis in equidae. *Comp. Cont. Ed. Pract. Vet.*, v.3, p.383-391, 1981.
- HASSEL, D. M. et al. Evaluation of enterolithiasis in equids: 900 cases (1973-1996). *JAVMA*, v.214, n.2, p.233-237, 1999.
- HASSEL, D. M. et al. Dietary risk factors and colonic pH and mineral concentrations in horses with enterolithiasis. *J. Vet. Intern. Med.*, v.18, n.3, p.346-349, 2004.
- HINTZ, H. F.; SNYDER, J. R. Enteroliths. In: ROBINSON, N. E. *Current Therapy in Equine Medicine 3*. Philadelphia: WB Saunders, 1992, p.223-225.
- JONES, S. J. et al. Condições obstrutivas do intestino grosso. In: REED, S. M.; BAYLY, W. M. *Medicina interna eqüina*. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2000, p.586-595.
- KNOTTENBELT, D. C.; PASCOE, R. R. *Afecções e distúrbios dos cavalos*. São Paulo: Manole, 1998, 432p.
- KOPF, N. Retal examination of the colic patient. In: ROBINSON, N. E. *Current Therapy in Equine Medicine 4*. Philadelphia: WB Saunders, 1997, p.170-174.
- LEWIS, L. D. Harvested feeds for horses. In: *Equine clinical nutrition: feeding and care*. Philadelphia: Lea & Febiger, 1995, p.90-136.
- LLOYD, K. et al. Enteroliths in horses. *Cornell vet*, v.77, p.172-186, 1987.
- PELOSO, J. G. et al. Obstructive enterolith in an 11 month-old miniature horse. *JAVMA*, v. 201, n.11, p.1745-1746, 1992.
- PEREIRA DA COSTA, L. A. et al. Ocorrência de enterólitos no intestino grosso de quatro cavalos. *A Hora Veterinária*, n.68, 1992, p.52-4.

NORMAS EDITORIAIS

POLÍTICA E REGRAS GERAIS

A revista *VETERINÁRIA EM FOCO*, publicação científica da Universidade Luterana do Brasil (ULBRA), com periodicidade semestral, publica artigos científicos, revisões bibliográficas, relatos de casos e notas técnicas referentes à área de Ciências Veterinárias, que a ela deverão ser destinados com exclusividade. É editada sob responsabilidade do Curso de Medicina Veterinária da Ulbra.

Os artigos científicos, revisões bibliográficas, relatos de casos e notas devem ser enviados em três cópias redigidas em computador, em word, fonte 12, Times New Roman, espaço duplo entre linhas, folha tamanho A4 (21,0 x 30,0 cm), margem direita 2,5cm e esquerda 3cm. As páginas devem ser numeradas e rubricadas pelos autores. Os trabalhos devem ser acompanhados de ofício assinado pelos autores.

Os artigos serão submetidos a exame por 3 pesquisadores com atividade na linha de pesquisa do tema a ser publicado, tendo a Revista o cuidado de manter sob sigilo a identidade dos autores e dos consultores. Disquetes serão solicitados após a submissão dos trabalhos e aprovação pelos consultores.

1- O **artigo científico** deverá conter os seguintes tópicos: Título (em português e inglês); RESUMO; Palavras-chave; ABSTRACT; Key words; INTRODUÇÃO (com revisão da literatura); MATERIAL E MÉTODOS; RESULTADOS E DISCUSSÃO; CONCLUSÃO; AGRADECIMENTOS; REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

2- A **revisão bibliográfica** deverá conter: Título (em português e inglês); RESUMO; Palavras-chave; ABSTRACT; Key words; INTRODUÇÃO; DESENVOLVIMENTO; CONCLUSÃO; REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

3- A **nota** deverá conter: Título (em português e inglês); RESUMO; Palavras-chave; ABSTRACT; Key words; seguido do texto, sem subdivisão, abrangendo introdução, metodologia, resultados, discussão e conclusão, com REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

4- O **relato de caso** deverá conter: Título (em português e inglês); RESUMO; Palavras-chave; ABSTRACT; Key words; INTRODUÇÃO (com revisão de literatura); RELATO DO CASO; RESULTADOS E DISCUSSÃO; CONCLUSÃO; REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

ORGANIZAÇÃO DO TEXTO

Título

Deve ser claro e conciso, em caixa alta e negrito, sem ponto final, em português e inglês.

Autores

Deve constar o nome por extenso de cada autor, abaixo do título, seguido de informação sobre atividade profissional, maior titulação e lugar/ano de obtenção, Instituição em que trabalha, endereço completo e E-mail.

Resumo e Abstract

O resumo deve ser suficientemente completo para fornecer um panorama adequado do que trata o artigo, sem, porém, ultrapassar 350 palavras. Logo após, indicar as palavras-chave / key words (mínimo de três) para indexação.

Citações e Referências Bibliográficas

Citações bibliográficas no texto deverão constar na INTRODUÇÃO, MATERIAL E MÉTODOS E DISCUSSÃO no artigo científico, conforme exemplo: um único autor (SILVA, 1993); dois autores (SOARES & SILVA, 1994); mais de dois autores (SOARES et al., 1996). Quando são citados mais de um trabalho, separa-se por ponto e vírgula dentro do parênteses (SOARES, 1993; SOARES & SILVA, 1994; SILVA et al., 1998).

Referências devem ser redigidas em página separada e ordenadas alfabeticamente pelos sobrenomes dos autores, elaboradas conforme a ABNT (NBR-6023).

Tabelas e Figuras

As Tabelas e Figuras devem ser numeradas de forma independente, com números arábicos. As Tabelas devem ter o título acima das mesmas, escrito em letra igual à do texto, mas em tamanho menor.

As Figuras devem ter o título abaixo das mesmas.

Tabelas e Figuras podem ser inseridas no texto.

Endereço para correspondência

Revista VETERINÁRIA EM FOCO
Av. Farroupilha, 8001 - Prédio 14 - Sala 125
São José / RS - Brasil
CEP: 92425-900
E-mail: secagrarias@ulbra.com

Disponível eletronicamente

www.editoradaulbra.com.br
www.ulbra.br/veterinaria
