

**UFRRJ**  
**INSTITUTO DE VETERINÁRIA**  
**PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**  
**(PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS)**

**TESE**

**ESTERILIZAÇÃO CIRÚRGICA MASCULINA MINIMAMENTE  
INVASIVA COM O EMPREGO DA CRIOCIRURGIA EM OVINOS**  
*(Ovis aries).*

**PHILLIPE BAUER DE ARAÚJO DÓRIA**

2016



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO**  
**INSTITUTO DE VETERINÁRIA**  
**PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**  
**(PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS)**

**ESTERILIZAÇÃO CIRÚRGICA MASCULINA MINIMAMENTE**  
**INVASIVA COM O EMPREGO DA CRIOCIRURGIA EM OVINOS**  
*(Ovis aries).*

**PHILLIPE BAUER DE ARAÚJO DÓRIA**

Sob a Orientação do Professor Doutor

**Paulo de Tarso Landgraf Botteon**

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Medicina Veterinária**, no Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração Patologia e Ciências Clínicas.

Seropédica, RJ

Fevereiro de 2016

636.3

D696e

Dória, Phillipe Bauer de Araújo, 1978-

T

Esterilização cirúrgica masculina minimamente invasiva com o emprego da criocirurgia em ovinos (*Ovis aries*) / Phillipe Bauer de Araújo Dória - 2016.

77 f. : il.

Orientador: Paulo de Tarso Landgraf Botteon.

Tese (doutorado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária - Patologia e Ciências Clínicas.

Bibliografia: f. 65-70.

1. Ovino - Reprodução - Teses. 2. Ovino - Fisiologia - Teses. 3. Ovino - Anatomia - Teses. 4. Castração - Teses. 5. Cirurgia veterinária - Teses. I. Botteon, Paulo de Tarso Landgraf, 1964-. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária - Patologia e Ciências Clínicas. III. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA  
(PATOLOGIA E CIÊNCIAS VETERINÁRIAS)

**PHILLIPE BAUER DE ARAÚJO DÓRIA**

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Medicina Veterinária**, no Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração Patologia e Ciências Clínicas.

TESE APROVADA EM 26/02/2016

---

Paulo de Tarso Landgraf Botteon – Dr. - UFRRJ  
(Orientador)

---

André Luís Rios Rodrigues (Ph. D) UFF

---

Edmundo Jorge Abílio (Ph. D) UENF

---

Marta Fernanda Albuquerque da Silva (Ph. D) UFRRJ

## DEDICATÓRIA

Ao meu grande MESTRE e amigo “*in memorian*”, Professor Dr. Cosme Vanderlei da Silva Carvalho, responsável direto pela minha formação profissional e por despertar em mim a paixão pelo maravilhoso mundo do ensino.

À minha família, em especial à minha filha Maria Fernanda Dória e minha companheira Ludmila Salerno Leddomado, fontes da minha alegria e equilíbrio emocional, sem os quais esse caminho teria sido bem mais difícil, ou até mesmo impossível de ser concluído.

## **EPÍGRAFE**

"O professor se liga à eternidade; ele  
nunca sabe onde cessa a sua influência."  
Henry Adams

## AGRADECIMENTOS

A todos os envolvidos no Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária (Patologia e Ciências Clínicas) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, pelo convívio ao longo destes quatro anos e também por todos os ensinamentos passados, que com certeza fizeram de mim uma pessoa melhor, além de um profissional mais capacitado.

Ao meu orientador Prof. Dr. Paulo de Tarso Landgraf Botteon pela oportunidade a mim concedida e por ter me mostrado que apesar de aluno do programa de pós graduação, eu deveria pensar como um docente em processo de qualificação, desenvolvendo minha tese de doutorado dentro de uma das minhas próprias linhas de pesquisa.

A Prof. Dra. Ana Paula Lopes Marques, grande amiga, responsável direta pela minha vinda à Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, incentivadora incansável da minha qualificação profissional, por ter me mostrado que apesar de amantes do ensino e da extensão, se faz necessário abrir os olhos ao universo da pesquisa.

Ao Prof. Dr. André Luís Rios Rodrigues, por todo o profissionalismo, carinho e cuidado com cada etapa deste trabalho, tratando do mesmo como se fosse seu, fazendo desta missão uma jornada prazerosa de aprendizado. A você, meu amigo, que fique aqui registrado o meu muito obrigado!

A MV. Dra. Ceci Ribeiro Leite, amiga e companheira de outras batalhas, por toda a atenção e cuidados indispensáveis ao bom andamento dos procedimentos anestésicos e de analgesia, que nos permitiram trabalhar de forma simples, eficiente e respeitosa no que tange o bem estar dos animais utilizados nesta tese.

A Prof. Dra. Aline Emerim Pinna, por todo o apoio nos estudos de imagem desenvolvidos neste trabalho.

A Prof. Dra. Marilene de Farias Brito Queiroz, por ter se disposto a colaborar com as análises histopatológicas do material oriundo deste trabalho, sendo fundamental para elucidação dos achados e demonstração dos resultados obtidos com a nova técnica empregada por nós.

Ao MV. MSc. Mário Felipe Alvarez Balaro por todo apoio dado durante o desenvolvimento do experimento, desde orientação na aquisição dos animais, manejo, cuidados médicos, processamento de material e realização de exames ultrassonográficos, sempre preocupado antes de tudo com o bem estar dos animais.

Ao MV. MSc. Lucas Machado Figueira, por toda ajuda na orientação e supervisão do manejo diário dos animais e também na colaboração da execução da parte técnica do experimento.

A MV. Mariana da Costa Higino, pela captação das imagens ao longo da execução do experimento, fundamentais na apresentação do trabalho realizado e dos resultados obtidos.

Ao Prof. Dr. João Marcelo Silva Silveira, grande amigo e parceiro de disciplina, pelos inúmeros conselhos que nortearam minha jornada nesta etapa.

## RESUMO

Dória, Phillipe Bauer de Araújo. **Esterilização Cirúrgica Masculina Minimamente Invasiva com o Emprego da Criocirurgia em Ovinos (*Ovis aries*)**. 2016. 107f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária, Patologia e Ciências Clínicas). Instituto de Veterinária, Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2016.

O presente estudo visa o desenvolvimento de técnica cirúrgica minimamente invasiva com o emprego da criocirurgia que proporcione a esterilização de carneiros para diferentes fins. Foram utilizados 18 ovinos, mestiços Santa Inês x Dorper, machos, inteiros, púberes, com idade entre 8 e 12 meses e circunferência escrotal maior ou igual a 25 cm, mantidos em confinamento. Os animais foram submetidos a pesagem, avaliação clínica, hematológica, ultrassonografia de testículo/epidídimo e cordão espermático, exame andrológico, dosagem de testosterona sérica e teste de libido. Após serem considerados aptos, foram divididos em dois grupos experimentais, com nove animais cada, denominados GRUPO TESTE (GT) e GRUPO CONTROLE (GC). A técnica cirúrgica aplicada nos pacientes do (GT) consistiu da transfixação da cauda do epidídimo com agulha hipodérmica estéril descartável 0,80 x 40mm, 21G x 1 ½, no sentido latero medial, estando esta acoplada a um circuito composto por adaptador de aço inox ligado um tubo de borracha flexível de 15cm de comprimento, 7,05mm de diâmetro e lúmen de 4,50mm, conectado a aparelho Cryogun CryAc, recebendo então a aplicação de dois ciclos de congelamento / descongelamento, pelo tempo de 60 segundos / 45 segundos respectivamente, repetindo-se o procedimento no órgão contralateral. No GC procedeu-se apenas a transfixação da cauda do epidídimo conforme descrito previamente, aguardando-se pelo mesmo intervalo de tempo que no GT, sem a realização da criocirurgia. Os animais foram acompanhados por um período de 33 dias, repetindo-se ao final desta etapa todos os exames realizados antes da intervenção cirúrgica, seguidos de orquiectomia para obtenção das peças contendo os testículos, epidídimos e túnicas para avaliação macroscópica e posterior análise histopatológica das lâminas coradas por Hematoxilina e Eosina em microscopia óptica. O espermograma realizado aos 33 dias revelou azoospermia em seis dos nove carneiros do GT, não tendo sido observado este quadro em nenhum dos ovinos do GC. As análises estatísticas não evidenciaram alterações significativas para peso corporal, perímetro escrotal e libido dos animais do GT. As dosagens de testosterona sérica antes e após a realização da técnica proposta no GT situaram-se dentro da curva. O exame ultrassonográfico do GT não evidenciou alterações no parênquima testicular, demonstrando porém alterações na forma e aumento das dimensões da cauda do epidídimo, com ecotextura heterogênea e a presença de cavidades císticas ocupando uma grande área da cauda do epidídimo, com conteúdo homogêneo hipoecóico em seu interior. A microscopia revelou alterações nos testículos em oito animais do GT com túbulos seminíferos contraídos, vacuolização difusa de células germinativas, ausência de células da linhagem espermática, redução na produção de espermatozoides e presença de espermatozoides mortos, notou-se na cauda do epidídimo o extravazamento de sêmen para o interstício, com a formação de granuloma espermático, fibrose adjacente, além da presença de grandes vacúolos com estase de espermatozoides no seu interior e espessamento das túnicas em alguns pacientes. Concluímos que a técnica proposta no GT mostrou-se segura, rápida, de fácil execução, baixo custo, minimamente invasiva e isenta da ocorrência de complicações pós-operatórias, proporcionando a esterilização de seis dos nove carneiros avaliados no período de 33 dias.

Palavras-chave: Castração, Epidídimo, Cirurgia Veterinária.



## ABSTRACT

DÓRIA, Phillipe Bauer de Araújo. **Minimally invasive surgical male sterilization with the use of cryosurgery in sheep (*Ovis aries*)**. 2016. 107p. Thesis (Doctor Science in Veterinary Medicine, Pathology and Clinical Sciences). Veterinary Institute, Graduate Program in Veterinary Medicine, Federal University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2016.

The current study aims to develop a minimally invasive surgical technique with the use of cryosurgery that provides sterilization of sheep for different purposes. It was used eighteen rams, half blood Santa Inês x Dorper, pubescent, with aged between 8 and 12 months and scrotal circumference greater than or equal to 25 cm, kept in confinement. The animals were weighed, clinical and hematological tests were done. By ultrasonographic, testes, epididymides and spermatic cords were evaluated and was made breeding soundness examination, serum testosterone dosage and libido test. After being considered suitable, were divided into two groups, with nine animals each group: TEST GROUP (TG) and CONTROL GROUP (CG). The surgical technique in TG consisted in the transfixing of the tail of the epididymis in the medial latero direction, with sterile and disposable hypodermic needle of 0.80 x 40mm, 21G x 1 ½, is being coupled to a circuit composed of stainless steel adapter attached to a flexible rubber tube with 15 cm in length, diameter of 7,05mm and 4,50mm of lumen, connected to unit Cryogun CryAc, then receiving the application of two cycles of freeze / thaw, by time of 60 / 45 seconds respectively by repeating the procedure on the contralateral organ. In CG proceeded only epididymis tail transfixion as previously described, without cryosurgery, waiting for the same time interval as in TG. The animals were observed for a period of 33 days, repeating to the end of this stage all tests performed before surgery, followed by orchietomy to obtain the testis, the epididymides and tunics for macroscopic and histological in stained laminas by hematoxylin and eosin observed in optical microscopy. Semen analysis performed at 33 days revealed azoospermia in six of the nine sheep allocated in TG which was not observed in CG sheep. The statistical analysis showed no significant changes in body weight, scrotal circumference and libido of TG animals. Serum testosterone measurements before and after the procedure in TG were within the curve. Ultrasonography in the TG showed no changes in the testicular parenchyma, however demonstrating changes in the shape and increased epididymal tail dimensions with heterogeneous echo texture and the presence of cystic cavities occupying a large area of the epididymis tail, with hypoechoic homogeneous content inside. Microscopy revealed changes in the testicles of eight TG animals as contracted seminiferous tubules, diffuse vacuolation of germ cells, absence of sperm cells in the lineage, reduction in sperm production and the presence of sperm cells dead. It was noted in the epididymal tail semen extravasation into the interstitial space, with the formation of spermatic granuloma, adjacent fibrosis, and the presence of large vacuoles with stasis of the sperm cells inside and thickening of the coats in some patients. It concludes that the proposed technique in TG is safe, fast, easy to perform, with low cost, minimally invasive and free of the occurrence of postoperative complications, providing sterilization of six of the nine sheep evaluated in the 33-day period.

Key words: Castration, Epididymis, Veterinary Surgery.

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 01A** - Mensuração da circunferência escrotal de carneiro com fita milimétrica.

**Figura 01B** – Coleta de sêmen ovino por meio de eletroejaculador. FECM. Junho de 2015.

**Figura 02A** – Transfixação da cauda do epidídimo de carneiro com agulha hipodérmica descartável 0,80x40 mm acoplada a aparelho de criocirurgia, para procedimento de esterilização cirúrgica minimamente invasiva por meio de criocirurgia. GRUPO TESTE.

**Figura 02B** – Transfixação da cauda do epidídimo de carneiro do GRUPO CONTROLE com agulha hipodérmica descartável 0,80x40mm. FECM. Novembro de 2014.

**Figura 03** – Aparelho de criocirurgia e circuito formado por adaptadores de aço inoxidável, tubo de borracha flexível e agulha hipodérmica estéril descartável. FECM. Novembro de 2014.

**Figura 04** – Técnica de esterilização cirúrgica minimamente invasiva com o emprego de criocirurgia em carneiro do GRUPO TESTE. FECM. Novembro de 2014.

**Figura 05** – Evidenciação da formação de alo de congelamento ao redor da agulha hipodérmica estéril descartável 0,80x40 mm, durante a execução da técnica de esterilização cirúrgica minimamente invasiva com o emprego de criocirurgia em carneiro. GRUPO TESTE. FECM. Novembro de 2014.

**Figura 06** – Manobra de oclusão do canhão da agulha hipodérmica estéril descartável 0,80x40 mm com o dedo indicador do cirurgião durante a execução da transfixação da cauda do epidídimo em carneiro do GRUPO CONTROLE. FECM. Novembro de 2014.

**Figura 07A** – Testículo/Epidídimo de ovino retirado de animal do GRUPO TESTE após 33 dias da execução da esterilização cirúrgica minimamente invasiva com uso de criocirurgia.

**Figura 07B** – Cauda do epidídimo pertencente a animal do GRUPO CONTROLE obtida aos 33 dias de pós-operatório. FECM. Dezembro de 2014.

**Figura 08** – Gráfico de Ganho de Peso Corporal (kg), antes e após as intervenções cirúrgicas realizadas nos animais do GRUPO TESTE e GRUPO CONTROLE. UFRRJ, Dezembro de 2015.

**Figura 09** – Gráfico da avaliação da Circunferência Escrotal dos carneiros (cm) dos GRUPOS TESTE e GRUPO CONTROLE, antes e após 18 e 32 dias de pós-operatório. UFRRJ. Dezembro de 2015.

**Figura 10** – Gráfico do Turbilhonamento observado na avaliação do sêmen dos ovinos do GRUPO TESTE e GRUPO CONTROLE, antes e após 33 dias das intervenções cirúrgicas. Valor p 0,0128. UFRRJ. Dezembro de 2015.

**Figura 11** – Gráfico da Motilidade Espermática observada durante a avaliação do sêmen dos ovinos do GRUPO TESTE e GRUPO CONTROLE, antes e após 33 dias das intervenções cirúrgicas. Valor p 0,0058. UFRRJ. Dezembro de 2015.

**Figura 12** – Gráfico do Vigor Espermático observada durante a avaliação do sêmen dos ovinos do GRUPO TESTE e GRUPO CONTROLE, antes e após 33 dias das intervenções cirúrgicas. Valor p 0,0249. UFRRJ. Dezembro de 2015.

**Figura 13** – Gráfico da Dosagem de Testosterona Sérica dos carneiros dos GRUPOS TESTE e GRUPO CONTROLE, antes e após 33 dias da intervenção cirúrgica (P-valor 0,9210). UFRRJ. Dezembro de 2015.

**Figura 14** – Imagem ultrassonográfica em Módulo B, corte longitudinal, evidenciando parênquima testicular com ecotextura homogênea e padrão isoecóico, presença de microlitíases (setas amarelas) formadoras de sombra acústica. Cauda do epidídimo com forma e dimensões normais, ecotextura homogênea e menor ecogenicidade comparada ao testículo. Ovino. GRUPO TESTE. FECM. Novembro de 2014.

**Figura 15A** – Imagem ultrassonográfica em Módulo B, corte longitudinal da cauda do epidídimo, demonstrando forma e dimensões aumentadas, ecotextura heterogênea, contendo estrutura cística com conteúdo hipoecóico ocupando uma grande área da região e presença de conteúdo hipoecóico entre as túnica albugínea e vaginal.

**Figura 15B** – Imagem em corte transversal, evidenciando ambas as caudas do epidídimo, com a presença de estrutura cística com conteúdo líquido hipoecóico. Ovino. GRUPO TESTE. FECM. Dezembro de 2014.

**Figura 16A** – Fragmentos de cauda do epidídimo (E1) e (E2), de carneiro submetido à esterilização cirúrgica minimamente invasiva com uso da criocirurgia, evidenciando a presença de foco hemorrágico e cisto com conteúdo amarelado em seu interior. GRUPO TESTE. FECM. Dezembro de 2014.

**Figura 16B** – Corte de cauda de epidídimo (E1), de carneiro submetido à esterilização cirúrgica minimamente invasiva com uso da criocirurgia, evidenciando grande área de lise, com formação de vacúolo, focos amarelados e ponto hemorrágico na túnica albugínea no local da penetração da agulha. GRUPO TESTE. UFRRJ. Março de 2015.

**Figura 17** – Cicatriz arredondada com área de despigmentação no escroto de carneiro submetido à esterilização cirúrgica minimamente invasiva com uso da criocirurgia. FECM. Junho de 2015.

**Figura 18** – Orquiectomia aberta demonstrando a ausência de aderências entre às túnica vaginal e albugínea de carneiro submetido à esterilização cirúrgica minimamente invasiva com uso da criocirurgia. FECM. Junho de 2015.

**Figura 19A; 19B** – Presença de material de aspecto caseoso e coloração amarelada, alojado entre as túnica vaginal visceral e albugínea, próximo á cauda do epidídimo de carneiro submetido à esterilização cirúrgica minimamente invasiva com uso da criocirurgia. FECM. Junho de 2015 e Dezembro de 2014.

**Figura 20** – Presença de coágulo sanguíneo alojado entre as túnica vaginal visceral e albugínea, localizado próximo ao ponto de penetração da agulha na cauda do epidídimo. Ovino. Junho de 2015.

**Figura 21A** – Cauda do epidídimo com forma e dimensões alteradas, evidenciação do orifício de penetração da agulha, focos hemorrágicos e pontos amarelados de carneiro submetido à esterilização cirúrgica minimamente invasiva com uso da criocirurgia. GRUPO TESTE. Dezembro de 2014.

**Figura 21B** - Cauda do epidídimo com forma e dimensões alteradas, vascularização aumentada, focos hemorrágicos e pontos amarelados. Ovino. GRUPO CONTROLE. FECM. Dezembro de 2014.

**Figura 22** – Corte de cauda de epidídimo (E2), evidenciando grande área de lise, com formação de vacúolo, foco amarelado e evidenciação dos túbulos. Ovino. GRUPO TESTE. UFRRJ. Março de 2015.

**Figura 23** – Fragmento de testículo (T) evidenciando estria de sangue. Ovino. GRUPO TESTE. UFRRJ. Março de 2015.

**Figura 24A** - Corte de cauda do epidídimo (E1), evidenciando múltiplos focos amarelados circunscritos distribuídos pelo parênquima, alguns confluentes. Ovino. GRUPO CONTROLE. UFRRJ. Março de 2015.

**Figura 24B** – Corte de cauda de epidídimo (E2) apresentando grande massa amarelada. Ovino. GRUPO CONTROLE. UFRRJ. Março de 2015.

**Figura 25A** – Foco de mineralização de túbulos seminíferos, vacuolização; diminuição das células da linhagem espermática; membranas basais irregulares e desprendidas. Ovino. GRUPO TESTE. Testículo. HE. Obj.4x.

**Figura 25B** – Acentuada vacuolização difusa das células germinativas dos túbulos seminíferos e rarefação das células da linhagem espermática. Ovino. GRUPO TESTE. Testículo. HE. Obj. 20x. UFRRJ. Abril. 2015.

**Figura 26A** – Espessamento das túnica vaginal e albugínea; inflamação granulomatosa com células gigantes e espermatozoides (vaginalite / granuloma espermático) no ponto de penetração da agulha. Ovino. GRUPO TESTE. HE. Obj. 4x. UFRRJ. Abril. 2015.

**Figura 26B** – Espermatozoides fagocitados por macrófagos e células gigantes. Ovino. GRUPO TESTE. Epidídimo. HE. Obj.20x. UFRRJ. Abril 2015.

**Figura 27A;** – Granuloma espermático na superfície vaginal. Ovino. GRUPO CONTROLE. Testículo. HE. Obj. 4x. UFRRJ. Abril de 2015.

**Figura 27B** – Extravassamento de sêmen com intensa reação inflamatória. Ovino. GRUPO CONTROLE. Testículo. HE. Obj. 20x. UFRRJ. Abril de 2015.

**Figura 28A** – Desprendimento da membrana basal. . Ovino. Túbulos Seminíferos. Testículo. GRUPO CONTROLE. HE. Obj. 4x. UFRRJ. Abril de 2015.

**Figura 28B** – Membranas basais onduladas e destruição das células da linhagem espermática. Ovino. Túbulos Seminíferos. Testículo. GRUPO CONTROLE. HE. Obj. 20x. UFRRJ. Abril de 2015.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	<b>p.1</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b>	<b>p.2</b>
2.1 ANATOMIA DO SISTEMA GENITAL MASCULINO DE OVINOS	p.2
2.2 FISIOLOGIA REPRODUTIVA DE OVINOS	p.3
2.3 EXAME ANDROLÓGICO	p.5
2.4 TÉCNICAS CIRÚRGICAS DE ESTERILIZAÇÃO	p.10
2.5 MÉTODOS ALTERNATIVOS DE ESTERILIZAÇÃO	p.18
2.6 CRIOCIRURGIA	p.24
<b>3 MATERIAL E MÉTODO</b>	<b>p.29</b>
3.1 COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS	p.29
3.2 LOCAL	p.29
3.3 ANIMAIS	p.29
3.4 PERÍODO	p.29
3.5 ACLIMATAÇÃO	p.29
3.6 ENSAIO EXPERIMENTAL	p.30
<b>3.6.1 Exame Andrológico</b>	<b>p.30</b>
<b>3.6.2 Dosagem de Testosterona Sérica</b>	<b>p.32</b>
<b>3.6.3 Teste de Libido</b>	<b>p.32</b>
<b>3.6.4 Grupos Experimentais</b>	<b>p.33</b>
<b>3.6.5 Protocolo Anestésico</b>	<b>p.33</b>
<b>3.6.6 Exame Ultrassonográfico</b>	<b>p.34</b>
<b>3.6.7 Procedimento Cirúrgico</b>	<b>p.34</b>
<b>3.6.8 Pós Operatório</b>	<b>p.38</b>
<b>3.6.9 Avaliação Histopatológica</b>	<b>p.39</b>
<b>3.6.10 Análises Estatísticas</b>	<b>p.40</b>
<b>4 RESULTADOS</b>	<b>p.41</b>
<b>5. DISCUSSÃO</b>	<b>p.55</b>
<b>6. CONCLUSÕES</b>	<b>p.64</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>p.65</b>
<b>8. ANEXOS</b>	<b>p.71</b>
8.1 ANEXO 1 – CEUA UFRRJ	p.71
8.2 – ANEXO 2 – Planilha de Peso Corporal do Animais	p.72
8.3 – ANEXO 3 – Planilha de Circunferência Escrotal dos Animais	p.73
8.4 – ANEXO 4 – Planilha do Spermograma dos Animais	p.74
8.5 – ANEXO 5 – Planilha de Patologias Espermáticas dos Animais	p.75
8.6 – ANEXO 6 – Planilha do Teste de Libido dos Animais	p.76
8.7 – ANEXO 7 – Planilha da Biometria da Cauda do Epidídimo dos Animais	p.77

## 1 INTRODUÇÃO

A esterilização de machos é um procedimento corriqueiro na rotina do médico veterinário, tanto em animais de companhia, quanto nos de produção. Inúmeras são as indicações para tal procedimento, indo desde a ocorrência de enfermidades, questões comportamentais, controle de natalidade, facilitação do manejo dos animais em lotes, preparo de rufiões, acabamento de carcaça, até credences e práticas regionais.

Ainda hoje, mesmo nos grandes centros, observa-se a realização destes procedimentos por pessoas não capacitadas para este fim, infringindo a legislação vigente em todo o território nacional, que determina ser função privativa do médico veterinário a execução de intervenções dessa natureza. Tal fato costuma ser observado com maior frequência envolvendo a esterilização cirúrgica de animais de produção, principalmente ruminantes e suínos, tendo como principais justificativas o valor mais baixo cobrado por estas pessoas para a execução destes procedimentos, e as taxas de complicações em números semelhantes às observadas mesmo quando realizadas por profissionais médicos veterinários.

Todos os anos são publicadas novas técnicas de realização de procedimentos visando a esterilização de machos, divididas basicamente em dois grandes grupos: um que se baseia na cessão temporária ou definitiva da produção de gametas e hormônios sexuais pelas gônadas ou na produção de forma defeituosa destas células sexuais, e um segundo grupo que busca a interrupção do fluxo natural de saída de espermatozoides pelo aparelho reprodutor masculino, impossibilitando assim a fecundação de fêmeas da mesma espécie. Tais técnicas tem sido implementadas por meio de métodos cirúrgicos, químicos, hormonais, imunológicos ou físicos.

Independente do método utilizado, não são raras as ocorrências de complicações após estas intervenções, sendo mais comumente observadas nos casos em que se opta por procedimentos cirúrgicos, muitos dos quais mutiladores e invasivos, causando variados graus de estresse, dor, perda de peso, hemorragias, edemas, inflamações, infecções, ocorrência de miíases, eviscerações e morte dos animais operados. Visando diminuir a incidência destas complicações tem se buscado o desenvolvimento e emprego de técnicas menos invasivas, que gerem um menor grau de estresse e dor, principalmente em pacientes de vida livre como animais selvagens, como também no caso de animais de produção, onde as perdas econômicas relacionadas a estas complicações tornam-se fatores determinantes na manutenção das atividades por parte do produtor rural.

Diante do alto custo, da complexidade e elevado índice de complicações trans e pós-operatórias observadas com o emprego dos procedimentos cirúrgicos atualmente realizados, propôs-se o desenvolvimento de técnica cirúrgica minimamente invasiva com o emprego da criocirurgia a fim de proporcionar a esterilização irreversível de machos, utilizando-se de carneiros como modelo experimental, objetivando o desenvolvimento de uma técnica eficiente, de fácil execução, baixo custo, com índices reduzidos de complicações trans e pós-operatórias e que se enquadre dentro dos novos ideais de bem estar animal, ocasionando o menor estresse e dor possíveis, preservando assim a saúde física e mental dos nossos pacientes.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 ANATOMIA DO SISTEMA GENITAL MASCULINO DE OVINOS

O aparelho reprodutor masculino é composto basicamente pelo escroto, que tem como funções proteger os testículos e colaborar com o mecanismo de termorregulação por meio do seu fluxo sanguíneo, de trocas calóricas e da sudorese (KASTELIC et al., 2000); gônadas responsáveis pela produção de gametas e hormônios; ductos que transportam estas células sexuais; glândulas sexuais acessórias secretoras de substâncias importantes na composição do sêmen e ainda pelos chamados órgãos copulatórios como o pênis, fundamental na deposição do ejaculado no interior do trato reprodutor da fêmea durante a cobertura (DYCE, 2010).

Os ovinos apresentam na região inguinal do abdômen um saco membranoso, de grandes dimensões, aspecto pendular e septado internamente por um tabique, denominado escroto. Nota-se claramente uma área de estreitamento na porção proximal do órgão na sua junção com o tronco do animal, logo abaixo do anel inguinal superficial, sendo chamada de colo ou “pescoço”. Particularmente nos ovinos, o escroto encontra-se recoberto por considerável quantidade de pelos, curtos e fortes e também por uma quantidade variável de lã, podendo esta ficar restrita ao colo ou recobrir todo o escroto. Observa-se a presença de quatro tetos rudimentares laterais ao colo (MAY, 1974). No seu interior nota-se a presença de dois testículos, epidídimos e parte do funículo espermático (OLIVEIRA, 2013).

Os testículos são responsáveis pela produção de espermatozoides e andrógenos, encontram-se orientados em posição vertical, normalmente simétricos, paralelos uns aos outros, de consistência firme, formato ovalado a globoso, relativamente grandes se comparados a demais espécies domésticas (200 a 300g) e a própria massa corporal do animal (CBRA, 2013). Apresentam duas extremidades distintas, denominadas *Extremitas Capitata* no polo proximal do testículo, adjacente ao cordão espermático e a cabeça do epidídimo e a *Extremitas Caudata*, localizada no polo oposto e em contato com a região da cauda do epidídimo. Lateralmente observa-se um bordo livre enquanto na face medial um bordo que se relaciona com o corpo do epidídimo (NICKEL, 1979).

Os testículos são recobertos por uma superfície serosa denominada túnica vaginal visceral, que se encontra intimamente relacionada a capsula fibrosa que envolve todo o parênquima testicular chamada de túnica albugínea. Esta por sua vez emite septos no sentido da região central do órgão, dividindo-o em lóbulos nos quais se encontram os túbulos seminíferos, responsáveis pela espermatogênese, e que irão se encontrar na região do *Mediastinum Testis*, composto por uma numerosa quantidade de túbulos finíssimos ditos *Rete Testis*, que tem por função transportar os espermatozoides até a *Extremitas Capitata*, penetrando na túnica albugínea, para que cheguem aos ductos eferentes (17 a 20) (HEMEIDA et al, 1978). As células de Sertoli formadoras da barreira hematotesticular, são responsáveis pela sustentação e nutrição das células da linhagem espermatogênicas, enquanto as células de Leydig atuam na produção de testosterona. Já na região da cabeça do epidídimo, os ductos eferentes desembocam em um único ducto denominado ducto do epidídimo, que segue ao longo de todo o órgão, até sua comunicação com o ducto deferente.

O epidídimo se subdivide em três regiões distintas ditas, cabeça, corpo e cauda, sendo esta bastante grande e proeminente, facilmente perceptível à inspeção e palpação. Sua

estrutura é composta basicamente por tecido conjuntivo e pelo enovelado de ducto do epidídimo, originário da porção caudal do ducto mesonéfrico, aumentando de diâmetro próximo a junção com o ducto deferente. Segundo Hemeida *et al.* (1978) o epidídimo atinge algo em torno de 47 a 52 metros de comprimento ao longo de toda a sua extensão. Neste trajeto, bilhões de espermatozoides completam o seu processo de maturação, graças a presença de secreção epididimária, sendo posteriormente armazenados na região da cauda do epidídimo até o momento da ejaculação, quando são empurrados por meio de contrações peristálticas no sentido do ducto deferente, que ascende junto com as demais estruturas que compõem o cordão espermático.

Habel (1968) descreve que o ducto deferente apresenta uma dilatação denominada *Ampulla* (6 a 8 cm de extensão; 4 a 8 mm de diâmetro), passando sob corpo da próstata e se unindo aos ductos excretórios da Glândula Vesicular, dando origem ao curto ducto ejaculatório, que por sua vez desemboca na parede dorsal da uretra por meio do orifício ejaculatório na região do *Collicullus Seminalis*. A próstata drena para uretra por meio de uma série de pequenos ductos, enquanto a Glândula Bulbouretral o faz por dois ductos excretórios.

Os ovinos apresentam um pênis de natureza fibroelástica, consistência firme e formato cilíndrico, podendo atingir de 30 a 50 cm de comprimento. Quando em estado de relaxamento apresenta a formação da chamada flexura sigmoide. Em sua estrutura encontra-se recoberto por uma fina túnica albugínea, apresentando uma serie de septos e trabéculas que ao se enxerem de sangue levam a um estado de ereção do chamado corpo cavernoso do pênis, que juntamente com outros mecanismos desfazem a flexura sigmoide, lavando a protusão do pênis através do óstio prepucial. No aspecto ventral da porção livre do pênis nota-se a direita a presença de uma rafe e um sulco uretral, e em sua extremidade uma região denominada de glande recoberta por uma fina camada de tecido conjuntivo e por uma vasta rede de vasos sanguíneos que se comunicam com o corpo esponjoso do pênis. Evidencia-se nos ovinos uma particularidade anatômica fundamental para a deposição do sêmen no canal cervical das fêmeas, denominado processo uretral, representado pela porção final da uretra que se projeta por cerca de 4 cm, graças a presença de um tecido erétil e tendo em sua extremidade o orifício uretral externo, pelo qual é eliminado o sêmen e também a urina (NICKEL, 1979; DYCE, 2010)

## 2.2 FISIOLOGIA REPRODUTIVA DE OVINOS

Segundo Evans; Sack (1973), em ovinos, os testículos já estão presentes na porção proximal do escroto a partir do terceiro mês de gestação.

Nickel (1979); Hafez (2004) afirmam que em ovinos, o processo de migração testicular ocorre por volta da metade da vida fetal, e que nesta fase os testículos e epidídimos desenvolvidos no abdômen próximo aos rins, sob a ação direta de hormônios e tração do *gubernáculo testis*, migram caudalmente até atingir o anel inguinal profundo, atravessando assim a parede abdominal e se projetando no anel inguinal superficial, até atingirem sua posição anatômica final no escroto. No transcorrer desta migração carrega consigo parte do peritônio, dando origem à chamada túnica vaginal visceral.

Em ovinos, constata-se o desenvolvimento completo da porção final do epidídimo já na sexta semana de vida, enquanto o mesmo ocorre na porção inicial do órgão apenas na décima oitava semana. Espermatozoides encontram-se presentes na cauda do epidídimo já na décima sexta semana, sendo observados no ejaculado na décima oitava semana. Ainda



segundo Hafez (2004), ovinos machos atingem a maturidade sexual por volta de 24 semanas após o nascimento, existindo, no entanto uma maior correlação da maturidade sexual com o peso corporal (40 a 60% do peso adulto) do que com a idade do animal.

Oliveira (2013) define como puberdade o período no qual o animal inicia a manifestação de interesse sexual, encontrando-se hábil em produzir espermatozoides viáveis e em realizar a cópula de maneira eficiente, já com a ocorrência do desbridamento do pênis e do prepúcio. Segundo o autor estes eventos se dão por volta de seis a sete meses de idade, dependendo principalmente de fatores como massa corporal, fator que explicaria a precocidade dos animais nascidos no período chuvoso quando comparados aos nascidos na seca, onde as forragens encontram-se escassas e de baixo valor nutricional.

Segundo Eloy & Santa Rosa (1996), caprinos machos da raça Moxotó apresentam aos 126 dias de idade, concentrações plasmáticas mais elevadas de testosterona, coincidindo com o início da espermatogênese, crescimento do perímetro escrotal e desbridamento do pênis, existindo correlação direta entre esses eventos, caracterizando o início da puberdade.

Bispo *et al* (2003) avaliaram os parâmetros reprodutivos de machos ovinos da raça Santa Inês criados em regime de confinamento dos quatro aos oito meses de idade, constatando um crescimento gradual nas mensurações de circunferência escrotal, comprimento, largura e profundidade dos testículos, dimensões da cauda do epidídimo, além de melhora nos parâmetros do sêmen coletado por eletroejaculação, concluindo que esses animais estariam aptos a iniciar suas atividades como reprodutores a partir do sétimo mês de vida, apresentando neste momento parâmetros compatíveis com o de machos adultos.

Oliveira (2013) e Hafez (2004) reportam que em períodos de dias curtos observa-se nos carneiros um maior perímetro escrotal e sêmen de melhor qualidade. No entanto, em estações de dias longos não ocorre interrupção da produção de espermatozoides, porém constata-se grande redução da libido dos animais, assim como piora na qualidade do sêmen. Afirma ainda que em países como o Brasil, onde a intensidade luminosa se distribui de forma homogênea ao longo do ano, o principal fator que interfere na atividade reprodutiva e na qualidade do sêmen dos carneiros é a questão nutricional, obtendo-se melhores índices reprodutivos nas estações chuvosas nas quais as forrageiras apresentam em maior número e melhor qualidade. Apesar disso sabe-se que o estresse provocado pelas altas temperaturas pode interferir de forma negativa tanto na libido quanto na qualidade do sêmen, com reduções na motilidade espermática e no aparecimento de uma maior taxa de defeitos nestas células.

Segundo Hafez (2004), o tempo de trânsito do espermatozoide ao longo de todo o epidídimo varia de 9 a 13 dias. Neste período, grande parte do volume de material secretado pelos testículos é absorvida ainda na porção inicial do ducto do epidídimo, localizado na cabeça do epidídimo. Neste local os espermatozoides remanescentes passam por um processo de maturação, adquirindo um aumento de sua motilidade na região do corpo, seguindo em direção a cauda do epidídimo aonde permaneceram armazenado e tem sua capacidade de fertilização aumentada.

Outros autores como OLIVEIRA (2013) relatam que o tempo de trânsito dos espermatozoides pelos ductos é de 16 dias, podendo sofrer uma redução de 10 a 20% com o aumento da frequência de ejaculações. Afirma ainda que os espermatozoides são imóveis e incapazes de fertilização antes de sua chegada ao epidídimo, adquirindo estas características durante a passagem pela região da cabeça e corpo do epidídimo, seguindo então para a região da cauda aonde permaneceram armazenados. O intervalo de tempo desde a transformação de

uma espermatogônia do tipo A até um espermatozoide presente no ejaculado é de 60 a 70 dias, logo pode ser necessário aguardar igual período para que o ejaculado se apresente normal após uma lesão testicular.

Oliveira (2013) afirma existir uma correlação positiva direta entre a capacidade de estocagem da cauda do epidídimo, concentração espermática e esgotamento, atingindo-se um valor máximo de armazenagem em animais que ficaram sem ejacular por um período de 7 a 10 dias, reduzindo em até 25% naqueles que ejaculam diariamente, sendo necessárias em média de 10 ejaculações sucessivas para se atingir a exaustão. Na prática, coletas realizadas em dias alternados não interferem negativamente na qualidade do sêmen ejaculado.

Rodrigues (2004) reporta a realização de seis coletas de sêmen diárias por um período de 10 dias consecutivos em ovinos sexualmente maduros, com intervalo de uma hora entre cada um dos procedimentos. Cita como método de coleta a vagina artificial modelo curto, utilizando-se de ovelhas ou outros machos como manequim. Afirma que tal conduta se faz necessária a fim de estabilizar a concentração espermática dos animais, em virtude das reservas extragonadais.

Hafez (2004) cita ter observado a presença de pequenas quantidades de espermatozoides na região da *Ampulla* durante dissecação anatômica do trato reprodutor de ovinos, sendo uma possível explicação para a constatação de espermatozoides no ejaculado de animais submetidos a orquiectomia, mesmo após várias semanas, no entanto estas células não apresentam motilidade.

Os carneiros são muito susceptíveis a infertilidade temporária, podendo esta ser provocada por situações rotineiras como transporte de animais, mudança de ambiente e na dieta alimentar, estresse térmico e práticas zootécnicas como casqueamento, tosquia e banhos terapêuticos CBRA (2013).

Para Oliveira (2013), o comportamento sexual de carneiros pode sofrer influência de diversos fatores, como idade, ambiente, genética, nutrição adequada, experiências anteriores, sendo especialmente importante nos machos mantidos em grupos a ocorrência de escalas de dominância dentro do lote de animais, nos quais os mais submissos muitas das vezes são impedidos de copular. A percepção do estímulo doloroso pelo animal leva à redução da libido, e sua cronicidade pode afetar inclusive a espermatogênese.

### 2.3 EXAME ANDROLÓGICO

O exame andrológico é peça fundamental dentro de boas práticas de manejo reprodutivo, e envolve uma série de etapas que se iniciam com a avaliação da condição sanitária do plantel, seguida por exame clínico completo do animal, com especial atenção aos órgãos do aparelho reprodutor, passando pela avaliação do comportamento sexual do indivíduo e culminando com a análise da qualidade do sêmen. Tem como objetivo principal avaliar o potencial reprodutivo dos animais selecionados para este fim, tanto os relacionados a *potentia coeundi* quanto a *potentia generandi*. Sugere-se que seja realizado em um intervalo bimestral baseado no tempo total de 60 a 70 dias desde a espermatogênese até a liberação dos espermatozoides no ejaculado, repetindo-se as análises de forma periódica e sequencial a fim de distinguir alterações fisiológicas temporárias de possíveis situações patológicas, que podem levar a situações de subfertilidade ou infertilidade do animal (HAFEZ, 2004; CBRA, 2013; OLIVEIRA, 2013).

Brisola *et al.*(1999) mencionam que o exame andrológico é constituído por várias etapas que envolvem o exame clínico do aparelho reprodutor, avaliação do sêmen fresco obtido por diferentes métodos de coleta e análise das patologias espermáticas.

Segundo Buckrell (1987), as dimensões testiculares apresentam caráter hereditário, devendo ser consideradas durante a seleção de reprodutores, sendo que ao se avaliar estas características é importante considerar fatores como raça, idade, peso dos animais, além da estação do ano no momento do exame. Afirma ainda existir uma correlação direta entre circunferência escrotal, puberdade, concentração espermática e qualidade do sêmen.

Ao exame físico, deve ser dada especial atenção à forma, dimensões e consistência dos epidídimos, devido a doenças como epididimite ovina infecciosa, provocada pela *Brucella ovis*, que pode levar a processos inflamatórios e conseqüente endurecimento do órgão, acarretando problemas na fertilidade do animal e até do lote. Outros agentes infecciosos como *Actinobacillus seminis*, *Histophilus ovis*, *Mycoplasma sp.* e *Ureaplasma sp.* também podem causar epididimites em ovinos (BRUCKRELL, 1987; CBRA, 2013).

Oliveira (2013) ressalta a importância do exame ultrassonográfico na detecção de alterações dos órgãos do aparelho reprodutor masculino, especialmente nos testículos e epidídimos, como também das glândulas sexuais acessórias, visto a impossibilidade de palpação retal nesta espécie. A ultrassonografia possibilita ainda aferições biométricas mais precisas se comparadas às realizadas externamente com o uso de fitas milimétricas ou paquímetros, principalmente por não incluir a bolsa escrotal nas medições, podendo-se aferir diretamente as dimensões do órgão analisado.

Jucá *et al.* (2009); Teixeira *et al.* (2011); Feliciano *et al.* (2013) afirmam que a ultrassonografia tem se mostrado extremamente útil na detecção de alterações patológicas no trato reprodutor masculino de pequenos ruminantes, sendo um método diagnóstico complementar ao exame andrológico, tendo como principais vantagens o fato de ser um exame não invasivo, rápido e de fácil execução, proporcionando muitas das vezes a detecção de doenças não perceptíveis a outros métodos, mesmo antes da existência de manifestações clínicas, permitindo muitas das vezes a localização e a delimitação da área afetada, além da avaliação da lesão por meio de exames seriados no transcorrer do tratamento.

Recomendam a realização do exame em ambiente escuro, com os animais preferencialmente em estação, contidos por cordas ou tronco próprio para ovinos, sendo necessária a raspagem dos pelos do escroto e aplicação de gel em abundância, melhorando com isso a definição das imagens. Citam como medida alternativa para ser utilizada a campo, a imersão do escroto em um vasilhame com água, o que dispensaria a raspagem dos pelos e aplicação de gel. Ainda segundo os autores tem sido empregado na avaliação do sistema reprodutor masculino de ovinos tanto o módulo B quanto o Doppler, sendo o primeiro útil na avaliação da morfologia, ecotextura, ecogenicidade e contornos dos órgãos, enquanto o Doppler permite uma análise da vascularização e fluxo sanguíneo das estruturas, especialmente as que compõem o cordão espermático. Os transdutores lineares de 5 a 7,5 MHz são os mais indicados para a avaliação de testículos e epidídimos, recomendando a realização de diferentes planos de cortes como longitudinal frontal, lateral, transversal e oblíquo.

Segundo Feliciano *et al.* (2013) a ultrassonografia dos testículos de ovinos saudáveis revela uma superfície hipoecoica uniforme com uma estrutura hiperecoica bem destacada, correspondente a região do mediastino testicular, podendo variar de acordo com o plano de

corde, sendo visto como uma estrutura central e hiperecoica em corte longitudinal, enquanto que em corte transversal apresenta-se de forma focal e circular. A avaliação do parênquima testicular deve ser obtida mediante a análise de quatro a seis regiões distantes de outras estruturas anatômicas como pele, túnicas, epidídimo e mediastinos, considerando a média das aferições. Em condições fisiológicas, as estruturas que compõe a bolsa escrotal, túnicas vaginal e albugínea, aparecem como linhas hiperecoicas bem definidas ao redor do parênquima testicular.

A análise ultrassonográfica dos epidídimos revela a existência de características distintas entre suas porções. A região da cabeça do epidídimo se apresenta hiperecoica em relação ao parênquima testicular, sendo muitas das vezes de difícil visualização em função da sua proximidade com o plexo pampiniforme. Lateralmente ao parênquima testicular nota-se o corpo do epidídimo, com ecogenicidade semelhante ao parênquima testicular. A cauda do epidídimo aparece como uma estrutura bem destacada, de aspecto heterogêneo e hipocóico. Em casos de enfermidades como epididimite, observa-se alterações neste padrão hipocogênico, com o aumento de áreas anecóicas. Em casos de granulomas espermáticos na região da cauda do epidídimo, podem ser observadas áreas anecóicas ou de ecogenicidade mista, envoltas por uma cápsula hiperecoica, não sendo observada dilatação do mediastino testicular.

Feliciano *et al.* (2013) destacam ainda a escassez de trabalhos com registros da biometria dos órgãos que compõem o aparelho reprodutor de ovinos, ressaltando existir uma enorme variação de valores entre os animais em virtude das raças, peso corporal e faixa etária dos indivíduos. Citam que ovinos jovens, mestiços de Dorper x Santa Inês apresentam diâmetro testicular entre 3,8 e 4,5cm, com espessura de mediastino de 0,19 a 0,26mm e cauda de epidídimo com dimensões de 2 a 3 cm.

Oliveira (2013) afirma haver correlação positiva entre os parâmetros biométricos testículo epididimários, fertilidade, qualidade do sêmen, início da puberdade e desenvolvimento corporal, sendo fundamental a inclusão dessas mensurações no processo de seleção de reprodutores.

O chamado teste de libido tem por objetivo principal avaliar a capacidade de detecção da fêmea em cio e a realização da cópula pelo macho, valendo-se para isso de análises do comportamento sexual do animal frente a uma fêmea em cio. Este pode ser dividido em duas fases, sendo uma de cortejo, na qual observa-se atos de perseguição, cabeçadas, fungar, lambidas na genitália externa da fêmea, “reação de Flehmen”, até a presença de gotejamento de plasma seminal oriundo das bulbouretrais, e outra fase dita consumatória na qual constata-se a monta seguida da introdução do pênis, movimentos pélvicos e ejaculação, atribuindo-se uma escala de valores de acordo com o número de serviços completos executados pelo macho em determinado intervalo de tempo previamente estabelecido. Nota-se um período refratário variado por parte dos machos logo após a cópula, apresentando um aumento gradual de acordo com o número de coberturas (HAFEZ, 2004).

Oliveira (2013) recomenda a utilização de uma baía com dimensões não muito grandes, que comporte a presença do macho a ser avaliado e de cinco fêmeas, sendo duas em cio. Afirma existir por parte dos machos preferência por determinadas parceiras, relacionadas tanto a questões raciais quanto a faixa etária, ressaltando que em função disso e também de questões de dominância das mais velhas sobre as mais jovens, estas devem ser separadas em lotes, a fim de não atrapalhar o teste.

Para interpretação do teste de libido pode-se utilizar diferentes escalas como a criada por Osborne (1971) e posteriormente modificada por Chenoweth (1974), nas quais atribui-se determinada pontuação numa escala de zero a dez, correlacionadas a certas atitudes, sendo zero para machos que não manifestam interesse sexual, cinco para aqueles que realizam duas montas ou tentativas de montas mas nenhum serviço, e dez aos que executam dois serviços, seguidos por manutenção do interesse sexual, incluindo montas consumadas ou tentativas, existindo valores intermediários entre estes exemplificados.

A análise do sêmen é considerada etapa fundamental do exame andrológico, permitindo o profissional avaliar a qualidade do material ejaculado pelo animal, sendo possível a detecção de quadros de subfertilidade e infertilidade, relacionados a processos patológicos temporários ou irreversíveis, ou a questões mais simples como erros no manejo nutricional do animal interferindo assim na qualidade seminal. Para que esta análise seja possível, é necessária coleta de amostra de sêmen, podendo ser empregados diferentes métodos como a vagina artificial e o eletroejaculador.

A vagina artificial costuma ser o método de coleta mais utilizado por obter um sêmen com características mais próximas ao do ejaculado naturalmente. Para que esse método seja aplicado é necessário o condicionamento do animal em realizar a monta sobre o manequim ou fêmea, mesmo na ausência de cio e ainda aceitar a presença e a manipulação do operador a desviar o pênis, fazendo com que a ejaculação ocorra no interior da vagina artificial. Tem sido reportada a possibilidade de realização de até seis coletas por animal em um mesmo dia, sem comprometimento da qualidade do sêmen (HAFEZ, 2004; RODRIGUES, 2004; CBRA, 2013; OLIVEIRA, 2013).

Em ovinos, nas situações em que se faz necessária a coleta de um grande número de animais ou os mesmos não se mostrem condicionados ao uso da vagina artificial, muitos profissionais tem dado preferência ao uso do eletroejaculador como meio para obtenção do sêmen destes animais. Obtêm-se um maior volume de ejaculado com o uso deste método, no entanto este apresenta uma menor concentração espermática se comparado ao material obtido por meio de vagina artificial. Além disso, existe um questionamento crescente relacionado ao bem estar animal com o emprego desta técnica, sob o argumento que animais manifestam sinais de dor e desconforto caracterizados por vocalização, mioclonias, quedas, alterações de frequência cardíaca e níveis de cortisol sérico no transcorrer e após a aplicação do estímulo elétrico. Estudos sugerem existir diferenças na qualidade do sêmen e estresse ocasionados pelo procedimento de acordo com o tipo de onda empregado, obtendo-se melhores resultados com o uso de ondas elétricas contínuas se comparados a ondas pulsantes (HAFEZ, 2004).

Em uma análise subjetiva deve-se evitar o uso de sêmen de aspecto aquoso a opaco, dando-se preferência aos de aspecto cremoso. A utilização de contagem em câmara de Neubauer oferece resultados mais precisos, permitindo uma avaliação quantitativa, no entanto a contagem em espectrofotômetro é o método mais fidedigno para a avaliação da concentração espermática (HAFEZ, 2004).

Segundo CBRA (2013), o volume de sêmen do carneiro obtido por coleta com vagina artificial pode apresentar variação de 0,5 a 3,0 mL, valores de concentração espermática de 1 a  $3 \times 10^9$  espermatozoides / mL e número total de espermatozoides por ejaculado de 3 a  $5 \times 10^9$ , coloração branca a amarelo marfim, odor “sui generis” e aspecto variando de claro ou aquoso a creme grosso.

Já Oliveira (2013) cita que o sêmen de ovinos apresenta características físicas peculiares à espécie, com volume em torno de 1,0 mL, aspecto leitoso a cremoso e coloração branca a nuances de creme claro. A concentração espermática varia de 2,0 a 6,0 x 10<sup>9</sup> espermatozoides/mL, existindo uma correlação direta entre o aspecto seminal e concentração espermática.

Bispo (2003) descreve que ao avaliar parâmetros seminais de ovinos Santa Inês aos oito meses de idade submetidos a coleta por eletroejaculador, constatou volume de sêmen em torno de 1,1 mL e concentração espermática de 1,54 x 10<sup>9</sup> espermatozoides / mL.

Tremori *et al.* (2014), ao analisar o sêmen de 10 ovinos Somalis com idades entre um e dois anos, submetidos a coleta por vagina artificial, observou odor “*sui generis*”, aspecto cremoso a leitoso, coloração variando de bege a branca e volume oscilando de 0,1 a 0,6 mL, considerando estes animais aptos a reprodução após o término do exame andrológico.

Em uma análise subjetiva deve-se evitar o uso de sêmen de aspecto aquoso a opaco, dando-se preferência aos de aspecto cremoso. A utilização de contagem em câmara de Neubauer oferece resultados mais precisos, permitindo uma avaliação quantitativa, no entanto a contagem em espectrofotômetro é o método mais fidedigno para a avaliação da concentração espermática (HAFEZ, 2004).

Segundo Oliveira (2013), durante a microscopia busca-se avaliar o turbilhamento, a motilidade e o vigor, sendo o primeiro classificado numa escala de pontuação de zero a cinco, onde zero é a ausência de movimento e cinco a presença de ondas densa e muito rápidas, que se juntam e formam redemoinhos, sendo desejável valores maior ou igual a 3. A motilidade total e a motilidade progressiva retilínea visam avaliar a motilidade das células espermáticas de maneira individual. A interpretação do resultado é subjetiva e expressa em percentual, sendo desejável uma motilidade progressiva retilínea maior que 60%. Já o vigor espermático também é mensurado em uma escala de zero a cinco, onde zero é a ausência de movimento por todos os espermatozoides e cinco significa que todos ou quase todos exibem movimentos progressivos enérgicos, sendo que a força deste movimento influencia diretamente na velocidade dos espermatozoides. Para congelamento, é necessário um valor mínimo de vigor igual a 3. A análise de características morfológicas dos espermatozoides é fundamental na avaliação da qualidade do sêmen, sendo considerado satisfatório algo em torno de 80 a 90% de células normais, sendo que o restante das células representam os defeitos totais, caracterizados por células anormais, portadoras dos chamados defeitos maiores ou defeitos menores, sendo que valores acima de 20 a 25% contra indicam o uso deste material para inseminação artificial.

Bicudo (2000) afirma que patologias espermáticas podem ser detectadas mesmo antes da constatação de alterações na biometria testicular, podendo levar inclusive a subfertilidade e infertilidade desses animais.

Tremori *et al.* (2014), ao analisarem ejaculados obtidos por meio de vagina artificial, concluíram existir diferenças significativas nas análises morfométricas computadorizada não automatizada das células, ao empregar-se as técnicas de preparação úmida sob microscopia de contraste de fase e esfregaços corados por Karras avaliados sob microscopia óptica, ressaltando que a técnica empregada influencia diretamente nas mensurações obtidas.

Um sêmen de qualidade coletado por meio de vagina artificial deve apresentar movimento de massa superior ou igual a 3, motilidade espermática de pelo menos 80% e

vigor maior ou igual a 3, com um percentual de espermatozoides normais na ordem de 80% CBRA (2013).

## 2.4 TÉCNICAS CIRÚRGICAS DE ESTERILIZAÇÃO

Segundo Alves *et al.* (2007), a castração é o procedimento cirúrgico praticado em maior número em animais domésticos, envolvendo tanto animais de produção quanto os de companhia, seja por questões de manejo, acabamento de carcaças, método contraceptivo ou melhora de questões comportamentais envolvendo o animal e sua atividade fim, ressaltando a importância da observação por parte dos médicos veterinários dos aspectos fisiológicos e econômicos inerentes ao procedimento. Cita que apesar de existir legislação restringindo a prática aos médicos veterinários, observa-se ainda hoje grande parte das intervenções executadas por leigos, sobretudo em animais de produção, sem a observância de cuidados básicos relacionados à técnica cirúrgica meticulosa, cirurgia asséptica e principalmente ao controle da dor no trans e pós-operatório desses pacientes, fatores estes que acarretam um grande índice de complicações, levando o produtor a perdas econômicas substanciais e ferindo aspectos relacionados à ética e ao bem estar animal. Ressalta que no mundo todo existe uma crescente preocupação relativa ao estresse e à dor sentida por estes pacientes em decorrência do procedimento, sendo descritos inúmeros trabalhos comparando diferentes técnicas cirúrgicas, sua eficiência, complicações, custos e possibilidade de aplicação na rotina. Afirma que dosagens de cortisol sérico tem sido o método mais utilizado para mensurar o estresse e a dor trans e pós-cirúrgica. Enfatiza ainda as diferenças existentes na legislação vigente em cada país a respeito da proibição de determinados métodos, como o anel de borracha (CFMV Resolução nº 877/2008) e a obrigação do emprego ou não de fármacos anestésicos para a realização dos procedimentos, afirmando que diversos estudos revelam ainda a necessidade da administração de anti-inflamatórios e analgésicos como forma de controle eficaz da dor pós operatória deste pacientes.

Pereira *et al.* (1977) relataram haver inúmeras controvérsias relativas à castração de animais de produção, envolvendo desde a sua real necessidade, faixa etária ideal, melhor época do ano para sua realização, técnica cirúrgica mais apropriada e cuidados pós operatórios necessários, afirmando que muitos conceitos não apresentam respaldo científico, se baseando apenas em credences populares e observações por parte dos executores.

Silva *et al.* (2001) citam que a melhor técnica é aquela que acarreta um menor índice de complicações trans e pós operatórias, levando a menos estresse e dor ao animal, não comprometendo o ganho de peso e minimizando as perdas econômicas do produtor rural, lembrando que as condições da propriedade e a preferência do produtor devem ser consideradas no momento da escolha da técnica a ser implementada.

Um dos pontos mais controversos no que tange à castração de animais de produção é a idade mais adequada para realização deste procedimento. Alves *et al.* (2007) afirmam que a idade ideal é a que traz maiores benefícios de acordo com os objetivos desejados. Após revisar uma série de artigos a respeito do assunto em bovinos, concluíram que o ideal seria manter os animais inteiros até o abate, devido à maior conversão alimentar, maior desenvolvimento e maior taxa de ganho de peso observada, quando mantidos em pastos de boa qualidade, enfatizando que esses animais devem ser abatidos até os 24 meses, sob pena de apresentarem dificuldades de manejo e de depreciação no valor pago pelos frigoríficos em animais inteiros após essa idade.

Vaz *et al.* (2015) reportam que bovinos não castrados apresentam um melhor ganho de peso se comparados a animais castrados, no entanto lembra da dificuldade do manejo desses animais em lotes sobretudo quando confinados, além disso, afirma ser necessário um maior período para que animais não castrados alcancem acabamento de carcaça satisfatório.

Cabrera *et al.* (2004) concluíram que a castração de equinos antes da puberdade não comprometeu o desenvolvimento desses animais, quando comparados a animais inteiros aos vinte e quatro meses de idade.

Em relação a ovinos, diversos autores afirmam que a idade é o principal fator a interferir na qualidade da carne, sendo recomendado o abate desses animais entre quatro e cinco meses de idade, obtendo-se uma carne macia e com pouca gordura. Afirmam ainda que machos não castrados apresentam melhor ganho de peso e menor deposição de tecido adiposo, inexistindo a necessidade de castração em casos de abate precoce, ficando tal prática restrita a animais a serem abatidos mais tardiamente, com o único objetivo de facilitar o manejo dos mesmos (FIGUEIRÓ & BENEVIDES, 1990; OSÓRIO *et al.*, 1999)

Feijó *et al.* (2009), ao avaliarem a influência da castração sobre a qualidade da carne ovina, constataram não existir diferenças quali-quantitativas nas características avaliadas a partir de cortes do músculo *Longuissimus dorsi* proveniente de carneiros castrados cirurgicamente aos 14 meses e animais não-castrados, ambos abatidos aos 18 meses após terminação em regime de confinamento. Ressaltam ainda que os consumidores participantes da pesquisa não foram capazes de distinguir por meio de análise sensorial a carne dos dois grupos de animais.

Jardim *et al.* (2007) concluíram que a idade ao abate influencia diretamente a qualidade da carne ovina, recomendando o abate de ovinos aos 120 dias, não observando, no entanto, diferenças quantitativas e qualitativas significativas entre animais castrados com anel de borracha e não castrados, afirmando ser desnecessária a realização deste procedimento cirúrgico em animais criados exclusivamente a pasto.

Ribeiro *et al.* (2003) concluem em seus estudos que os diferentes métodos de castração de ovinos utilizados, como Burdizzo, anel de borracha e faca, não afetaram o desempenho dos animais criados em confinamento abatidos aos 30kg, não havendo diferenças entre os métodos empregados e salientando ainda não haver benefícios com a castração de animais a serem abatidos nessa faixa de peso, quando comparados a lote de ovinos mantidos inteiros, considerando esta prática desnecessária.

Em relação às técnicas cirúrgicas ditas cruentas empregadas na castração de animais de produção, podemos destacar a orquiectomia como sendo o procedimento mais frequentemente realizado. As variações básicas observadas dentro da técnica dizem respeito ao acesso cirúrgico instituído, abertura ou não da túnica vaginal visceral e ao método de hemostasia preventiva aplicado aos cordões espermáticos, outros fatores como posicionamento do animal para a cirurgia, antisepsia previa da região, protocolo anestésico, terapêutica pós-operatória e melhor estação do ano para realização do procedimento cirúrgico também são motivos de constantes debates (TURNER & MC ILWRAITH, 1985; LAZZERI, 1994; PADUA *et al.*, 2003; SILVA *et al.*, 2003; SILVA *et al.*, 2005; GARNERO & PERUSIA, 2006; ALVES *et al.*, 2007; SILVA *et al.*, 2009).

Apesar de ser a técnica cirúrgica mais comumente empregada para a castração de ruminantes, sob a justificativa de favorecer a drenagem pós-operatória, a exérese do ápice do escroto por meio de uma única incisão transversal, causa um maior trauma tecidual quanto



comparada à técnica de duas incisões laterais longitudinais, tal fato se deve basicamente à secção de um maior número de vasos e nervos, proporcionado maior índice de complicações caracterizadas por hemorragias e dores mais intensas. O uso de instrumentos de diérese não apropriados à prática cirúrgica produz maior trauma tecidual, com feridas de bordos irregulares, acarretando uma reação inflamatória mais intensa do organismo. Os autores recomendam sempre que possível à realização dos procedimentos com o animal em posição quadrupedal, mantendo a ferida cirúrgica longe do solo, além de antissepsia previa da região e uso de instrumental e fios estéreis, adotando como protocolo anestésico o emprego de anestésico local, por meio de bloqueio infiltrativo em linha no local da incisão e também no funículo espermático ou intratesticular, complementando o controle da dor com a administração de fármacos anti-inflamatórios não esteroidais e curativo local com spray repelente e cicatrizante. Apesar de todos esses cuidados reportam a ocorrência de frequentes complicações pós-operatórias como edemas, hemorragias, mÍiases, infecções, granulomas, funiculites, fístulas, abscessos, dor, perda de peso, gangrena gasosa, tétano e até morte de animais no período.

Padua *et al.*(2003); Silva *et al.* (2003); Alves *et al.* (2007) constataram um menor percentual de complicações pós operatórias e maior taxa de ganho de peso/ano nos animais operados em posição quadrupedal por meio de duas incisões laterais longitudinais, quando comparados aos operados em decúbito ou submetidos a exérese do ápice da bolsa escrotal.

Silva *et al.* (2005) avaliaram o comportamento da ferida cirúrgica em bovinos castrados por diferentes técnicas cirurgicas constatando que os animais submetidos a cirurgias em novembro apresentaram o dobro de complicações quando comparados ao operados no mês de maio, atribuindo-se tal fato ao maior índice de precipitação, as temperaturas mais elevadas e maior umidade relativa do ar observada em novembro.

Silva *et al.* (2005; 2009) afirmam não ter observado correlação entre a técnica cirúrgica empregada e o índice de complicações pós operatórias, deixando a critério do cirurgião a realização de duas incisões laterais longitudinais ou a remoção do ápice do escroto, recomendando porém que independente da técnica empregada a cirurgia seja realizada com o animal em posição quadrupedal pois tal fato proporcionou menos complicações pós operatórias quando comparada às realizadas em decúbito, além de ser inegavelmente mais prática, rápida e segura para a equipe e para o animal. Ressaltam que a infiltração de lidocaína 2% nas linhas de incisão e intratesticular contribuiu na execução dos procedimentos em todos os indivíduos.

Lazzeri (1994) diferenciou orquiectomia de castração, afirmando ser a primeira um procedimento técnico, enquanto a segunda um procedimento realizado de maneira empírica. Cita existir diferentes técnicas para realização da orquiectomia, destacando os métodos fechado, aberto e com emprego de Burdizzo. Recomenda o devido preparo do campo operatório com higienização com água e sabão, seguida de antissepsia. Reporta o uso de sedativos associados à anestesia local dos cordões espermáticos e contenção mecânica, operando os pacientes em decúbito. Proceda as ligaduras dos cordões espermáticos por meio de transfixação do mesmo com o uso de catgute cromado nº 4, desaconselhando o emprego de fios inabsorvíveis, alegando a ocorrência de complicações pós-operatórias. Em relação às feridas cirúrgicas, as mantém abertas para cicatrização por segunda intenção, procedendo limpeza diária e aplicação de antissépticos e repelentes. Cita a possibilidade do uso de emasculador de forma complementar à hemostasia preventiva.

Garnero & Perusia (2006) recomendam a castração de bovinos adultos pela técnica fechada, sem a abertura da túnica vaginal, alegando ser mais seguro para o animal por apresentar um menor risco de eventrações. Utilizam como acesso uma única incisão transversal no ápice do escroto, seguida de manobra de divulsão digital para exteriorização dos testículos e epidídimos, procedendo a hemostasia preventiva do cordão espermático por meio de ligadura por transeção com o emprego de fio de sutura.

Turner & Mc Ilwraith (1985) recomendam a castração de bezerros entre quatro a oito semanas de idade, afirmando que por razões econômicas e práticas o procedimento cirúrgico pode ser realizado a campo, sem maiores cuidados relacionados a assepsia e a anestesia. Realizam o acesso por meio de incisão transversal no ápice do escroto, procedendo a hemostasia dos cordões espermáticos com o uso de emasculador, recomendando que as mãos do cirurgião não toquem os tecidos que permanecerão no animal. Cita como complicações pós operatórias as hemorragias, infecções, celulites, edemas, sugerindo a vacinação previa dos animais para prevenção de carbúnculo sintomático.

Diferentes trabalhos publicados (LAZZERI, 1994; PADUA *et al.* 2003; ALVES *et al.*, 2007; PASCOAL *et al.* 2010) descrevem ainda que alguns profissionais têm optado por técnicas não cruentas como o esmagamento linear do cordão espermático com o emprego do Burdizzo, sob a justificativa da inexistência de ferida cirúrgica e hemorragias, no entanto os autores afirmam que o uso do Burdizzo não está isento de possíveis complicações como dor, perda de peso, granulomas, necrose tecidual, falhas na castração, inflamações e edemas exuberantes, toxemias e óbitos, sendo estas mais frequentemente observadas ao empregar-se aparelhos desgastados, sem manutenção preventiva, aplicados de forma errônea sobre os testículos ou epidídimos, sobretudo em animais mais velhos e de maior peso corporal. Em relação à castração com Burdizzo, recomenda o método apenas para animais jovens ou de menor porte como pequenos ruminantes, aconselhando o esmagamento dos cordões separadamente, repetindo-se o procedimento por pelo menos duas vezes. Apesar destes cuidados, Padua *et al.* (2003) relatam a necessidade de reintervenção em dez animais operados por meio de Burdizzo, devido a necrose na pele do escroto, formação de granulomas e miíases.

Pascoal *et al.* (2010) avaliaram o resultado de quatro grupos de bovinos, sendo um composto por animais não castrados e os demais castrados por diferentes técnicas cirúrgicas, como Burdizzo, remoção do ápice da bolsa escrotal e por meio de duas incisões laterais longitudinais no escroto, criados a pasto e abatidos aos 30 meses com peso médio de 400kg. Constata um menor peso de traseiro especial em animais castrados por incisão transversal do ápice do escroto, quando comparado aos demais grupos, sobretudo aos animais mantidos inteiros, atribuindo tal fato ao maior trauma produzido por este tipo de intervenção, que ocasionaria maior índice de complicações e consequente dano no desenvolvimento dos animais. Constataram maior peso de dianteiro no grupo dos não castrados em relação aos castrados cirurgicamente, atribuindo o achado ao dimorfismo sexual decorrente dos efeitos anabólicos da testosterona. Observaram maior receita na venda de cortes primários de animais não castrados em relação aos castrados, independente da técnica empregada, repetindo-se o resultado na maioria dos cortes secundários, resultando em maior receita final a animais não castrados.

Padua *et al.* (2003) avaliaram o ganho de peso de novilhos operados com o emprego do Burdizzo ou métodos cruentos, como as técnicas de duas incisões laterais longitudinais ou a remoção do ápice da bolsa escrotal, procedendo a ligadura do cordão espermático com fio de algodão nº000, seguida de hemasculação. Ao analisarem os resultados, os autores não

observaram influência das diferentes técnicas de castração no ganho de peso dos animais após 12 meses, constatando um melhor desempenho dos animais não castrados, atribuindo tal fato a ausência de estresse e dor nesses pacientes.

Em estudos envolvendo o emprego da abraçadeira de náilon como método de hemostasia preventiva em bovinos submetidos à orquiectomia por diferentes técnicas cirúrgicas, SILVA *et al.* (2005; 2009), constataram que o dispositivo apresentou-se como uma alternativa viável na castração de bovinos, apresentando baixo custo, baixa capilaridade, facilidade e rapidez no emprego, resistência a tração mesmo após esterilização em autoclave e eficiência na confecção de hemostasia preventiva, não sendo constatados casos de hemorragias nos animais operados.

Bellinazzi *et al.* (2013) avaliaram em seus estudos os efeitos do estresse em bovinos leiteiros submetidos a orquiectomia. Citam trabalho de GRANDIN (2010) no qual o autor descreve que animais de produção vivenciam com frequência situações de dor e estresse, provenientes de práticas rotineiras de manejo como vacinações, mochações, castrações, muitas das quais coincidem com períodos delicados como a desmama e que tais situações poderiam provocar mudanças na fisiologia que acarretariam alterações endócrinas e no sistema imunológico desses indivíduos favorecendo a ocorrência de doenças, sobretudo do sistema respiratório, levando a perdas no desenvolvimento, no ganho de peso, podendo culminar com o óbito desses animais. Reportam estudos de BROOM & MOLENTO (2004) que definem como bem estar animal a manutenção da saúde física e mental dos animais, sendo indispensável para tal o respeito à biologia de cada uma das espécies. Finalizando, concluem que a orquiectomia mesmo precedida da administração de fármacos anestésicos e analgésicos, possa ser considerada um fator de risco para infecções oportunistas do trato respiratório, devido a alterações imunológicas provocadas no organismo e consequente redução da resposta imune sistêmica e pulmonar.

Em relação à castração de equinos, SILVA *et al.* (2006); ALVES *et al.* (2007); BUSK *et al.* (2010); FINGER *et al.* (2011); DI FILIPPO *et al.* (2014) afirmam ser um procedimento corriqueiro nesta espécie, com o objetivo principal de facilitar o manejo e adequar o animal ao trabalho, além é claro de contribuir na seleção genética desses animais. Não observam porém, a execução da cirurgia por leigos, atribuindo tal fato ao maior índice de complicações quando comparado a prática em ruminantes, necessidade de protocolo anestésico mais elaborado, elevado valor zootécnico dos animais e maior percentual criptorquida nesta espécie. Afirmam que as complicações podem ocorrer tanto no trans, como também no pós-operatório imediato e até dias, meses ou anos após a intervenção, afirmando que quebra de técnica cirúrgica, manuseio excessivo dos tecidos, método de hemostasia, tipo de material de sutura empregado, escolha da técnica cirúrgica, cuidados com o paciente e terapêutica instituídos no pós-operatório, contribuem diretamente no grau de complicações. Destacam como principais complicações as hemorragias severas, edemas, hidroceles, inflamações, infecções, funiculites, persistência de comportamento de garanhão, peritonites, hérnias inguinoescrotais, eviscerações, tétano e óbitos. Citam a possibilidade de realização de hemostasia definitiva por meio de ligaduras do cordão espermático com fios de sutura, abraçadeira de náilon ou com o emprego de hemasculador diretamente sobre as estruturas vasculares a serem seccionadas.

Silva *et al.* (2006) compararam o emprego de três diferentes métodos de hemostasia preventiva na orquiectomia de equinos, utilizando abraçadeira de náilon autoclavada, fio catagute simples nº 2 e emasculador tipo “Reimer” previamente esterilizado, avaliando o tempo cirúrgico, custo final do procedimento, complicações e alterações nos valores de hematócrito, leucometria global e de fibrinogênio. Segundo os autores a abraçadeira de náilon

demonstrou ser um método eficiente, rápido, de fácil aplicação e seguro, não sendo observadas hemorragias trans ou pós-operatórias, funiculites, granulomas ou abscessos após seu emprego. No grupo do categute simples nº 2 ocorreu a ruptura do fio durante a confecção do nó em alguns pacientes, sendo necessária a utilização de um novo fio e confecção de outro nó, fatos que levaram a um aumento do tempo cirúrgico, custo do procedimento e da permanência de maior quantidade de corpo estranho nos tecidos. Citam um caso de óbito decorrente de hemorragia atribuído à falha na hemostasia do cordão espermático ao empregar-se o emasculador, sendo que neste grupo os autores constataram edema mais pronunciado do que nos animais pertencentes aos demais grupos estudados, além de diferença significativa para os valores de fibrinogênio e leucometria global, se mostrando superiores aos de animais castrados com a abraçadeira de náilon ou com categute.

Di Filippo *et al.* (2014) buscaram quantificar a resposta inflamatória de equinos submetidos a orquiectomia, mediante a mensuração das proteínas de fase aguda presentes no sangue e no líquido peritoneal e a correlação desses valores com possíveis complicações pós operatórias, lembrando que nem sempre os sinais clássicos da inflamação se manifestam clinicamente, sendo necessário o desenvolvimento de novos meios de diagnóstico para que estas alterações possam ser avaliadas.. Destaca que a ocorrência de peritonites pós castração deva-se ao fato da túnica vaginal ser um prolongamento do peritônio, comunicando as estruturas presentes no escroto à cavidade abdominal através do canal inguinal. Realiza a orquiectomia de dez equinos em ambiente cirúrgico, ressaltando a não ocorrência de complicações no pós operatório dos pacientes em questão. Conclui após análise dos resultados que tanto as alterações séricas quanto as presentes no líquido peritoneal se devem ao severo trauma cirúrgico ocasionado na orquiectomia, e que a mensuração de proteínas de fase aguda, sobretudo no líquido peritoneal, são de fundamental importância no diagnóstico, na quantificação e no acompanhamento da evolução da resposta inflamatória em equinos submetidos à orquiectomia.

Finger *et al.* (2011) compararam o uso do emasculador tipo *Reimer* e a abraçadeira de náilon como métodos de hemostasia preventiva na orquiectomia de equinos realizadas por alunos de graduação. Dentro dos resultados observados os autores reportam um maior grau de sangramento, com hemorragias mais severas e duradouras no grupo de animais submetidos à castração por emasculador. Não constataram diferença significativa entre os grupos estudados em relação ao tempo cirúrgico, presença de edema, secreção purulenta, claudicação e tempo necessário para cicatrização completa da ferida cirúrgica, concluindo que ambas as técnicas são viáveis e de fácil execução na prática docente, destacando uma maior facilidade de aplicação quando comparada ao emprego de fios e nós cirúrgicos.

Busk *et al.* (2010) relatam que a castração de equinos por meio de emasculador proporciona uma maior resposta inflamatória aguda do organismo, se comparada a castração cirúrgica por meio de duas incisões com bisturi, ligadura do funículo com fio de sutura e cicatrização da ferida por segunda intenção, atribuindo tal fato ao esmagamento exercido pelo aparelho no cordão espermático ao invés da secção do mesmo.

Além da orquiectomia, outros procedimentos cirúrgicos visando à esterilização de machos, mas que buscam a preservação dos testículos são descritos na literatura, baseando-se normalmente na interrupção do trânsito dos espermatozoides pela rede de ductos que ligam a cauda do epidídimo a uretra. Dentre os mais praticados podemos destacar a vasectomia e a ressecção parcial da cauda do epidídimo (epididimectomia), lembrando que estes procedimentos levam apenas a esterilização do animal, sem interferir em características comportamentais relacionadas à produção de andrógenos por parte dos testículos.

Rosenberg (1956) descreve a técnica de ressecção parcial da cauda do epidídimo em bovinos destacando a eficiência, a simplicidade e a rapidez na execução do procedimento, atribuindo tais características na possibilidade de operação dos animais em estação e na manutenção da ferida aberta, sem a necessidade de suturas, garantindo ser impossível a recanalização espontânea do ducto epididimário, atribuindo o insucesso relatado por alguns profissionais a falhas na execução da técnica.

Rensburg *et. al.* (1963) compararam os efeitos da esterilização cirúrgica de ovinos e caprinos por meio de duas técnicas distintas, vasectomia e ressecção parcial da cauda do epidídimo, afirmam ter observado em todos os casos de epididimectomia o extravasamento de sêmen no momento da ressecção, além de contaminação grosseira da ferida cirúrgica por material fecal e demais sujidades durante o decúbito, o que proporcionou a ocorrência de piorrites, não observando complicações trans ou pós-operatórias relativas nos pacientes submetidos à vasectomia segundo técnica descrita por Webster (1954). Constataram azoospermia no transcorrer das primeiras duas semanas após as cirurgias, sendo observados casos de necropermia em alguns animais vasectomizados e grande reserva espermática nos indivíduos submetidos à ressecção parcial da cauda do epidídimo, com a ausência de espermatozoides viáveis no sêmen avaliado. Citam 67% de falha de técnica nos animais submetidos à epididimectomia avaliados após 14 a 18 meses, com recanalização espontânea dos ductos, constatando durante a palpação da cauda do epidídimo que as estruturas se apresentavam com dimensões e aspecto dentro da normalidade, enquanto nos animais que se mantiveram estéreis foi possível detectar durante a palpação da região um grande aumento de volume e alteração da textura do órgão, com a substituição por um tecido firme, sendo detectado ao corte espermatocel de três a quatro centímetros de diâmetro, circunscrita por tecido epididimário e com a presença de aderências da túnica vaginal parietal. Nenhuma alteração morfológica foi constatada nos animais vasectomizados. Os autores citam ter encontrado pequenas quantidades de espermatozoides no ejaculado ou no ducto deferente, mesmo após 6 a 18 meses de cirurgias bem sucedidas, ressaltando que estes espermatozoides encontravam-se mortos e atribuindo sua presença a reservas residuais existentes no ducto deferente na ocasião da cirurgia.

Turner & Mc Ilwraith (1985) descrevem a epididimectomia caudal como opção de esterilização cirúrgica, podendo ser utilizada para o preparo de rufiões, recomendando sua associação a técnicas que impeçam a cópula. Realizam a cirurgia com o animal em estação, sob anestesia local do escroto e da cauda do epidídimo. Incisam a pele sobre a região da cauda do epidídimo, procedendo a dissecação da estrutura, pinçamento e ligadura do ducto deferente com fio inabsorvível, realizando a ráfia plano a plano com fio inabsorvível. Recomendam o repouso sexual do animal por 10 dias antes do retorno as atividades.

Buckrell (1987) cita o emprego das técnicas de vasectomia e epididimectomia no preparo de rufiões ovinos, utilizando-se de animais de alta libido e de raças com baixa sazonalidade, ressaltando a importância de um controle sanitário eficiente de todo o plantel, a fim de se evitar a propagação de doenças infecto contagiosas sexualmente transmissíveis. Afirma que o efeito macho colabora de forma positiva na melhora da eficiência reprodutiva do rebanho.

Lazzeri (1994) cita a vasectomia como forma de esterilização de machos, destacando a simplicidade, facilidade de execução da técnica e baixo índice de complicações, aconselhando o emprego da técnica em questão para o preparo de rufiões.

Dupas *et al.* (1987) compararam diferentes métodos de esterilização em ovinos, sendo um lote submetido a castração com elástico, outro por meio de castração química realizado por meio de aplicação de 1mL de solução de aldeído fórmico a 40% associado a 0,010g de  $\text{CdCl}_2/\text{cm}^3$  injetados diretamente no parênquima testicular em seu eixo longitudinal, mantendo um terceiro grupo com animais não castrados, como testemunha. A análise dos resultados revelou discreta alteração da temperatura retal nos animais castrados quimicamente nos primeiros dias após o procedimento, voltando a normotermia após o quinto dia, segundo os autores tal fato se deve a resposta inflamatória do organismo frente à destruição tecidual pelo agente químico. Ambos os grupos submetidos à castração apresentaram discreta anemia quando comparados aos animais não castrados, sendo estas mais intensas nos indivíduos submetidos à técnica da ligadura com elástico, enquanto os valores do leucograma apresentaram alterações maiores nos castrados quimicamente. Não foi constatada a ocorrência de miíase em nenhum dos animais do estudo. Diante dos resultados os autores concluem eficiência similar entre as técnicas, destacando que o método de castração química causou um menor trauma aos animais.

Oliveira *et al.* (2009) descrevem a ocorrência de quatro óbitos após a castração de onze borregos mestiços Santa Inês, por meio da técnica de anel de borracha, com aparecimento dos sintomas cerca de dez dias após o procedimento cirúrgico, evoluindo para o óbito em poucos dias. Constataram a presença de lesões necróticas na pele da bolsa escrotal logo abaixo da ligadura com o anel de borracha. Após necropsia e avaliação histopatológica, foi confirmado o diagnóstico de tétano. Diante dos achados os autores recomendam boas práticas de higiene, antisepsia adequada e desinfecção ou esterilização do instrumental a ser utilizado no transcorrer das cirurgias, além da vacinação de animais de alto valor zootécnico e da manutenção do lote de animais operados em uma área limpa, livre de material fecal até a completa cicatrização da ferida. Afirmam ainda que a castração com anel de borracha causa dor e desconforto nos animais, desaconselhando o emprego desta técnica.

Almeida *et al.* (2012) comunicam a ocorrência de onze casos de tétano, sendo oito em ovinos e três em caprinos, constatando uma maior prevalência dos casos nos meses de inverno, atribuindo tal fato ao confinamento dos animais nesta época do ano devido as baixas temperaturas, lembrando que tal prática favorece traumatismos e expõe os animais a um maior contato com matéria orgânica depositada nas baias, reportando que os indivíduos acometidos apresentavam históricos ou ferimentos provenientes de práticas de manejo ou cirurgias realizados previamente ao aparecimento da sintomatologia clássica da doença. Observa taxa de mortalidade de 100%, apesar de toda a terapêutica e cuidados instituídos, concluindo ser fundamental a implementação de boas práticas de manejo e cuidados relativos à técnica cirúrgica asséptica.

Kent *et al.* (2000) avaliaram os efeitos de métodos para redução da dor na progressão de lesões inflamatórias crônicas e alterações de comportamento em borregos submetidos a castração e caudectomia por meio de anel de borracha aos dois dias de vida. Os autores não constataram diferenças entre os grupos estudados para o ganho de peso diário. Observaram que todos os animais desenvolveram lesões inflamatórias de pequenas dimensões na base da cauda e no colo do escroto, próximas ao local de implantação dos anéis de borracha, sem variações dos graus de lesão, sendo observada a presença de secreção purulenta nas lesões do escroto em apenas 35% dos casos, atribuindo tal fato a contaminação da ferida por matéria orgânica presente na cama e pela lambedura, sugerindo que o emprego de fármacos anestésicos locais possam ser benéficos para a recuperação do animal, mesmo nos operados recém natos.

Howe (2006), em artigo de revisão a respeito de diferentes técnicas cirúrgicas empregadas na esterilização de caninos e felinos, cita a orquiectomia e a vasectomia como as duas mais comumente empregadas na rotina, apesar dos crescentes estudos e do desenvolvimento de métodos alternativos de esterilização como por exemplo, a castração química. Destaca a importância da cirurgia asséptica e técnica meticulosa, lembrando que a inobservância desses fatores costuma acarretar um grande número de complicações pós-operatórias. Reporta que mesmo em condições ideais, tem sido observada com certa frequência a ocorrência de edemas, hematomas, infecções, inflamações, fistulas e principalmente hemorragias de variados graus, que muitas das vezes se não corrigidas, podem levar a morte do paciente. Lembra que a vasectomia leva apenas a azoospermia, não interferindo no comportamento do animal, sendo que tal fato pode ser considerado positivo como na manutenção de machos alfa em colônias de gatos ferais. Reporta a azoospermia em cães passados 2 a 21 dias do procedimento, enquanto em gatos a ausência de espermatozoides costuma ser observada após 49 dias da realização da cirurgia. Cita ainda a possibilidade da execução da vasectomia por via laparoscópica, relatando azoospermia logo no primeiro dia de pós-operatório.

## 2.5 MÉTODOS ALTERNATIVOS DE ESTERILIZAÇÃO

Kutzeler & Wood (2006) demonstram sua grande preocupação com reprodução indiscriminada de cães e gatos domésticos e ferais, afirmando ser um problema de saúde pública e também importante do ponto de vista ambiental, tendo em vista que esses animais, especialmente gatos ferais matam cerca de 100 milhões de pássaros e pequenos mamíferos por ano. Estimam que apenas nos Estados Unidos da América cerca de 10 milhões de cães e gatos sejam abandonados nos abrigos todos os anos, sendo que destes, metade é submetido a eutanásia anualmente. Citam que ainda hoje a esterilização cirúrgica é o procedimento mais amplamente utilizado como método contraceptivo destes animais, no entanto reportam que boa parte da população se mostra contrária à prática, alegando sentir pena, julgar o procedimento desnecessário, caro e que traz alterações comportamentais aos animais. Em relação a cães e gatos de vida livre, as técnicas cirúrgicas tradicionais apresentam custo elevado e demandam muito tempo para serem empregadas em uma grande quantidade de animais. Sugerem como alternativas a implementação de novos métodos de esterilização temporária ou definitiva, como a utilização de hormônios sintéticos, imunoesterilização, agentes químicos empregados diretamente nos testículos, epidídimos ou ductos deferentes, aplicação substâncias espermicidas na vagina de cadelas, implantação de dispositivos intrauterinos e supressão da espermatogênese por meio do uso de ultrassom. Reportam uma série de efeitos colaterais indesejáveis atribuídos ao uso de hormônios, como piometra, neoplasias mamárias, diabetes, distúrbios cutâneos, letargia, ganho de peso, agressividade, entre outros. Em relação à castração química, mencionam trabalhos científicos com o emprego de diversos agentes esclerosantes como Bacillus Calmette Guerin (BCG), glicerol 70%, formalina 3,5%, gluconato de clorexidine 1,5%, dimetilsulfóxido (DMSO), destacando o uso do gluconato de zinco por via intratesticular, por ser um produto não mutagênico, não carcinogênico e que não ocasiona alterações teratogênicas, afirmando ser necessária sedação para a realização do procedimento em cães e anestesia geral no caso de gatos, sendo possível a execução do método a partir dos três meses de idade. Enfatizam que a castração química não leva à esterilização imediata dos machos, devendo os mesmos ficar apartados das fêmeas por um período médio de 90 dias. Concluem que apesar dos métodos cirúrgicos de esterilização de cães e gatos ainda serem os mais executados, novas técnicas encontram-se disponíveis e

devem ser aplicadas na tentativa de conter o crescimento exponencial da população de animais de companhia.

Lopes & Silva (2014) conduziram estudos de revisão dos diferentes métodos de castração química em mamíferos do sexo masculino, afirmando ser um procedimento menos invasivo, de fácil execução, menor custo, seguro, com baixos índices de complicações pós-operatórias, e que causa um menor desconforto para os pacientes quando comparado aos métodos cirúrgicos clássicos como a orquiectomia bilateral e a vasectomia, proporcionando a redução total ou parcial da produção de espermatozoides, devido a alterações reversíveis ou irreversíveis causadas principalmente no parênquima testicular. Dentre os diferentes métodos de castração não cirúrgica destacam a terapia hormonal, a imunoesterilização e a esterilização química, reportando a existência de diversos estudos envolvendo o emprego de diferentes substâncias nas mais variadas espécies como por exemplo, em cães, gatos, bovinos, ovinos, caprinos, ursos, macacos e inclusive no homem. Explicam que as técnicas de terapia hormonal normalmente tem por objetivo a queda na qualidade do sêmen levando a infertilidade e supressão da libido, podendo ser utilizado para estes fins progestágenos sintéticos, andrógenos como a testosterona ou substâncias agonistas de hormônio liberador de gonadotrofinas, lembrando que estas substâncias podem acarretar efeitos colaterais graves como supressão adrenocortical, desenvolvimento de neoplasias malignas, disfunções hepáticas, obesidade, distúrbios de comportamento, entre outros. Reportam que a imunoesterilização age por meio da produção de resposta imunológica a elementos considerados fundamentais a espermatogênese, como por exemplo a síntese de anticorpos contra GnRH ou o LH. Em relação à castração química descrevem a técnica como um método irreversível, realizado por meio de injeções de diferentes substâncias aplicadas normalmente por via intratesticular, gerando processo inflamatório no órgão, seguido de fibrose e danos às estruturas do parênquima testicular, epidídimos ou ductos deferentes, levando a redução ou cessão na secreção de andrógenos, assim como na espermatogênese, culminando com um quadro de azoospermia. Citam estudos com as mais variadas substâncias como solução salina a 20%, glicerol, cloreto de cálcio, formalina 10%, formaldeído 40%, entre outros, destacando o desenvolvimento e comercialização pela indústria farmacêutica mundial de vários medicamentos à base de gluconato de zinco, em concentrações e veículos variados, com recomendação de bula para utilização em diferentes espécies animais.

Oliveira *et al* (2012) realizaram revisão de literatura a respeito de métodos cirúrgicos e não cirúrgicos empregados como contraceptivos em cães do sexo masculino. Afirmam que apesar dos métodos cirúrgicos como a orquiectomia e a vasectomia ainda serem os mais utilizados, muitos proprietários se mostram apreensivos e até contrários a estas técnicas devido principalmente ao custo final do procedimento, riscos anestésicos, cirúrgicos e complicações pós-operatórias, além do aspecto mutilador no caso da orquiectomia. Citam que a crescente preocupação com doenças de potencial zoonótico, com a saúde pública e sobretudo com o bem estar animal, impulsionaram vários estudos buscando o desenvolvimento de novos métodos contraceptivos para machos domésticos que sejam eficientes, de fácil execução, pouco invasivos, de baixo custo e que cause poucas complicações pós operatórias, especialmente as relacionadas à dor e estresse dos animais. Reportam falhas na esterilização e uma série de complicações decorrentes de métodos de terapia hormonal, especialmente os que utilizam progestágenos e andrógenos, citando que agonistas de GnRH são considerados métodos reversíveis que levam a queda na qualidade do sêmen durante o período de tratamento, havendo o retorno a produção normal de gametas passados 250 dias de interrupção do tratamento. A respeito da imunoesterilização, afirmam ser difícil o processo em machos devido a imensa quantidade de espermatozoides produzidos



diariamente, o que acarretaria um grande percentual de falhas. Citam diversos trabalhos nos quais os autores relatam terem observado necropermia ou azoospermia cerca de 60 dias após a administração intratesticular de solução de gluconato de zinco. Concluindo ser uma técnica eficiente, rápida, segura, de baixo custo, além de menos invasiva e com menor índice de complicações se comparada às técnicas cirúrgicas rotineiramente empregadas.

Dentre os métodos de esterilização química utilizados atualmente, destaca-se o uso de gluconato de zinco como agente esclerosante, havendo inclusive apresentação comercial do produto produzido por diferentes laboratórios, com licença de venda em vários países e indicação de bula para uso em espécies variadas. A maior parte dos estudos reporta a aplicação do produto por via intratesticular (TEPSUMETHANON & HEMACHUDHA, 2005; SOTO *et al.*, 2009; SOTO *et al.*, 2011; OLIVEIRA *et al.*, 2011; OLIVEIRA *et al.*, 2012; ROSSETO *et al.*, 2012; SOTO *et al.*, 2014), sendo que alguns autores têm optado pela administração na região da cauda do epidídimo (FAHIM *et al.*, 1993). Descrevem como mecanismo de ação, reação inflamatória exacerbada, semelhante à orquite autoimune, atribuída à quebra da barreira hematotesticular, levando a lesão tecidual com consequente falha na espermatogênese e produção de testosterona, além de processos de oclusão fibrosa dos ductos epididimários e deferentes.

Tepsumethanon & Hemachudha (2005) constataram nos estudos histopatológicos de peças provenientes de cães submetidos a castração química com administração de gluconato de zinco intratesticular, a completa fibrose dos túbulos seminíferos e das células de Leydig, passados 75 dias da intervenção, levando a azoospermia dos indivíduos.

Oliveira *et al.* (2011) citam diversos trabalhos que descrevem a utilização de diferentes agentes esclerosantes em caninos e felinos, como o glicerol, cloreto de cálcio, ácido láctico, clorexidine, dimetil-sulfóxido, tanato de zinco e gluconato de zinco, injetados nos testículos, epidídimos e ducto deferentes destes animais, lembrando que muitas das substâncias estudadas não foram eficientes em proporcionar um quadro de azoospermia e ainda trouxeram complicações como irritações e até ulcerações no escroto dos animais tratados. Afirmam que o agente esclerosante ideal é aquele considerado eficaz na promoção de esterilização irreversível em um grande percentual dos animais tratados após uma única aplicação, não acarretando danos a estes indivíduos, nem tão pouco ao meio ambiente, destacando o gluconato de zinco a primeira substância a apresentar tais características. Lembram que o zinco é um mineral presente no plasma seminal e em tecidos do aparelho reprodutor masculino, apresentando um pH neutro e sendo considerado fundamental na manutenção do sistema imune local por participar como fator estimulante de diversas enzimas responsáveis pela mitose das células, possuindo ainda participação na ação de macrófagos, leucócitos, células T e células natural *Killer*. Os autores citam que uma das teorias a respeito do mecanismo de ação do gluconato de zinco seria que altas concentrações desta substância causariam um processo análogo a uma orquite autoimune, com aumento de leucócitos polimorfonucleares, linfócitos e macrófagos, e consequente lesão do epitélio germinativo, afetando de tal forma a espermatogênese que acarretaria um quadro de azoospermia e consequente esterilização dos indivíduos submetidos ao tratamento, e que o processo de fibrose contribuiria de maneira indireta impossibilitando a migração dos espermatozoides dos túbulos seminíferos para o epidídimo. Afirmam ainda haver controvérsias quanto à redução ou não de níveis séricos de testosterona. Reportam a existência de estudos utilizando apresentações comerciais distintas à base de gluconato de zinco, nos quais há relatos de desconforto e resposta nocieptiva por parte dos paciente durante e logo após a administração do fármaco, e que em virtude do exposto estes estudos recomendam o uso prévio de substâncias analgésicas, anti inflamatórias e tranquilizantes como a dipirona, o meloxicam e a

acepromazina, respectivamente, sendo que outros autores levantaram a hipótese desses fármacos, especialmente os de ação anti inflamatória, atuarem na modulação da resposta do organismo provocada pelo gluconato de zinco e que tal fato poderia acarretar falha no processo de castração química com o emprego desta substância. Concluem ao final dos trabalhos que a castração química em caninos e felinos por meio da administração de solução de gluconato de zinco por via intratesticular se mostrou eficiente até o momento, com resultados promissores, tendo como principais vantagens ser menos invasiva, de fácil execução e com poucas complicações para os pacientes.

Soto *et al.* (2009) reportam falhas no emprego de medicamento à base de gluconato de zinco aplicado por via intratesticular em cães adultos jovens, afirmando não ter sido observado azoospermia mesmo após um período de 12 meses nos animais estudados, apesar de ser constatada diminuição na motilidade e na concentração espermática dos mesmos. Os achados histopatológicos revelam presença de degeneração testicular, redução no número de células da linhagem germinativa, ruptura dos túbulos seminíferos e perda da arquitetura das células de Sertoli.

Rosseto *et al.* (2012) mensuraram a dor e a resposta inflamatória em cães submetidos a esterilização química por meio de injeção intratesticular de gluconato de zinco, sob diferentes protocolos analgésicos, mantendo como controle um grupo no qual procederam a orquiectomia convencional. Dentre os fármacos analgésicos utilizados, citam a dipirona, tramadol e o meloxicam, todos administrados por via intramuscular, antes do estímulo doloroso, em doses padrão descritas na literatura. Avaliaram parâmetros como frequência cardíaca, frequência respiratória, cortisol sérico, glicemia, interleucinas plasmáticas, temperatura retal e dos testículos, além de diâmetro testicular e emprego de escala de dor. Reportam não terem sido observadas alterações significativas nos parâmetros avaliados, afirmando que o método de esterilização química com o emprego de gluconato de zinco intratesticular precedido da administração de fármacos analgésicos, não causou dor significativa, tendo reação inflamatória compatível com a oriunda da orquiectomia.

Soto *et al.* (2011) realizaram campanha de castração de caninos machos por meio de aplicação de medicamento à base de gluconato de zinco por via intratesticular, procedendo inquérito investigativo a respeito do grau de satisfação dos tutores com os resultados observados com o método de castração química empregado. Relatam que 95,65% dos tutores consideraram o método bom ou excelente, e destacaram ainda a praticidade, a rapidez, a segurança e o baixo custo da técnica, o que possibilitou a realização do procedimento em um grande número de animais em curto intervalo de tempo, com intervenções a campo, sem a necessidade de anestesia geral, internação ou cuidados pós operatórios. Afirmam ainda que a manutenção dos testículos está de acordo com os recentes conceitos de bem estar animal e que tal fato foi muito bem visto pelos proprietários, muitos dos quais eram avessos a cirurgias convencionais por as considerarem mutiladoras.

Fahim *et al.* (1993) realizam a castração química de cães adultos por meio de aplicação de gluconato de zinco na região da cauda do epidídimo, constatando azoospermia após 90 dias da intervenção, após 12 meses observam à microscopia de luz atrofia dos túbulos seminíferos da *rete testis* e ausência de espermatozoides nos ductos epididimários e deferentes, com presença de tecido cicatricial e alteração na arquitetura da cabeça e corpo do epidídimo, não sendo notada formação de granulomas espermáticos. Não constataram alterações nos níveis séricos de testosterona no período do estudo.

Pineda *et al.* (1977) procederam aplicação de solução salina na cauda do epidídimo, atestando que tal prática não proporcionou azoospermia em cães.

Soto *et al.* (2014) avaliaram a castração química de saguis do nordeste (*Callithrix jachus*) por meio de injeções intratesticulares de medicamento comercial (Infertile) à base de gluconato de zinco. Os autores relatam leve prostação por parte dos pacientes nas primeiras 72 horas após a castração química, sem outras alterações dignas de nota. A avaliação macroscópica dos órgãos não evidenciou quaisquer alterações, exceto a presença de pontos de aderência entre as túnicas nos testículos de um dos animais avaliados. Os achados histopatológicos das peças obtidas após 120 dias evidenciaram danos severos ao parênquima testicular em todos os órgãos analisados, como vacuolização do epitélio dos túbulos seminíferos com desprendimento das células germinativas, atrofia tubular, redução do tecido intersticial, sendo estes compatíveis com alterações encontradas em pacientes com quadro de infertilidade, sugerindo a esterilização dos animais estudados. Os autores não mencionaram análise do sêmen e dosagens de testosterona sérica em seus estudos.

Carvalho *et al.* (2001) reportaram a implementação de castração química em um lote de bubalinos mestiços, por meio da administração intratesticular de solução de aldeído fórmico a 40% e cloreto de Cadmo  $0,005\text{g}/\text{cm}^3$ , diluídos em óleo de girassol, sendo aplicado em cada um dos testículos cerca de  $1,0\text{ml}/100\text{kg}$  de peso vivo. Descrevem a realização de higienização do escroto seguida de antissepsia com substância iodada e emprego de pistola automática acoplada em agulha fina para administração da solução na região central de cada um dos testículos. Citam aumento de volume do escroto em fase inicial seguida de alteração da consistência dos testículos a palpação, assumindo estes uma textura firme, indicando processo de fibrose e conseqüente perda da capacidade de produção de espermatozoides viáveis. Ressaltam que os animais submetidos à castração química apresentaram melhor taxa de ganho de peso/dia quando comparados ao grupo controle composto por animais não castrados, concluindo ser a técnica em questão eficiente, de fácil execução, baixo custo, isenta de complicações pós-operatória e favorecendo a docilidade dos jovens machos, permitindo a formação de lotes de animais compostos por machos e fêmeas, fato esse que traz facilidades ao manejo extensivo de grandes rebanhos.

Roberts *et al.* (2002) reportam a esterilização de cães e gatos por meio de supressão da espermatogênese com o uso de ultrassom de alta intensidade, afirmando não haver alterações na produção de testosterona. Como protocolo experimental citam a aplicação de um a três ciclos de  $1-2\text{ W}/\text{cm}^2$  por 10-15 minutos, repetindo o procedimento num intervalo de 2 a 7 dias. Descrevem outro protocolo no qual aplicam ultrassom por 20 a 120 segundos, com potencia de 3 a 19W, diretamente na região do ducto deferente ou cauda do epidídimo de cães, tendo constatado necrose de coagulação induzida pelo calor, resultando na oclusão dos ductos e azoospermia após duas semanas da intervenção. Reportam queimaduras na pele de 20% dos pacientes.

Kumar & Raj (2012) descreveram com detalhes a esterilização de 208 macacos reshus (*Macaca mulatta*) com o emprego da técnica desenvolvida por Li Shunqiangin em 1974 na China, denominada “No-scalped vasectomy”. Como via de acesso reportam uma única abertura de 5mm realizada por meio de eletrocautério sobre a rafe da região pré escrotal. Utilizam-se de pinças vasculares atraumáticas para apreensão do cordão espermático, procedendo a abertura da túnica vaginal visceral por dissecção romba, seguida da separação do ducto deferente das demais estruturas do funículo espermático, realizando a secção de um segmento de 3 cm do ducto deferente, utilizando-se do eletrocautério para promover a oclusão das duas extremidades do mesmo. Concluem que a técnica em questão se mostrou eficiente e

segura para os pacientes, destacando a simplicidade, rapidez na execução (5.09 +- 0.22 min), baixo índice de complicações trans e pós operatórias, reportando apenas três casos de pequena hemorragia durante a apreensão e exposição do cordão espermático, não tendo sido observados edemas, inflamações, infecções, sangramentos pós operatórios, nem sinais de estresse, desconforto ou dor nos pacientes, com todos voltando a ingerir água e alimento logo após o despertar anestésico, sendo os mesmo liberados para retorno as suas atividades rotineiras após cinco dias de acompanhamento, apresentando nesta ocasião perfeita cicatrização da ferida cirúrgica.

Tamadon *et al.* (2010) desenvolveram procedimento cirúrgico minimamente invasivo inédito para o preparo de rufiões ovinos, baseado na ligadura percutânea da cauda do epidídimo com sutura de Wolf e fio absorvível sintético monofilamentar (Polidioxanona nº1). Dentre os exames executados no pré e pós-operatório, citam a pesagem dos animais, avaliação clínica, com especial atenção aos órgãos do aparelho reprodutor masculino, mensuração da circunferência escrotal, exame ultrassonográfico dos testículos e epidídimos por meio de transdutor linear de 5MHZ, dosagem de testosterona sérica, análise do sêmen e teste de libido dos animais frente a fêmeas com cio induzido, reportando ainda a orquiectomia dos animais por técnica fechada passados 30 dias da intervenção para análise macroscópica e microscópica das amostras fixadas em solução de formol tamponado e coradas por hematoxilina e eosina. As amostras de sêmen foram coletadas por meio de eletroejaculador, a cada sete dias durante um período de seis semanas, sendo a primeira coleta realizada duas semana antes do procedimento cirúrgico, realizando ainda a dosagem de Aspartato Aminotransferase e Fosfatase Alcalina a partir de amostras do plasma seminal. Segundo os autores o tempo cirúrgico total necessário para execução da técnica foi de 3 a 4 minutos. Destaca a importância da cirurgia asséptica como forma de evitar infecções no sítio cirúrgico, relatando como única complicação pós operatória, discreta inflamação nos três primeiros dias após o procedimento, afirmando não ter ocorrido hemorragias, infecções e mifases ao longo dos 30 dias de observação. Durante o exame andrológico notaram discreta relutância dos animais durante a palpação dos testículos, sem observar alterações nas mensurações da circunferência escrotal, reportando apenas discreta perda na mobilidade dos testículos. A análise do sêmen revelou a ausência de motilidade espermática e necrospemia após três semanas da intervenção cirúrgica, também não foram notadas alterações significativas nos valores de testosterona sérica e no teste de libido dos animais, enquanto a análise do plasma seminal demonstrou redução significativa dos valores de Aspartato Aminotrasnferase e manutenção dos valores de Fostatase Alcalina após a ligadura da cauda do epidídimo. A avaliação macroscópica das peças cirúrgicas detectou a existência de aderências entre os folhetos vaginal e parietal das túnicas vaginais e pequenos pontos hemorrágicos, ambos no local da sutura. A microscopia de luz não foram detectadas alterações nos túbulos seminíferos, com manutenção da espermatogênese, destacando a existência de pontos hemorrágicos e a presença de leucócitos no tecido intersticial. Observaram a ocorrência de necrose e debris celulares no epidídimo próximo ao local da ligadura, enquanto na região distal a ligadura constataram a ausência de espermatozoides no interior dos túbulos epididimários, com a manutenção da arquitetura da parede do mesmo, sem sinais de inflamação, necrose e degeneração. Diante dos resultados obtidos os autores consideraram a técnica proposta eficiente, de fácil execução, atribuindo a dispensa de cuidados pós-operatórios e o baixo índice de complicações a inexistência de ferida cirúrgica, por se tratar de uma técnica minimamente invasiva.

## 2.6 CRIOCIRURGIA

Farris & Vestre (1982) relatam os bastidores da Conferência Internacional de Criocirurgia Veterinária, ocorrida em Oxford, Inglaterra, em Setembro de 1981, afirmando que naquela época já existiam uma série de estudos experimentais e também ensaios clínicos a respeito do uso da criocirurgia como uma terapia alternativa a cirurgia convencional, tendo aplicação em uma série de afecções nas mais variadas espécies animais. Citam como principais vantagens a inexistência da necessidade de anestesia geral, podendo os procedimentos ser realizados sob sedação e anestesia local, muitas das vezes com o paciente em estação, além da rapidez, facilidade de execução, baixo custo e alta taxa de sucesso principalmente no tratamento de neoplasias como sarcoíde e carcinoma de células escamosas em equinos; glaucoma, pannus e tumores oculares e palpebrais em cães. Reportam também relatos de caso a respeito de neurectomias, tratamento de neuromas, fraturas de navicular, tendinites e periostites em equinos, por meio de duplo ciclo de congelamento / descongelamento, a temperaturas de  $-30^{\circ}\text{C}$ , com o emprego de nitrogênio líquido, obtendo bons resultados.

Barnard (1980) reporta em seus estudos os efeitos positivos promovidos pela criocirurgia no controle da dor crônica facial em humanos, constatando excelentes resultados nos pacientes com dores provenientes de lesões não herpéticas, com remissão da dor por longos períodos passados 60 dias da intervenção, no entanto não observou resultados tão satisfatórios nos demais indivíduos.

Baust *et al.*(1997) descrevem a criocirurgia como uma técnica de tratamento das lesões por meio da aplicação do frio de forma controlada, levando ao congelamento do tecido alvo. Lembram que durante décadas este método foi posto de lado por grande parte dos cirurgiões, que o utilizavam apenas em procedimentos paliativos em pacientes nos quais a cirurgia convencional estava contra indicada, no entanto ressaltam que nos últimos anos a criocirurgia voltou a ganhar espaço na medicina, passando a ter novas indicações, sobretudo no tratamento de lesões viscerais de natureza neoplásica, como câncer em próstata, fígado, rins, útero, pele e em menor frequência cérebro, pâncreas, brônquios, entre outros. Atribuem este crescente interesse, às diversas inovações tecnológicas alcançadas recentemente, como as criocirurgias guiadas por ultrassonografia, endoscopia e videolaparoscopia, permitindo o acesso preciso a órgãos internos por via percutânea, sendo um método rápido, de fácil execução, minimamente invasivo, fato este que permite a realização de boa parte dos procedimentos sem a necessidade de anestesia geral, apresentando um menor risco de hemorragias, recuperação mais rápida do paciente, com menor tempo de internação hospitalar e conseqüente redução de custos, risco de infecções nosocomiais, morbidade e mortalidade, lembrando que nesta modalidade terapêutica não existe a exérese do tecido alvo, e sim seu congelamento e destruição “*in situ*”. Citam ainda o desenvolvimento de aparelhos que permitem uma mensuração mais precisa da temperatura alcançada pelo tecido no momento da intervenção, assim como o exame ultrassonográfico em tempo real, além do emprego de novos agentes criogênicos, aparatos e probes mais modernas, que possibilitaram maiores taxas de sucesso e maior diversificação no emprego da técnica. Destacam o uso do nitrogênio líquido “supercooled” que alcança temperaturas baixíssimas ( $-209^{\circ}\text{C}$ ) e pode ser aplicado aos tecidos por aparatos modernos que comportam o acoplamento simultâneo de múltiplas probes, com calibres, tamanhos e formatos variados, permitindo o tratamento de neoplasias maiores como nos casos de câncer de próstata e o monitoramento do procedimento por meio de tomografia computadorizada e ressonância magnética.

Gage & Baust (1998) publicaram artigo de revisão a respeito dos mecanismos de injúria tecidual causados pela criocirurgia, estabelecendo como protocolo um congelamento rápido a temperaturas extremamente baixas (-20° a -50° C), seguido de um lento processo de descongelamento, recomendando a repetição do ciclo de congelamento / descongelamento por pelo menos duas a três vezes dependendo do tipo de tecido a ser destruído, não sabendo informar no entanto, o tempo necessário de manutenção do congelamento. Separaram os mecanismos de morte celular em duas fases: uma imediata e uma tardia, afirmando ser fundamental a ocorrência das duas etapas para que se alcance êxito no tratamento criocirúrgico. Descreve que a fase imediata esta relacionada aos danos celulares diretos, como a alterações no metabolismo, desidratação celular e a ruptura de organelas e membranas celulares, causadas respectivamente, pelas baixas temperaturas, diferencial osmótico de soluto presente no meio extracelular e pela formação de microcristais e principalmente macrocristais devido a recristalização durante o descongelamento, afirmando que estes eventos tem correlação direta com um congelamento rápido a baixas temperaturas, seguido de descongelamento lento e repetição do ciclo, sendo a formação de macrocristais mais intensa no segundo ciclo. Atribuem à fase tardia os eventos relacionados a alterações vasculares, destacando os danos sequenciais causados a microvascularização, descrevendo uma vasoconstrição inicial com redução do fluxo sanguíneo, seguido de vasodilatação com liberação de radicais livres pelo fenômeno de reperfusão, danos ao endotélio levando ao aumento da permeabilidade vascular ocasionando edema e perda de elementos do plasma, ativação da cascata de coagulação com conseqüente agregação plaquetária e formação de microtrombos, que por sua vez levam a oclusão desses microcapilares vindo a causar um processo de estase, isquemia e necrose celular. Os autores citam uma série de estudos envolvendo os mais variados tipos celulares em diferentes espécies, demonstrando haver variações significativas quanto a temperatura considerada letal para cada um dos tipos celulares em questão, afirmando que estes fatores interferem diretamente na escolha da técnica e do agente criogênico a ser utilizado, citando como exemplos o Freon 12, Freon 22, Dióxido de Carbono, Oxido Nitroso, Argônio e Nitrogênio líquido, destacando as baixas temperaturas alcançadas pelos dois últimos. Afirmam que os diferentes métodos de diagnóstico por imagem como ultrassonografia, tomografia computadorizada e ressonância magnética, empregados principalmente como guias em procedimentos de criocirurgia de órgãos internos, apesar de extremamente úteis na localização das lesões, não conseguem avaliar as alterações e a eficácia da técnica durante o procedimento, e que o uso conjunto da criocirurgia à outros tratamentos como a quimioterapia e radioterapia tem mostrado bons resultados e um futuro promissor.

Cooper & Dawber (2001) e Freiman & Bouganim (2005) fizeram uma breve descrição a respeito da história da criocirurgia, lembrando existir relatos do emprego do frio como modalidade terapêutica desde 2500 AC. pelos egípcios. Em um passado muito mais recente, por volta de 1851, citam os estudos do inglês Dr James Arnott , no qual o físico relata o tratamento de dores de cabeça e distúrbios musculoesqueléticos por meio de imersão de parte do corpo do paciente em recipientes contendo sal de gelo triturado, possibilitando atingir temperaturas consideradas muito baixas, entre -18° e -24° C, reportando também o tratamento de tumores cutâneos, e o uso do método na analgesia e anestesia previa a intervenções cirúrgicas convencionais. Com o passar dos anos diversos estudos foram feitos visando a confecção de um aparelho próprio para criocirurgia, que permitisse ao mesmo tempo armazenar e aplicar os diferentes tipos de gases liquefeitos, para os mais diferentes fins, sendo a maior indicação na área da dermatologia, seja no tratamento de doenças neoplásicas ou não, como lúpus, verrugas, herpes zoster, entre outras. Segundo os autores o grande divisor de águas na história da criocirurgia moderna ocorreu após o fim da Segunda Guerra Mundial, em

1950, com o desenvolvimento do primeiro aparelho de criocirurgia da história, pelo físico Irvin Cooper e o engenheiro Arnold Lee, que possibilitou o armazenamento de nitrogênio líquido e sua pulverização por meio de uma probe, possibilitando atingir de forma controlada temperaturas baixíssimas proporcionando um rápido congelamento dos tecidos alvos. Os autores citam o uso de vários agentes criogênicos nas últimas décadas, destacando gelo e sal, hidrocarbonetos fluoretados (freon), dióxido de carbono, oxigênio líquido, nitrogênio líquido e mais recentemente argônio e hidrocarbonetos não-fluoretados. Em 1965 o médico Setrag Zacarian juntamente com o engenheiro Michael Bryne desenvolvem o primeiro aparelho portátil de criocirurgia comercializado pela indústria, permitindo a utilização de nitrogênio líquido como agente criogênico, possibilitando grandes avanços e a expansão desta modalidade terapêutica no tratamento de uma série de enfermidades.

Cooper & Dawber (2001) descreveram a criocirurgia como o uso controlado de baixas temperaturas proporcionando a destruição de tecidos. Destacando o atual emprego em diferentes áreas da medicina, assim como o baixo custo, a praticidade, bons resultados estéticos e a segurança da técnica, permitindo o emprego da mesma até mesmo em consultórios. Ressaltam as qualidades do nitrogênio líquido como agente criogênico, baseando-se principalmente nos aspectos da criobiologia e mecanismos de morte e destruição celular. Afirmam haver entre os tipos celulares diferentes níveis de sensibilidade às baixas temperaturas, sendo os melanocitos o tipo celular mais sensível, fato que explicaria os processos de despigmentação como efeito adverso, enquanto o colágeno seria o tecido mais resistente, sendo raro também a necrose de cartilagens. Reportam a formação da chamada “iceball” e alôs de congelamento, citando a existência de protocolos distintos a respeito do número de ciclos de congelamento/descongelamento e temperatura ideais para a destruição de células neoplásicas benignas e malignas, recomendando dois ciclos e temperaturas de  $-20^{\circ}$  a  $-30^{\circ}$  C para neoplasias benignas e três ciclos com temperaturas de  $-50^{\circ}$  C em processos malignos. Enfatizam a importância fundamental da criocirurgia na área de dermatologia, no entanto destacam o crescente uso em outras áreas da medicina como oftalmologia, ginecologia, proctologia e oncologia, citando recentes estudos do emprego da técnica no tratamento de tumores malignos nos rins, próstata, fígado, pulmões e ossos, principalmente em pacientes de alto risco cirúrgico, destacando excelentes resultados com o método, com um menor índice de complicações pós-operatórias e melhor recuperação dos pacientes por se tratar de um método cirúrgico menos invasivo.

Hoffmann & Bischof (2002) definem criocirurgia como sendo um procedimento que causa morte celular e destruição tecidual por meio de um congelamento controlado. Afirmam que a técnica apresenta vantagens frente à cirurgia convencional, sendo menos invasiva e apresentando menor taxa de morbidade, lembrando sua aplicabilidade no tratamento de neoplasias e lesões cutâneas, assim como no tratamento de câncer de próstata e tumores renais. Dividem os mecanismos de injúria tecidual e morte celular, provocadas pelo frio em três grandes grupos: injúria direta da célula, injúria vascular e injúria imunomediada, sendo avessos a esta terceira hipótese. Afirmam existir correlação direta de quatro fatores com o tipo de morte celular, sendo estes a velocidade de congelamento, a temperatura mínima atingida no tecido, o tempo de exposição do tecido a essa temperatura mínima e o tempo de descongelamento, lembrando existir diferentes níveis de sensibilidade às baixas temperaturas pelos diferentes tipos celulares. Em relação a injúria direta das células, exaltam dois mecanismos: a desidratação celular, atribuindo tal fato as altas concentrações de solutos no meio extracelular provocadas pelo frio, levando a desidratação osmótica das células; e a formação de cristais de gelo no meio intracelular, causando lesões e levando a ruptura de organelas e da membrana celular, destacando o processo de recristalização, por causar maior

dano as estruturas devido a sua maior dimensão, afirmando ser imperativo para a ocorrência destes eventos um congelamento rápido a baixas temperaturas e um descongelamento lento, repetindo-se então o ciclo de exposição ao frio. Descrevem ainda o processo de injúria vascular, considerando este fundamental na extensão da lesão após a fase de descongelamento, destacando a predileção e o maior dano causado pelas baixas temperaturas a microvascularização, sendo esta a responsável direta pelo aporte de nutrientes e fundamental nas trocas gasosas nos tecidos. Citam a ocorrência de estase vascular, com extravasamento de plasma para o interstício: dano direto as células do endotélio vascular, permitindo uma maior permeabilidade vascular; a ativação da cascata de coagulação, com ativação de plaquetas e consequente coagulação e trombozes; além de lesões de reperfusão após o descongelamento, levando a morte celular, sendo que todos esses eventos juntos culminam com a necrose tecidual.

Maccini *et al* (2011) citam o uso de diferentes agentes criogênicos, destacando o nitrogênio líquido. Afirmam que os grandes avanços na área da criocirurgia ocorridos após o ano 2000 e denominados pela comunidade médica como “Terceira Geração”, trouxeram uma série de inovações como a aplicação de métodos de diagnóstico por imagem com mapeamento térmico favorecendo uma melhor localização e visualização da lesão, mensuração e controle mais acurados da temperatura no sítio da lesão, emprego de novos agentes criogênicos como o gás Hélio e Argônio, possibilitaram a expansão da utilização da técnica no tratamento de uma variedade muito grande de afecções, ressaltando sua aplicabilidade na área da urologia, especialmente no tratamento de neoplasias prostáticas e tumores renais de menores dimensões, destacando sua eficiência e baixo índice de complicações. Descrevem de forma sucinta os mecanismos de morte celular em decorrência da criocirurgia, lembrando da existência da chamada “*ice ball*” na qual encontramos duas zonas distintas, uma zona central com intensa área de necrose e uma zona periférica com diferentes estágios de dano ou morte celular, afirmando que na primeira existe um processo predominante de morte celular direta relacionada a formação de micro e macrocristais de gelo levando a ruptura de organelas e membranas celulares, e também da morte por desidratação celular devido a diferença de osmolaridade entre os meios intra e extracelulares, enquanto na zona periférica as células seriam destruídas ou lesionadas por processos mais tardios causados pelas alterações vasculares que culminariam na formação de microtrombos e isquemia. Citam haver um mecanismo de morte celular ainda não completamente esclarecido, atribuído a apoptose de algumas células, provavelmente em decorrência de lesão mitocondrial, afirmando que falhas nesse mecanismo seriam as responsáveis por falhas no tratamento, com surgimento de recidivas e resistência das células neoplásicas remanescentes a criocirurgia, sugerindo a associação de terapias adjuvantes para obtenção de maiores taxas de sucesso.

Luz & Bussade (2011) descrevem o tratamento de queloides em pacientes humanos com o emprego de criocirurgia intralesional, utilizando como agente criogênico o nitrogênio líquido por meio de congelamento em fluxo contínuo até o branqueamento da lesão, destacando que desta forma conseguem obter melhores resultados quando comparado a técnicas de congelamento superficial, basicamente pelo fato de atingirem temperaturas mais baixas no centro da lesão, além de causar menos danos aos tecidos adjacentes. No entanto apontam haver dificuldades de execução da técnica em lesões de difícil acesso, em virtude do posicionamento do aparelho de criocirurgia próximo a determinadas regiões da superfície corporal dos pacientes. Buscando solucionar esta problemática os autores desenvolvem um acessório de baixo custo, com a utilização de tubo flexível e adaptadores em aço, que permitem o acoplamento deste circuito ao aparelho de criocirurgia, trabalhando com agulhas hipodérmicas de variados calibres na ponta oposta, facilitando a execução da técnica em



qualquer região do corpo do paciente. Afirmam que a criocirurgia intralesional apresentou ótimos resultados nos pacientes tratados e que o acessório desenvolvido pela equipe se mostrou extremamente útil, de fácil confecção, baixo custo, possibilitando inclusive a execução da técnica a nível ambulatorial.

## 3 MATERIAL E MÉTODO

### 3.1 COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

O presente estudo foi submetido à avaliação da Comissão de Ética no Uso de Animais, do Instituto de Veterinária, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, recebendo sua Declaração de Aprovação sob o protocolo número 111/2014 (ANEXO 01).

### 3.2 LOCAL

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Pesquisa Animal Prof. Firmino Marsico Filho e demais dependências da Fazenda Escola de Veterinária Cachoeiras de Macacu (FECM), pertencentes à Faculdade de Veterinária, da Universidade Federal Fluminense (UFF); Laboratório de Dosagem Hormonal do Setor de Reprodução Animal da Faculdade de Veterinária UFF e Setor de Anatomia Patológica da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ).

### 3.3 ANIMAIS

No decorrer dos estudos, foram utilizados 20 ovinos, mestiços de Santa Inês x Dorper, machos, inteiros, púberes, com idade variando entre 8 e 12 meses, apresentando circunferência escrotal maior ou igual a 25cm, e considerados aptos após realização de exame andrológico no momento da aquisição, provenientes de criatório comercial do distrito de Conceição de Japuíba, município de Cachoeiras de Macacu – RJ.

### 3.4 PERÍODO

Os estudos foram executados em dois momentos, devido à dificuldade na aquisição de um único lote uniforme de animais nos moldes do delineamento previamente estabelecido e da capacidade máxima de lotação das instalações disponíveis para o alojamento dos mesmos, sendo o primeiro ensaio executado no período de outubro a dezembro de 2014 e o segundo de abril a junho de 2015.

### 3.5 ACLIMATAÇÃO

Os carneiros foram alojados em baia coberta, cercada por réguas de madeira e piso de concreto, com dimensões de 3x7m (21m<sup>2</sup>), sendo soltos durante o dia em piquete anexo (*Brachiaria brizantha* e *Brachiaria decumbens*) e recolhidos ao entardecer.

A dieta alimentar foi fornecida diretamente no cocho, duas vezes ao dia, calculada de acordo com os níveis de requerimento dos animais, composta por Capim Elefante Napier picado (*Pennisetum purpureum*) e ração comercial peletizada para ovinos em crescimento<sup>1</sup>,

além de suplementação com sal mineral<sup>2</sup> e água *ad libitum* proveniente de fonte da propriedade e ofertada em cocho próprio.

Todos os animais foram pesados, identificados com placas numeradas fixadas por meio de coleira na região do pescoço e fotografados de frente e de perfil. Na sequência, foram avaliados clinicamente, sendo então realizada coleta de sangue periférico, por venopunção da veia jugular, para confecção de hemograma e coleta de fezes diretamente do reto para realização do exame parasitológico de ovos por grama de fezes (OPG). Independente do resultado, foi administrada a todos os ovinos, uma única dose de Levamisol<sup>3</sup> 5,0 mg/kg, por via subcutânea, visando o controle de endoparasitas.

Após a conclusão dessas etapas os animais permaneceram em processo de aclimação ao ambiente, condições de manejo e à dieta alimentar, sendo observado o comportamento social do lote e o possível aparecimento de alterações clínicas, por um período de 15 dias antes do início das atividades práticas do experimento.

## 3.6 ENSAIO EXPERIMENTAL

### 3.6.1 Exame Andrológico

Os animais foram submetidos ao exame andrológico respeitando-se os critérios estabelecidos pelo Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA, 2013), sendo os mesmos realizados em três momentos distintos: no dia anterior à primeira intervenção cirúrgica, aos 18 dias de pós-operatório e na data que antecedeu a orquiectomia dos animais, ou seja, 32 dias após o primeiro procedimento cirúrgico.

Todos os dados obtidos foram anotados em fichas próprias contendo o número de identificação do animal, raça, idade, grupo, data de realização do exame e assinatura do médico veterinário responsável, sendo todas as avaliações foram realizadas por um mesmo profissional.

Após a pesagem dos animais, foi estipulado o escore corporal de cada um dos indivíduos, seguido da obtenção de histórico, anamnese e de avaliação clínica geral, com especial atenção ao estado de alerta, locomoção, apetite, aspecto das fezes e urina, grau de hidratação, coloração das mucosas oral e ocular e presença de ectoparasitos, sendo mantidos em perfeitas condições de saúde e bem estar.

A análise dos órgãos do aparelho reprodutor masculino foi feita de forma detalhada, com o carneiro no solo em posição quadrupedal, iniciando-se pela inspeção e palpação da bolsa escrotal, avaliando a integridade da mesma, presença de escoriações, ectoparasitas, sensibilidade, temperatura, espessura e mobilidade.

Na sequência procedeu-se a avaliação individual dos testículos, com a confirmação da presença de ambos bilateralmente, comparando-se a simetria entre os mesmos, sua mobilidade, palpação de todas as faces, aferição de suas dimensões, observação do posicionamento, da forma, temperatura e consistência, sendo esta graduada em uma escala de 1 a 5, onde 1 se referia à flacidez excessiva e 5 a um testículo muito firme. Em continuidade analisou-se os epidídimos, com a palpação da região da cabeça, corpo e cauda, buscando verificar a presença dessas estruturas, sua relação topográfica com os testículos, sendo dada especial atenção ao aspecto, volume, consistência, temperatura e sensibilidade da cauda do epidídimo, a fim de se detectar granulomas espermáticos pré-existentes e excluir possíveis

1 Ração para Ovinos em Crescimento - Ovicorte Inicial – Guabi – Campinas - SP.

2 Sal Mineral para Ovinos - Guabiphos Ovinos AE – Guabi – Campinas – SP.

3 Levamisol 5,0 mg/kg - Ripercol L Zoetis – Campinas – SP.

portadores de epididimite infecciosa ovina, sendo posteriormente realizado exame ultrassonográfico.

Em seguida, foi realizada a palpação dos cordões espermáticos, buscando-se a detecção de anomalias nas estruturas componentes dos mesmos, estendendo-se até a região próxima ao anel inguinal externo, confirmando assim a inexistência de pacientes com hérnias inguinoescrotais. Finalizando, inspecionou-se o prepúcio e o pênis dos animais, procedendo a exposição do mesmo com a colocação do animal em posição vertical, sentado sobre a região glútea, tracionando-se o prepúcio caudalmente e apreendendo o pênis com o auxílio de uma gaze, permitindo assim a avaliação da integridade do mesmo, assim como a confirmação da presença do apêndice vermiforme (processo uretral) e desbridamento entre o pênis e a bainha interna do prepúcio.

Antes da coleta do sêmen, foi feita a mensuração da circunferência escrotal por meio de fita milimétrica posicionada na porção média do escroto, após tração de ambos os testículos em sentido distal, abrangendo a bolsa escrotal, túnicas e os testículos, em sua região de maior diâmetro, sendo o resultado expresso em centímetros (Figura 01A).

A coleta do sêmen foi realizada com o auxílio de um eletroejaculador manual próprio para a espécie, sendo feita a remoção digital das fezes presentes na ampola retal, seguida da introdução da probe com eletrodos, previamente lubrificada, através do ânus do animal, sendo estipulado um limite máximo de 10 ondas de choque intermitentes para obtenção do ejaculado de cada um dos indivíduos (Figura 01B).



**Figura 01A** - Mensuração da circunferência escrotal de carneiro com fita milimétrica.

**Figura 01B** – Coleta de sêmen ovino por meio de eletroejaculador. FECM. Junho de 2015.

O sêmen presente no frasco coletor tipo *Becker* foi avaliado quanto a sua coloração e aspecto, sendo imediatamente levado ao Laboratório de Reprodução Animal, transferido para um eppendorf e posto em mesa térmica a 37° C, procedendo-se a aferição do volume e retirada de alíquotas, sendo uma parte depositada sobre lâmina de vidro previamente aquecida, sendo esta levada a microscópio óptico e observada em aumento de 40x para avaliação do turbilhonamento, uma segunda alíquota foi diluída em 1,0 mL de solução de salina aquecida, sendo depositada amostra deste material entre lâmina e lamínula para realização de exame em microscópio óptico, sob aumento de 100x, para avaliação de motilidade progressiva e vigor.

A presença ou ausência de espermatozoides foi verificada na avaliação da motilidade, não sendo feita a concentração espermática, anotando-se apenas a presença ou ausência destas células antes e após o procedimento cirúrgico.

A análise de patologia espermática foi feita após coleta de amostra de sêmen numa solução de formol salina tamponada aquecida e avaliada posteriormente sob imersão, em aumento de 1.000x num microscópio de contraste de fase, sendo então classificadas de acordo com BLOM (1973) em normais ou anormais, sendo esta subdividida em defeitos maiores e defeitos menores, tendo o seu somatório denominado defeitos totais.

### **3.6.2 Dosagem de Testosterona Sérica**

No início da manhã do experimento, após antissepsia prévia, foi realizada coleta de sangue periférico dos animais por meio de venopunção da veia jugular, com emprego de sistema a vácuo composto por adaptador plástico, agulha de coleta calibre 25x8 mm 21G e tubo seco para soro com capacidade de 4,0 mL. As amostras foram identificadas de acordo com a numeração de cada animal, sendo encaminhadas ao Laboratório de Dosagem Hormonal do Setor de Reprodução Animal da Faculdade de Veterinária UFF para separação do soro por centrifugação a 2600g. Após a obtenção do soro, as alíquotas foram transferidas com o auxílio de uma pipeta e ponteiros descartáveis para microtubos tipo eppendorf graduados neutro de 1,5 mL previamente identificados, mantendo-se sempre uma amostra em duplicata para eventuais contra tempos. As amostras acondicionadas em embalagem própria foram mantidas congeladas a temperatura de -20° C até o momento do seu processamento.

As dosagens de testosterona sérica foram realizadas por meio da técnica de Radioimunoensaio (RIA) em Fase Sólida utilizando kits comerciais<sup>4</sup>. A sensibilidade e coeficiente intraensaio foram de 0,18pg / mL e 10%, respectivamente.

Nova coleta de amostras de sangue foi realizada após 33 dias, data estabelecida para a orquiectomia dos animais, respeitando-se o mesmo horário e método de processamento da primeira coleta.

### **3.6.3 Teste de Libido**

Os animais foram submetidos ao teste de libido em dois momentos distintos, sendo o primeiro teste realizado ao final da tarde (17:00) do dia que antecedeu o experimento e o segundo no dia anterior à orquiectomia dos animais, ou seja 32 dias após a primeira intervenção cirúrgica, respeitando-se o mesmo horário do primeiro.

Devido ao comportamento gregário do lote e após tentativas fracassadas de realização do teste de libido de forma individual em recinto próprio, optou-se pela introdução de duas fêmeas ovinas em cio induzido, contidas por cabresto e amarradas junto à régua em pontos distintos no interior da baía dos animais. Iniciou-se então com o auxílio de um cronometro digital a mensuração do tempo necessário para a monta completa dos animais em uma das fêmeas em cio, retirando-se o animal do recinto assim que o mesmo subisse na fêmea, a fim de permitir a manifestação do interesse sexual por parte dos demais carneiros de posição hierárquica inferior dentro do lote.

Estipulou-se um tempo limite de observação de 15 minutos e não foram considerados para este teste sinais comportamentais de interesse sexual como cheirar a fêmea, torcer os lábios, côrte, lambar a vulva, imposição de cabeça sobre a região da cernelha das fêmeas e exposição do pênis com ou sem ejaculação, computando-se apenas a realização da monta. Todos os dados foram anotados em planilha própria para posterior análise estatística.

### 3.6.4 Grupos Experimentais

Após submissão às avaliações anteriormente descritas e estando considerados aptos, os animais foram subdivididos em dois grupos compostos por 10 animais cada, denominados GRUPO TESTE (GT) e GRUPO CONTROLE (GC).

Os animais do GRUPO TESTE foram submetidos à transfixação da região da cauda do epidídimo com o emprego de agulha hipodérmica estéril descartável<sup>5</sup>, seguido de procedimento de criocirurgia, enquanto os carneiros do GRUPO CONTROLE foram submetidos apenas à transfixação da região da cauda do epidídimo, sem a realização da criocirurgia, permanecendo a agulha inserida no tecido pelo mesmo intervalo de tempo dos animais do GRUPO TESTE, repetindo-se o procedimento no órgão contralateral.

### 3.6.5 Protocolo Anestésico

Os animais foram submetidos a jejum hídrico e alimentar de 12 horas antes da realização dos procedimentos cirúrgicos.

Após antisepsia com solução de álcool iodado, procedeu-se venopunção da veia jugular, seguida da administração de Acepromazina<sup>6</sup> 1% 0,1mg/kg, associada a Diazepan<sup>7</sup> 5mg/mL, na dosagem de 0,2mg/kg, ambas na mesma seringa. Na sequência foi administrado por via intramuscular profunda Sulfato de Morfina<sup>8</sup> 10mg/mL na dosagem de 0,4mg/kg. O animal foi então contido com o auxílio de cordas e posto sobre a mesa de atendimento em decúbito lateral direito para realização de exame ultrassonográfico. Segundos antes da intervenção cirúrgica foi administrado Cetamina<sup>9</sup> 10%, 4mg/kg, em bolus intravenoso, por meio de venopunção da veia jugular.

Na ocasião da realização da orquiectomia dos animais, somou-se ao protocolo previamente descrito a aplicação de Lidocaína<sup>10</sup> 2% sem vasoconstritor 4mg/kg na forma de anestesia infiltrativa em linha no ápice da bolsa escrotal e botão anestésico em ambos os cordões espermáticos após visualização dos mesmos.

Todos os animais receberam após cada uma das etapas, uma única aplicação de Meloxican<sup>11</sup> 2%, na dosagem de 0,4mg/kg por via intramuscular profunda.

05 – Agulha Hipodérmica Estéril Descartável 0,80 x 40 mm, 21G x 1 ½ “ – BD PrecisionGlide – Curitiba – PR

06 Acepromazina 1% 0,1mg/kg - Acepran Vetnil – Louveira – SP.

07 Diazepan 5mg/ml 0,2mg/kg - Diazepam Teuto – Anápolis – GO.

08 Sulfato de Morfina 10mg/ml na dosagem de 0,4mg/kg - Dimorf Cristália – Itapira – SP.

09 Cetamina 10% - Ketamina Agener União – Embu Guaçu – SP.

10 Lidocaína 2% sem vasoconstritor – Xylestesin - Cristália – Itapira – SP.

11 Meloxican 2% - Maxican 2% - Ourofino Saúde Animal – Cravinhos – SP

### 3.6.6 Exame Ultrassonográfico

Os exames ultrassonográficos foram realizados em todos os animais do experimento em dois momentos distintos, sendo a primeira avaliação realizada instantes antes da intervenção cirúrgica e a segunda após 33 dias do procedimento cirúrgico estudado, na data marcada para a orquiectomia dos animais.

Após a tranquilização e a contenção mecânica por meio de cordas, os animais foram posicionados sobre a mesa de atendimento em decúbito lateral direito para a realização do exame ultrassonográfico. Optou-se pela não execução da raspagem dos pelos presentes na bolsa escrotal, a fim de evitar a possível ocorrência de microtraumas pela lâmina de barbear.

O exame ultrassonográfico em Módulo B foi realizado com o auxílio de Aparelho de Ultrassom Sonoscape S6<sup>12</sup> acoplado a um transdutor linear de 7,5 MHz, iniciando-se pelo testículo direito, seguido da análise do epidídimo, com especial atenção à região da cauda e posterior avaliação do cordão espermático. Foram realizados cortes longitudinais, transversais e oblíquos, proporcionando a avaliação da forma, dimensões, ecotextura e ecogenicidade dos órgãos em questão, assim como a mensuração das medidas da cauda do epidídimo em seu eixo longitudinal. O mesmo procedimento foi repetido no órgão contralateral. Os resultados foram expressos em forma de laudo descritivo e as dimensões anotadas em planilhas de Microsoft Excel 2007 para posterior análise estatística e comparação dos dados observados antes e após a realização da técnica cirúrgica proposta no estudo.

### 3.6.7 Procedimento Cirúrgico

Antes de serem levados ao Laboratório de Pesquisa Animal Prof. Firmino Marsico Filho, procedeu-se higienização da bolsa escrotal dos animais com água corrente e detergente líquido neutro<sup>13</sup>, visando a remoção de sujidades como fezes e outros materiais oriundos da baía dos animais.

Logo após a realização do exame ultrassonográfico, os animais devidamente anestesiados, foram posicionados sobre a mesa cirúrgica em decúbito lateral direito. Foi realizada rigorosa antisepsia da bolsa escrotal por meio de escovação da mesma com solução de clorexidina degermante<sup>14</sup> a 2%, seguido de aspersão de álcool<sup>15</sup> 70° em toda a região e posterior aplicação de solução de iodopolividona tópica<sup>16</sup> no local estabelecido para transfixação com a agulha hipodérmica.

Estando o cirurgião devidamente paramentado e o campo cirúrgico isolado por meio de panos de campo e compressas cirúrgicas estéreis, deslocou-se manualmente o testículo direito no sentido proximal à bolsa e após leve compressão manteve-se o testículo esquerdo em posição distal, permitindo uma boa visualização da cauda do epidídimo pelo cirurgião. Após palpação digital e estipulação do ponto de introdução da agulha, procedeu-se a transfixação da região da cauda do epidídimo, a meia altura da mesma, no sentido latero medial, com o emprego de agulha hipodérmica estéril descartável<sup>17</sup> 0,80 x 40 mm, 21G x 1 ½'', sendo utilizada uma agulha para cada órgão transfixado (Figura 02A e 02B).

12 Aparelho de Ultrassom S6 – SonoScape – Yizhe Building – Yuquan Road – Shenzhen – China

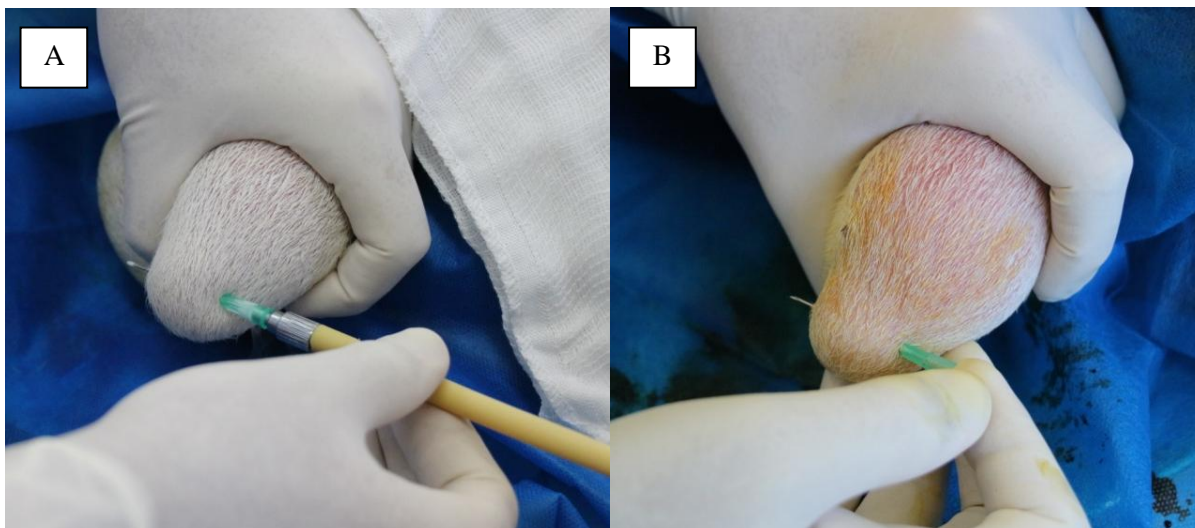
13 Detergente Líquido Neutro - Limpol Bombril – Sete Lagoas – MG.

14 Solução de Clorexidina Degermante 2% - SeptClean Agener União – Embu Guaçu – SP.

15 Álcool 70° - Rialcool 70 Rioquímica – São José do Rio Preto – SP.

16 Solução de Iodopolividona Tópica - Riodeine Tópico Rioquímica – São José do Rio Preto – SP.

17 Agulha Hipodérmica Estéril Descartável 0,80 x 40mm, 21G x 1 ½'' - BD PrecisionGlide – Curitiba – PR.



**Figura 02A** – Transfixação da cauda do epidídimo de carneiro com agulha hipodérmica descartável 0,80x40 mm acoplada a aparelho de criocirurgia, para procedimento de esterilização cirúrgica minimamente invasiva por meio de criocirurgia. GRUPO TESTE.

**Figura 02B** – Transfixação da cauda do epidídimo de carneiro do GRUPO CONTROLE com agulha hipodérmica descartável 0,80x40mm. FECM. Novembro de 2014.

Nos animais do GRUPO TESTE, a agulha ao ser inserida no tecido, encontrava-se acoplada a circuito composto por um adaptador de aço inoxidável<sup>18</sup> em continuidade a um tubo de borracha flexível de 15 cm de comprimento, 7,05 mm de diâmetro e lúmen de 4,50 mm, conectado por meio de outro adaptador de aço inox ao aparelho de criocirurgia<sup>19</sup> com capacidade de armazenamento de 500 mL de nitrogênio líquido (Figura 03). Procedeu-se então a aplicação de dois ciclos de congelamento / descongelamento, pelo tempo de 60 segundos / 45 segundos, respectivamente. Ao término do segundo ciclo aguardou-se a remissão do alo de gelo formado no entorno da agulha para que se pudesse retirar a mesma do tecido, evitando assim maiores danos. O mesmo procedimento foi repetido no órgão contralateral (Figura 04 e 05).

Os animais do GRUPO CONTROLE foram submetidos à transfixação da região da cauda do epidídimo conforme descrito para o GT, sem o acoplamento da agulha ao circuito utilizado para criocirurgia, tendo apenas o canhão da agulha ocluído pelo dedo indicador do cirurgião, sendo respeitado o mesmo intervalo de tempo dos animais do GT, repetindo-se o procedimento no órgão contralateral (Figura 06).

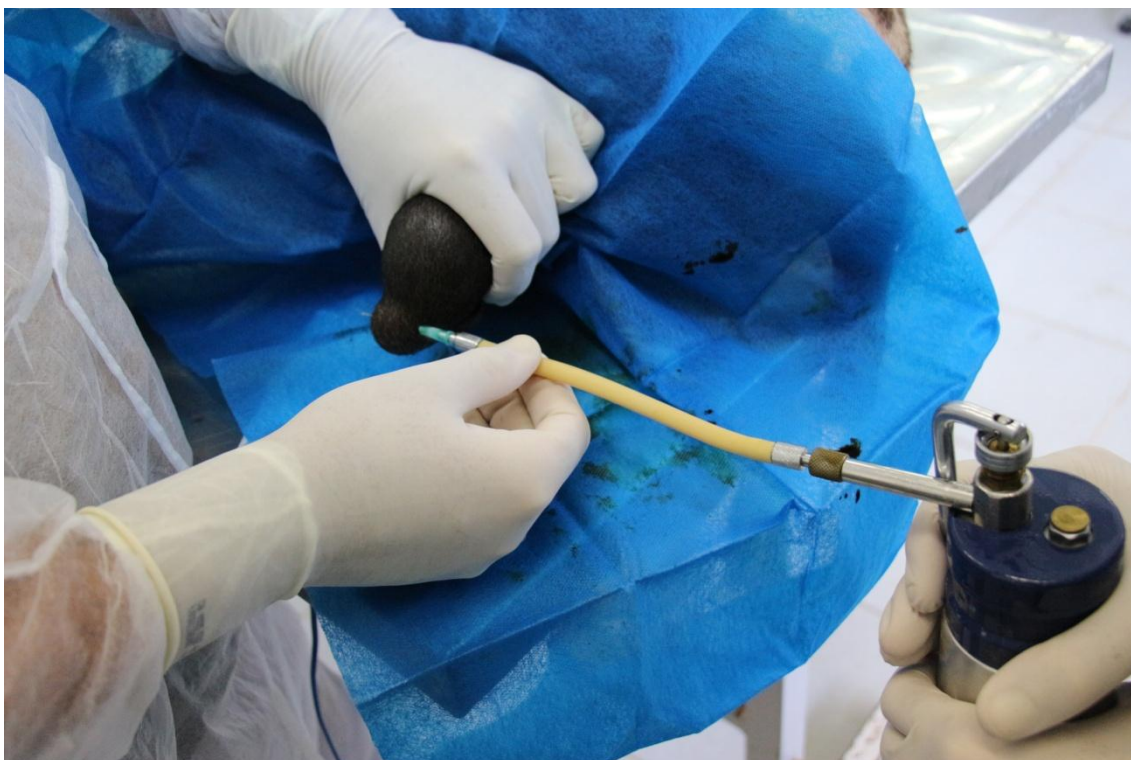
18 Adaptador de Aço Inoxidável - Nitrospray – Campinas – SP.

19 Aparelho de Criocirurgia - Cryogun Cry Ac 500 mL - Osasco – SP.





**Figura 03** – Aparelho de criocirurgia e circuito formado por adaptadores de aço inoxidável, tubo de borracha flexível e agulha hipodérmica estéril descartável. FECM. Novembro de 2014.



**Figura 04** – Técnica de esterilização cirúrgica minimamente invasiva com o emprego de criocirurgia em carneiro do GRUPO TESTE. FECM. Novembro de 2014.



**Figura 05** – Evidenciação da formação de alo de congelamento ao redor da agulha hipodérmica estéril descartável 0,80x40 mm, durante a execução da técnica de esterilização cirúrgica minimamente invasiva com o emprego de criocirurgia em carneiro. GRUPO TESTE. FECM. Novembro de 2014.



**Figura 06** – Manobra de oclusão do canhão da agulha hipodérmica estéril descartável 0,80x40 mm com o dedo indicador do cirurgião durante a execução da transfixação da cauda do epidídimo em carneiro do GRUPO CONTROLE. FECM. Novembro de 2014.

Os intervalos de tempo instituídos em cada uma das fases dos procedimentos foram aferidos por meio de cronometro digital pela anestesista, sendo passados à equipe por comunicação oral, ficando aos cuidados do auxiliar o acionamento do gatilho do aparelho de criocirurgia, assim como a sua cessão, enquanto o cirurgião mantinha com uma das mãos o testículo deslocado em sentido distal e com a mão dominante sustentava o circuito de criocirurgia próximo ao local de acoplamento do mesmo a agulha hipodérmica, pressionando a agulha em direção ao órgão.

### 3.6.8 Pós-Operatório

Com o fim do procedimento cirúrgico, procedeu-se a limpeza da região com o emprego de gaze embebida em solução de peróxido de hidrogênio<sup>20</sup> 3% e posterior aplicação de spray de Sulfadiazina Prata e Cipermetrina<sup>21</sup> no sítio de entrada e saída da agulha. Neste momento foi administrada por via intramuscular profunda, uma única dose de Benzilpenicilina Procaína associada à Benzilpenicilina Potássica<sup>22</sup>, na dose de 30.000UI/kg.

Após o despertar anestésico, os animais foram liberados da contenção mecânica, sendo então conduzidos de volta à baía onde permaneceram sob observação diária, na primeira semana subsequente ao procedimento, dando-se especial atenção a sinais indicativos de dor ou desconforto, deambulação, ingestão de água e alimento, assim como possíveis complicações na bolsa escrotal como edemas, hematomas, hemorragias, infecções, fístulas e miíases.

Os animais foram submetidos a dois novos exames andrológicos passados respectivamente 18 e 32 dias da primeira intervenção cirúrgica a fim de confirmar a azoospermia dos mesmos.

Transcorridos 33 dias da primeira intervenção cirúrgica, todos os 20 animais, tanto do GRUPO TESTE, quanto do GRUPO CONTROLE foram submetidos a novo exame ultrassonográfico, seguido de orquiectomia bilateral, objetivando a avaliação macroscópica de possíveis alterações na região de bolsa escrotal, túnicas, testículos e epidídimos, e posterior coleta de amostras de tecido para análises histopatológicas.

A orquiectomia foi realizada por meio de uma única incisão transversal no ápice da bolsa escrotal seguida de manobra de divulsão digito digital para maior exposição do testículo e cordão espermático. Com o auxílio de um bisturi procedeu-se sobre o testículo pequena incisão na túnica vaginal visceral, ampliando-se a mesma com o emprego de uma Tesoura de Metzbaum. Distal ao ponto do bloqueio anestésico foi realizada ligadura transfixante do cordão espermático com fio de algodão<sup>23</sup> esterilizado em autoclave, montado em Agulha em S, sendo posta uma Pinça Hemostática de Kocher Reta para oclusão temporária da circulação de retorno, realizando-se então a secção do cordão espermático com uma Tesoura de Mayo em ponto equidistante entre a ligadura e a pinça. Repetiu-se a mesma manobra no órgão contralateral.

Os cuidados no pós-operatório imediato e a terapêutica adotada após a orquiectomia seguiram os mesmos adotados após a primeira intervenção cirúrgica.

20 Peróxido de Hidrogênio 3% - Água Oxigenada 10 volumes Rioquímica – São José do Rio Preto – SP.

21 Spray de Sulfadiazina Prata e Cipermetrina - Bactrovet Prata Konig – Mairinque – SP.

22 Benzilpenicilina Procaína associada à Benzilpenicilina Potássica - Megacilin Agener União – Embu Guaçu – SP.

23 Fio de Algodão - Linha Urso 00 J&P Coasts – São Paulo – SP.

### 3.6.9 Avaliação Histopatológica

Após a retirada dos testículos e epidídimos, as peças cirúrgicas foram acondicionadas em potes plásticos identificados em direito e esquerdo e encaminhadas ao Laboratório de Reprodução Animal para inspeção detalhada, aferição de suas dimensões e realização dos cortes de tecido dos testículos e epidídimos para envio para análise histopatológica (Figura 07A e 07B).



**Figura 07A** – Testículo/Epidídimo de ovino retirado de animal do GRUPO TESTE após 33 dias da execução da esterilização cirúrgica minimamente invasiva com uso de criocirurgia. **Figura 07B** – Cauda do epidídimo pertencente a animal do GRUPO CONTROLE obtida aos 33 dias de pós-operatório. FECM. Dezembro de 2014.

Os cortes foram realizados com lâmina de bisturi nº24 em três regiões distintas denominadas:

T: testículo (polo caudal do testículo próximo à junção com a cauda do epidídimo).

E1: epidídimo (terço médio da cauda do epidídimo, local da transfixação com a agulha).

E2: epidídimo (polo caudal da cauda do epidídimo).

Os fragmentos de tecidos obtidos foram acondicionados em potes de vidro de 500 mL dotados de tampa de rosca, devidamente identificados de acordo com a numeração do animal e lado direito ou esquerdo, contendo 300 mL de solução de formol tamponado a 10%, permanecendo nesta solução por um período de 48 horas. Passadas 24 horas foram realizadas limpeza das peças sendo estas reintroduzidas novamente na solução. Ao completar o período de 48 horas submersas em formol, os fragmentos de tecido foram desidratados em sucessivas passagens em álcool, diafanizados e impregnados em parafina fundida.

A partir dos blocos obtidos, foram realizados com o auxílio de micrótomo cortes transversais de 5µm de espessura, seguidos de montagem das lâminas, sendo estas coradas pela Hematoxilina e Eosina (HE), e observadas sob diferentes aumentos em microscopia

óptica, tendo as imagens captadas por meio de máquina fotográfica acoplada ao microscópio. Os achados histopatológicos foram registrados em fichas individuais constando o número do animal, grupo ao qual o indivíduo pertencia, lado do órgão analisado, região do corte, aumento e coloração.

### **3.6.10 Análises Estatísticas**

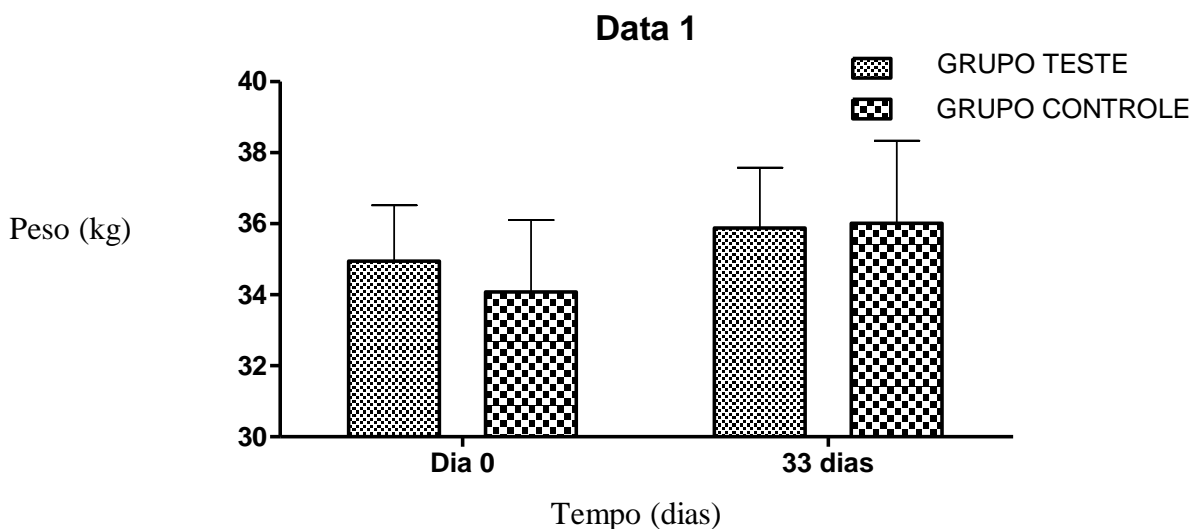
Os dados paramétricos foram submetidos ao teste de normalidade Shapiro Wills, e analisados pelo teste T, os dados não paramétricos ou não normais foram analisados pelo teste Mann Witney, com nível de significância de 5%.

## 4 RESULTADOS

Apesar da previsão inicial de 10 animais por grupo, nota-se nas planilhas apresentadas em anexo, um total de 18 animais, sendo nove em cada um dos grupos estudados. Tal fato deve-se a duas intercorrências durante o procedimento cirúrgico no momento do segundo ensaio, no qual em um animal constatou-se falha operacional do aparelho de criocirurgia e no outro indivíduo houve quebra de técnica causada pela movimentação do animal durante a intervenção cirúrgica, devido ao retardo do início desta, ocasionando a saída da agulha do seu sítio inicial, sendo necessária a reintrodução da mesma na cauda do epidídimo direito, o que proporcionou grau de trauma e tempo de congelamento diferentes dos aplicados aos demais animais, optando-se assim pela exclusão destes dois ovinos.

A avaliação clínica geral dos animais integrantes do estudo não evidenciou qualquer tipo de alteração relativa ao estado geral dos mesmos, antes e após a execução das cirurgias.

A análise estatística demonstrou não existirem alterações significativas no ganho de peso dos animais de ambos os grupos durante o período de estudo, com ambos apresentando ganho de peso abaixo do esperado, apesar do manejo alimentar teoricamente eficiente, atribuindo tal fato a problemas com a mão de obra da propriedade (Figura 08) (ANEXO 02).

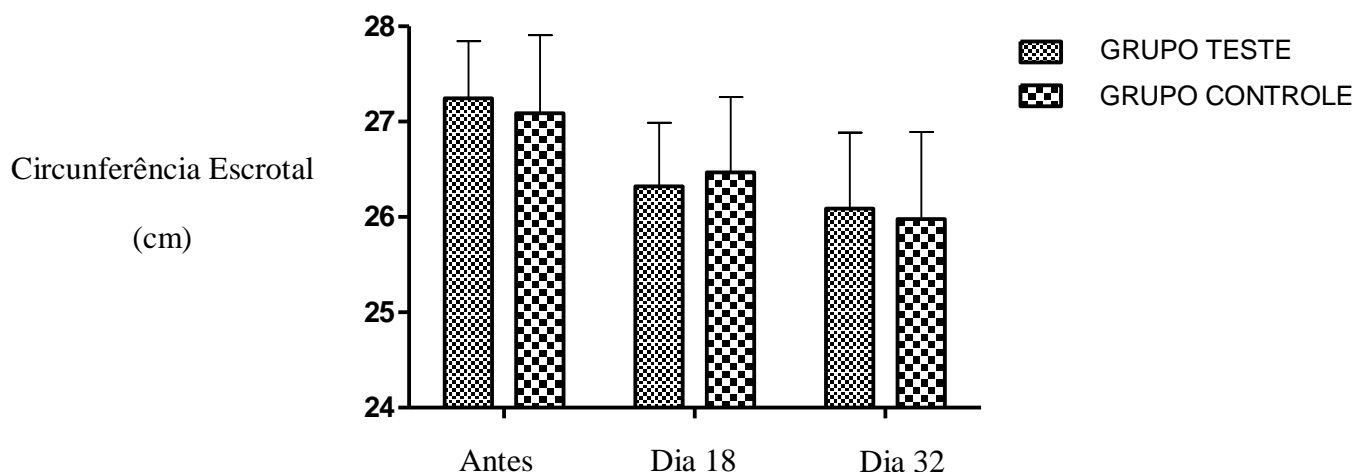


**Figura 08** – Gráfico de Ganho de Peso Corporal (kg), antes e após as intervenções cirúrgicas realizadas nos animais do GRUPO TESTE e GRUPO CONTROLE. UFRRJ, Dezembro de 2015.

Em ambos os grupos, não foram detectadas, durante a palpação dos testículos realizadas no 18° e 32° dia de pós-operatório, alterações na forma, volume, consistência e mobilidade dos mesmos.

A palpação da cauda do epidídimo no 18° e 32° dia revelou o aumento de volume da região, sendo observadas também alterações no aspecto e na consistência do órgão, tanto nos pacientes do GRUPO TESTE, quanto nos do GRUPO CONTROLE, sugerindo a formação de granulomas espermáticos.

As análises estatísticas demonstraram não existir alterações significativas na circunferência escrotal, entre os animais do GRUPO TESTE e do GRUPO CONTROLE, aferida antes e após 18 e 32 dias, da execução dos procedimentos cirúrgicos propostos (Figura 09) (ANEXO 03).

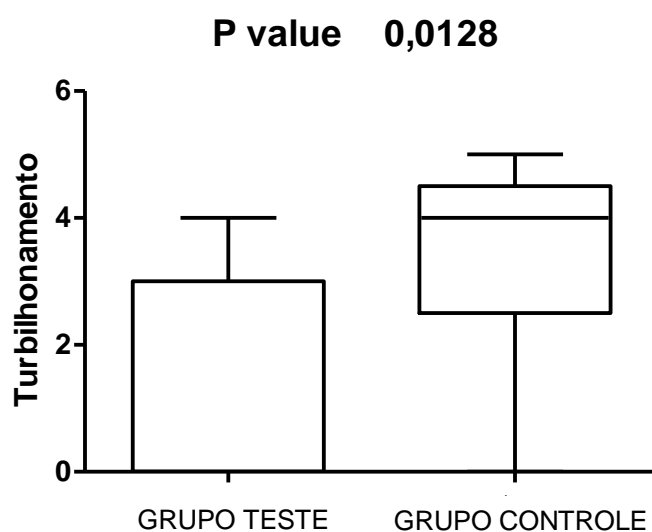


**Figura 09** – Gráfico da avaliação da Circunferência Escrotal dos carneiros (cm) dos GRUPOS TESTE e GRUPO CONTROLE, antes e após 18 e 32 dias de pós-operatório. UFRRJ. Dezembro de 2015.

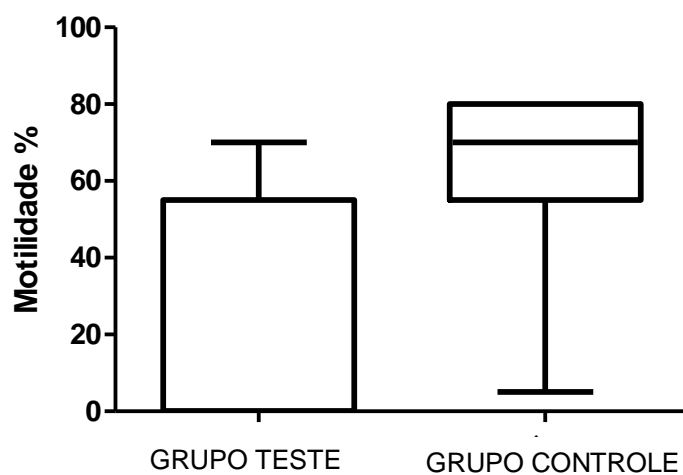
A avaliação do sêmen dos animais evidenciou azoospermia temporária, aos 18 dias, em um animal (1/9) do GRUPO TESTE e dois carneiros (2/9) do GRUPO CONTROLE, sendo constatada reversão do quadro nestes mesmos indivíduos após nova coleta realizada aos 32 dias de pós-operatório.

A lesão provocada pela agulha hipodérmica estéril 0,80 x 40mm, 21G x 1 ½ '' durante a transfixação total da cauda do epidídimo, não determinou a esterilização definitiva em nenhum dos animais (0/9) do GRUPO CONTROLE no período avaliado, sendo constatada nas amostras de sêmen analisadas ao 32º dia pós-operatório, a manutenção do volume, aspecto, coloração, turbilhonamento, motilidade e vigor espermáticos.

A transfixação total da cauda do epidídimo por meio de agulha hipodérmica estéril 0,80 x 40 mm, 21G x 1 ½ '', seguida da aplicação de dois ciclos de congelamento / descongelamento, pelo tempo de 60 segundos / 45 segundos respectivamente, proporcionou a esterilização cirúrgica em seis dos nove animais (6/9) do GRUPO TESTE, sendo possível detectar azoospermia no espermograma realizado após 32 dias da intervenção cirúrgica, sendo que destes animais, dois já apresentaram azoospermia no 18º dia. Nestes indivíduos, observou-se ainda a redução do volume do ejaculado, com alteração para um aspecto translúcido e incolor, sendo em alguns casos necessário um maior número de estímulos elétricos durante a coleta para obtenção destas amostras (Figura 10; 11 e 12) (ANEXO 04).

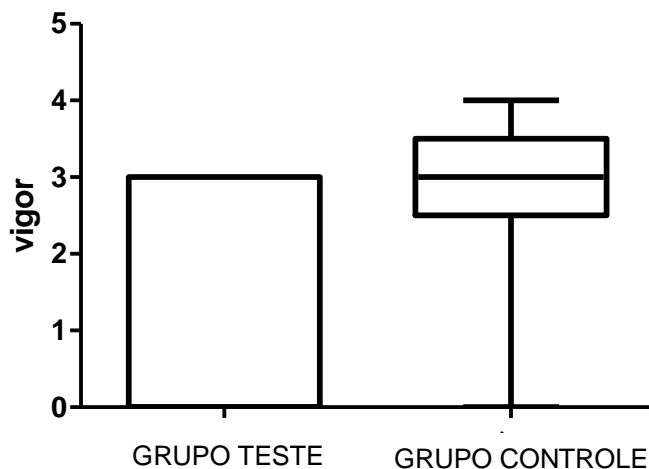


**Figura 10** – Gráfico do Turbilhonamento observado na avaliação do sêmen dos ovinos do GRUPO TESTE e GRUPO CONTROLE, antes e após 33 dias das intervenções cirúrgicas. Valor p 0,0128. UFRRJ. Dezembro de 2015.



**Figura 11** – Gráfico da Motilidade Espermática observada durante a avaliação do sêmen dos ovinos do GRUPO TESTE e GRUPO CONTROLE, antes e após 33 dias das intervenções cirúrgicas. Valor p 0,0058. UFRRJ. Dezembro de 2015.



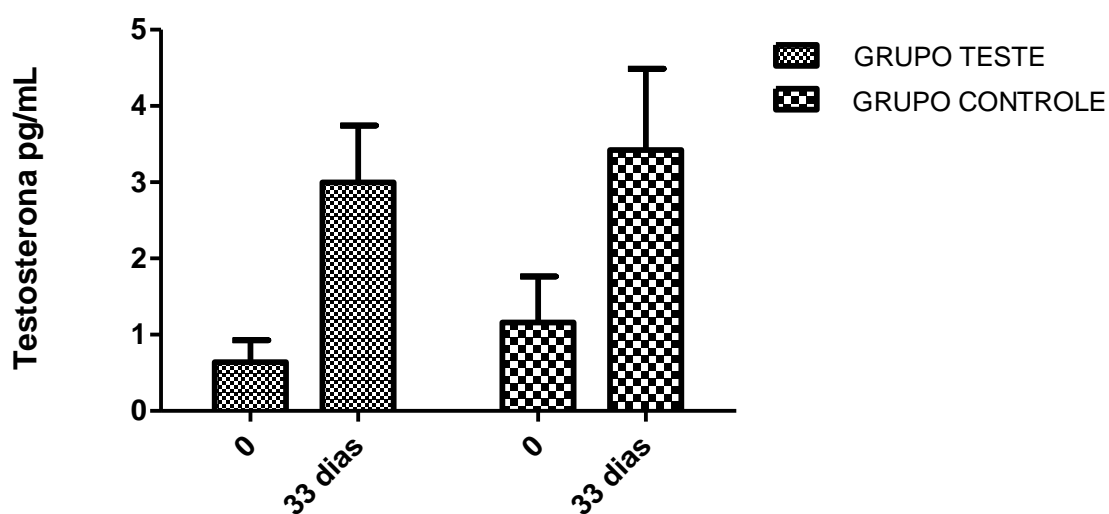


**Figura 12** – Gráfico do Vigor Espermático observada durante a avaliação do sêmen dos ovinos do GRUPO TESTE e GRUPO CONTROLE, antes e após 33 dias das intervenções cirúrgicas. Valor p 0,0249. UFRRJ. Dezembro de 2015.

Os resultados relativos às patologias espermáticas, obtidos a partir de amostras de ejaculado coletadas ao 18º e 32º dia após as intervenções cirúrgicas, evidenciaram um aumento no número de defeitos maiores e defeitos menores, em todos os animais, tanto do GRUPO TESTE, quanto do GRUPO CONTROLE, excetuando-se obviamente, aqueles que apresentaram um quadro de azoospermia (ANEXO 05).

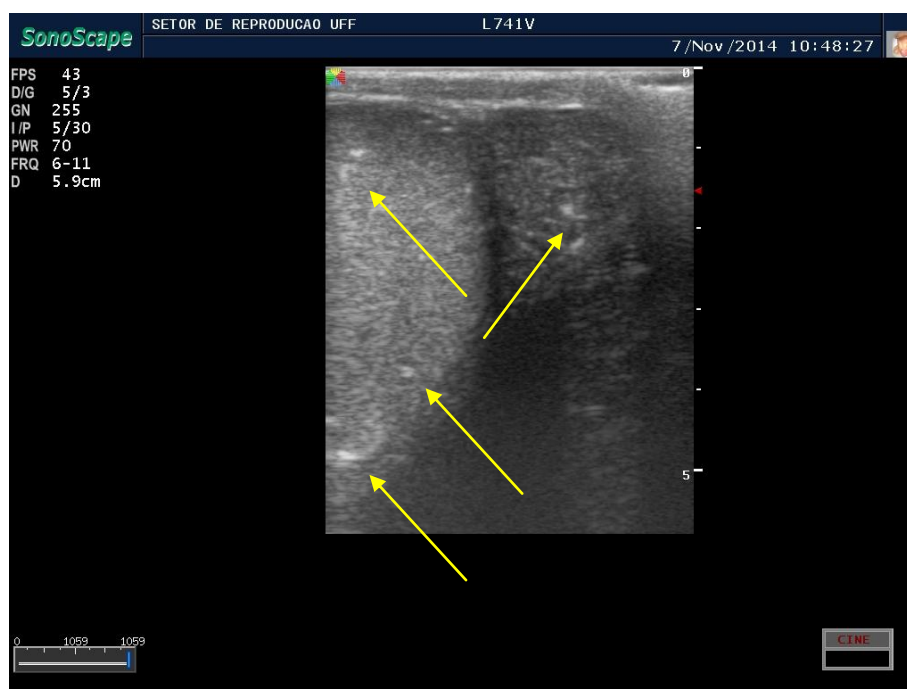
Não foram observadas alterações referentes à libido dos animais dos GRUPOS TESTE e CONTROLE, antes e depois da intervenção cirúrgica, com os carneiros mantendo o mesmo padrão de comportamento sexual observado antes dos procedimentos cirúrgicos, sendo que em ambos os ensaios houve animais que não realizaram a monta no transcorrer do teste (ANEXO 06).

Os resultados das dosagens de testosterona sérica total, obtidos a partir do soro dos carneiros utilizados no transcorrer do experimento, situaram-se dentro do ponto máximo e mínimo da curva, não sendo detectadas pela análise estatística empregada diferenças significativas entre os grupos estudados, antes e após a execução dos procedimentos cirúrgicos (Figura 13).



**Figura 13** – Gráfico da Dosagem de Testosterona Sérica dos carneiros dos GRUPOS TESTE e GRUPO CONTROLE, antes e após 33 dias da intervenção cirúrgica (P-valor 0,9210). UFRRJ. Dezembro de 2015.

O exame ultrassonográfico realizado antes da execução do ato cirúrgico evidenciou nos animais de ambos os grupos a presença de testículos com forma e dimensões normais, ecotextura homogênea com padrão isoecóico. Foi possível detectar a presença de microlitíases no parênquima testicular, com a formação de sombra acústica, em 16 dos 20 carneiros utilizados no experimento. Na análise dos epidídimos foram observadas forma e dimensões normais, ecotextura homogênea, e menor ecogenicidade comparada aos testículos (Figura 14).

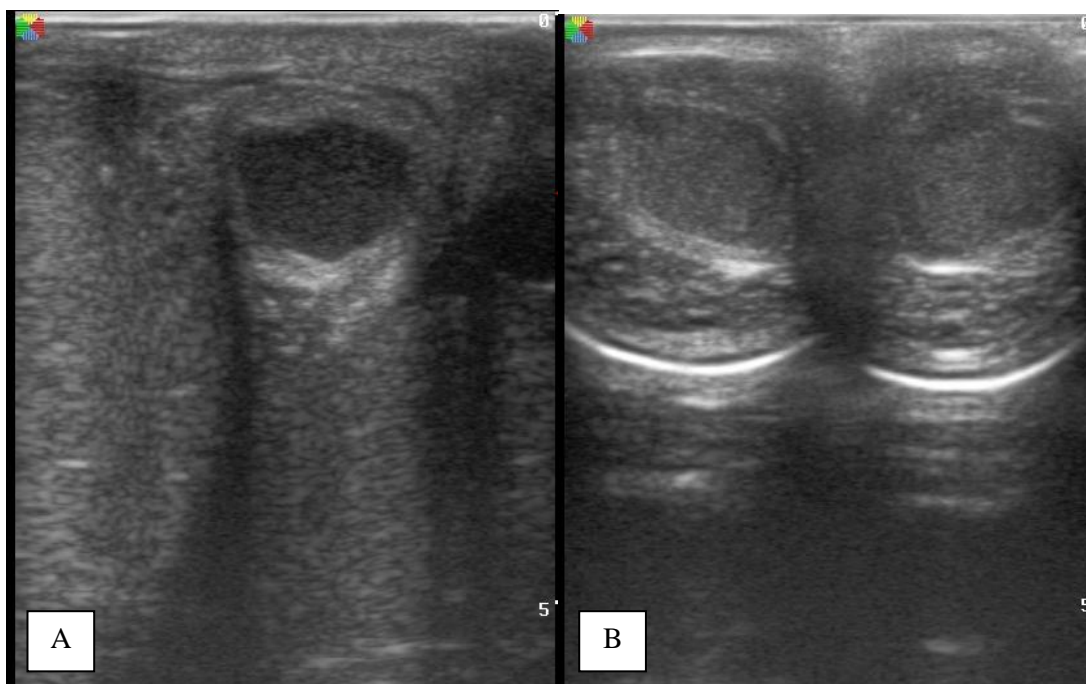


**Figura 14** – Imagem ultrassonográfica em Módulo B, corte longitudinal, evidenciando parênquima testicular com ecotextura homogênea e padrão isoecóico, presença de microlitíases (setas amarelas) formadoras de sombra acústica. Cauda do epidídimo com forma e dimensões normais, ecotextura homogênea e menor ecogenicidade comparada ao testículo. Ovino. GRUPO TESTE. FECM. Novembro de 2014.

A avaliação ultrassonográfica feita após 33 dias da intervenção cirúrgica demonstrou não terem ocorrido alterações nos testículos dos animais de ambos os grupos, com a manutenção da forma, dimensões e ecotextura homogênea com padrão isoecóico. Também não foram constatadas alterações referentes às microlitíases visualizadas no primeiro exame.

Por outro lado, as imagens obtidas da região da cauda do epidídimo dos animais do GRUPO TESTE evidenciaram aumento da forma e dimensões do órgão (ANEXO 07), com ecotextura heterogênea e presença de cavidades císticas em número e tamanhos variados, com conteúdo homogêneo hipoeecóico em seu interior. Foi possível observar a presença de conteúdo hipoeecóico localizado entre as túnica albugínea e vaginal visceral em sete dos nove (7/9) pacientes do GRUPO TESTE (Figura 15A e 15B).

Imagens semelhantes, mas com alterações menos intensas quanto à forma, dimensões e ecotextura, foram visualizadas durante os exames da cauda do epidídimo, executados nos pacientes do GRUPO CONTROLE, sendo constatada também a presença de conteúdo hipoeecóico localizado entre as túnica albugínea e vaginal visceral em cinco dos nove (5/9) ovinos do grupo.



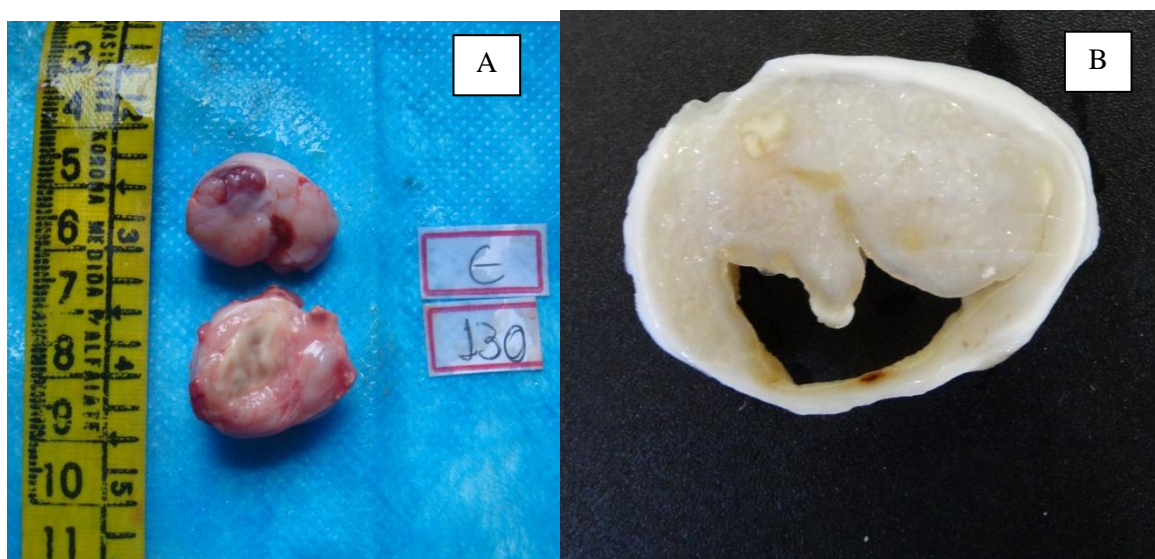
**Figura 15A** – Imagem ultrassonográfica em Módulo B, corte longitudinal da cauda do epidídimo, demonstrando forma e dimensões aumentadas, ecotextura heterogênea, contendo estrutura cística com conteúdo hipoeecóico ocupando uma grande área da região e presença de conteúdo hipoeecóico entre as túnica albugínea e vaginal. **Figura 15B** – Imagem em corte transversal, evidenciando ambas as caudas do epidídimo, com a presença de estrutura cística com conteúdo líquido hipoeecóico. Ovino. GRUPO TESTE. FECM. Dezembro de 2014.

A manobra deslocamento manual de um dos testículos em sentido proximal e compressão do órgão contralateral distalmente, facilitou a visualização e localização da cauda do epidídimo por meio de palpação, permitindo a introdução da agulha no sentido latero medial sem maiores dificuldades.

O uso de agulha hipodérmica estéril descartável 0,80 x 40mm, 21G x 1 ½ '' se mostrou eficiente, segura e de baixo custo, proporcionando a transfixação total do escroto e da cauda do epidídimo em seu maior eixo, bom fluxo de nitrogênio líquido e excelente condução das baixas temperaturas alcançadas pelo agente criogênico empregado, características fundamentais em procedimentos de criocirurgia intralesional.

O circuito montado com adaptadores em aço inoxidável e segmento de tubo de borracha proporcionou o acoplamento de agulha hipodérmica ao aparelho de criocirurgia, conferindo ainda maleabilidade ao sistema, facilitando assim a execução da técnica proposta e apresentando um baixo custo na sua confecção.

A execução de dois ciclos de congelamento / descongelamento, por 60 segundos / 45 segundos respectivamente, permitiu a destruição de grande quantidade de tecido da cauda do epidídimo nos animais do GRUPO TESTE (Figura 16A e 16B).



**Figura 16A** – Fragmentos de cauda do epidídimo (E1) e (E2), de carneiro submetido à esterilização cirúrgica minimamente invasiva com uso da criocirurgia, evidenciando a presença de foco hemorrágico e cisto com conteúdo amarelado em seu interior. GRUPO TESTE. FECM. Dezembro de 2014.

**Figura 16B** – Corte de cauda de epidídimo (E1), de carneiro submetido à esterilização cirúrgica minimamente invasiva com uso da criocirurgia, evidenciando grande área de lise, com formação de vacúolo, focos amarelados e ponto hemorrágico na túnica albugínea no local da penetração da agulha. GRUPO TESTE. UFRRJ. Março de 2015.

Notou-se uma leve redução do fluxo de nitrogênio através do circuito na ocasião do segundo ciclo de congelamento, apesar de inexistir qualquer obstrução no orifício de saída da agulha hipodérmica. Acreditamos que tal fato se deva à condensação no lúmen do tubo de borracha, perceptível à palpação do mesmo, sendo constatado discreto enrijecimento deste.

Foi possível observar nos animais do GRUPO CONTROLE uma pequena hemorragia cutânea no local de introdução da agulha, tal fato não foi notado nos animais do GRUPO TESTE, tendo sido inibido provavelmente pela ação do frio.

Em nenhum dos grupos analisados houve extravasamento de sêmen para o meio externo no momento de introdução e retirada da agulha.

Os cuidados com a mínima ferida cirúrgica existente ao término do procedimento e a terapêutica instituída no pós-operatório imediato foram eficientes na promoção de uma boa recuperação dos animais, permitindo um retorno às atividades normais logo após o despertar anestésico, não sendo necessários novos curativos, nem a aplicação de medicamentos nos dias subsequentes.

Não foram observados sinais de estresse, dor ou desconforto nos animais de ambos os grupos no transcorrer dos 33 dias de acompanhamento pós-operatório.

Todos os animais mantiveram a ingestão de água e alimentos normal nos 33 dias que seguiram o experimento, não sendo notados também quaisquer tipos de mudança em sua locomoção ou postura.

Foi constatado leve enfisema no escroto próximo a região da cauda do epidídimo, com pequena creptação, logo após a intervenção cirúrgica nos animais do GRUPO TESTE, desaparecendo a mesma de forma espontânea horas após a cirurgia.

Não foram observados sinais de edema, inflamação, infecção, fístulas, hematomas, hemorragias e miíases na região operada no transcorrer dos 33 dias de avaliação pós-operatória.

Não houve registro de óbitos até o término do experimento.

Foi detectada no escroto dos animais de pele escura submetidos à criocirurgia (GT), pequena cicatriz cutânea de formato circular, com área de despigmentação (Figura 17).

A orquiectomia dos animais por meio uma única incisão transversal no ápice do escroto permitiu uma boa visualização de ambos os testículos e epidídimos ainda envoltos pela túnica vaginal visceral não sendo constatada nenhuma aderência desta com o folheto parietal, nem com a albugínea nos animais de ambos os grupos (Figura 18).

A castração dos animais pela técnica de testículo e cordão descobertos permitiu uma boa visualização da túnica albugínea, cauda do epidídimo e estruturas anatômicas componentes do cordão espermático, sendo notada em alguns animais de ambos os grupos, a presença de grande quantidade de material de aspecto caseoso e coloração amarelada, sendo coletadas amostras para exame direto em microscópio óptico e posterior coloração pelo Gram, evidenciando-se tratar de um material asséptico, composto por espermatozoides mortos que provavelmente extravasaram pela lesão provocada no ducto do epidídimo, vindo a se acumular entre as túnicas albugínea e vaginal visceral, sem ocasionar qualquer tipo de complicação (Figura 19A e 19B).



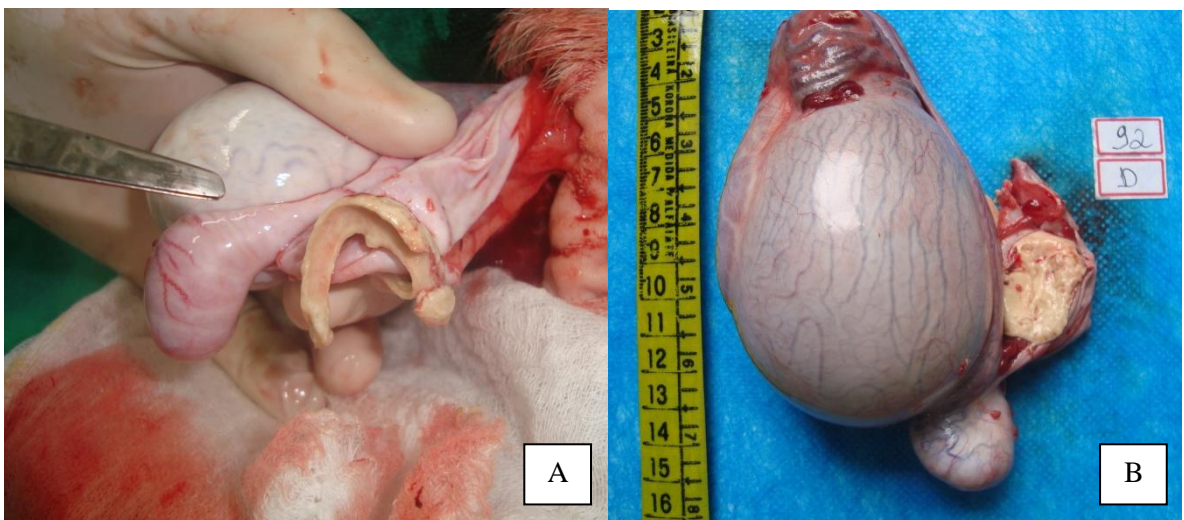
Fig.17



Fig.18

**Figura 17** – Cicatriz arredondada com área de despigmentação no escroto de carneiro submetido à esterilização cirúrgica minimamente invasiva com uso da criocirurgia. FECM. Junho de 2015.

**Figura 18** – Orquiectomia aberta demonstrando a ausência de aderências entre às túnica vaginal e albugínea de carneiro submetido à esterilização cirúrgica minimamente invasiva com uso da criocirurgia. FECM. Junho de 2015.



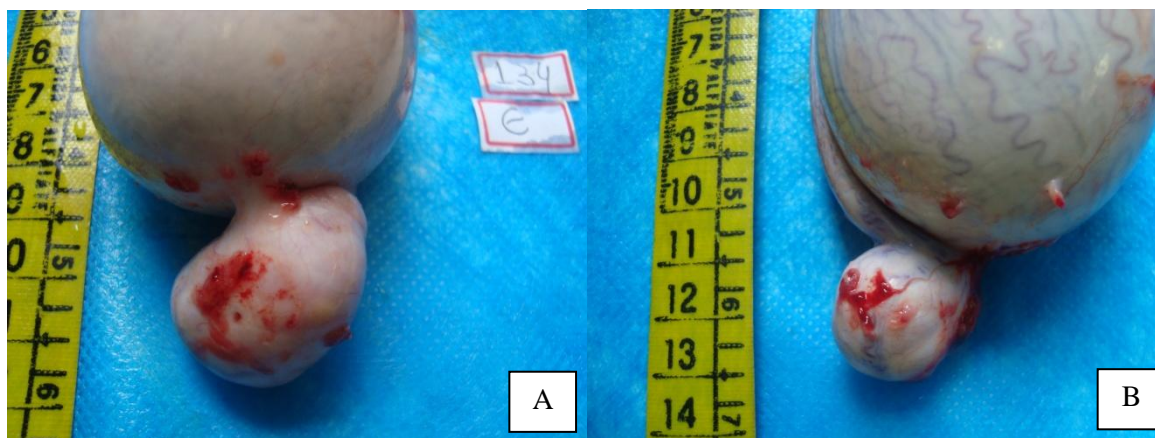
**Figura 19A; 19B** – Presença de material de aspecto caseoso e coloração amarelada, alojado entre as túnica vaginal visceral e albugínea, próximo á cauda do epidídimo de carneiro submetido à esterilização cirúrgica minimamente invasiva com uso da criocirurgia. FECM. Junho de 2015 e Dezembro de 2014.

Três animais do GRUPO CONTROLE apresentaram coágulo sanguíneo alojado entre as túnica vaginal e albugínea próximo ao local de penetração da agulha (Figura 20).



**Figura 20** – Presença de coágulo sanguíneo alojado entre as túnica vaginal visceral e albugínea, localizado próximo ao ponto de penetração da agulha na cauda do epidídimo. Ovino. Junho de 2015.

Em relação à cauda do epidídimo, foi possível observar aumento de volume em todos os animais, independente do grupo, com maior vascularização da região, e a presença de pequeno ponto hemorrágico no local de penetração e saída da agulha, além de cistos contendo material de coloração amarelado em seu interior. (Figura 21A e 21B).



**Figura 21A** – Cauda do epidídimo com forma e dimensões alteradas, evidenciação do orifício de penetração da agulha, focos hemorrágicos e pontos amarelados de carneiro submetido à esterilização cirúrgica minimamente invasiva com uso da criocirurgia. GRUPO TESTE. Dezembro de 2014.

**Figura 21B** - Cauda do epidídimo com forma e dimensões alteradas, vascularização aumentada, focos hemorrágicos e pontos amarelados. Ovino. GRUPO CONTROLE. FECM. Dezembro de 2014.

Não foram observadas alterações dignas de nota nos cordões espermáticos.

Durante a clivagem do material proveniente dos animais do GRUPO TESTE foi possível visualizar na região dos epidídimos a presença de grandes focos de coloração bege a amarelada, com aspecto de abscesso ou necrose, além da existência de grandes vacúolos e de uma maior evidenciação dos túbulos (Figura 22). De maneira geral não foram notadas

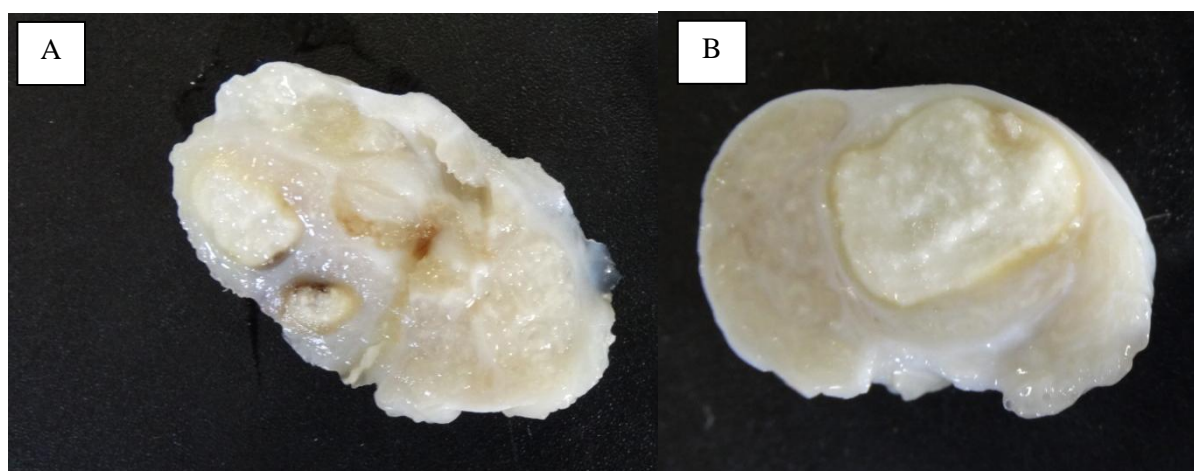
alterações dignas de nota nas amostras de testículo, exceto em um único caso no qual foi constatada uma estria de sangue no parênquima do testículo direito. (Figura 23).

Já nos cortes oriundos do GRUPO CONTROLE, notou-se a presença de múltiplos focos amarelados circunscritos distribuídos pelo parênquima, sendo alguns confluentes, assim como áreas de lise e fibrose adjacentes. Foi constatada ainda existência em alguns casos de pontos hemorrágicos no local da introdução da agulha, com a presença de coágulos aderidos à albugínea. As amostras de testículo não apresentaram alterações significativas (Figura 24A e 24B).



**Figura 22** – Corte de cauda de epidídimo (E2), evidenciando grande área de lise, com formação de vacúolo, foco amarelado e evidência dos túbulos. Ovino. GRUPO TESTE. UFRRJ. Março de 2015.

**Figura 23** – Fragmento de testículo (T) evidenciando estria de sangue. Ovino. GRUPO TESTE. UFRRJ. Março de 2015.

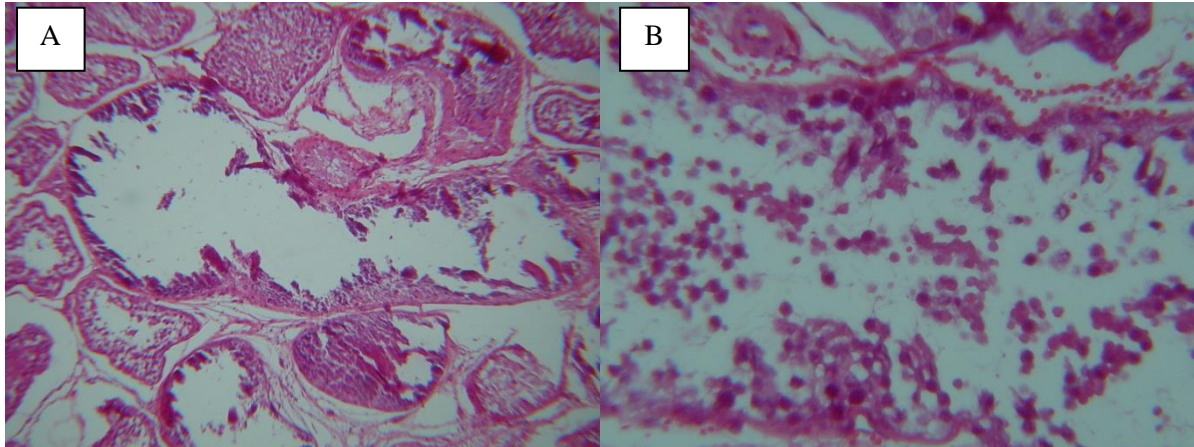


**Figura 24A** - Corte de cauda do epidídimo (E1), evidenciando múltiplos focos amarelados circunscritos distribuídos pelo parênquima, alguns confluentes. Ovino. GRUPO CONTROLE. UFRRJ. Março de 2015.

**Figura 24B** – Corte de cauda de epidídimo (E2) apresentando grande massa amarelada. Ovino. GRUPO CONTROLE. UFRRJ. Março de 2015.



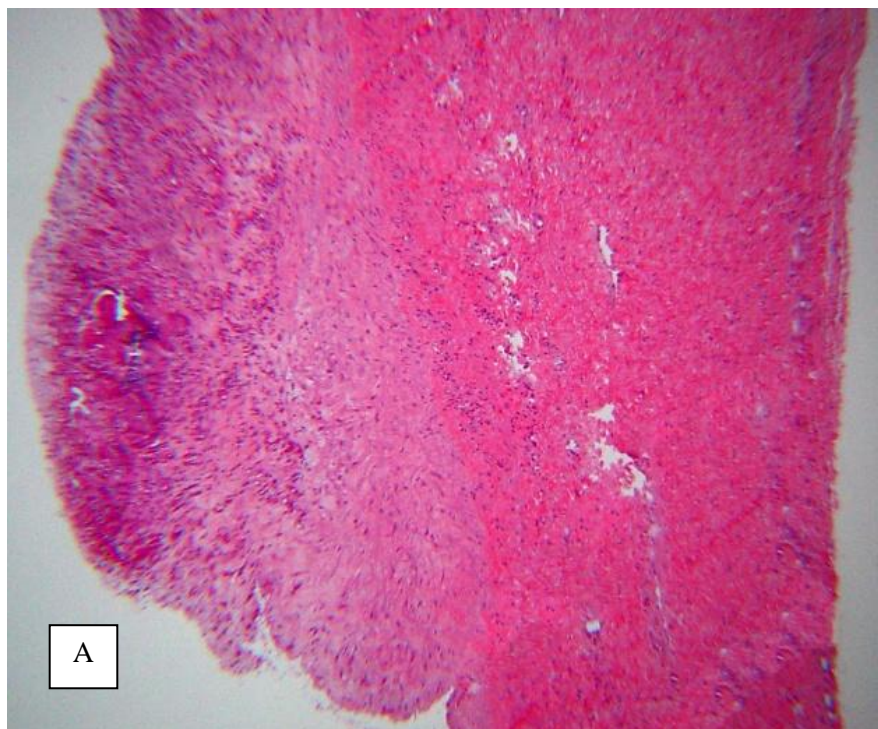
As avaliações histopatológicas realizadas nas lâminas provenientes dos animais do GRUPO TESTE evidenciaram a existência de focos de mineralização no parênquima testicular (diagnosticados previamente no exame ultrassonográfico), áreas com túbulos seminíferos contraídos, membranas basais irregulares e desprendidas do estroma, acentuada vacuolização difusa das células germinativas, ausência de células da linhagem espermática em alguns pacientes, com redução na produção de espermatozoides e a presença de espermatozoides necróticos no centro dos túbulos. (Figura 25A e 25B).



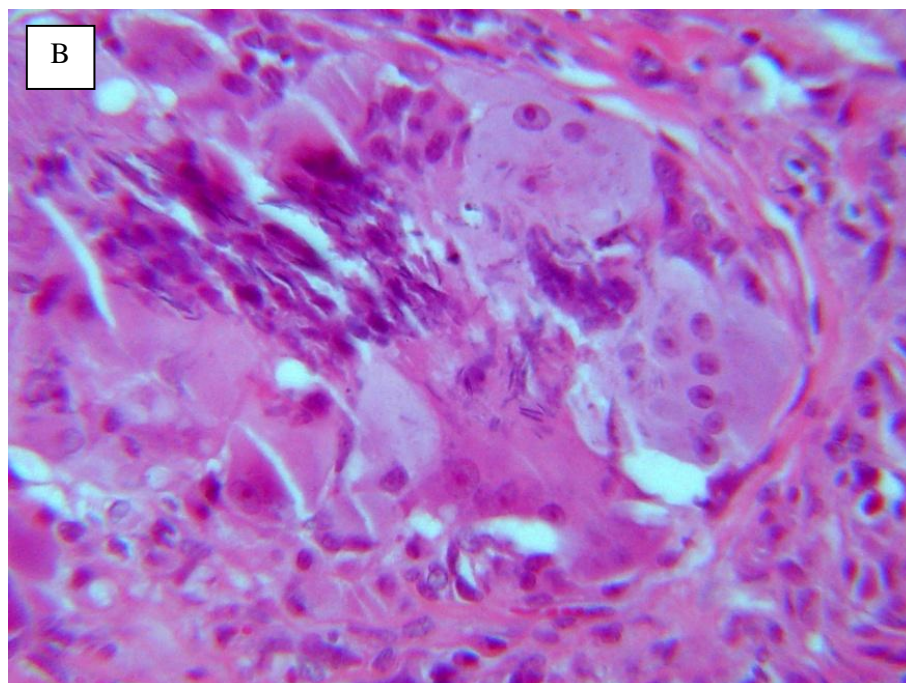
**Figura 25A** – Foco de mineralização de túbulos seminíferos, vacuolização; diminuição das células da linhagem espermática; membranas basais irregulares e desprendidas. Ovino. GRUPO TESTE. Testículo. HE. Obj.4x.

**Figura 25B** – Acentuada vacuolização difusa das células germinativas dos túbulos seminíferos e rarefação das células da linhagem espermática. Ovino. GRUPO TESTE. Testículo. HE. Obj. 20x. UFRRJ. Abril. 2015.

A análise do material das caudas dos epidídimos dos indivíduos do GRUPO TESTE revelou o espessamento das túnica vaginal e albugínea (vaginalite), extravasamento de sêmen para o interstício, com a ocorrência de forte inflamação granulomatosa com grande quantidade de macrófagos e células gigantes (granuloma espermático), circundado por reação fibroblástica e perivascularite mononuclear. Foi observada a presença de vacúolos em números e tamanhos variados, ocupando em alguns casos mais da metade da área da cauda do epidídimo, com a estase de espermatozoides no seu interior. Notou-se ainda pontos hemorrágicos e a formação de fenda no provável ponto de transfixação da agulha, estendendo-se desde as túnica até o tecido do epidídimo. (Figura 26A e 26B).

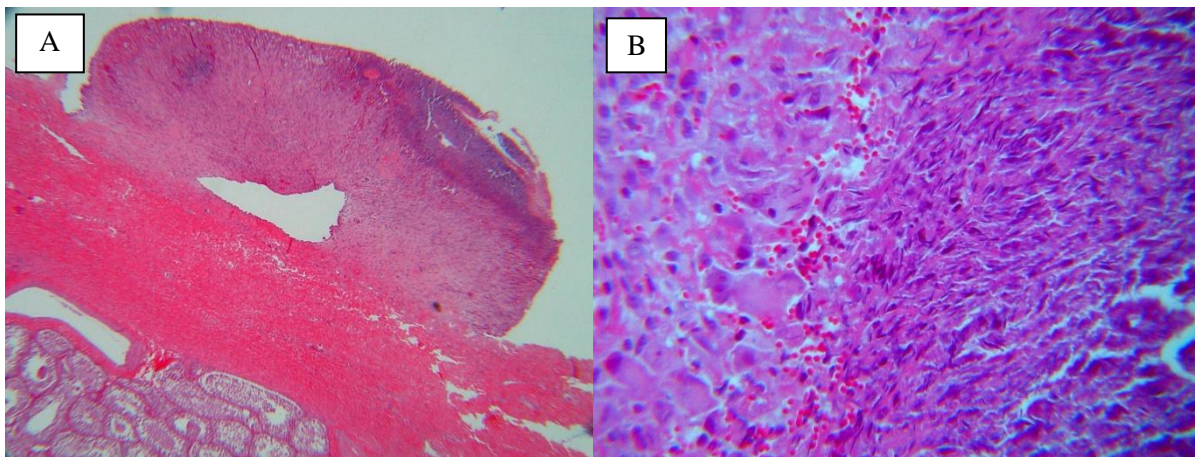


**Figura 26A** – Espessamento das túnicas vaginal e albugínea; inflamação granulomatosa com células gigantes e espermatozoides (vaginalite / granuloma espermático) no ponto de penetração da agulha. Ovino. GRUPO TESTE. HE. Obj. 4x. UFRRJ. Abril. 2015.



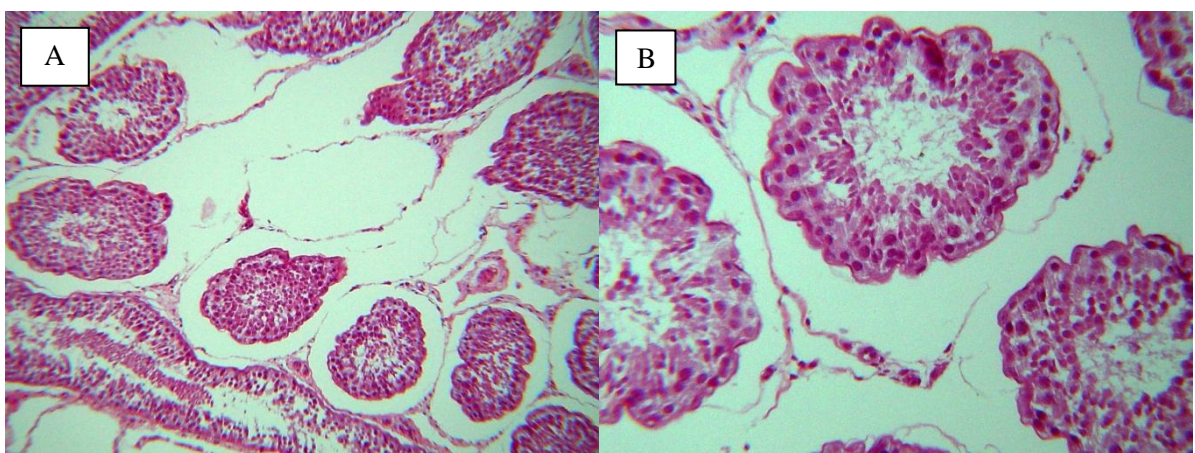
**Figura 26B** – Espermatozoides fagocitados por macrófagos e células gigantes. Ovino. GRUPO TESTE. Epidídimo. HE. Obj.20x. UFRRJ. Abril 2015.

Os achados obtidos a partir da avaliação microscópica do material oriundo dos pacientes do GRUPO CONTROLE muito se assemelham aos encontrados nos do GRUPO TESTE, com a ocorrência de extravazamento de sêmen, envolto por reação granulomatosa (Figura 27A e 27B), fagocitose, edema, hemorragia, fibrose intersticial e perivasculite mononuclear. Observou-se também a formação de grandes vacúolos preenchidos por espermatozoides e estase destes. Chamou atenção às alterações presentes no parênquima testicular, com microvacuolização e necrose de células da linhagem espermática de muitos túbulos seminíferos com diminuição da produção espermática, aumento do espaço intersticial interlobular, membranas basais irregulares, focos de mineralização (Figura 28A e 28B).



**Figura 27A;** – Granuloma espermático na superfície vaginal. Ovino. GRUPO CONTROLE. Testículo. HE. Obj. 4x. UFRRJ. Abril de 2015.

**Figura 27B** – Extravassamento de sêmen com intensa reação inflamatória. Ovino. GRUPO CONTROLE. Testículo. HE. Obj. 20x. UFRRJ. Abril de 2015.



**Figura 28A** – Desprendimento da membrana basal. . Ovino. Túbulos Seminíferos. Testículo. GRUPO CONTROLE. HE. Obj. 4x. UFRRJ. Abril de 2015.

**Figura 28B** – Membranas basais onduladas e destruição das células da linhagem espermática. Ovino. Túbulos Seminíferos. Testículo. GRUPO CONTROLE. HE. Obj. 20x. UFRRJ. Abril de 2015.

## 5 DISCUSSÃO

A execução de um estudo piloto foi essencial para o bom andamento dos ensaios experimentais, principalmente por se tratar de uma técnica cirúrgica inovadora, permitindo avaliar quais os melhores sítios de introdução e posicionamento das agulhas, adequação do protocolo anestésico ao procedimento cirúrgico, assim como escolha da técnica e do tempo de congelamento / descongelamento a ser posteriormente utilizado no ensaio experimental.

A aquisição de animais em uma única propriedade e a realização previa de exame andrológico no momento da compra, se mostrou extremamente útil, permitindo a exclusão de indivíduos enfermos, confirmação da puberdade e a obtenção de lotes mais homogêneos quanto à faixa etária, peso corporal e perímetro escrotal.

A realização de uma nova avaliação clínica, assim como exames complementares básicos como hemograma e OPG, permitiu a detecção de alterações subclínicas, como anemia, verminose, e suas correções, garantindo assim a higidez dos animais no momento do início dos estudos experimentais. O período de aclimação de 15 dias também se mostrou importante na promoção do bem estar dos animais e sua adaptação ao ambiente, dieta e tratadores.

A repetição do exame andrológico, pelo mesmo profissional, no dia que antecedeu o experimento, foi fundamental para confirmação da higidez dos pacientes e constatação de discretas alterações relativas ao perímetro escrotal e consistência dos testículos, provocadas provavelmente pelo estresse térmico e piora no escore corporal dos animais ocorrido no período desde a chegada dos mesmos a propriedade até o início do experimento.

A faixa etária dos animais utilizados no experimento, variando de 8 a 12 meses, se mostrou útil para a análise das observações pretendidas no presente estudo, tendo em vista que todos os indivíduos já se encontravam na puberdade, apresentando interesse sexual, desbridamento do pênis e espermatozoides viáveis no sêmen ejaculado, coincidindo com a idade de 6 a 8 meses descrita por diferentes autores como (BUCKRELL 1987; BISPO *et al* , 2003; HAFEZ, 2004; MONTEIRO, 2007; FELICIANO, 2013; OLIVEIRA, 2013), lembrando ainda que estes trabalhos citam a correlação do peso e condição corporal, com o perímetro escrotal e a manifestação dessas características sexuais, confirmando mais uma vez nossos achados, nos quais os animais apresentavam peso compatível com a idade e escore corporal satisfatório, variando de dois a três, numa escala de máxima de cinco.

A realização de dois ensaios experimentais, com animais de ambos os grupos, em épocas do ano absolutamente distintas, nas quais observa-se grandes variações dos índices pluviométricos e de temperaturas, se mostrou interessante na validação dos resultados, não tendo sido observadas diferenças significativas entre os ensaios, apesar da existência de relatos na literatura (HAFEZ, 2004; OLIVEIRA, 2013) comprovando a sazonalidade no ciclo reprodutivo de ovinos, causando alterações no perímetro escrotal, libido e na qualidade do sêmen dos animais, sendo estes fenômenos observados mesmo em países tropicais como o nosso, sendo o estresse térmico e a qualidade das pastagens, os principais responsáveis nestes casos e não a luminosidade.

A mensuração das dimensões dos testículos e epidídimos por meio de paquímetro se mostrou pouco prática e com resultados imprecisos devido a interposição de estruturas anatômicas, apesar de ser um método consagrado e validado pelo CBRA (2013). O uso de fita milimétrica para aferição da circunferência escrotal se mostrou simples, rápida e eficiente, conforme descrito por RODRIGUES (2004).

A coleta de sêmen por meio de eletroejaculador mostrou-se rápida e eficiente, principalmente por se tratar de animais jovens, que apesar de púberes, não tinham experiências sexuais prévias, nem tão pouco estavam condicionados à coleta por vagina artificial, estando de acordo com HAFEZ (2004); RODRIGUES (2004); CBRA (2013); OLIVEIRA (2013).

No presente estudo optamos pela realização de três coletas de sêmen, sendo a primeira realizada no dia que antecedeu o experimento, a segunda no 18º dia de pós-operatório e a terceira no 33º dia. A escolha das datas foi feita baseada na literatura veterinária (ROSENBERG, 1956; RESENBURG *et al.*, 1963; TURNER & Mc ILWRAITH, 1985; BUCKERLL, 1987; TAMADON *et al.*, 2010) e em comunicações orais de Médicos Urologistas, que recomendam um período de 15 dias de repouso sexual absoluto, sendo esta fase necessária para organização da resposta inflamatória e cicatrização tecidual em casos de pacientes humanos vasectomizados. A necessidade de uma nova coleta no 33º dia levou em consideração o tempo de trânsito do espermatozoide ao longo do epidídimo, que segundo HAFEZ (2004) varia de 9 a 13 dias, enquanto OLIVEIRA (2013) afirma ser de 16 dias.

Desta forma, foi possível a constatação de azoospermia em seis dos nove (6/9) animais do GRUPO TESTE (GT) ao final do período de 33 dias, sendo que dois animais já apresentaram azoospermia definitiva no 18º dia de pós-operatório, coincidindo com os achados de RESENBURG (1963) que reporta ter encontrado necrospermia nos animais vasectomizados passados cinco dias da intervenção cirúrgica, e quadro de azoospermia após duas semanas em pacientes de submetidos à vasectomia e epididimectomia, enquanto TAMADON *et al.* (2010) reportam não ter encontrado motilidade espermática ou espermatozoides vivos no ejaculado de ovinos submetidos a ligadura da cauda do epidídimo após três semanas da intervenção cirúrgica.

Uma possível justificativa para a detecção de azoospermia em apenas seis dos nove (6/9) animais do GRUPO TESTE (GT) aos 33 dias de pós-operatório, talvez se deva ao fato não podermos garantir o repouso sexual ao longo do período de estudo, existindo a possibilidade de sodomia, ou até mesmo masturbação por parte destes pacientes, o que poderia levar ao esgotamento das reservas espermáticas craniais ao sítio da lesão provocada pela criocirurgia, justificando assim a apresentação de um quadro de azoospermia em alguns indivíduos de maneira mais precoce do que no restante do lote, estando de acordo com OLIVEIRA (2013) que reporta que o tempo de passagem dos espermatozoides pelo epidídimo pode sofrer uma redução de 10 a 20% com o aumento da frequência de ejaculações, afirmando ainda existir correlação direta entre capacidade de armazenamento, concentração espermática e esgotamento, atingindo-se um valor máximo de estocagem com a ausência de ejaculação por um período de 10 dias e redução de até 25% desta capacidade em animais que ejaculam diariamente, ressaltando serem necessárias em média 10 ejaculações sucessivas para se alcançar a exaustão.

Acreditamos que a extensa área de necrose provocada pela criocirurgia nos pacientes do GRUPO TESTE (GT) tenha impossibilitado as chances de recanalização espontânea do ducto epididimário, coincidindo com os resultados obtidos por ROSENBERG (1956) e

TAMADON *et al* (2010), ao passo que o trauma causado pela agulha provocado no GRUPO CONTROLE (GC), gerou apenas a secção dos túbulos, com extravasamento de sêmen, e consequente resposta inflamatória, permitindo uma posterior anastomose dos mesmos, confirmada pela detecção de espermatozoides viáveis em 100% dos pacientes do GRUPO CONTROLE (GC), se assemelhando aos achados de RESENBURG (1963) no qual o autor observou recanalização espontânea com consequente reversão do quadro de azoospermia passados 18 meses, em 67% dos animais, submetidos à ressecção parcial da cauda do epidídimo.

Baseados no exame físico, imagens ultrassonográficas e achados macro e microscópios na região da cauda do epidídimo dos ovinos do GRUPO TESTE (GT), julgamos ser pouco provável que os demais carneiros não tenham ficado estéreis, acreditando sim que o número de coletas e talvez o período de observação tenham sido insuficientes na constatação do quadro de azoospermia nestes animais, estando tal fato de acordo com os estudos de OLIVEIRA (2013) que afirma serem necessárias 10 ejaculações sucessivas para se alcançar a exaustão, enquanto RODRIGUES (2004) reporta não ter observado esgotamento, e sim estabilização dos valores na concentração espermática em ovinos adultos submetidos a seis coletas diárias, por um período de 10 dias, e do CBRA (2013), no qual os autores citam a possibilidade de realização de até cinco coletas diárias por animal por meio de vagina artificial, sem comprometimento da concentração espermática e qualidade do sêmen.

Outra possibilidade para não observação de azoospermia em todos os animais do GRUPO TESTE (GT), talvez se deva a existência de grandes reservas extragonadais na espécie ovina, presentes na região compreendida entre o local da lesão no ducto epididimário e a junção do ducto deferente a uretra, fato confirmado por LEIDL & BERCHTOLD (1961) e HAFEZ (2004) que citam a presença de espermatozoides na *Ampulla* como justificativa da observação de gametas no ejaculado coletado de animais orquiectomizados, mesmo após semanas da extirpação cirúrgica dos testículos e epidídimos, enquanto RESENBURG (1963) relata a presença de elevada concentração de espermatozoides mortos ou degenerados no sêmen coletado de animais submetidos à vasectomia mesmo após seis a oito meses da intervenção cirúrgica.

A avaliação do sêmen dos animais evidenciou azoospermia temporária aos 18 dias em um carneiro do GRUPO TESTE (GT) e dois animais do GRUPO CONTROLE (GC), sendo constatada reversão do quadro nestes mesmos indivíduos após nova coleta realizada aos 32 dias de pós-operatório, atribuindo-se tal fato ao trauma causado pela agulha durante a transfixação da cauda do epidídimo, com secção dos ductos e consequentes hemorragias e extravasamento de espermatozoides, levando a intensa resposta inflamatória transitória, confirmada pela análise histopatológica que evidenciou a formação de granulomas espermáticos, estando de acordo com o CBRA (2013) que cita que situações muito menos graves como transporte, mudanças no manejo, estresse térmico e práticas zootécnicas como casqueamento e vacinações, podem causar quadros de infertilidade temporária em ovinos. Outros autores como HAFEZ (2004); FELICIANO (2013); OLIVEIRA (2013) reportam, que a presença de granulomas espermáticos na cauda do epidídimo pode ocasionar infertilidade ou subfertilidade em ovinos.

As análises estatísticas não demonstraram haver alterações significativas nos valores de circunferência escrotal mensurados antes e após 32 dias do procedimento cirúrgico realizado nos animais do GRUPO TESTE (GT), concordando com os resultados de TAMADON *et al* (2010) ao promoverem o preparo de rufiões ovinos por meio da ligadura da cauda do epidídimos.

No presente estudo foi possível detectar durante o exame físico dos animais realizado no 32º dia, o aumento da cauda do epidídimo em todos os ovinos do GRUPO TESTE (GT), com a região se apresentando de aspecto irregular, consistência firme, não sendo observada manifestação de dor à palpação da região em nenhum dos animais. O exame ultrassonográfico e as análises macro e microscópicas das peças cirúrgicas coletadas destes pacientes confirmaram a presença de um ou mais vacúolos, de grandes dimensões, estando estes achados de acordo com os observados por RESENBURG (1963), que atribui tal fato a formação de espermatocelos em pacientes estéreis após epididimectomia.

Os achados ultrassonográficos encontrados nos exames realizados previamente à intervenção cirúrgica foram compatíveis com os descritos na literatura, exceto a região da cauda do epidídimo, descrita em nossos estudos como com formas e dimensões normais, ecotextura homogênea e menor ecogenicidade em relação aos testículos, divergindo da interpretação de FELICIANO (2013), que descreve esta porção do epidídimo como sendo heterogênea e hipoecoica.

O exame ultrassonográfico em Módulo B com uso de transdutor liner de 7,5 MHz se mostrou útil como um meio de diagnóstico complementar as demais etapas do exame andrológico de ovinos, sendo um método fácil, rápido, não invasivo e seguro, permitindo a comparação das imagens obtidas antes e após os procedimentos cirúrgicos, proporcionando a detecção precoce de alterações no parênquima testicular, caudas do epidídimo e túnicas, proporcionando ainda a mensuração da biometria das caudas do epidídimo em valores mais fidedignos do que as obtidas por meio de paquímetro, estando de acordo com os estudos de diversos autores (JUCÁ, *et al.* 2009; TEIXEIRA, *et al.* 2011; ANDRADE, *et al.* 2012; FELICIANO, *et al.* 2013; OLIVEIRA, *et al.* 2013). Apesar de estes autores recomendarem a realização do exame com o paciente preferencialmente em posição quadrupedal, assim como a remoção dos pelos do escroto e uso abundante de gel, ou a submersão do órgão em vasilhame com água na tentativa de melhorar a definição das imagens obtidas, no presente estudo optamos por trabalhar com o paciente sob contenção farmacológica e mecânica, posicionado sobre a mesa em decúbito lateral direito, assim como a manutenção dos pelos evitando-se assim lacerações no escroto que pudessem vir a ocasionar complicações futuras, obtendo imagens de boa qualidade com esta metodologia, além de maior conforto ao paciente e ao Médico Veterinário durante a execução dos exames, com a possibilidade de estar sentado e em ambiente refrigerado.

Feliciano (2013) descreve granulomas espermáticos presentes na cauda do epidídimo como áreas anecoicas ou de ecogenicidade mista, envoltas por uma capsula hiperecoica e sem a dilatação do mediastino. Ao realizarmos novos exames após 33 dias da primeira intervenção, pudemos constatar especialmente nos animais do GRUPO TESTE (GT) o aumento das dimensões da cauda do epidídimo, com alteração em sua forma, sendo observado ecotextura heterogênea e a presença de cavidades císticas ocupando boa parte da região, com conteúdo homogêneo hipoecóico em seu interior, interpretando no momento da avaliação estes achados como sendo possíveis espermatocelos ou granulomas espermáticos, discordando pois, da imagem descrita pelo autor supracitado.

A realização do teste de libido no final da tarde proporcionou um bom conforto térmico aos animais, excluindo o calor como fator de interferência no comportamento sexual, concordando com HAFEZ (2004), CBRA (2013), OLIVEIRA (2013) que afirmam que o comportamento sexual de carneiros sofre influenciado por diversos fatores, como ambiente, temperatura, nutrição adequada, idade, genética e experiências anteriores.

No entanto, a faixa etária dos animais e a inexistência de contato prévio com fêmeas após a desmama, não interferiram na resposta de boa parte dos indivíduos na detecção do cio e na manifestação de interesse sexual pelas fêmeas, discordando de OLIVEIRA (2013) que cita estes fatores como possíveis complicadores na não detecção do cio.

Confirmando o que já se havia observado no dia a dia, ficou clara a relação hierárquica dentro dos lotes, com os animais dominantes manifestando libido e realizando a monta mais rapidamente do que os demais. Observou-se que com a retirada destes do grupo após a monta, aos poucos os demais animais passaram a manifestar sinais de interesse sexual, como cheirar as fêmeas, torcer os lábios, fazer a corte, lambe a vulva e colocar a cabeça sobre a região da cernelha das fêmeas, vindo a realizar a monta em alguns casos, tal observação está de acordo com os relatos de HAFEZ (2004) e OLIVEIRA (2013) nos quais os autores citam que indivíduos mais submissos muitas das vezes são impedidos de copular, obedecendo à escala de dominância existente dentro do lote.

O teste de libido executado se mostrou útil na confirmação da existência ou não de interesse sexual por parte dos animais, demonstrando a capacidade de serviço de cada um dos indivíduos, antes e após as intervenções cirúrgicas, nós permitindo desta forma, detectar possíveis interferências causadas pela técnica cirúrgica proposta no comportamento sexual dos mesmos, não sendo necessária a utilização de escalas para quantificação da libido dos animais, como as criadas por OSBORNE (1971) e modificada por CHENOWETH (1974), normalmente implementadas na seleção de reprodutores.

A manutenção da libido e do comportamento sexual dos animais, de ambos os grupos, avaliados no 32º de pós-operatório, demonstrou não existir interferência da técnica cirúrgica proposta no parâmetro avaliado, estando de acordo com TAMADON *et al.* (2010), que afirmam não terem observado alterações referentes a libido dos carneiros passados 28 dias da aplicação da técnica de preparo de rufiões ovinos por meio de ligadura percutânea da cauda do epidídimo.

A ausência de sinais indicativos de dor nos carneiros de ambos os grupos, durante a avaliação comportamental dos lotes, assim como na execução do teste de libido e na realização do exame andrológico no 32º dia de pós-operatório, pode ser considerado um resultado positivo, pois segundo OLIVEIRA (2013), a dor é prejudicial à manifestação do interesse sexual, podendo afetar inclusive a espermatogênese em casos crônicos.

O protocolo anestésico utilizado nos animais, com a administração de tranquilizantes, associados a um opióide, um anestésico dissociativo e um anti inflamatório não esteroide, se mostrou seguro, simples e de baixo custo, fornecendo analgesia e tempo de anestesia compatíveis com o grau de trauma e tempo cirúrgico necessário para a execução da técnica proposta no animais do GRUPO TESTE (GT), diferindo das técnicas anestésicas normalmente empregadas em ruminantes, nas quais opta-se por anestésias locais infiltrativas ou locoregionais, acrescidas quando necessário da administração previa de um sedativo alfa 2 agonista ou um tranquilizante fenotiazínico isoladamente (RENSBURG *et al.*, 1963; LAZZERI, 1994; KENT *et al.*, 2000; SILVA *et al.*, 2003; PADUA *et al.*, 2003; SILVA *et al.*, 2005; SILVA *et al.*, 2006; ALVES, 2007; TAMADON *et al.*, 2010; BELLINAZZI *et al.*, 2013), estando de acordo no entanto com os protocolos adotados para orquiectomia de equinos (ALVES, 2007; FINGER *et al.*, 2011; DI FILIPPO *et al.*, 2014).

A preocupação com o controle da dor trans e pós-operatória, por meio de analgesia preemptiva e multimodal, proporcionou uma boa recuperação dos pacientes de ambos os



grupos, estando de acordo com os preceitos do bem estar animal descrito por (BROOM & MOLENTO (2004); PAIXÃO (2007); DANY *et al.* (2010); ROSSETO *et al.* (2012) e diversos trabalhos que apontam a dor como um fator deletério ao organismo animal, afetando não só o comportamento social do indivíduo, como também trazendo prejuízos ao sistema endócrino e imunológico, interferindo no ganho de peso e agindo como um facilitador na ocorrência de infecções oportunistas, sendo estas alterações facilmente detectadas a partir da análise do sangue e líquido peritoneal desses pacientes conforme demonstrado nos estudos de DUPAS *et al.* (1987); KENT *et al.* (2000); ALVES (2007); GRANDIN (2010); BELLINAZZI *et al.* (2013); DI FILIPPO *et al.* (2014).

A técnica de esterilização cirúrgica masculina minimamente invasiva com o emprego da criocirurgia, proposta como um novo método de esterilização cirúrgica hora testado em ovinos, está de acordo com as tendências atuais da cirurgia moderna, que busca cada vez mais novos procedimentos eficientes, porém pouco lesivos ao organismo, permitindo assim uma rápida recuperação do paciente no pós-operatório, podendo tal fato ser observado nos estudos de BAUST *et al.* (1997); HOWE (2006); TAMADON *et al.* (2010); LUZ & BUSSADE (2011); MACCINI *et al.* (2011); KUMAR & RAJ (2012).

Pereira *et al.* (1977); Dupas *et al.* (1987); Lazzeri, (1994); Carvalho *et al.* (2001); Silva *et al.* (2001); Ribeiro *et al.* (2003); Padua *et al.* (2003); Silva *et al.* (2003); Silva *et al.* (2005); Silva *et al.* (2006); Garnerio & Perusia (2006); Alves (2007); SILVA *et al.* (2009); Busk *et al.* (2010); Finger *et al.* (2011); Lopes & Silva (2014); Di Filippo *et al.* (2014); Vaz *et al.* (2015), não apresentam um consenso a respeito da melhor técnica cirúrgica a ser empregada na castração de animais de produção, concordando porém que a melhor técnica é aquela que acarreta um menor índice de complicações trans e pós operatórias, levando a menos estresse e dor ao animal, não comprometendo o ganho de peso e minimizando as perdas econômicas do produtor rural. Destacam entre as complicações mais frequentemente observadas, as hemorragias de diferentes graus, dor, perda de peso, edema, retenção de coágulos, miíases, inflamação, infecções locais ou sistêmicas, funiculites, fistulas, peritonites, eviscerações, necrose do escroto, casos de tétano e óbito, além de falhas no procedimento com necessidade de reintervenção em alguns pacientes operados por meio de Burdizzo. Em nossos estudos, não foram observados ao longo dos 33 dias de pós-operatório sinais indicativos de dor, falta de apetite, perda de peso, edema, hemorragia, inflamação, infecção ou miíase na região operada em nenhum dos animais do GRUPO TESTE (GT).

Também não foram registrados casos de óbito nos grupos estudados durante a realização do experimento, ao contrário dos achados de autores como SILVA *et al.* (2003); SILVA *et al.* (2006); ALVES (2007); DI FILIPPO *et al.* (2014), que citam as hemorragias trans e pós operatórias como a causa mais frequente de morte. Outros trabalhos publicados por ALVES (2007); OLIVEIRA *et al.* (2009); ALMEIDA *et al.* (2012) reportam casos de tétano e carbúnculo no pós operatório de animais submetidos a esterilização cirúrgica, afirmando ser mais frequentemente observados em ovinos castrados por meio de anel de borracha e em bovinos operados pela técnica de esmagamento linear com Burdizzo.

A correta higienização e posterior antisepsia criteriosa da região operada, seguidas da implementação de técnica cirúrgica asséptica, contribuíram para a inexistência de infecção pós-operatória local ou sistêmica nos pacientes de ambos os grupos, estando tal fato de acordo com diversos autores (LAZZERI, 1994; PADUA *et al.*, 2003; SILVA *et al.*, 2003; SILVA *et al.*, 2006; HOWE, 2006; ALVES, 2007; FINGER *et al.*, 2011; BELLINAZZI *et al.*, 2013, DI FILIPPO *et al.*, 2014) que citam estas medidas como cuidados indispensáveis de profilaxia da infecção na tentativa de se obter menores índices de infecção pós cirúrgica, discordando

apenas de TURNER & MC ILWRAITH (1985), que citam aspectos econômicos e uma maior resistência orgânica em animais de produção, como argumentos para a não observação de tais cuidados.

Outros trabalhos publicados por Webster (1954); Rosenberg (1956); Rensburg *et al.* (1963); Turner & Mc Ilwraith (1985); Buckrell (1987); Lazzeri (1994) descrevem técnicas cirúrgicas visando à esterilização de ruminantes por meio da interrupção do transito de espermatozoides através dos ductos epididimário e ducto deferente, conhecidas como vasectomia e epididemectomia, destacando a simplicidade, facilidade de execução das técnicas e baixo índice de complicações. Relatam ter observado algumas complicações no trans operatório como o extravasamento de sêmen, discreta hemorragia e contaminação grosseira da ferida cirúrgica nos casos de ressecção parcial da cauda do epidídimo, com ocorrência esporádica de miíases, aderências, inflamações e infecções de grau leve no pós-operatório. Recentemente TAMADON *et al.* (2010) desenvolveram procedimento minimamente invasivo para o preparo de rufião ovino por meio de ligadura percutânea da cauda do epidídimo, destacando a simplicidade e rapidez na execução da técnica, baixos índices de complicações pós operatória, reportando apenas perda da mobilidade dos testículos no interior da bolsa escrotal e discreta inflamação no sítio cirúrgico com remissão espontânea após cinco dias. Kumar & Raj (2012) descrevem a esterilização em macacos reshus (*Macaca mulatta*) por meio da técnica denominada “No-scalped vasectomy”, sem a ocorrência de complicações, citando apenas discreta hemorragia transoperatória no momento da dissecação das estruturas do cordão espermático de alguns poucos pacientes, destacando a eficiência, facilidade e rapidez do procedimento.

Esse grande interesse dos cirurgiões por métodos de esterilização que acarretem a interrupção da passagem de espermatozoides pelos ductos epididimários ou deferente, deva-se ao fato do ducto ser uma estrutura única, não havendo rede colateral (HABEL, 1968; HEMEIDA *et al.*, 1978; NICKEL, 1979; HAFEZ, 2004; DYCE, 2010, OLIVEIRA, 2013; FELICIANO, 2013), logo a oclusão do mesmo levaria o paciente a um quadro de azoospermia, sem a necessidade da extirpação das gônadas, fato considerado extremamente traumático, mutilatório e que afeta também a produção de hormônios sexuais masculinos, sendo desinteressante em determinadas situações.

Diante destes fatos, pode-se dizer que a técnica de esterilização cirúrgica masculina minimamente invasiva com o emprego da criocirurgia, desenvolvida no presente estudo e aplicada nos animais do GRUPO TESTE (GT), atende perfeitamente aos anseios da cirurgia moderna, pois tem na transfixação da cauda do epidídimo com o emprego de agulha hipodérmica estéril descartável 0,80 x 40 mm, 21G x 1 ½, a menor manobra de diérese possível de ser executada, e na destruição tecidual e conseqüente oclusão do ducto por meio da criocirurgia, dispensa o emprego de material de sutura, que por melhor que seja sempre pode vir a ocasionar reação de corpo estranho no organismo animal. A necrose de uma grande quantidade de tecido formada pelo ducto epididimário provocada pela ação do agente criogênico na área alcançada pela “ice ball” impediria em tese o risco de uma recanalização dos segmentos remanescentes do ducto, impossibilitando assim a reversão acidental do quadro de azoospermia. A manutenção das gônadas e de sua vascularização faz do procedimento algo mais conservador, de menor vulto cirúrgico, sendo mais aceitável do ponto de vista estético, preservando a produção de andrógenos e excluindo o risco de hemorragias que poderiam levar inclusive o paciente a óbito.

O emprego da criocirurgia para a promoção da técnica de esterilização cirúrgica masculina minimamente invasiva em carneiros, utilizando-se do nitrogênio líquido como

agente criogênico, apresentada no presente estudos nos pacientes do GRUPO TESTE (GT), mostrou-se inovador, simples, rápida, de fácil execução, segura, baixo custo, pouco invasiva, com resultados estéticos satisfatórios, sendo exequível a campo. Tais observações estão de acordo com os estudos de diferentes pesquisadores (BARNARD, 1980; FARRIS & VESTRE, 1982; BAUST *et al.*, 1997; GAGE & BAUST, 1998; COOPER & DAWBER, 2001; HOFFMANN & BISCHOF, 2002; FREIMAN & BOUGANIM, 2005; MACCINI *et al.*, 2011; LUZ & BUSSADE, 2011) que vem utilizando a criocirurgia para diferentes fins ao longo da últimas décadas, sempre destacando resultados promissores.

O circuito de criocirurgia utilizado nos pacientes do GRUPO TESTE (GT), desenvolvido a partir da adaptação do aparato criado por Luz & Bussade (2011), proporcionou a perfeita execução da técnica cirúrgica proposta em nossos estudos, conferindo maleabilidade ao conjunto, permitindo o posicionamento da agulha e da pistola em diferentes ângulos, bom fluxo contínuo de nitrogênio e o perfeito acoplamento da agulha hipodérmica estéril utilizada ao restante do conjunto, apresentando ainda um baixo custo na sua confecção, tornando exequível o procedimento de criocirurgia na região da cauda do epidídimo de ovinos, inclusive a campo, estando de acordo com as anotações dos autores supracitados.

Existem ainda diversos autores que tem buscado métodos alternativos que proporcionem a esterilização de machos das mais variadas espécies, seja por meio de processos químicos, físicos, imunológicos ou hormonais, sempre focados no desenvolvimento de métodos eficazes, simples, baixo custo e que apresentem baixos índices de complicações pós-operatórias (FAHIM *et al.*, 1993; CARVALHO *et al.*, 2001; ROBERTS *et al.*, 2002; TEPsumETHANON & HEMACHUDHA, 2005; KUTZELER & WOOD, 2006; SOTO *et al.*, 2009; OLIVEIRA *et al.*, 2011; SOTO *et al.*, 2011; OLIVEIRA *et al.*, 2012; ROSSETO *et al.*, 2012; LOPES & SILVA, 2014; SOTO *et al.*, 2014), estando estes trabalhos de acordo com o demonstrado pela técnica desenvolvida em nossos estudos e aplicada nos animais do GRUPO TESTE (GT).

Em nossos estudos optamos pela castração aberta dos animais, a fim de identificar possíveis alterações localizadas entre as túnicas vaginal e albugínea, não sendo constatada a formação de aderências, ao contrário do observado por Tamadon *et al.* (2010), onde os autores citam a existência de aderências entre os folhetos visceral e parietal da túnica vaginal próximo ao local de introdução da agulha, com perda da mobilidade dos testículos confirmada a palpação. Observamos em todos os animais a existência de ponto hemorrágico na local de penetração da agulha da cauda do epidídimo, e a presença de coágulos sanguíneos alojados entre esta região e a túnica vaginal em três ovinos do GRUPO CONTROLE (GC) e extravasamento de sêmen em alguns animais de ambos os grupos, enquanto Tamadon *et al.* (2010) reportam apenas a presença de discreta hemorragia no local da penetração da agulha e confecção da sutura.

Durante a avaliação histopatológica do material proveniente do polo caudal do testículo dos animais do GRUPO TESTE (GT), pudemos constatar diferentes graus de lesões nos túbulos seminíferos, como contração dos mesmos, membranas basais irregulares, desprendimento do estroma, vacuolização, das células germinativas, ausência de células da linhagem espermatócica com a redução da produção de espermatozoides, presença de espermatozoides mortos nos túbulos, enquanto Tamadon *et al.* (2010) afirmam não ter encontrado alterações nos túbulos seminíferos, com a espermatogênese transcorrendo normalmente, assim como a secreção de testosterona. Citam ter observado áreas de hemorragia e infiltrado leucocitário no tecido intersticial no local da confecção da ligadura, constatando ainda a presença de necrose e debris celulares no epidídimo próximo ao local

anteriormente descrito. Reportam a manutenção da arquitetura da parede celular dos túbulos e a ausência de espermatozoides em seu interior, não tendo observado porém, sinais de edema, degeneração ou necrose.

Em relação à análise do material da cauda do epidídimo dos indivíduos do GRUPO TESTE (GT), pudemos constatar a presença de vacúolos ocupando uma extensa área da região, com estase de espermatozoides no seu interior e zonas de inflamação granulomatosa ao seu redor, com a presença de macrófagos e células gigantes, apresentando ainda perivasculite mononuclear, reação fibroblática e vaginalite, com extravasamento de sêmen para o interstício e ponto hemorrágico e formação de uma fenda no provável local de transfixação com a agulha, não encontrando relato semelhante na literatura consultada, a fim de promover uma possível discussão a respeito do assunto.

Por fim, acreditamos ser necessária a realização de novos estudos, possivelmente com um acompanhamento dos animais por um maior intervalo de tempo, submetendo estes indivíduos a um maior número de coletas de sêmen, a fim de comprovar a eficiência da técnica em longo prazo, descartando a possibilidade de recanalização espontânea tardia conforme descrito por Rensburg *et. al.* (1963).

O emprego da técnica em animais de outras espécies é uma nova hipótese a ser investigada.

## 6 CONCLUSÕES

A técnica cirúrgica proposta mostrou-se segura, rápida, de fácil execução, com baixo custo, minimamente invasiva e isenta da ocorrência de complicações pós-operatórias, dispensando inclusive a necessidade de curativos e aplicação de medicamentos nos dias subsequentes ao procedimento.

A técnica cirúrgica apresentada mostrou ser exequível em condições de campo.

A realização de dois ciclos de congelamento / descongelamento, por 60 segundos e 45 segundos respectivamente, proporcionou intensa destruição tecidual, conferindo lesão em grande extensão do ducto epididimário na região da cauda do epidídimo, colaborando assim para azoospermia dos animais operados.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, A.C.S.; RIBEIRO, M.G., PAES, A.C.; MEGID, J.; OLIVEIRA, V.B.; FRANCO, M.M. J. Tétano em pequenos ruminantes: estudo retrospectivo dos principais achados clínico-epidemiológicos em 11 casos. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.64, n.4, p.1060-1064, 2012.
- ALVES, G.E.S.; SANTOS, J.A.P.M.; TANNUS, R. J.; JANNUZZI, C.M.P.P. Aspectos fisiológicos e econômicos da castração em animais de produção e companhia – Verdades e crencices-. *Revista CFMV*, nº40, p.67-75, 2007.
- BARNARD, D. The effects of extreme cold on sensory nerves. *Annals of the Royal College of Surgeons of England*, v.62, p.180-187, 1980.
- BARROWMAN, J.R.; BOAZ, T.G.; TOWERS, K.G. Castration and docking of lambs: use of the rubber ring ligature technique at different ages. *Emp. J. Exp. Agric*, v.22, n.87, p.189-202, 1954.
- BAUST, J.; GAGE, A.A.; MA, H.; ZHANG, CHAO-MIN. Minimally Invasive Cryosurgery – Technological Advances. *Cryobiology*, v.34, p.373-384, 1997.
- BELLINAZZI, J.B.; BERTAGNON, H.G., BATISTA, C.F.; SANTOS, B.P.D.; LIMA, M.G. B.; LIMA, D.M.; DELLA LIBERA, A.M.M. Efeitos do Estresse da Orquiectomia na Citologia Broncoalveolar de Bezzeros da Raça Holandesa. *Pesq. Vet. Bras.* v.33, p. 93-98, 2013.
- BICUDO, S.D. Estudo da estacionalidade reprodutiva em carneiro ideal: níveis séricos de testosterona, androstenediona, triiodotironina, tiroxina, biometria testicular, avaliação das características do sêmen e de parâmetros indicativos de adaptação ao clima. 2000. 107 fl. Tese (Livre docência) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, SP, 2000.
- BOUGANIM, N.; FREIMAN, A. History of cryotherapy. *Dermatology Online Journal*, v. 11, n.2, 2005. Disponível em: <<https://escholarship.org/uc/item/4f62h9vt#>>. Acesso em: 16 jan. 2015.
- BRISOLA L.B.N.; NEVES, J.P.; GONÇALVES, P.B.D.; OLIVEIRA, J.F.C.; MONTAGNER, M.M. Integridade das membranas plasmáticas, nuclear e mitocondrial de espermatozoides ovinos criopreservados com etileno glicol. *Ciência Rural*, v. 29, p.527-531, 1999.
- BROOM, D.M.; MOLENTO, C.F.M. Bem-estar animal: conceito e questões relacionadas, uma revisão. *Archs. Vet. Sci.*, v.9, n.2, p.1-11, 2004.
- BUCKRELL, B. C. Management of Reproduction of Sheep. *Can. Vet. J.*, v.28, n.6, p.374-377, nº6, 1987.
- BUSK, P.; JACOBSEN, S.; MARTINUSSEN, T. Administration of perioperative penicillin reduces postoperative serum amyloid A response being castrated standing. *Veterinary Surgery*, v.39, p.638-643, 2010.

CABRERA, L.; COSTA, P.E.M.; FONSECA, N.A.N. Efeitos da castração pré púbere sobre o desenvolvimento corporal de equinos. *Acta Scientiarum Animal Sciences*, v. 26, p.273-279, 2004.

CARVALHO, L.D.M.; da COSTA, N.A.; JÚNIOR, L.; TEIXEIRA NETO, J.F.; BATISTA, H.; BRUNETTA, G. Castração Química em Búfalos. In: Congresso Brasileiro de Buiatria, 4., 2001, Campo Grande, MS. *Anais...* Campo Grande: Associação Brasileira de Buiatria, 2001.

COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL. *Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal*. 3. ed. Belo Horizonte: CBRA, 2013.

COOPER, S.M.; DAWBER, R.P.R. The history of cryosurgery. *Journal of the Royal Society of Medicine*, v.94, p.196-201, 2001.

DAMY, S.B.; CAMARGO, R.S.; CHAMMAS, R.; FIGUEIREDO, L.F.P.D. Aspectos Fundamentais da Experimentação Animal – Aplicações em Cirurgia Experimental. *Rev. Assoc. Med. Bras.*, v.56, n.1, p.103-111, 2010.

DELLMANN, H.D.; BROWN, E.M. *Histologia Veterinária*. 1. ed. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 1982. 397p.

DI FILIPPO, P.A.; GOMES, F.R.; MASCARENHAS, L.S.; DE ALMEIDA, A.J.; RODRIGUES, A.B.F. Proteinograma sérico e do líquido peritoneal de equinos submetidos à orquiectomia. *Ciência Rural*, v.44, n.12, p.2221-2227, 2014.

DUPAS, W.; GORNI, M.; SANTOS, L.E.; RODA, D.S.; SANCHEZ, M.J.F. Comparação entre os Processos Químico e da Ligadura Elástica na Castração de Cordeiros. *B. Industr. Anim.*, v.44, n.2, p.289-296, 1987.

DYCE, K.M. *Tratado de Anatomia Veterinária*. 4. ed. Saunders Elsevier: Rio de Janeiro, Brasil, 2010, 1388p.

ELOY, A. M.; SANTA ROSA, J. Perfis plasmáticos de testosterona durante a puberdade de machos caprinos da raça Moxotó. *Relatório Técnico do Centro Nacional de Pesquisa de caprinos*, p.89-91, 1996.

EVANS, H.E.; SACK, W.O. Prenatal development of domestic and laboratory mammals: growth curves, external features and selected references. *Anatomia, Histologia, Embryologia*, v.2, n.1, p.11-45, 1973.

FAHIM, M.S.; WANG, M.; SUTCU, M.F. FAHIM, Z.; YOUNGQUIST, R.S. Sterelization of dogs with intra-epididymal injection of zinc arginine. *Contraception*. v. 47, p.107-122, 1993.

FARRIS, H.E. Jr.; VESTRE, W. A. Veterinary Cryosurgery. *Cryobiology*, v.19, p.228-230, 1982.

FEIJÓ, G.L.D.; FAUSTO, D.A.; REIS, F.A. Influência da castração de borregos sobre a qualidade da carne ovina. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 46., 2009, Maringá, PR, *Anais...* Maringá. Inovação científica e tecnológica em zootecnia: SBZ: UEM, 2009. 3 f.

FELICIANO, M.A.R.; OLIVEIRA, M.E.F.; DIAS, L.M.K. Ultrassonografia do Sistema Reprodutor Masculino de Pequenos Ruminantes. In: FELICIANO, M. A. R. *Ultrassonografia na Reprodução Animal*. 1. ed. 2013. p.161-176

FIGUEIRÓ, P.R.P.; BENEVIDES, M.V. Produção de carne ovina. In: *Caprinocultura e ovinocultura*, Piracicaba: Sociedade Brasileira de Zootecnia – FEALQ. 1990. p.15-31.

FINGER, M.A.; DORNBUSCH, P.T.; BONFÁ, A.F.; DORNBUSCH, L.P.T.C.; DECONTO, I.; DE BARROS FILHO, I.R. Comparação de Duas Técnicas de Orquiectomia em Equinos, Empregadas no Ensino da Técnica Cirúrgica Veterinária. *Archives of Veterinary Science*, v.16, p. 53-59, 2011.

GAGE, A. A.; BAUST, J. Mechanisms of Tissue Injury in Cryosurgery. *Cryobiology*, v.37, p.171-186, 1998.

GARENERO, O.; PERUSIA, O. *Manual de Anestesia e Cirurgia de Bovinos*. São Paulo: Editora Tecmedd. 2006. p.132.

GRANDIN, T. *Improving Animal Welfare: a practical approach*. Cambridge, UK: CABI, 2010. 328p.

HABEL, R. E. *Anatomía y Manual de Disección de los Ruminantes Domésticos*. 1. ed. Zaragoza, Espanha: Editorial Acribia, , 1968, 198p.

HAFEZ, B. *Reprodução Animal*. 7. ed. Barueri, SP: Editora Manole, 2004. 513p.

HEMEIDA, N. A., SACK, W. O., McENTEE, K. Ductuli efferentes of boar, goat, ram, bull and stallion. *Am. J. Vet. Res.* v.39, n.12, p. 1892-1900, 1978.

HOFFMANN, N.E.; BISCHOF, J.C. The Cryobiology of Cryosurgical Injury. *Urology*, v.60, n.2, p.40-49, 2002.

HOWE, L.M. Surgical methods of contraception and sterilization. *Theriogenology*, v. 66, p.500-509, 2006.

JARDIM, R.D.; OSÓRIO, J.C.S.; OSÓRIO, M.T.M.; MENDONÇA, G.; ESTEVES, R.; GONÇALVES, M. Efeito da idade de abate e castração sobre a composição tecidual e química da paleta e da perna de ovinos Corridale. *Rev. Bras. Agrociência*, v.13, n.2, p.237-242, 2007.

JUCÁ, A.F.; MOURA, J.C.A.; GUSMÃO, A.L.; BITTENCOURT, T.C.; NASCIMENTO, M.C.; BARBOSA, C.M.P. Avaliação ultrassonográfica dos testículos e das glândulas sexuais anexas de carneiros Santa Inês. *Ciência Animal Brasileira*, v.10, n.2, p.650-659, 2009.

KENT, J.R.; JACKON, R.E.; MOLONY, V.; HOSIE, B.D. Effects of Acute Pain Reduction Methods on the Chronic Inflammatory Lesions and Behaviour of Lambs Castrated and Tail Docked with Rubber Rings at less than Two Days of Age. *The Veterinary Journal*, v. 160, p.33-41, 2000.

KUMAR, V.; RAJ, A. No-scalped vasectomy by eletrocauterization in free range rhesus macaques (*Macaca mulatta*). *Open Veterinary Journal*, v.2, p.6-9, 2012.

KUTZLER, M.; WOOD, A. Non-surgical methods of contraception and sterilization. *Theriogenology*, v.66, p.514-525, 2006.

LAZZERI, L. *Técnica Operatória Veterinária*. Belo Horizonte, MG: Gráfica da Escola de Veterinária da UFMG. 1994. 415p.



LEIDL, W.; BERGHTOLD, M. Zur Frage der Spermienlagerung in Samenleiter und Samenleiterampulle beim Bullen. Berl. Munch. In.: RENSBURG, S.J.; MC FARLANE, I.S.; RENSBURG, S.W.J. Sterilization of Teaser Male Ruminants, The Reliability of Surgical Methods. *Jl S. Afr. vet. med. Ass.*, v. 34, p. 249-253, 1963.

LOPES, K.R.F.; SILVA, A.R. Castração química de mamíferos machos: revisão. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, v.38, n.1, p.49-53, 2014.

LUZ, F.B.; BUSSADE, L.B. Tratamento de queloides por criocirurgia intralesional: proposição de acessório de baixo custo. *Surg Cosmet Dermatol.*, v.3, n.4, p.358-360, 2011.

MACCINI, M.; SEHRT, D.; POMPEO, A.; CHICOLI, F.A.; MOLINA, W.R.; KIM, F.J. Biophysiologic Considerations in Cryoablation: a practical mechanistic molecular review. *International Braz J Urol*, v.37, n.6, p.693-696, 2011.

MAY, N.D.S. Anatomia Del Ovinio. *Manual de Diseccción*. 1. ed. Buenos Aires, Argentina: Editorial Hemisferio Sur., 1974, 561p.

MOLL, H.D.; PELZER, K.D.; PLEASANT, R.S.; MODRANSKY, P.D.; MAY, K.A. A survey of equine castration complications. *Journal of Equine Veterinary Science*, v. 15, n. 12, p.522-526, 1995.

MONTEIRO, A.W.U.; LIMA, Í.C.S.; DE ANDRADE, I.R.A.; MARTINS, G.A.; ARAÚJO, A.A.; DIAS, A.C.S.; CAMPOS, A.C.N. Biometria Testículo-Epididimária e a Reserva Espermática Epididimária de Ovinos Sem Padrão Racial Definido. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal*, v. 8, n.1, p.81-98, 2014.

NICKEL, R. *The Viscera of the Domestic Mammals*. 2. ed. Verlag Paul Parey, Berlin, Hamburg: Parey, Germany, 1979, 401p.

OLIVEIRA, B.A.S.; ROCHA, L.M.; MOI, B. Métodos cirúrgicos e não cirúrgicos de contracepção masculina em cães. *Sinapse Múltipla*, v.1, n.1, p.1-14, 2012.

OLIVEIRA, D.M.; SILVA, T.R.; REGO, R.O.; PIMENTEL, L.A.; MEDEIROS, J.M.; SIMÕES, S.V.D.; RIET-CORREA, F. Tétano em Ovinos após a Castração com Ligadura de Borracha. *Ciência Animal Brasileira*, v. 1, p. 574-578, 2009.

OLIVEIRA, E.C.S.; SILVA, F.L.M.; MULLER, P.M.; BRITO, L.T.; FAGUNDES, A.K.F.; SÁ, M.J.C.; SILVA JUNIOR, V.A. Castração química de caninos e felinos por meio de injeção intratesticular de gluconato de zinco – Quebrando paradigmas. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, v.35, n.2, p.262-265, 2011.

OLIVEIRA, M.E.F. *Biotécnicas Reprodutivas em Ovinos e Caprinos*. 1. ed. São Paulo, SP: Editora MedVet. 2013. 308p.

OSÓRIO, J.C.S.; JARDIM, P.O.C.; PIMENTEL, M.A. POUHEY, J.; OSÓRIO, M.T.M.; LÜDER, W.E.; FLÁVIO BORBA, M. Produção de carne entre cordeiros castrados e não castrados. 1. Cruzas Hampshire Down x Corriedale. *Ciência Rural*, v. 29, p.135-138, 1999.

PADUA, J.T.; OLIVEIRA, M.P.; SILVA, L.A.F.; DA SILVA VIEIRA, L.; FIGUERÊDO, E.J.; MORALES, D.C.S.P.; DO CARMO MARTINS, A. F. Efeito de Métodos de Castração e do Uso de Vermífugos sobre Ganho de Peso de Bovinos Mestiços Leiteiros. *Ciência Animal Brasileira*, v.4, n.1, p.33-43, 2003.

PAIXÃO, R.L. A Regulamentação da Experimentação Animal: uma breve revisão. *Revista CFMV*, n. 40, 2007.

PEREIRA, J.C.C.; RIBEIRO, R.M.P.; DO VAL, L.J.L. Efeito da idade e do método de castração sobre o desenvolvimento ponderal e rendimento de carcaça de bovinos azebuados em regime de pasto. *Arquivos da Escola de Veterinária da UFMG*, v.29, p.77-84, 1977.

PINEDA, M.H.; REIMERS, T.J.; FAULKNER, L.C. HOPWOOD, M.L.; SEIDEL JR, G.E. Azzospermia in dogs induced by injection of sclerosing agents into the caudae of the epididymides. *Am J Vet R.*, v. 38, p. 831-838, 1977.

RENSBURG, S.J.; MC FARLANE, I.S.; RENSBURG, S.W.J. Sterilization of Teaser Male Ruminants – The Reliability of Surgical Methods. *Jl S. Afr. vet. med. Ass.*, v. 34, p. 249-253, 1963.

RIBEIRO, E.L.A.; SILVA, L.D.F.; ROCHA, M.A.; MIZUBUTI, I.Y. Desempenho de Cordeiros Inteiros ou Submetidos a Diferentes Métodos de Castração Abatidos aos 30kg de Peso Vivo. *R. Bras. Zootec.*, v.32, n.3, p.745-752, 2003.

ROBERTS, W.W.; WRIGHT, E.J.; FRIED, N.M.; NICOL, T.; JARRETT, T.W.; KAVOUSSI, L.R.; SOLOMON, S.B. High-intensity focused ultrasound ablation of the epididymis in a canine model: a potential alternative to vasectomy. *J. Endourol.* v.16, p.621-625, 2002.

RODRIGUES, A. L. R. Avaliação do testículo e da cauda do epidídimo de carneiros na pré- puberdade, na maturidade sexual, no criptorquidismo e na insulação escrotal: concentrações de testosterona plasmática e tecidual, histamina, fator de necrose tumoral-alfa e óxido nítrico. Tese – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, 2004.

ROSENBERGER, G. Sterilisierung der Bullen durch Resektion der Nebenhodenschwanz. IN.: RENSBURG, S.J.; MC FARLANE, I.S.; RENSBURG, S.W.J. Sterilization of Teaser Male Ruminants – The Reliability of Surgical Methods. *Jl S. Afr. vet. med. Ass.*, v. 34, p. 249-253, 1963.

ROSSETO, T.C.; SCHIEFER, B.; CARDOSO, L.B.; KAHVEGIAN, M.A.P.; MIYAHIRA, F.T.; FANTONI, D.T. Avaliação da intensidade do processo inflamatório causado pela castração química com gluconato de zinco e a analgesia promovida por dipirona, traadol e meloxicam neste procedimento. *Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 10, n. 1, p. 41-41, 2012.

SAMUELSON, D. A. *Tratado de Histologia Veterinária*. 1. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007. 527p.

SILVA, L.A.F, COSTA, A.C.; SOARES, L.K. Orquiectomia em Bovinos Empregando a Abraçadeira de Náilon na Hemostasia Preventiva: Efeito da Estação do Ano, Método de Contenção e Técnica Cirúrgica. *Ciência Animal Brasileira*, v. 10, n.1, p.267-270, 2009.

SILVA, L.A.F.; COSTA, A.C.; SOARES, L.K.; BORGES, N.; EURIDES, D.; DALECK, C.; FRANCO, L. Comportamento da ferida cirúrgica em bovinos orquiectomizados nos meses de maio e novembro empregando diferentes métodos de imobilização e procedimentos cirúrgicos. Disponível em: <

[http://ucbweb2.castelobranco.br/webcaf/arquivos/12957/5586/Comportamento da ferida orquiectomia 1 .pdf](http://ucbweb2.castelobranco.br/webcaf/arquivos/12957/5586/Comportamento_da_ferida_orquiectomia_1_.pdf).

SILVA, L.A.F.; FILHO, P.R.L.V. ; ALMEIDA, C.F. Complicações pós operatórias em bovinos submetidos à duas técnicas de orquiectomia. In: Congresso Brasileiro de Buiatria, 4., 2001, Campo Grande, MS. *Anais...* Campo Grande: Associação Brasileira de Buiatria, 2001.

SILVA, L.A.F.; FRANÇA, R.O.; VIEIRA, D.; DE SOUSA, V.R.; FRANCO, L.G.; MOURA, M. I.; BERNARDES, K.M Emprego da abraçadeira de náilon na orquiectomia em equinos. *Acta Scientiae Veterinariae*. v. 34, n.3, p.261-266, 2006.

SILVA, L.A.F.; VIANA FILHO, P.R.L.; VERISSIMO, A.C.C.; SILVA, E.; SILVA, O.; PÁDUA, J.; SOUSA, J. Efeito da estação do ano, da idade, do método de contenção e da técnica cirúrgica na recuperação clínica e no ganho de peso de bovinos submetidos a orquiectomia. *Rev. Bras. Saúde Prod. An.* , v.4, n.1, p.18-29, 2003.

SOTO, F.R.M.; BITTENCOURT, D.O.; NEVES, A.M. Experiência da utilização de esterilizante químico associado com microchip para cães machos no município de Redenção da Serra – SP. *Rev. Ciênc. Exensão*. v.7, n.1, p.16-23, 2011.

SOTO, F.R.M.; BRILHANTE, O.S.; LAROQUE, P.O.; SOUZA-ARAÚJO, N.L.; PETRELLI, M.D.S.; TOLENTINO, M.D.L.; FIALHO, M.D.S. Uso de esterilizante químico para saguis-do-nordeste (*Callithrix jachus*) como método contraceptivo definitivo: resultados preliminares. *Scientia Vitae*, v.2, n.5, p.8- 14, 2014.

SOTO, F.R.M.; VIANA, W.G.; MUCCILO, G.C.B.; HOSOMI, F.Y.M.; VANNUCCHI, C.I.; MAZZEI, C.P.; DE AZEVEDO, S.S. Evaluation of efficacy and safety of zinc gluconate associated with dimethyl sulphoxide for sexually mature canine males chemical neutering. *Reprod. Domest. Anim.*, v.44, p.927-931, 2009.

TAMADON, A.; NIKAHVAL, B.; SEPEHRIMANESH, M.; MANSOURIAN, M.; NAEINI, A.T.; NAZIFI, S. Epididymis Ligation: a Minimally Invasive Technique for Preparation of Teaser Ram. *Veterinary Surgery*, v.39, p.121-127, 2010.

TEIXEIRA, P.P.M.; OLIVEIRA, M.E.F.; D' AMATO, C.C.; RODRIGUES, L.F.S.; VICENTE, W.R.R. Avaliação ultrassonográfica da ecogenicidade do parênquima testicular como exame complementar no andrológicos de carneiros. *Nucleus Animalium*, v.3, n.1, p.31-36, 2011.

TEPSUMETHANON, V.; HEMACHUDHA, W.H. Intratesticular injection of balanced zinc solution for permanent sterilization of dogs. *J Med Assoc Thai*, v.88, p.686-689, 2005.

TURNER, A.S.; Mc ILWRAITH, C.W. *Técnicas Cirúrgicas em Animais de Grande Porte*. 1. ed. São Paulo: Ed. Roca, 1985. 341p.

VAZ, F.N.; RESTLE, J.; PÁDUA, J.T.; DE SANTANA MORALES, D. C.; PACHECO, P.S.; PRADO, C.S. Receita Industrial de Cortes Secundários da Carcaça de Bovinos Mestiços Leiteiros, Não Castrados ou Submetidos a Diferentes Formas de Castração. *Cienc. Anim. Bras.*, v.16, n.1, p.54-67, 2015.

WEBSTER, W.M. Vasectomy – How and Why. *Vet. J.*, v.2., p.10-13. 1954.

## 8 ANEXOS

### 8.1 ANEXO 1 – Declaração da CEUA UFRRJ



Seropédica 25 de abril de 2015

### DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

Declaramos para os devidos fins que foi aprovado o protocolo de número 111/2014 intitulado **"Esterilização cirúrgica minimamente invasiva com o emprego da criocirurgia em carneiros (*Ovis aries*)."** encaminhado pelo Professor (a) do Departamento de Medicina e Cirurgia Veterinária, Paulo de Tarso Landgraf Botteon. Informamos que foi aprovado em reunião ordinária da CEUA-IV realizada no dia 25 de abril de 2015, após avaliação do plenário da referida Comissão.

Fabio Barbour Scott  
Coordenador CEUA-IV

Jonimar Pereira Paiva  
Vice-Coodenador CEUA-IV

8.2 – ANEXO 2 – Quadro de Peso Corporal dos Animais.

<b>Animal</b>	<b>Grupo</b>	<b>Código</b>	<b>Peso 0</b>	<b>Peso 33</b>
134	Nitrogênio	T1	30,50	31,20
133	Nitrogênio	T2	38,00	44,00
130	Nitrogênio	T3	40,50	40,50
92	Nitrogênio	T4	41,50	40,70
98	Nitrogênio	T5	36,00	38,50
50	Nitrogênio	T6	32,30	31,10
58	Nitrogênio	T7	28,30	30,25
64	Nitrogênio	T8	30,50	33,40
65	Nitrogênio	T9	36,90	33,30
197	Agulha	C1	45,00	47,50
150	Agulha	C2	30,50	33,80
100	Agulha	C3	36,40	36,70
131	Agulha	C4	40,00	45,50
97	Agulha	C5	36,00	37,40
57	Agulha	C6	26,00	28,10
61	Agulha	C7	28,80	30,00
62	Agulha	C8	29,00	28,25
63	Agulha	C9	35,00	36,90

\*Peso Corporal em kilogramas.

\*Peso 0 – Pesagem realizada no dia dos procedimentos cirúrgicos.

\*Peso 33 - Pesagem realizada passados 33 dias da realização dos procedimentos cirúrgicos.

8.3 – ANEXO 3 – Quadro de Circunferência Escrotal dos Animais.

<b>Animal</b>	<b>Grupo</b>	<b>Código</b>	<b>CE 0</b>	<b>CE 18</b>	<b>CE 32</b>
134	Nitrogênio	T1	28,50	26,50	25,30
133	Nitrogênio	T2	28,50	27,50	26,50
130	Nitrogênio	T3	27,00	26,50	27,00
92	Nitrogênio	T4	30,00	30,00	31,00
98	Nitrogênio	T5	27,50	27,00	27,50
50	Nitrogênio	T6	24,50	23,50	23,20
58	Nitrogênio	T7	24,50	23,40	23,10
64	Nitrogênio	T8	27,50	26,10	26,00
65	Nitrogênio	T9	27,20	26,40	25,20
197	Agulha	C1	31,50	31,00	30,20
150	Agulha	C2	27,00	26,50	27,00
100	Agulha	C3	27,00	24,50	24,00
131	Agulha	C4	26,50	28,50	28,50
97	Agulha	C5	30,50	28,50	29,00
57	Agulha	C6	24,90	24,60	24,50
61	Agulha	C7	27,00	24,90	23,50
62	Agulha	C8	24,20	24,00	22,60
63	Agulha	C9	25,20	25,70	24,50

\*Circunferência Escrotal em centímetros.

\*Aferição nos dias 0, 18 e 32.

#### 8.4 – ANEXO 4 – Quadro do Espermograma dos Animais.

Animal	Grupo	Código	Turb Pré	Mot Pré	Vigor Pré	Turb 18	Mot 18	Vigor 18	Turb 32	Mot 32	Vigor 32
134	Nitrogênio	T1	4	70	40	0	5	1	0	0	0
133	Nitrogênio	T2	5	90	5	0	0	0	0	0	0
130	Nitrogênio	T3	3	70	3	2	50	3	0	0	0
92	Nitrogênio	T4	4	80	4	0	20	3	3	50	3
98	Nitrogênio	T5	4	60	3	0	5	2	0	0	0
50	Nitrogênio	T6	4	70	3	0	0	0	0	0	0
58	Nitrogênio	T7	2	70	3	0	5	oscilat	0	0	0
64	Nitrogênio	T8	4	80	4	0	5	oscilat	3	70	3
65	Nitrogênio	T9	4	70	3	0	0	necrosp	4	60	3
197	Agulha	C1	4	80	4	0	0	0	4	70	3
150	Agulha	C2	5	80	4	0	0	0	4	70	3
100	Agulha	C3	4	70	5	0	0	necrosp	0	5	0
131	Agulha	C4	4	80	4	5	80	4	4	80	4
97	Agulha	C5	5	80	4	0	5	2	3	60	3
57	Agulha	C6	2	40	2	3	40	2	2	50	2
61	Agulha	C7	3	60	3	5	70	4	5	80	4
62	Agulha	C8	2	60	3	5	80	5	4	60	3
63	Agulha	C9	5	80	4	4	70	3	5	80	3

\*Pré - Espermograma realizado na véspera do procedimento cirúrgico.

\*18 – Espermograma realizado passados 18 dias da realização dos procedimentos cirúrgicos.

\*32 - Espermograma realizado passados 32 dias da realização dos procedimentos cirúrgicos.

8.5 – ANEXO 5 – Quadro de Patologias Espermáticas dos Animais.

Animal	Grupo	Código	Pato. sptz 0 M	Pato. sptz 0 m	Pato. sptz 18 M	Pato. sptz 18 m	Pato. sptz 32 M	Pato. sptz 32 m
134	Nitrogênio	T1	12	16	26	62	Azosp.	Azosp.
133	Nitrogênio	T2	4	18	Azosp.	Azosp.	Azosp.	Azosp.
130	Nitrogênio	T3	7	7	9	42	Azosp.	Azosp.
92	Nitrogênio	T4	4	14	71	11	48	15
98	Nitrogênio	T5	3	22	74	12	Azosp.	Azosp.
50	Nitrogênio	T6	18	12	Azosp.	Azosp.	Azosp.	Azosp.
58	Nitrogênio	T7	4	25	7	87	Azosp.	Azosp.
64	Nitrogênio	T8	23	4	37	40	34	10
65	Nitrogênio	T9	21	6	Azosp.	Azosp.	34	12
197	Agulha	C1	3	19	Azosp.	Azosp.	10	29
150	Agulha	C2	9	15	Azosp.	Azosp.	9	17
100	Agulha	C3	23	24	10	85	24	55
131	Agulha	C4	4	10	7	22	6	30
97	Agulha	C5	12	14	30	28	20	19
57	Agulha	C6	14	32	18	30	22	29
61	Agulha	C7	14	25	20	14	9	22
62	Agulha	C8	24	18	14	29	23	17
63	Agulha	C9	5	18	10	32	15	22

\*M – defeitos espermáticos maiores.

\*m – defeitos espermáticos menores.

\*0 - Avaliação realizada na véspera do procedimento cirúrgico.

\*18 – Avaliação realizada passados 18 dias dos procedimentos cirúrgicos.

\*32 - Avaliação realizada passados 32 dias dos procedimentos cirúrgicos.



8.6 – ANEXO 6 – Quadro do Teste de Libido dos Animais.

<b>Animal</b>	<b>Grupo</b>	<b>Código</b>	<b>Libido Pré</b>	<b>Libido Pós</b>
134	Nitrogênio	T1	1	1
133	Nitrogênio	T2	1	1
130	Nitrogênio	T3	1	1
92	Nitrogênio	T4	1	1
98	Nitrogênio	T5	0	0
50	Nitrogênio	T6	1	1
58	Nitrogênio	T7	1	1
64	Nitrogênio	T8	1	1
65	Nitrogênio	T9	0	0
197	Agulha	C1	1	1
150	Agulha	C2	1	1
100	Agulha	C3	0	0
131	Agulha	C4	1	1
97	Agulha	C5	1	1
57	Agulha	C6	1	1
61	Agulha	C7	1	1
62	Agulha	C8	0	0
63	Agulha	C9	1	1

\*Valor 0 atribuído aos animais que não realizaram a monta.

\*Valor 1 atribuído aos animais que realizaram a monta.

\*Libido Pré, avaliada antes da realização dos procedimentos cirúrgicos.

\*Libido Pós, avaliada passados 32 dias da realização dos procedimentos cirúrgicos.

8.7 – ANEXO 7 – Quadro da Biometria da Cauda do Epidídimo dos Animais.

<b>Animal</b>	<b>Grupo</b>	<b>Código</b>	<b>ALED PRÉ</b>	<b>ALEE PRÉ</b>	<b>ALED PÓS</b>	<b>ALEE PÓS</b>
134	Nitrogênio	T1	232	359	331	350
133	Nitrogênio	T2	340	327	570	406
130	Nitrogênio	T3	246	263	347	356
92	Nitrogênio	T4	567	276	450	458
98	Nitrogênio	T5	245	223	491	444
50	Nitrogênio	T6	421	319	386	328
58	Nitrogênio	T7	507	443	600	530
64	Nitrogênio	T8	324	562	509	521
65	Nitrogênio	T9	400	442	571	485
197	Agulha	C1	287	224	336	413
150	Agulha	C2	262	258	328	413
100	Agulha	C3	490	412	330	384
131	Agulha	C4	417	320	250	385
97	Agulha	C5	320	300	401	411
57	Agulha	C6	446	431	456	470
61	Agulha	C7	464	487	467	515
62	Agulha	C8	429	338	353	397
63	Agulha	C9	351	444	502	503

\*ALED – Área Longitudinal do Epidídimo Direito.

\*ALEE - Área Longitudinal do Epidídimo Esquerdo.

\*Valores expressos em mm<sup>2</sup>.

\*Mensurações Pré, aferidas antes da realização dos procedimentos cirúrgicos.

\*Mensurações Pós, aferidas passados 32 dias da realização dos procedimentos cirúrgicos.