

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Veterinária
Programa de Pós-Graduação em Veterinária



Tese

Uso de Modelo Experimental para estudos relacionados ao Estresse Animal

Sandra Vieira de Moura

Pelotas, 2015

Sandra Vieira de Moura

Uso de Modelo Experimental para estudos relacionados ao Estresse Animal

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Veterinária da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências (área de concentração: Sanidade Animal).

Orientador: Éverton Fagonde da Silva

Coorientador (as): Prof^a. Dr^a. Josiane Bonell

Prof^a. Dr^a. Isabella Dias Barbosa Silveira

Dr^a. Flávia Aleixo Vasconcellos

Pelotas, 2015

Dados de catalogação na fonte:
Ubirajara Buddin Cruz – CRB 10/901
Biblioteca de Ciência & Tecnologia - UFPel

M929u Moura, Sandra Vieira de

Uso de modelo experimental para estudos relacionados ao estresse animal / Sandra Vieira de Moura. – 60f. : il. – Tese (Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Veterinária. Área de concentração: Sanidade animal. Universidade Federal de Pelotas. Faculdade de Veterinária. Pelotas, 2015. – Orientador Everton Fagonde da Silva ; coorientadoras Josiane Bonell, Isabella Dias Barbosa Silveira, Flávia Aleixo Vasconcellos.

1.Veterinária. 2.Bem estar animal. 3.Carne ovina. 4.Modelo experimental. 5.pH. 6.Qualidade da carne. I.Silva, Everton Fagonde da. II.Bonell, Josiane. III.Silveira, Isabella Dias Barbosa. IV.Vasconcellos, Flávia Aleixo. V.Título.

CDD: 636.0832

Sandra Vieira de Moura

Uso de Modelo Experimental para estudos relacionados ao Estresse Animal

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 30/04/2015

Banca examinadora:

Prof. Dr. Éverton Fagonde da Silva (Orientador)
Doutor em Biotecnologia pela Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Isabella Dias Barbosa Silveira
Doutor em Zootecnia pela Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Helenice Gonzáles de Lima
Doutor em Zootecnia pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Dr. Amilton Clair Pinto Seixas Neto
Doutor em Biotecnologia Universidade Federal de Pelotas

Agradecimentos

À minha família que, sem dúvidas, é a melhor do mundo... meus pais Vito e Genny, meus grandes incentivadores, e sem dúvida meus exemplos de vida, meu porto seguro, fonte inesgotável de amor.

Dinda Neusa, minhas irmãs Eunice e Marlene, minhas sobrinhas queridas Jordana, Mariana, Anita e Isabela, por fazerem parte de todas as minhas conquistas!

Ao meu amor Virgílio, pelo companheirismo, pela amizade, por dividir os sonhos e a vida!!!

Aos colegas Amilton, Gilmar, Iuri, Samuel e Tanise pela rica convivência e pela grande parceria em todos os trabalhos.

À minha dedicada estagiária (hoje grande profissional) Nathiéli, elemento fundamental para a realização deste trabalho.

Ao meu incrível time de co-orientadoras, Flávia, Isabella e Josiane pelo apoio e ensinamentos valiosos.

Ao pessoal do Biotério Central da UFPel pela disponibilidade das dependências e mão de obra especializada, em especial à Fabiane.

Em especial ao meu orientador Éverton Fagonde da Silva, meu muitís simo obrigada, por ter sempre me incentivado nas minhas escolhas, por permitir que buscasse meus próprios objetivos, pela confiança e por ter se tornado um grande amigo.

Ao Programa de Pós-Graduação em Veterinária por me acolher e oportunizar esta importante etapa do meu desenvolvimento profissional e pessoal.

Aos colegas de pós-graduação pelo convívio e troca de experiências.

A todos os professores e funcionários do PPGV pelos ensinamentos e pela convivência.

***Bendito aquele que estuda porque estudar é importante,
embora o ignorante tem sempre um santo que ajuda,
às vezes a sorte muda, quando existe um santo forte,
cada qual procura um norte, por isso não encabulo –
que a tava que bota culo é a mesma que bota sorte!***
Jayme Caetano Braun

Resumo

MOURA, Sandra Vieira de. **Uso de Modelo Experimental para estudos relacionados ao Estresse Animal**. 2015. 60f. Tese (Doutorado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2015.

O estresse é um tema de relevante importância tanto para a área humana quanto animal. Animais produtores de carne são submetidos a diferentes fatores pré-abate. Esses fatores estressantes podem causar alterações fisiológicas que conduzem a um efeito prejudicial na qualidade final da carne. No Brasil, o mercado da carne ovina apresenta-se em ascensão, especialmente nos países em desenvolvimento, onde ocorre o crescimento econômico dos consumidores e o aumento da demanda. Neste contexto, realizou-se uma revisão bibliográfica dos últimos 40 anos, a qual aborda o manejo pré-abate, aspectos do comportamento e suas consequências na qualidade final da carne. Em um segundo capítulo, realizou-se um estudo com os objetivos de: (1) Descrever e padronizar a curva de pH da transformação em carne dos músculos *Triceps brachii*, *Longissimus dorsi* e *Biceps femoralis* de ratos submetidos a condições normais de criação desde a eutanásia até 24 horas *post-mortem*; (2) determinar se a análise em cada músculo altera significativamente a curva de pH; (3) determinar se o estresse pela contensão dos ratos no período *ante mortem* causa alterações qualitativas na carne e se afeta o tempo e os valores de pH necessários para a transformação do músculo em carne. Para a determinação da curva de pH muscular foram utilizados 12 ratos machos da linhagem Wistar, os animais sofreram eutanásia e as carcaças foram colocadas sob refrigeração para as aferições do pH muscular. Outro grupo de 12 animais foi submetido ao estresse por contensão e após foi realizada a eutanásia, seguido das avaliações de pH. Os resultados indicam que: (1) os valores de queda do pH muscular *post mortem* de ratos apresentam um ritmo semelhante às espécies comerciais; (2) os valores médios de pH muscular nos 3 grupos musculares não apresentam diferenças significativas em todos os períodos analisados; (3) as médias de pH muscular apresentam diferenças significativas da hora 0 até 6 horas após o abate, quando o valor mínimo de pH muscular é determinado. Assim, conclui-se, embora sejam conhecidos diferentes fatores pré-abate causadores de alterações fisiológicas que culminem com efeitos prejudiciais para a qualidade final da carne, ainda existem poucos métodos confiáveis, de fácil execução e não invasivos para detectar estresse em animais, padronizados até o momento. Os ratos são um modelo promissor para detectar alterações *post-mortem*, pois o decréscimo do pH muscular segue os valores e tempo semelhantes ao que ocorre nas espécies comerciais.

Palavras-chave: Bem-estar animal; carne ovina; modelo experimental; pH; qualidade de carne

Abstract

MOURA, Sandra Vieira de. **Experimental model for studies on animal stress.** 2015. 60f. Theses (Doctor degree in Sciences) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2015.

Stress is a topic relevant importance to both human and animal area. Animal meat producers are subjected to different pre-slaughter factors from the production unit to the slaughterhouse. These stressors factors to animals may cause physiological changes leading to an adverse effect on the final quality of the meat. In Brazil, in last years, sheep meat is a growing market, especially in developing countries, where economic growth more abundant, and increasingly demanding, consumers. In this contest, we conducted a literature review in the last 40 years, that addresses to slaughter handling of these animals, aspects of ovine behavior, and its consequences on final meat quality. In the second chapter, there was a study with the objectives of (1) to describe and standardize the pH curve transformation into meat muscle *Triceps brachii*, *Longissimus dorsi* and *Biceps femoralis* of rats subjected to normal breeding conditions from euthanasia to 24 hours post-mortem; (2) to determine whether the analysis in each muscle modify significantly the pH curve; (3) to determine whether the stress by rats restraining in the ante-mortem period cause qualitative changes in meat and affects the time and pH values for the transformation of muscle in meat. For the determination of muscle pH curves were used 12 male Wistar rats, and animals were euthanized and the carcasses were placed under refrigeration for measurements of pH. Another group of 12 animals was subjected to stress by restraining and after euthanasia was performed the pH evaluations. The results indicate that: (1) the post-mortem muscle pH values in rats show a downward trend similar commercial species; (2) the average values of muscle pH in the three muscle groups do not differ significantly in all the analyzed periods; (3) The medium muscle pH are significant differences between time 0 to 6 hours after slaughter, when the minimum value is determined. Thus, we conclude that although known different pre-slaughter factors that may cause physiological changes that culminate with detrimental effects on the final quality of the meat, there are few reliable methods, easy to perform and non-invasive to detect this stress in animals were standardized until now. Rats are a promising experimental model to detect post-mortem changes, because the decrease in the muscle pH follows the values and time similar to what happens to the commercial species.

Key-words: animal welfare; sheep meat; experimental model; pH; meat quality

Lista de Figuras

Figura 1	Método de estímulo estressante por contensão em ratos Wistar...	35
Figura 2	Curva do pH (0 a 24 horas <i>post-mortem</i>) de três músculos de ratos Wistar eutanasiados sob condições normais.....	36
Figura 3	Curva do pH (0 a 24 horas <i>post-mortem</i>) da média de três músculos de ratos Wistar eutanasiados sob condições normais e sob condições de estresse por contensão.....	37

Lista de Tabelas

Tabela 1	Médias \pm Desvio padrão (DP) do pH de três diferentes músculos de ratos Wistar eutanasiados sob condições normais e analisados ao longo de 24 horas.....	36
Tabela 2	Média \pm Desvio padrão (DP), valores mínimo e máximo de pH <i>post-mortem</i> de três diferentes músculos de ratos Wistar eutanasiados sob condições normais.....	37
Tabela 3	Média \pm Desvio padrão (DP), valores mínimo e máximo de pH <i>post-mortem</i> de três diferentes músculos de ratos Wistar eutanasiados sob condições normais e ratos submetidos a estresse por contensão.....	38

Sumário

1 Introdução.....	10
2 Objetivos.....	15
3 Hipóteses.....	16
4 Artigos.....	17
4.1 Artigo 1.....	17
4.2 Artigo 2.....	31
5 Considerações Finais.....	42
Referências.....	43
Anexos.....	53

1 Introdução

Os estudos sobre o bem-estar dos animais têm despertado grande interesse nas últimas décadas, porém, muito pouco é conhecido sobre os efeitos específicos do estresse pré-abate sobre as mudanças biofísicas no músculo e os consequentes efeitos sobre as características de qualidade da carne, não estando inteiramente claro se a variabilidade entre animais em resposta ao estresse pode explicar a diferença em características como a maciez, pois, de acordo Maltin *et al.* (2003), não existe um gene para a maciez, mas um processo bioquímico que resulta em maciez.

A Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) define que o bem-estar animal é de grande importância para o comércio internacional de carnes, devido à crescente demanda por produtos de animais criados, manejados, transportados e batidos através do uso de práticas mais humanitárias (OIE, 2011). Diante disso, tem havido uma maior ênfase na quantificação do impacto do estresse pré-abate e exploração de estratégias para atenuá-lo, mediada por perdas no rendimento e na qualidade da carne (FERGUSON; WARNER, 2008).

De acordo com Hötzel e Machado Filho (2004), para conquistar mercados competitivos, é necessária uma adequação quanto às exigências internacionais, uma vez que o bem-estar animal e a qualidade ética dos alimentos são itens cada vez mais requisitados. Os autores ainda afirmam que quando o bem-estar é considerado pobre, pode haver quedas na produção, bem como a obtenção de carne com qualidade inferior (HÖTZEL e MACHADO FILHO, 2004). De forma semelhante, alguns indicadores apenas podem ser observados após a morte do animal, como é o caso dos hematomas.

Nos frigoríficos, os animais são expostos a inúmeros estímulos estressantes como permanência em local estranho, interação com animais e manejadores desconhecidos, ruídos, odores e choques elétricos. (HULTGREN *et al.*, 2013).

Problemas no manejo pré-abate influenciam diretamente a qualidade das carcaças, ocasionando fraturas ósseas e hematomas, além de poder aumentar a incidência de carne DFD (dark, firm and dry - escura, dura e seca) (GREGORY, 1998) ou PSE (pale, soft, exudative - pálida, mole e exsudativa) (ANDERSEN *et al.*,

2005). Esta última ocorre em animais mais susceptíveis ao estresse como aves e suínos, não sendo normalmente encontrada em bovinos (ALVES; MANCIO, 2007).

Para a indústria alimentícia americana, a presença de carne DFD em bovinos significou uma perda anual de 172 milhões de dólares. A perda associada a este problema permite constatar a importância que a carne DFD representa para a cadeia produtiva, do ponto de vista econômico (WULF *et al.*, 2002).

Atualmente, produtos oriundos de sistemas de mais alto grau de bem-estar apresentam maior valor agregado, atendendo a demanda de um nicho específico de mercado (BOND *et al.*, 2012). De acordo com Warriss (2000), as pessoas desejam comer carne com “qualidade ética”, isto é, carne de animais que tenham sido criados, tratados e abatidos em sistemas que promovam o bem-estar, mas que também sejam sustentáveis e ambientalmente corretos.

A qualidade final da carne representa uma das principais preocupações, especialmente para consumidores mais exigentes. Há uma associação direta entre a qualidade da carne com o manejo antes do abate, seja na propriedade, no transporte dos animais ou no abatedouro. (SANTOS *et al.* 2010).

Smith *et al.* (2004) reforçam que para avaliar o bem-estar animal durante o manejo e transporte devem ser levadas em consideração as medidas comportamentais e fisiológicas. Por esta razão, estudos direcionados a melhorias durante as etapas pré-abate são fundamentais.

Broom e Johnson (1993) consideram que o sofrimento normalmente está relacionado a problemas com o bem-estar, embora a ausência de sofrimento não seja, necessariamente, sinônimo de bem-estar.

Animais como os ovinos, não apresentam índices consideráveis de reatividade, com isso não há muitas informações de como estes animais reagem durante o manejo pré-abate e quais as consequências desta etapa na qualidade final da carne. O comportamento tem a vantagem de poder ser estudado de forma não invasiva, permitindo uma visão sobre o ponto de vista da perspectiva do animal (DAWKINS, 2004). Como ovelhas são criaturas relativamente resignadas, não mostram sinais evidentes de sofrimento e dor, conseqüentemente, observadores humanos não têm a capacidade ou habilidades para identificar esses indicadores, com isso, a sondagem da vida emocional e comportamental de ovinos é um dos mais difíceis desafios que a ciência está enfrentando. Isto requer a compreensão da

literatura do comportamento de ovinos e das alterações provocadas pelo estresse (RUTHERFORD, 2002).

Atualmente, não é conhecido se o aumento da reatividade em ovelhas durante a criação prevê reações intensas de estresse frente aos processos de abate (DEISS *et al.*, 2009). Porém, como comprovado por Monin (1981), avaliando o pH de onze músculos de dois grupos de cordeiros, submetidos ou não a situações de estresse, os cordeiros que não sofreram estresse apresentaram menores valores de pH para todos os músculos avaliados, exceto para o *Longissimus dorsi*, o qual apresentou valor mais alto.

Para Sañudo (2000) a reserva de glicogênio muscular baixa ou inexistente no momento do abate, pode provocar o surgimento da carne denominada DFD (dry, firm and dark), dura, firme e escura, caracterizada pelo pH final elevado, coloração intensa, sabor desagradável, maior susceptibilidade à contaminação bacteriana e alta capacidade de retenção de água.

Com isso, é notória a necessidade de estudos mais específicos sobre o bem estar e qualidade da carne ovina.

A maior dificuldade em desenvolver pesquisas na área de bem-estar e estresse em animais de produção é dada pelo entrave da grande variabilidade encontrada nos abatedouros. O grande número de fatores envolvidos no período pré-abate, tais como, manejo durante o carregamento e descarregamento de animais, duração do transporte, tempo de jejum, tempo de espera entre o descarregamento e abate, temperatura ambiente e as interações com genótipos diferentes são provavelmente responsáveis pela larga variação dos resultados já encontrados (SOUZA 2012).

Além disso, são muitos os potenciais agentes estressores envolvidos no manejo pré-abate, os quais podem ocasionar alterações fisiológicas e metabólicas decorrentes do desconforto físico e/ou emocional (DALLA COSTA *et al.* 2006). Bertoloni e Silveira (2003) através de suas pesquisas mostraram indícios de que o manejo pré-abate é estressante para os animais e influencia, negativamente em seu bem-estar, interferindo nos níveis de cortisol, lactato, creatina-fosfo-quinase (CPK) e na frequência cardíaca.

Lima (2013), com o intuito de promover uma viagem tranqüila, com o menor transtorno possível para os animais, afirma que os veículos devem ser conduzidos com cuidado, onde paradas bruscas e reviravoltas devem ser evitadas,

especialmente em estradas com curvas acentuadas. Os níveis vibratórios de um veículo de transporte (no caso, caminhão) podem variar com o tipo de suspensão, calibragem de pneus, tipo de amortecedores, velocidade (constante, aceleração ou frenagem), tipo e peso da carga, qualidade das rodovias etc. (FRANCHINI 2007; IDAH *et al.* 2009; WALBER e TAMAGNA, 2010), o que torna praticamente impossível desenvolver experimentos confiáveis em condições normais de transporte e manejo em abatedouros.

Para o desenvolvimento de experimentos sobre bem-estar é, em muitas ocasiões, necessário aplicar manejos conhecidos como aversivos nos animais para poder avaliar seus efeitos sobre a carne (BEAUSOLEIL, STAFFORD e MELLOR, 2005); Hötzel *et al.* (2005) Peters (2008) e estas práticas não são compatíveis com animais destinados ao abate para obtenção de carne com qualidade higiênico-sanitária.

Há grandes limitações nestes manejos com animais em transporte e abatedouros, pois é fundamental respeitar as normas de Abate Humanitário previstas na legislação e empregadas pelos Fiscais Agropecuários responsáveis pela Inspeção Sanitária, conforme descrito em trabalho desenvolvido por Mota (2013). Além disso, o manejo aversivo poderá resultar em perdas econômicas por contusões ou carne de pior qualidade.

Com isso, a utilização de modelos experimentais pode ser considerada uma ferramenta de grande importância na descoberta dos mecanismos fisiológicos e influências geradas pelo estresse no manejo pré-abate.

A utilização de ratos como modelos experimentais é uma prática altamente utilizada em várias áreas da ciência. Para Feijó *et al.* (2010), de aproximadamente 300 a.C., até os dias de hoje, o uso de animais não humanos em pesquisa tornou-se uma das formas mais importantes de compreender melhor o homem, da fisiologia ao processo saúde doença. A validade e a confiabilidade de tais estudos são maximizadas quando os materiais, animais e métodos utilizados são seguros e reproduzíveis, com isso, a preferência pelo uso de camundongos e ratos em experimentação deve-se a vários motivos, a genética destes animais é amplamente conhecida e manipulada, apresentam tamanho corporal reduzido, ciclo de vida e reprodução curtos e proximidade taxonômica em relação a seres humanos e animais (BAUMANS, 2010; KOOLHAAS, 2010).

Os anseios da população em prol do uso mais consciente de animais criados para produção de alimentos embasam as mudanças de legislação e justificam o estabelecimento de leis voltadas especificamente ao bem-estar animal que, provavelmente, interferirá nas barreiras comerciais internacionais (BOND *et al.*, 2007). Isso originou a ciência bem-estar animal, que é considerada complexa, pois envolve diferentes aspectos relacionados à saúde e ao comportamento animal, bem como as interações que ocorrem entre esses aspectos (GOMES, 2008). Também de acordo com Fraser (2012), minimizar o sofrimento dos animais no manejo pré-abate e abate é justificado do ponto de vista ético.

Devemos citar ainda o princípio dos “3R’s” na Experimentação Animal, esses tem origem do inglês replacement, reduction e refinement, e propõem, respectivamente, a substituição, a redução e o refinamento no uso de animais para fins científicos humanizando a utilização de animais em pesquisas (RAYMUNDO; GOLDIM, 2002). Em termos, a redução (reduction) orienta para a diminuição do número de animais através de análise estatística e delineamento experimental adequado, e do emprego de animais em boas condições sanitárias, nutricionais e controlados geneticamente. O refinamento, (refinement) atenta para o aprimoramento de técnicas que possam reduzir, ou mesmo prevenir, o estresse dos animais qualificando os procedimentos. Por fim, a substituição (replace) propõe a utilização de métodos alternativos sempre que possível em lugar de animais (DANIELSKI; BARROS; CARVALHO, 2012).

Em experimentos que causam dor ou morte dos animais, estudantes aceitam melhor o uso de ratos comparativamente a outros animais (PLOUS, 1996). Segundo Webster (2005) isto demonstra a separação de valores entre os animais com forte vínculo social com o ser humano e aqueles sem a mesma proximidade.

Contudo, ainda não estão disponíveis trabalhos utilizando estes modelos experimentais para detectar as alterações *post mortem* na carne, causadas por estresse, o que seria de grande relevância para a evolução do conhecimento nesta área, sendo evidente o alto custo destas pesquisas com animais de produção e a grande variabilidade entre os indivíduos, limitando o desenvolvimento de novas descobertas.

2 Objetivos

2.1 Objetivo Geral

O objetivo deste trabalho foi avaliar a utilização de ratos como modelo experimental para estudos relacionados ao estresse e suas conseqüências sobre a qualidade da carne.

2.2 Objetivos Específicos

- Elencar as principais causas e conseqüências do estresse na qualidade da carne ovina.
- Padronizar a curva normal do pH em ratos visando avaliar o processo de transformação do músculo e carne.
- Avaliar os efeitos do estresse pré-abate por contensão no pH da carcaça de ratos.

3 Hipóteses

- Ratos podem ser utilizados como modelo animal para estudos de estresse pré-abate e alterações na carne.

- A curva do pH muscular *post-mortem* dos ratos servirá para a comparação com a curva de pH *post-mortem* dos animais de produção.

- A influência do estresse pré-abate na curva do pH em ratos é similar ao efeito em animais de produção.

4 Artigos

4.1 Artigo 1

Correlation of sheep welfare and behavior with meat quality

Sandra Vieira de Moura; Samuel Rodrigues Félix e Éverton Fagonde da Silva

Submetido à revista Science and Animal Health

Correlation of sheep welfare and behavior with meat quality

Sandra Vieira de Moura¹; Samuel Rodrigues Félix² e Éverton Fagonde da Silva³

¹MSc., Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Veterinária – UFPEL

²Dr., Bolsista PNPd, Programa de Pós-Graduação em Veterinária, UFPEL.

³Dr., Professor Adjunto do Departamento de Veterinária Preventiva –FVET/UFPEL.

Abstract

Sheep meat is a growing market, especially in developing countries, where economic growth more abundant, and increasingly demanding, consumers. Alongside established markets, these consumers will be pressing for better quality products and humanely bred, reared, and slaughtered animals. A series of circumstances prior to slaughter will be stressing and may cause physiological alterations leading to a prejudicial effect on final meat quality. Animals are subject to these circumstances from production unit stunned at the slaughterhouse. This study considers specific characteristics of ovine behavior and meat composition in order to compile a review that addresses both pre and post slaughter effects on sheep meat quality. Specifically, we address pre slaughter handling of these animals, aspects of ovine behavior, and its consequences on final meat quality.

Keywords: Humanitarian slaughter, Sheepmeat, Animal handling, Glucocorticoids, Stress.

Introduction

The consumption of ovine meat in Brazil is around 700 g/capita/year, even though it has presented a positive tendency in recent years (FAOSTAT, 2009), consumption is still low when compared to 1.4 kg in Argentina, or 27 kg in Europe. Lamb production alone is responsible for a movement of over R\$ 360 million a year in Brazil, while worldwide meat production trends are changing from quantity to quality (BONAGURIO *et al.*, 2003). Sheep meat has high digestibility and low cholesterol rates, setting this product apart from beef and pork, and indicating a clear marketing strategy for the sector. In such a scenario, it is important for a product to stand out and meet the consumers' demands. According to Warriss (1990), people want to eat meat with "ethical quality", that is, animals raised, treated, and slaughtered in systems that promote animal welfare, are sustainable, and environment friendly. The welfare of farm animals has become a worldwide concern

(VANHONACKER *et al.*, 2008), especially among Europeans, where it is an ever increasing priority. According to Grandin (2010), administrators, veterinarians, and scientists should have more knowledge regarding the assessment and auditing of animals prior to slaughter. Deiss *et al.* (2009) suggests that, to reduce animal stress during slaughter it is necessary to understand its cause. However, slaughter procedures are complex and represent several stress risks, some of which are still unknown. Even more understudied are the stress risks in sheep slaughterhouses, making effective welfare promoting, and humanitarian slaughter programs hard to implement for this species. This review will demonstrate the relevance of developing studies associated with behaviour and welfare of sheep destined for slaughter. Furthermore, we will regard the specific characteristics of this species considering humanitarian slaughter.

Aspects of ovine behaviour

Change in animal behaviour has occurred since they were first domesticated. Sheep are gregarious and, by nature, reluctant to separation or mixture with other animals. When first presented to new situations they will react with stress and possibly resistance (Grandin, 2000). The population growth has significantly increased the consumption of animals, making production ever more intensive, substantially altering the available environment for these animals. Thus, physiological and behavioural adaptation on the animals' part must be taken into consideration when assessing the production system (LE NEINDRE *et al.*, 1996). Being relatively submissive animals, sheep will seldom show signs of pain or suffering, consequently, observing visual indicators is unpractical, therefore, objective methods must be used to assess the welfare of farm animals (FITZPATRICK *et al.*, 2006). Currently, it is unknown if the increase in the reactivity of sheep during production can predict intense stress reaction during the slaughter process (DEISS *et al.*, 2009). The final pH will be elevated in meat from lambs that are reactive to social separation, and for these animals, the presence of herd mates may reduce stress reactions during the slaughter process. Warriss (1990) report that sheep seem less susceptible to stress than cattle or swine, otherwise, they may have different physiological mechanisms, since muscle contraction was not a prerequisite for the DFD (Dark, Firm and Dry) process in sheep, as opposed to cattle (APPLE *et al.*, 1995).

Ovine stress and welfare

The welfare of production animals is determined by the production system and animal handling practices imposed by the farmers, which, in turn, are determined by market requirements (MOLENTO, 2005). Oliveira *et al.* (2008) suggests that the modern consumer wants to know the “history” of products, such as how the animals were raised, fed, transported, and slaughtered. Traceability programs can be designed to encompass some, most, or all of the life-cycle, from the animal’s birth to consumption (SMITH *et al.*, 2005), and are, or should be, thoroughly implemented in developing countries in the next few years, to account for foreign markets. Stress inducing factors may have a physical origin, such as food deprivation, fatigue or adverse temperatures, but it can also have a psychological origin, such as a disturbance in the social group, human presence or exposure to new environments (TERLOUW *et al.*, 2008). To provide a condition of welfare, it is necessary to recognize the situations that trigger adverse reactions in the animal. Distress describes the situation in which sheep are susceptible to suffering and demonstrate abnormal behavior (EWBANK, 1985). Any agent that threatens the animal’s wellbeing can lead to distress. Acute infections and environmental changes are potential health threats and can lead sheep to distress (GOUGOULIS *et al.*, 2010). In stressful situations animals will present tachycardia and blood redistribution, from the viscera to the skeletal muscles and brain, with behavioral response becoming evident, such as: alert state, immobilization, aggression and escape behavior (FERGUSON; WARNER, 2008). To assess the animals’ wellbeing during handling and transport, behavioural and physiological measurements must be considered. Physiological measurements used thus far are autonomic responses, such as heart frequency and hormone levels, usually corticosteroids (KORTE, 2001). Therefore, it is important to highlight that change in the animals physiological or behavioral state may indicate that the welfare has been disturbed, and compromise the downstream production chain, depreciating the final product quality (MOLENTO, 2005).

Stress indicators

Most stress alterations will involve the secretion of glucocorticoids and an increased activity of the sympathetic nervous system (SNS). The synchronized control of the hypothalamus, hormones that increase ACTH and catecholamine levels will result in biochemical and physiological manifestations of stress (NOCKELS, 1990). The part played by the supra-renal cortex is the production of gluco and mineralcorticoids, of which cortisol and aldosterone are particularly important in stress. The glucocorticoids, together with the

catecholamines, will trigger metabolic alterations in order to mobilize and provide energy to the organism through lipolysis, glycogenolysis, and protein degradation. Stress provokes an increase in cortisol levels in the blood, this is associated with hypophysis and adrenal stimulation. The liberation of cortisol by the adrenal cortex is associated with stress stimuli, and has a significantly negative impact on animal performance, immunity, and meat quality (FELL *et al.*, 1999; KING *et al.*, 2006; LACOURT; TARRANT, 1985). Several studies (JARVIS *et al.* 1996; KRAWCZEL *et al.*, 2007) have found elevated cortisol levels in animals that suffered inadequate grouping and transportation. Stress related hormones can alter metabolic functions in fatty and liver tissues. The hypothalamus-pituitary-adrenal axis (HPA) is one of the endocrinal pathways that promote lipolysis, increasing the levels of free fatty acids (FFA) in the blood, as well as indirectly causing hyperglycemia. Thus, high blood levels of FFA and glucose are considered trustworthy markers to assess individual responses to different types of stress. The identification of these markers may determine stress levels suffered by an animal during the pre-slaughter procedures, allowing the assessment of the physiological and metabolic condition of these animals and predicting possible alterations in meat quality.

Pre Slaughter

Many are the factors that influence pre slaughter comfort, such as: transportation, fast, and environment. The animals are exposed to the wanderings of humans and other animals that are strange to them, food and water deprivation, social alterations, all of which may disturb the animals physiology (FERGUSON; WARNER, 2008). Studies by Miranda de-la Lama *et al.* (2010) suggest that the logistic chain, pre slaughter, is a source of stress for lambs, affecting their physiological state, even under good commercial conditions. According to Grandin (1997), the reunion of animals, the chosen handling methodology, and the new environmental conditions are all causes of psychological stress, while temperature extremes, hunger, fatigue, and injuries are the main causes of physical stress. Other aspects that require attention include the installations and equipment used (pens at the production, piers, trucks, rattles, pens at the slaughter house, and stunning room), as well as the breed (in terms of reactivity). An assessment by the same authors identified the following problems in pre slaughter handling that resulted in an increased amount of hematomas in the carcasses: (1) direct aggression; (2) high social density in pens and pier before transport; (3) inadequate installations; (4) inadequate transport; (5) agitated animals as a result of

breed reactivity and aggressive handling. Vocalization when conducting the animals or during stunning, has a high correlation with adverse events. Falls and slips are indicative of deficient installations and/or bad handling. Good installations should allow no more than 1% and 3% falls and slips, respectively (GRANDIN, 2000).

Transport

The transport is associated with a change in both the physical and social environments. The animals are usually transported in heavy vehicles where they may suffer injuries and extreme climatic conditions (such as temperature and rain) (TERLOUW *et al.*, 2008). High densities keep transportation costs low, however these must be balanced with the animals' welfare. Although some aspects of ovine behavior during transport and housing have been described (COCKRAM *et al.*, 2004; JARVIS *et al.*, 1996; MIRANDA-DELA LAMA *et al.*, 2010), no study has described the effects of pre shipment fasting. In countries such as Australia, sheep and cattle to be slaughtered must not travel more than ten hours (FERGUSON; WARNER, 2008). Osório *et al.* (1991) demonstrated that travelled distances of 100 to 300 km influence, in a direct manner, weight loss in mutton (3.81% to 7.87%), sheep (2.29% to 10.01%), and lamb (2.24% to 9.45%). Acceptable density patterns for transportation will depend on the weight and physiological state of the animals in question. Therefore, trips of three to four hours should have animals grouped by weight, with 0.2 to 0.5 m² per sheep (TERLOUW *et al.*, 2008). Studies with lambs on the effect of fasting alone or transport and fasting, have been mostly unable to demonstrate that transport itself is a significant stress factor (KNOWLES, 1999; WARRISS, 1990), while others claim that transport will aggravate the weight loss due to fasting (HORTON *et al.*, 1996; THOMPSON *et al.*, 1987). Transport is not only a possible stress event, but also a point of concern for the European commission (SCAHAW, 2002). Road transporting of live sheep follows the same principles set for cattle. The transporting vehicle must have safe and strong, high laterals to prevent the animals from jumping or falling during movement. Also, the floor must be covered with a slip safe surface (GRANDIN, 2000).

Stunning

Adequate stunning methods are indispensable to guarantee the success of the humanitarian slaughter. At this stage, the most important points are adequate functioning equipment and well trained personnel. Stunning through captive bolt pistols induce deep, irreversible concussions. Generally five criteria are used to assess the efficiency of the

stunning process: immediate collapse of the animal, no need for a second shot, absent corneal reflex, fixed look, and abnormal breathing (GREGORY; SHAW, 2000). Stunning animals prior to slaughter is a legal requirement in most countries. The 1993 93/119/CE council directive of the European Union, as well as the technical regulation for the stunning and humanitarian slaughter of animals (BRASIL, 2000) require that all stunned animals stay in this state until total loss of brain functions due to exsanguination. Therefore it is essential that efficient stunning methods be used always. In the meat industry, effective stunning will also influence other factors such as meat quality and haemorrhage and fracture occurrence. However, there is still a lack of information regarding ovine meat quality and the effects of stunning methods (VELARDE *et al.*, 2003). According to Blackmore and Petersen (1981) in practical terms, electric methods seem to be the most cost effective for the stunning of sheep. However, this method usually leads to convulsions, which may increase post mortem glycolysis rates due to high muscle activity, and high catecholamine levels in the blood. For effective stunning, not only is the position of the shot important, but the pistol's angle in relation to the animal's skull, allowing the dart or impact force to hit the brain structures responsible for consciousness: the cerebral cortex, encephalic stem, and the cerebellum (FINNIE, 1993). In short, stunning must induce a state of unconsciousness that lasts until the end exsanguination, without unnecessary suffering and promoting the most complete blood loss possible.

Exsanguination

Exsanguination is carried out by opening of the large blood vessels in the dewlap region, cutting the anterior aorta, anterior vena cava, carotid arteries, and jugular veins, no more than one minute after stunning (BRASIL, 2000). An efficient exsanguination, that produces meat with an adequate conservation capacity, should remove at least 60% of the total blood volume, with 10% staying in the muscles and the rest in the viscera (HEDRICK *et al.*, 1994). To obtain quality meat, the maximum amount of blood must be lost during exsanguination. Badly bled carcasses will have an unpleasant aspect, being ideal for bacterial growth. Blood has a high pH (7.35 to 7.45) and high protein content, thus making badly bled meat hard to preserve (ROÇA *et al.*, 2001). During exsanguination, healthy and rested animals will lose around half their blood volume, while those that are stressed or otherwise organically altered will present a deficient exsanguination. Exsanguination is the final stage

in the humanitarian slaughter. At least three minutes are required after the bleeding before skinning can begin.

Meat quality

Meat quality is a combination of flavor, juiciness, texture, softness, and appearance, constituents which will influence product acceptance (MADRUGA, 2000). Welfare problems during transport and pre-slaughter handling in farm animals may have a negative influence on carcass and meat quality, and therefore cause economic loss. Sensorial quality of sheep meat can be considered an integration of factors that include production (zootechnical factors), processing (ante and post mortem handling), added value, and preparation method (RUSSELL *et al.*, 2005). Similar to carcass characteristics, quality will directly affect the consumption of ovine meat. Meat quality will be assessed as much for its nutritional value as for its sensorial and organoleptic characteristics. Certain compounds that are present in small amounts can have a marking influence, such as: myoglobin for color, collagen for tenderness, and volatile substances for aroma. Therefore, several aspects must be taken into consideration when assessing the quality of sheep meat. Water retention capacity, pH, sensorial aspects, fat content, fatty acid composition, collagen percentage, and intramuscular fat percentage are among the most important factors (SILVA *et al.*, 2008). In general, an increase in physiological stress or physical activity in farm animals during transportation and pre-slaughter handling leads to depletion of muscle glycogen reserves before slaughter, which may result in a higher ultimate meat pH, greater water holding capacity, darker meat color, and tougher meat (GREGORY; SHAW, 2000). In contrast, some studies suggest handling of sheep pre slaughter has less effect on meat quality than found in species, such as pig (BRAZAL; BOCCARD, 1977). However, Pearson *et al.* (1977) noted that electrical stunning of lambs caused the secretion of noradrenaline and adrenaline into the bloodstream, resulting in levels, respectively, 20 and 14 times higher than in non-stunned lambs. Several factors of the production process, before and after slaughter, will influence the final quality of the product. According to Bressan *et al.* (2001), the consumer market is very demanding regarding the physical quality of meat. Thus, knowing these factors for the different age and weight classes destined to be slaughtered is essential. To comply with the modern consumer requirements, the production chain must be adapted in order to obtain products with higher nutritional value, sanity, and greater organoleptic qualities. Attributes related with the acceptance of the final product include: fatty acid concentration, pH, color,

loss of weight after cooking, water retention, and tenderness (SILVA *et al.*, 2008), factors that negatively alter these parameters will have a detrimental in the consumers view. Stress is foremost among the ante mortem factors that will influence the final product quality. Also notable are breed, age, and sex. These pre slaughter influences will mostly affect the final texture, color, and water retention capacity. Post slaughter factors will influence mostly tenderness, color, aroma, and functional characteristics (such as water retention and emulsification). All these factors, pre and post slaughter are manageable in order to obtain meat of better quality. According to Devine *et al.* (2006), aspects related to the welfare and pre slaughter handling such as those previously mentioned, as well as the resting period after transportation, have a great influence in the final product quality.

Conclusions

The welfare and humanitarian slaughter of sheep is fundamental to achieve the desired levels of meat quality. The extent to which long term or pre slaughter stress negatively influences meat quality is still unknown, mostly due to due to a lack of specific studies. Thus, further research in the area is essential to support the development of practices and technologies that will optimize procedures and boost the sector's growth, especially in developing countries, where demanding market are growing rapidly.

Correlação do comportamento e bem-estar com a qualidade da carne ovina

Resumo

O mercado da carne ovina apresenta-se em ascensão, especialmente nos países em desenvolvimento, onde ocorre o crescimento econômico dos consumidores e o aumento da demanda. Em comparação aos mercados já estabelecidos, esses consumidores irão pressionar por uma melhor qualidade dos produtos, na criação, na manutenção e no abate humanitário desses animais. Uma série de circunstâncias pré-abate são estressantes para os animais e podem causar alterações fisiológicas que conduzem a um efeito prejudicial na qualidade final da carne. Animais são submetidos a essas circunstâncias desde a unidade de produção até o abatedouro. Este estudo considera as características específicas do comportamento dos ovinos e a sua composição da carne, a fim de compilar uma revisão que aborda tanto os efeitos do pré e pós-abate sobre a qualidade da carne ovina. Especificamente, foi abordado o manejo pré-abate desses animais, aspectos do comportamento dos ovinos e suas consequências na qualidade final da carne.

Palavras – chave: Abate Humanitário, Carne Ovina, Estresse, Glicocorticoides, Manejo.

Correlación de bienestar y comportamiento de ovejas con calidad de la carne

Carne de ovino es un mercado en crecimiento, especialmente en los países en desarrollo, donde el crecimiento económico a los consumidores más abundantes, y cada vez más exigentes. Junto a los mercados establecidos, estos consumidores serán presionando para productos de mejor calidad y los animales con humanidad reproducidos, criados y sacrificados. Una serie de circunstancias anteriores a su sacrificio será estresante y puede producir alteraciones fisiológicas que conducen a un efecto perjudicial sobre la calidad de la carne final. Los animales son sometidos a estas circunstancias de unidad de producción aturdidos en el matadero. Este estudio considera las características específicas de comportamiento bovino y composición de la carne con el fin de elaborar una revisión que aborda tanto los efectos pre y post sacrificio sobre la calidad de carne de ovino. En concreto, nos dirigimos a pre manipulación, masacre de estos animales, los aspectos de comportamiento ovina, y sus consecuencias sobre la calidad de la carne final.

Palabras clave: Faena Humanitaria, carne ovina, estrés, glucocorticóides, manejo de los animales.

Referências

APPLE, J. K.; DIKEMAN, M.E.; MINTON, J.E.; MCMURPHY, R.M.; FEDDE, M.R.; LEIGHT, D.E.; UNRUH, J.A. Effects of restrain and isolation stress and epidural blockade on endocrine and blood metabolite status, muscle glycogen metabolism, and indice of darck-cutting longissimus muscle of Sheep. **Journal of Animal Science**, v. 73, p. 2295-2307, 1995.

BLACKMORE, D.K.; PETERSEN, G.V. Stunning and slaughter of sheep and calves in New Zealand. **New Zealand Veterinary Journal**, 29, 99–102. 1981.

BONAGURIO, S.; PÉREZ, J.R.O.; GARCIA, I.F.F.; BRESSAN, M.C.; LEMOS, A.L.S.C. Qualidade da carne de cordeiros Santa Inês puros e mestiços com Texel abatidos com diferentes pesos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, p. 1981-1991. 2003.

BRASIL 2000. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa no. 3, de 17 de janeiro de 2000. Regulamento técnico de métodos de insensibilização para o abate humanitário de animais de açougue. S.D.A./M.A.A. **Diário Oficial da União**, Brasília, p.14-16.

- BRAZAL, T.; BOCCARD, R. Efectos de dos tratamientos ante mortem sobre localización de la canal y de la carne de cordero. **Produccion Animal**, v. 8, p. 97-125. 1977.
- BRESSAN, M.C.; PRADO, O.V.; PÉREZ, J.R.O.; LEMOS, A.L.S.C.; BONAGURIO, S. Efeito do peso ao Abate de cordeiros Santa Inês e Bergamácia sobre as características Físico-químicas da carne. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, p. 293-303. 2001.
- COCKRAM, M.S.; BAXTER, E.M.; SMITH, L.A.; BELL, S.; HOWARD, C.M.; PRESCOTT, R.J.; MITCHELL, M.A. Effect of driver behaviour, driving events and road type on the stability and resting behaviour of sheep in transit. **Animal Science**, v. 79, p. 165-176. 2004.
- DEISS, V.; TEMPLE, D.; LIGOUT, S.; RACINE, C.; BOUIX, J.; TERLOUW, C.; BOISSY, A. Can emotional reactivity predict stress responses at slaughter in sheep? **Applied Animal Behaviour Science**, v. 119, p. 193–202. 2009.
- DEVINE, C.E.; LOWE, T.E.; WELLS, R.W.; EDWARDS, N.J.; EDWARDS, J.E.; STARBUCK, T.J.; SPECK, P.A. Pre-Slaughter stress arising from handling and its interactions with electrical stimulation on tenderness of lambs. **Meat science**, v. 73, p. 304-312. 2006.
- EWBANK, R. Behavioral responses to stress in farm animals. In: *Animal Stress* (ed. GP Moberg). **American Physiological Society, Bethesda**, p. 71–79. 1985.
- FAOSTAT 2009. www.fao.org. Food and Agriculture Organization (FAO) of the United Nations, FAO Statistical databases.
- FELL, L.R.; COLDITZ, I.G.; WALKER, K.H.; WATSON, D.L. Associations between temperament, performance and immune function in cattle entering a commercial feedlot. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 39, p. 795–802. 1999.
- FERGUSON, D.M.; WARNER, R.D. Have we underestimated the impact of pre-slaughter stress on meat quality in ruminants? **Meat Science**, v. 80, p. 12–19. 2008.
- FINNIE, J.W. Brain damage caused by a captive bolt pistol. **Journal of Comparative Pathology**, v. 3, p. 253-258. 1993.
- FITZPATRICK, J.; SCOTT, M.; NOLAN, A. Assessment of pain and welfare in sheep. **Small Ruminant Research**, v. 62, p. 55–61. 2006.
- GOUGOULIS, D.A.; KYRIAZAKIS, I.; FTHENAKIS, G.C. Diagnostic significance of behaviour changes of sheep: A selected review. **Small Ruminant Research**, v. 92, p. 52–56. 2010.

GRANDIN, T. Assessment of stress during handling and transport. **Journal of Animal Science**, v. 75, p. 249-257.1997.

GRANDIN, T. **Livestock Handling and Transport**. CABI Publishing, Wasllingford, Oxon (Reino Unido).2000.

GRANDIN, T. Auditing animal welfare at slaughter plants. **Meat Science**, v. 86, p. 56–65.2010.

GREGORY, N.G.; SHAW, F.D. Penetrating captive bolt stunning and exsanguination of cattle in abattoirs. **Journal of Applied Animal Welfare Science**, v. 3, p. 215–230.2000.

HEDRICK, H.B.; ABERLE, E.D.; FORREST, J.C.; JUDGE, M.D.; MERKEL, R.A. **Principles of meat science**. Dubuque: Kendal/Hunt Publ. Co.1994.

HORTON, G.M.J.; BALDWIN, J.A.; EMANUELE, S.M.; WOHLT, J.E.; MCDOWELL, L.R. Performance and blood chemistry in lambs following fasting and transport. **Animal Science**, v. 62, p. 49-56.1996.

JARVIS, A.M.; COCKRAM, M.S.; MCGILP, I.M. Bruising and biochemical measures of stress, dehydration and injury determined at slaughter in sheep transported from farms or markets. **British Veterinary Journal**, v. 152, p. 719–722.1996.

KING, D.A.; SCHUEHLE, T.H.; PFEIFFER, C.E.; RANDEL, R.D.; WELSH, J.R.; OLIPHINT, R.A.; BAIRD, B.E.; CURLEY, J.R.K.O.; VANN, R.C.; HALE, D.S.; SAVELL, J.W. Influence of animal temperament and stress responsiveness on the carcass quality and beef tenderness of feedlot cattle. **Meat Science**, v. 74, p. 546–556.2006.

KNOWLES, T.G. A review of the road transport of cattle. **Veterinary Record**, v. 144, p. 197-201.1999.

KORTE, S.M. Corticosteroids in relation to fear, anxiety and psychopathology. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 25, p. 117–142.2001.

KRAWCZEL, P.D.; FRIEND, T.; CALDWELL, D.J.; ARCHER, G.; AMEISS, K. Effects of continuous versus intermittent transport on plasma constituents and antibody response of lambs. **Journal of Animal Science**, v. 85, p. 468–476.2007.

LACOURT, A.; TARRANT, P.V. Glycogen depletion patterns in myofibres of cattle during stress. **Meat Science**, v. 15, p. 85–100.1985.

- LE NEINDRE, P.; BOIVIN, X.; BOISSY, A. Handling of extensively kept animals. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 49, p. 73-81.1996.
- MADRUGA, M.S. Castrations and slaughter age effects on panel assessment and aroma compounds of the mestiço goats meat. **Meat Science**, v. 56, p. 117-125.2000.
- MIRANDA-DE LA LAMA, G.C.; RIVERO, L.; CHACÓN, G.; GARCIA-BELENGUER, S.; VILLARROEL, M.; MARIA, G.A. Effect of the pre-slaughter logistic chain on some indicators of welfare in lambs. **Livestock Science**, v. 128, p. 52–59.2010.
- MOLENTO, C.F.M. Bem-estar e produção animal: aspectos econômicos – revisão. **Archives of Veterinary Science**, v. 10, p. 1-11. 2005.
- NOCKELS, C.F. Mineral alterations associated with stress, trauma, and infection and the effect on immunity. **ContEducationPracticesVeterinarian**, v. 12, p. 1133-1139. 1990.
- OLIVEIRA, C.B.; BORTOL, E.C.; BARCELLOS, J.O.J. Diferenciação por qualidade da carne bovina: a ótica do bem-estar animal. **Ciência Rural**, v. 38, p. 2092-2096.2008.
- OSÓRIO, J.C.S.; SAÑUDO, C.; SIERRA, I. Perdidas por transporte en ovinos. **Revista de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia**, v. 16, p. 480-486. 1991.
- PEARSON, A.J.; KILGOUR, R.; DE LANGEN, H.; PAYNE, E. Hormonal responses of lambs to trucking, handling and electrical stunning. Proceeding of New Zealand Society. **Animal Production**, v. 37, p. 243 - 248. 1977.
- ROÇA, R.O.; PADOVANI, C.R.; FILIPI, M.C.; SCHWACH, E.; UEMI, A.; SHINKAI, R.T.; BIONDI, G.F. Efeitos dos Métodos de Abate de Bovinos na eficiência da Sangria. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, p. 244-248. 2001.
- RUSSELL, B.C.; MCALISTER, G.; ROSS, I.S.; PETHICK, D.W. Lamb and sheep meat eating quality - industry and scientific issues and the need for integrated research. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 45, p. 465-467.2005.
- SCAHAW, E.C. The welfare of animals during transport (details for horses, pigs, sheep & cattle). **Report of the Scientific Committee on Animal Health and Animal Welfare**. Brussels, European Commission. 2002.

SILVA, N.V.; SILVA, J.H.V.; COELHO, M.S.; OLIVEIRA, E.R.A.; ARAÚJO, J.A.; AMÂNCIO, A.L.L. Características de Carcaça e Carne Ovina: Uma abordagem das variáveis metodológicas e fatores de influência. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 2, p. 103-110. 2008.

SMITH, G.C.; TATUM, J.D.; BELK, K.E.; SCANGA, J.A.; GRANDIN, T.; SOFOS, J.N. Review. Traceability from a US perspective. **Meat Science**, v. 71, p. 174–193. 2005.

TERLOUW, E.M.C.; ARNOULD, C.; AUPERIN, B.; BERRI, C.; LE BIHAN-DUVAL, E.; DEISS, V.; LEFE, V.R.E.F.; LENSINK, B.J.; MOUNIER, L. Pre-slaughter conditions, animal stress and welfare: current status and possible future research. **Animal**, v. 2, p. 1501–151. 2008.

THOMPSON, J.M.; O’HALLORAN, W.J.; MCNEILL, D.M.J.; JACKSON-HOPE, N.J.; MAY, T.J. The effect of fasting on liveweight and carcass characteristics in lambs. **Meat Science**, v. 20, p. 293-309. 1987.

VANHONACKER, F.; VERBEKE, W.; VANPOUCKE, E.; TUYTTENS, F. Do citizens and farmers interpret the concept of farm animal welfare differently? **Livestock Science**, v. 116, p. 126–136. 2008.

VELARDE, A.; GISPERT, M.; DIESTRE, A.; MANTECA, X. Effect of electrical stunning on meat and carcass quality in lambs. **Meat Science**, v. 63, p. 35-38. 2003.

WARRISS, P.D. The handling of cattle pre-slaughter and its effects on carcass meat quality. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 28, p. 171-186. 1990.

Autor para correspondência:

Sandra Vieira de Moura

Médica Veterinária, Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Veterinária – UFPEL.

sanvimoura@gmail.com

4.2 Artigo 2

Determinação da curva do pH muscular post mortem de Ratos Wistar em condições normais e submetidos ao Estresse por Contensão.

Sandra Vieira de Moura; Iuri Vladimir Pioly Marmitt; Nathieli Beltran Schiavi; Tanise Fortes; Amilton Clair Pinto Seixas Neto; Gilmar Batista Machado; Josiane Bonel; e Éverton Fagonde da Silva

Irà ser submetido à revista Pesquisa Veterinária Brasileira

Determinação da curva do pH muscular post mortem de Ratos Wistar em condições normais e submetidos ao Estresse por Contensão.

Sandra V. Moura¹; Iuri V. P. Marmitt²; Nathieli B. Schiavi³; Tanise Fortes¹; Amilton C. P. Seixas Neto⁴; Gilmar B. Machado¹; Josiane Bonel⁵; e Éverton F. Silva⁶

¹MSc., aluno de doutorado do Programa de Pós-Graduação em Veterinária – UFPEL

²MSc., aluno de doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia – UFPEL

³Aluna do curso de graduação em Biotecnologia – UFPEL

⁴Dr., Bolsista PNPd, Programa de Pós-Graduação em Veterinária, UFPEL.

⁵Dra., Professora do Departamento de Patologia Veterinária – FVET/UFPEL.

⁶Dr., Professor do Departamento de Veterinária Preventiva – FVET/UFPEL.

sanvimoura@gmail.com

Resumo

A utilização de ratos como modelo experimental é uma prática altamente recorrente em várias áreas da ciência, no entanto, ainda não estão disponíveis trabalhos que utilizem ratos como modelo para a detecção de alterações na transformação de músculo em carne. Os objetivos deste estudo foram: (1) descrever e padronizar a curva de pH da transformação em carne dos músculos *Triceps brachii*, *Longissimus dorsi* e *Biceps femoralis* de ratos submetidos a condições normais de criação desde a eutanásia até 24 horas *post-mortem*; (2) determinar se a análise em cada músculo altera significativamente a curva de pH; e (3) determinar se o estresse causado pela contensão dos ratos no período *ante mortem* causa alterações qualitativas na carne e se afeta o tempo e os valores de pH necessários para a transformação do músculo em carne. Para a determinação da curva de pH muscular foram utilizados 12 ratos machos da linhagem Wistar, os animais sofreram eutanásia e as carcaças foram colocadas sob refrigeração para as aferições do pH muscular. Outro grupo de 12 animais foi submetido ao estresse por contensão e após foi realizada a eutanásia e, posteriormente, as avaliações de pH. Os resultados indicam que os valores de queda de pH muscular *post mortem* de ratos apresentam ritmo de queda semelhante as espécies comerciais; os valores médios de pH muscular nos 3 grupos musculares não apresentam diferenças significativas em todos os períodos analisados; as médias de pH muscular apresentam diferenças significativas da hora 0 até 6 horas após o abate, quando o valor mínimo de pH muscular é encontrado. Ratos em condições de estresse por contensão apresentaram uma queda do pH muscular significativamente mais rápida do que a curva normal. O uso de ratos como modelo de estudo para detectar alterações musculares *post-mortem* é promissor, pois as alterações de queda de pH seguem os valores e tempo de queda semelhantes as espécies comerciais.

Palavras chave: Carne; *Longissimus dorsi*; Modelo animal; pH *post-mortem*.

Abstract

Rat as experimental model is a highly common practice in many areas of science, however, are not yet available studies using rats as a model for detecting changes in transformation of the muscle in meat. Thus, the objectives of this study were: (1) to describe and standardize the pH curve in transformation into meat of the muscles *Triceps brachii*, *Longissimus dorsi* and *Biceps femoralis* of rats subjected to normal breeding conditions from euthanasia to 24 hours *post-mortem*; (2) to determine whether the analysis in each muscle modify significantly the pH curve; and (3) to determine whether the stress by rats restraining in the *ante-mortem* period cause qualitative changes in meat and affects the time and pH values for the transformation of muscle in meat. For the determination of muscle pH curves were used 12 male Wistar rats, the animals were euthanized and the carcasses were placed under refrigeration for measurements of muscle pH. Another group of twelve animals was subjected to stress by restraining and after was performed the euthanasia and pH analysis. The results indicate that the values of pH *post-mortem* in the rat muscle showed similar decline according to commercial species; the average values of pH of three muscles groups do not differ significantly in all the analyzed periods; the muscle pH averages differ significantly from time 0 to 6 hours after slaughter, when the minimum value of muscle pH is found. Rats in restraint stress showed a decline in muscle pH significantly faster than normal curve. Rats are a promising experimental model to detect muscle *post-mortem* changes, because the decrease in the muscle pH follows the values and time similar to found in the commercial species.

Key words: Animal model; *Longissimus dorsi*; Meat; pH *post-mortem*;

Introdução

O estresse é um tema de relevante importância tanto para a área humana quanto animal. As suas consequências podem ser observadas no esporte, no comportamento, na criação de animais e na qualidade dos alimentos. Por esse motivo, o interesse no controle do bem-estar dos animais domésticos vem se expandindo na área veterinária nos últimos anos (Caporale *et al.*, 2005). Estudos anteriores demonstraram que animais submetidos a situações de estresse como a mudança de ambiente, superlotação no alojamento e a privação de alimentos, apresentam alterações orgânicas importantes. Embora o estresse possa afetar negativamente na resistência dos animais a doenças, na qualidade de alimentos e na sua reprodução, poucos métodos confiáveis, de fácil execução e não invasivos para detectar estresse em animais foram padronizados até o momento (Muneta *et al.*, 2009).

Nas primeiras 24 horas após o abate de animais de produção, quando o músculo transforma-se em carne, ocorrem importantes eventos bioquímicos e estruturais (Koochmaraie, 1994; Lawrie, 2005). Esta transformação do músculo em carne exerce um forte impacto no pH e consequentemente na maciez e cor da carne (Savell *et al.*, 2005). Bovinos expostos ao estresse pré-abate geralmente apresentam uma alteração na qualidade da carne conhecida como *Dark Firm Dry* (DFD), caracterizada pela cor escura na superfície de corte do músculo, seca e dura, o que leva a consideráveis prejuízos na indústria da carne (Weglarz, 2010). Em suínos a carne *Pale Soft Exudative* (PSE) representa o principal problema de qualidade na indústria da carne, apresentando-se com baixa capacidade de retenção de água, textura flácida e cor pálida que levam a consideráveis perdas de água durante o processamento (Maganhini, 2007). Estas alterações podem ser detectadas de maneira simples, através da medição do pH no período *Post-mortem*.

A utilização de ratos como modelo experimental é uma prática altamente recorrente em várias áreas da ciência (Plous, 1996; Damatta, 2010, Rosenfeld, 2012). Estudos sobre fibras musculares que utilizam o rato como modelo animal, principalmente relacionados ao exercício físico, demonstram a similaridade no metabolismo músculo esquelético destes animais com os demais mamíferos (Burniston, 2008; Araújo, 2009; Lee *et al.*, 2010). Sobre o limiar anaeróbio em ratos, Voltarelli *et al* (2004) estudaram a influência do jejum na depleção dos estoques de glicogênio muscular e o seu efeito

no condicionamento físico dos animais, evidenciando também uma queda do lactato sanguíneo. No entanto, ainda não estão disponíveis trabalhos que utilizem ratos como modelo para a detecção de alterações na transformação de músculo em carne.

Neste contexto, os objetivos deste estudo foram:

Descrever e padronizar a curva de pH da transformação em carne dos músculos *Triceps brachii*, *Longissimus dorsi* e *Biceps femoralis* de ratos submetidos a condições normais de criação desde a eutanásia até 24 horas *post-mortem*. Determinar se a análise em cada músculo altera significativamente a curva de pH. Determinar se o estresse causado pela contensão dos ratos no período *ante-mortem* causa alterações qualitativas na carne e se afeta o tempo e os valores de pH necessários para a transformação do músculo em carne.

Material e Métodos

Curva de pH do músculo durante a evolução *post-mortem*

Para a determinação da curva de pH muscular nas primeiras 24 horas *post-mortem*, foram utilizados 12 ratos machos da linhagem Wistar, com seis semanas de idade, oriundos do Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas. Os animais permaneceram em gaiolas coletivas e foram alimentados com ração peletizada na própria grade da gaiola, conforme as necessidades diárias da espécie (15g/300g PV/dia de alimento e 45mL/300g PV/dia de água). Todos os animais foram mantidos em caixas com as dimensões de 49x34x16cm, totalizando 1.666 cm² (277 cm²/animal).

Os animais foram alojados em estantes ventiladas com umidade, trocas de ar e temperatura controlada. O programa de luz seguiu o recomendado, ou seja, ciclos de 12 horas de luz por dia. As trocas das caixas com as camas de maravalha foram realizadas durante três vezes por semana. A eutanásia foi realizada através do uso de guilhotina, sendo realizada de imediato a evisceração e esfolagem da carcaça.

Para definir a curva normal do pH da espécie, em condições normais de criação, o momento imediatamente após a eutanásia e preparação da carcaças foi considerado a hora "0" *post-mortem*. As carcaças foram colocadas sob refrigeração (4°C), onde permaneceram por 24 horas. O pH foi aferido na primeira e segunda hora (Hora 1 e Hora 2) e após foram realizadas aferições a cada duas horas até as primeiras 6 horas *post-mortem*, e a última aferição foi feita com 24 horas, com o objetivo de determinar o pH final da carcaça.

Após a eutanásia dos animais foi feita avaliação do pH nos músculos *Biceps femoris*, *Longissimus dorsi* e *Triceps brachii* com o medidor de pH portátil Analion Mod. PM 602. O aparelho foi calibrado momentos antes da realização das medidas no local da coleta. As carcaças foram mantidas em resfriamento (4°C), e as aferições foram feitas no interior da câmara. O resultado das aferições foi registrado em planilha para posterior determinação da curva de pH muscular.

Teste de estresse por contensão

Para simular uma situação de estresse comum em animais de produção, foi realizada uma contensão forçada dos animais com o objetivo de verificar alterações na curva normal do pH. A escolha pelo método de contensão se deu pelo fato de o mesmo ser um fator estressante para várias espécies comerciais e experimentais e ser relatado como uma das causas de morte súbita em animais (Carramenha & Carregaro, 2012).

Neste experimento foram utilizados 12 ratos machos da linhagem Wistar, com seis semanas de idade, oriundos do Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas. Os animais permaneceram nas mesmas condições dos grupos para avaliação do pH. Foram realizados dois experimentos independentes com seis animais cada. Os animais foram eutanasiados através do uso de guilhotina, sendo realizada de imediato a evisceração e esfolagem da carcaça.

Nos momentos pré-abate 6 ratos foram retirados da gaiola e submetidos ao tratamento de contensão, onde permaneceram individualmente contidos durante 1 hora em tubos plásticos de aproximadamente 25x7cm conforme demonstrado na Figura 1. Para o procedimento de contensão, os tubos foram selados com fita em uma das pontas, para que os animais permanecessem imóveis e presos, enquanto a outra extremidade permaneceu aberta para que os animais pudessem respirar

normalmente (Ely *et al.*, 1997). Os outros 6 ratos permaneceram na gaiola como grupo controle, sem nenhum tratamento até o momento do abate.



Figura 1. Método de estímulo estressante por contensão em ratos Wistar.

Após o período de contenção, foi realizada a eutanásia e a avaliação do pH foi aferida nos músculos *Biceps femoris*, *Longissimus dorsi* e *Triceps brachii* com o medidor de pH portátil Analion Mod. PM 602. O aparelho foi calibrado momentos antes da realização das medidas no local da coleta. As carcaças foram mantidas em resfriamento (4°C), e as aferições foram feitas no interior da câmara. O resultado das aferições foi registrado em planilha para posterior determinação da curva de pH muscular.

Para a análise de pH utilizou-se um delineamento inteiramente casualizado numa estrutura em parcela subdividida no tempo. Cada rato foi considerado como uma repetição, portanto o tratamento da Curva normal (NORMAL) contou com 12 repetições, o grupo Controle do abate com contensão (CONTROLE) e o Grupo tratado com Contensão (CONTENSÃO) contaram com 6 repetições cada. Para a análise das médias de pH em cada momento foi realizada a transformação dos dados de pH em $\log^{(x+10)}$ e os dados foram analisados através da Análise de Variância (AOV) do pacote estatístico Statistix 9,0 e a comparação das médias foi realizada através do Teste de Tukey com Intervalo do confiança de (IC) de 95%.

Todos os procedimentos dos ensaios supracitados foram aprovados pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas (CEEA/UFPel), com parecer número 5236.

Resultados

Padronização da curva de pH *post-mortem*

Os valores de pH dos três músculos analisados, entre as horas 0 e 24, as comparações entre as médias dos diferentes músculos e nas diferentes horas, bem como os valores máximo e mínimo obtidos estão expressos na Tabela 1.

Tabela 1. Médias \pm Desvio padrão (DP) do pH de três diferentes músculos de ratos Wistar eutanasiados sob condições normais e analisados ao longo de 24 horas.

Período <i>post-mortem</i>	<i>Longissimus dorsi</i>		<i>Biceps femoris</i>		<i>Triceps brachii</i>	
	Média de pH \pm DP	Mínimo – Máximo	Média de pH \pm DP	Mínimo - Máximo	Média de pH \pm DP	Mínimo - Máximo
Hora 0	6,62 \pm 0,14 Aa ^{1*}	6,40 – 6,90	6,82 \pm 0,24 Aa	6,40 – 7,30	6,77 \pm 0,26 Aa	6,40 – 7,30
Hora 1	6,53 \pm 0,20 Aab	6,30 – 7,00	6,56 \pm 0,17 Aa	6,20 – 6,80	6,72 \pm 0,23 Ab	6,20 – 7,00
Hora 2	6,36 \pm 0,21 Abc	6,10 – 6,80	6,34 \pm 0,22 Ab	6,00 – 6,70	6,45 \pm 0,29 Ac	5,70 – 6,70
Hora 4	6,27 \pm 0,21 Acd	5,90 – 6,60	6,25 \pm 0,24 Abc	5,80 – 6,60	6,36 \pm 0,18 Acd	5,70 – 6,70
Hora 6	6,13 \pm 0,21 Ad	5,90 – 6,50	6,13 \pm 0,22 Abc	5,80 – 6,40	6,27 \pm 0,14 Ad	5,60 – 6,50
Hora 24	6,18 \pm 0,33 Ad	5,70 – 6,70	6,19 \pm 0,33 Ac	5,80 – 6,70	6,18 \pm 0,26 Acd	5,80 – 6,60

¹Médias seguidas por letras maiúsculas indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) na linha. Médias seguidas por letras minúsculas indicam diferença significativa na coluna. *Análise de Variância e comparação das médias através do Teste de Tukey com IC de 95%.

As curvas da queda das médias de pH dos três músculos analisados do momento do abate até a transformação do músculo em carne (24 horas *post-mortem*) estão expressas graficamente na figura 2.

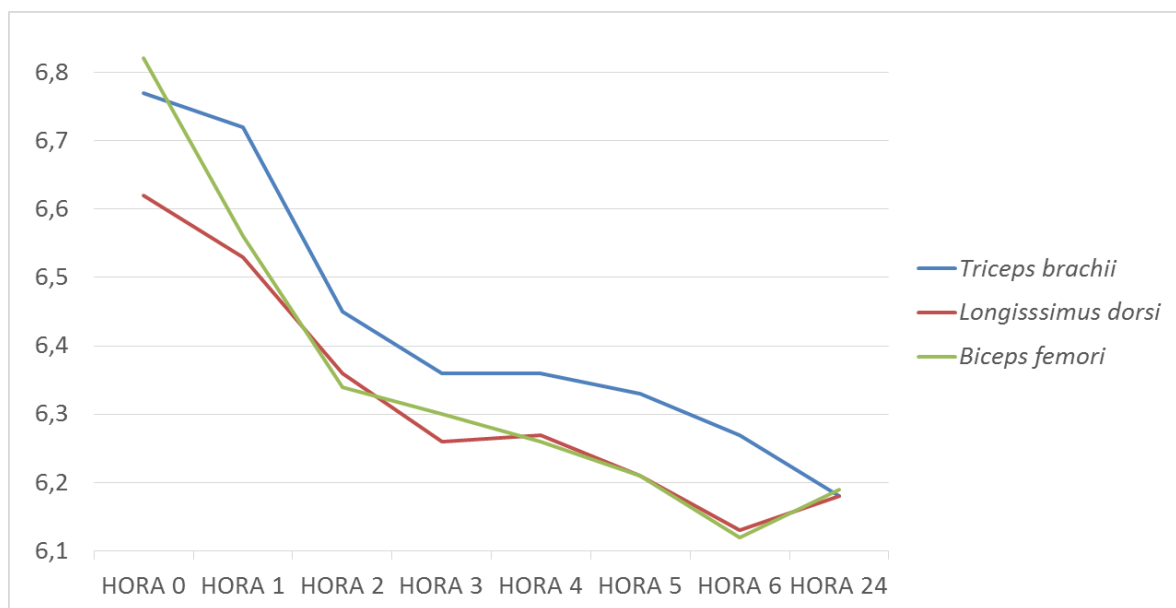


Figura 2. Curva do pH (0 a 24 horas *post-mortem*) de três músculos de ratos Wistar eutanasiados sob condições normais.

Os valores de pH da média dos três diferentes músculos em todos os períodos analisados, as médias mínima e máxima, e a comparação das média de pH em cada momento até o período de 24 horas *post-mortem* estão expressos na Tabela 2.

Tabela 2. Média \pm Desvio padrão (DP), valores mínimo e máximo de pH *post-mortem* de três diferentes músculos de ratos Wistar eutanasiados sob condições normais.

Momento post-mortem	pH médio \pm DP	pH mínimo	pH máximo
Hora 0	6,73 \pm 0,21 A*	6,40	7,30
Hora 1	6,60 \pm 0,20 A	6,20	7,00
Hora 2	6,38 \pm 0,23 B	5,70	6,80
Hora 4	6,29 \pm 0,20 BC	5,80	6,70
Hora 6	6,17 \pm 0,19 C	5,80	6,50
Hora 24	6,18 \pm 0,30 C	5,70	6,70

*Médias seguidas por letras diferentes na coluna indicam diferença significativa ($p < 0,05$) análise de variância e comparação através do Teste de Tukey com IC de 95%.

Comparação dos efeitos do estresse por contensão na curva de pH *post-mortem*

Nas comparações das médias do pH de três diferentes músculos dos ratos eutanasiados sob condições normais oriundos do segundo lote (Controle), não foram encontradas diferenças significativas ($p > 0,05$) com as médias de pH dos ratos do primeiro lote (Curva Normal) demonstrando a repetibilidade da intensidade e velocidade da queda do pH muscular *post-mortem* em ratos e padronizando-a para comparações com outras condições de eutanásia. As curvas das médias de pH muscular *post-mortem* dos ratos abatidos sob condição normal (Normal) e dos ratos abatidos sob condição de estresse (Contensão) estão expressas graficamente na Figura 3.

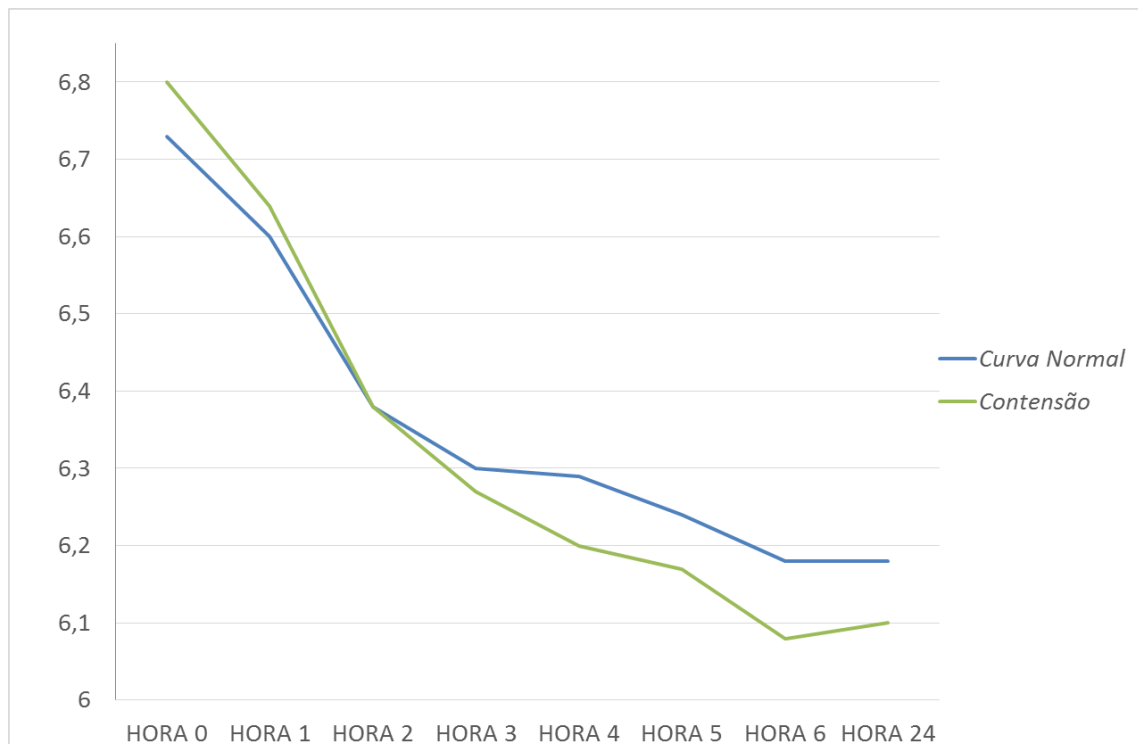


Figura 3. Curva do pH (0 a 24 horas *post-mortem*) da média de três músculos de ratos Wistar eutanasiados sob condições normais e sob condições de estresse por contensão.

As médias de pH dos ratos do segundo lote submetidos ao estresse pré-eutanásia (Contensão) e a comparação com as médias da curva normal de pH *post-mortem* em todos os períodos avaliados estão expressos na tabela 3. As quedas das médias de pH *post-mortem* da hora 0 até a hora 6 foram de 0,71 pontos de pH no grupo Contensão e nos grupos Normal e Controle foram de 0,55 e 0,58

respectivamente. A velocidade de queda de pH por hora foi de 0,12 para o grupo Contensão e 0,9 para os demais grupos.

Tabela 3. Média \pm Desvio padrão (DP), valores mínimo e máximo de pH *post-mortem* de três diferentes músculos de ratos Wistar eutanasiados sob condições normais e ratos submetidos a estresse por contensão.

Período <i>post-mortem</i>	Grupo Normal		Grupo Contensão	
	Media de pH \pm DP	Mínimo – Máximo	Media de pH \pm DP	Mínimo – Máximo
Hora 0	6,73 \pm 0,23 Aa [*]	6,40 – 7,30	6,80 \pm 0,20 Aa	6,40 – 7,10
Hora 1	6,60 \pm 0,21 Aa	6,20 – 7,00	6,64 \pm 0,20 Aab	6,40 – 7,00
Hora 2	6,38 \pm 0,24 Ab	5,70 – 6,80	6,38 \pm 0,18 Abc	6,10 – 6,70
Hora 4	6,29 \pm 0,21 Abc	5,80 – 6,70	6,20 \pm 0,14 Acd	6,00 – 6,50
Hora 6	6,17 \pm 0,19 Ac	5,80 – 6,50	6,09 \pm 0,17 Ad	5,80 – 6,50
Hora 24	6,18 \pm 0,30 Ac	5,70 – 6,70	6,10 \pm 0,18 Ad	5,70 – 6,50

¹Médias seguidas por letras maiúsculas indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) na linha. Médias seguidas por letras minúsculas indicam diferença significativa na coluna. *Análise de Variância e comparação das médias através do Teste de Tukey com IC de 95%.

Discussão

A curva de pH dos ratos eutanasiados sob condições normais apresentou padrão de queda com diferenças significativas da hora 0 após 2 horas *post-mortem* e após as 6 horas o valor mínimo de pH muscular é atingido. Após isso a manutenção dos valores atingidos ocorre até as 24 horas ou com discreta elevação nos valores de pH das 6 as 24 horas.

Esta curva assemelha-se com as descritas na maioria das espécies de abate comercial nos quesitos de intensidade de queda e tempo de queda de pH em horas (Bressan *et al.* 2001; Bridi *et al.* 2012; Dalla Costa *et al.* 2010). De acordo com o trabalho de Souza *et al.* (2004) a curva de pH em cordeiros mostra que ocorre maior velocidade de declínio do pH nos três primeiros horários e tendência à estabilização a partir de 12 horas. Essa queda de pH é resultado da utilização das reservas de glicogênio via glicólise *post-mortem* que tem como produto final o ácido lático.

A média das leituras de pH das carcaças 24 horas *post-mortem* do grupo Normal foi de 6,18 com variações de pH entre 5,7 e 6,7. Essa média para fins de comparações com suínos encontra-se acima dos valores descritos por Pardi *et al.* (2001) em que os valores de pH considerados normais para suínos encontram entre 5,3 e 5,7. Na avaliação visual da coloração não foram observadas carcaças que apresentassem as características pálida, mole e exudativa (PSE) ou firme, escura e seca (DFD), inclusive para os ratos que carcaça apresentaram médias de pH nos três grupos musculares valores acima de 6,5.

Os valores médios de pH muscular nos 3 grupos musculares não apresentam diferenças significativas em todos os períodos analisados embora que de 6 a 24 horas as médias de pH dos músculos *Longissimus dorsi* e *Biceps femoris* já apresentem um aumento no pH e as médias de pH do músculo *Triceps brachii* ainda encontravam-se em queda até a hora 24 *post-mortem*.

Os resultados obtidos demonstram que o pH muscular de ratos parte da neutralidade, com valores entre 6,7 e 7,3. Nas espécies produtoras de carne a velocidade da queda do pH, bem como o pH final da carne após 24-48 horas, é muito variável. A queda do pH é mais rápida nos suínos, intermediária nos ovinos e mais lenta nos bovinos. Para bovinos, normalmente a glicólise se desenvolve lentamente com o pH inicial na hora 0 fica em torno de 7,0, cai para 6,4 a 6,8 após 5 horas e cai para 5,5 a 5,9 após 24 horas (Roça, 2001).

Os ratos abatidos sob estresse por contensão não apresentaram valores de pH significativamente diferentes do que o grupo Controle e o grupo Normal, porém os valores de pH inicial dos ratos estressados são mais altos e os animais deste grupo apresentaram queda maior e mais rápida de pH nas primeiras 6 horas. Este resultado pode ser atribuído ao fato de que ratos são considerados animais bastante susceptíveis ao estresse e com isso, podem ter apresentado um maior gasto de energia nos momentos que antecedem a eutanásia, resultando em depleção do glicogênio muscular o que invariavelmente acarreta um alto pH final (Maganhini *et al.* 2007). Beltrán *et al.*

(1997), afirmam que o pH final mostra uma relação direta com o estresse *ante-mortem*, o estresse acarreta modificações importantes na bioquímica *post-mortem* do músculo e qualidade da carne.

Os ratos eutanasiados em condições de estresse por contensão não apresentaram diferenças de pH em cada período *post-mortem* em comparação com a curva Normal, porém a velocidade de queda do pH muscular é superior a queda do pH nos dois grupos eutanasiados sob condições normais. Não foi quantificado o nível de estresse sofrido pelos ratos abatidos nas três diferentes condições. Portanto um dos fatores que podem ter afetado os dados é o estresse *ante mortem* dos ratos da curva Normal, que simplesmente pelo manejo já apresentariam algum nível de alterações. Como o estudo buscou estressar os animais em um nível e avaliar os efeitos deste estresse na transformação do pH em carne, uma das melhorias seria a quantificação por meios confiáveis do estresse normal do manejo de abate e do aumento do estresse pela contensão. Jarillo-Luna *et al.* (2015) demonstraram que a secreção nasal de IgA livre em roedores aumenta com o estresse agudo por contensão.

Apesar de não serem encontradas alterações na carne dos ratos, o conhecimento da curva normal da transformação do músculo em carne torna possível quantificar o nível de estresse necessário para determinar as alterações e com isso comparar com o nível de estresse necessário para causar alterações em espécies comerciais. Sendo assim o rato é um modelo promissor para o estudo e o desenvolvimento de testes que poderiam nortear a decisão de adiar o abate de uma espécie quando houver o risco de ocorrerem alterações pelo nível de estresse neste manejo *ante mortem*.

Considerações finais

As médias de pH muscular apresentam diminuição significativa a cada duas horas *post mortem* e após as 6 horas o valor mínimo de pH muscular é encontrado. Os valores de queda de pH muscular *post mortem* de ratos apresentam ritmo de queda semelhante as espécies comerciais (bovinos, ovinos e suínos) até 6 horas *post mortem*, diferenciando-se somente nos valores médios normais para cada espécie. Os valores médios de pH muscular nos músculos *Longissimus dorsi*, *Triceps brachii* e *Biceps femoralis* não são diferentes em cada hora avaliada da eutanásia até 24 horas *post-mortem*.

Ratos eutanasiados em condições de estresse por contensão não apresentam diferenças nas médias de pH em cada período *post mortem*. Porém a velocidade de queda do pH muscular é superior a queda na curva normal de pH *post mortem* de ratos.

O uso dos ratos como modelo de estudo para detectar alterações *post mortem* é promissor, pois as alterações de queda de pH seguem os valores e tempo de queda semelhantes as espécies comerciais. Entretanto mais estudos devem ser realizados determinando a quantificação dos níveis de estresse *ante mortem* tomando como base os valores e a tendência da curva de pH descritos neste experimento.

Referências

- Araújo, M.B., Voltarelli, F. A., Contarteze, R. V. L., Manchado-Gobatto F. B., Mello M. A. R. 2009. Oxidative Stress in Rats exercised at different intensities. *Journal of Chinese Clinical Medicine* 4:11-18.
- Beltrán, J. A., Jaime, I., Santolaria, P., Sanudo, C., Alberti, P., & Roncalés, P. 1997. Effect of stress-induced high *post mortem* pH on protease activity and tenderness of beef. *Meat Science*, 45: 201–207.
- Bressan, M.C., Prado, O.V., Pérez, J.R.O., Lemos, A.L.S.C., Bonagurio, A. 2001. Efeito do peso ao abate de cordeiros Santa Inês e Bergamácia sobre as características físico-químicas da carne. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 21: 293-303.
- Bridi, A. M., Fonseca, N. A. N., Silva, C.A., Balarin, M. R. S., Flaiban, K. K. M. C., Constantino, C., Tarsitano, M.A., Cardoso, T. A. B. 2012. Indicadores de estresse e qualidade de carne em frangos abatidos pelo método “Halal”. *Semina: Ciências Agrárias*, 33: 2451-2460.

- Burniston, J. G. 2008. Changes in the rat skeletal muscle proteome induced by moderate-intensity endurance exercise. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1784:1077-1086.
- Caporale, V., Alessandrini, B., Dalla Villa, P. and Del Papa, S. 2005. Global perspectives on animal welfare: Europe. *Rev. Sci. Tech.* 24: 567–577.
- Carramenha, C. P., Carregaro, A. B. 2012. Estresse e morte súbita em Medicina Veterinária. *Ars Veterinária*, 28:090-099.
- Dalla Costa, O. A., Ludke, J. V., Costa, M. J. R. P., Faucitano, L., Peloso, J. V., Dalla Roza, D. 2010. Efeito das condições pré-abate sobre a qualidade de suínos pesados. *Archivos de zootecnia*, 227:391-402.
- Damatta, R. A. 2010. Animal models in biomedical research. *Scientia Medica*, Porto Alegre. v. 20, n. 3, p. 210 – 211.
- Ely, D. R., Dapper, V., Marasca, J.; Corrêa, A. J. B., Gamaro, G. D., Xavier, M. H., Michalowski, M. B., Catelli, D.; ROSAT, R., Ferreira, M. B. C., Dalmaz, C. 1997. Effect of Restraint Stress on Feeding Behavior of Rats. *Physiology & Behavior*, 61: 395–398.
- Jarillo-Luna, R. A., Rivera-Aguilar, V., Pacheco-Yépez, J., Godínez-Victoria, M., Oros-Pantoja R., Miliar-García, A., Campos-Rodríguez, R. 2015. Nasal IgA secretion in a murine model of acute stress. The possible role of catecholamines. *Journal of Neuroimmunology*. 278: 223–231.
- Koohmaraie, M. 1994. Muscle proteinases and meat aging. *Meat Science*, 36: 93-104.
- Lawrie, R. A. 2005. *Ciência da carne*. Porto Alegre: Artmed Editora. 384 p.
- Lee, S.H., Joo, S.T., Ryu, Y.C. 2010. Skeletal muscle fiber type and myofibrillar proteins in relation to meat quality. *Meat Science*, 86:166–170.
- Maganhini, M. B., Mariano B., Soares, A. L., Guarnieri, P. D., Shimokomaki, M., Ida, E. I. 2007. Carnes PSE e DFD em lombo suíno numa linha de abate industrial. *Ciência e Tecnologia Alimentar*, 27: 69-72.
- Moughan, P.J., Smith, W.C. and James, K.A.C. 1984. Preliminary observations on the use of the rat as a model for the pig in the determination of apparent digestibility of dietary proteins. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 27: 509-512.
- Muneta, Y., Yoshikawa, T., Minagawa, Y., Shibahara, T., Maeda, R., Omata, Y. Nater, U. M. and Rohleder, N. 2009. Salivary alpha-amylase as a non-invasive biomarker for the sympathetic nervous system: current state of research. *Psychoneuroendocrinology* 34: 486 – 496.
- Pardi, M.C., I.F. Santos, E.R. Souza e H.S. Pardi. 2001. *Ciência, higiene e tecnologia da carne*. 2ªed. Editora UFG. Goiânia. v.1. 623 p.
- Plous, S. 1996. Attitudes toward the use of animals in Psychological research and education. *American Psychologist*, Washington, DC, 51:1167-1180.
- Roça, R.O. Modificações pós-morte da carne. Disponível em: <<http://www.fca.unesp.br>> Acesso em: 12 dez. 2014.

- Rodboten, M., Kubberod, E. Lea, P. 2004. A sensory map of the meat universe. *Meat Science*, 68:137-144.
- Rosenfeld, A., Weller, A. 2012. Behavioral effects of environmental enrichment during gestation in WKY and Wistar rats. *Behavioural Brain Research*, Amsterdam, 233: 245-255.
- Savell, J.W., Mueller, S.L., Baird, B.E. 2005. The chilling of carcasses. *Meat Science*, 70:449-459.
- Smith, W.C., Moughan, P.J., James, K.A.C. 1990. Comparative apparent ileal digestibility of amino acids in a mixed meal diet measured with the growing rat and pig. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 33: 669-671.
- Souza, X. R., Bressan, M. C., Pérez, J. R. O., Kabeya, D. M. 2004. Efeitos do grupo genético, sexo e peso ao abate sobre a qualidade de carne de cordeiros em crescimento. *Ciência Tecnologia de Alimentos*, 24: 543-549.
- Voltarelli, F. A.; Mello, M. A. R.; Gobatto, C. A. 2004. Limiar anaeróbio determinado pelo teste do lactato mínimo em ratos: efeito dos estoques de glicogênio muscular e do treinamento físico. *Revista Portuguesa de Ciências do Desporto*, 4:16–25.
- Weglarz, A. 2010. Meat quality defined based on pH and colour depending on cattle category and slaughter season. *Czech Journal of Animal Science*, 55: 548–556.

5 Considerações Finais

Os estudos do estresse e bem-estar em animais de produção têm fundamental importância para a qualidade final da carne, porém existem muitas barreiras no desenvolvimento de pesquisas experimentais em função de questões econômicas e de manejo com estes animais.

O mercado da carne ovina apresenta grande importância econômica, porém poucas informações sobre o estresse e suas consequências na qualidade final da carne estão disponíveis, sendo necessários mais estudos sobre o tema.

Os valores de queda do pH muscular *post mortem* de ratos apresentam ritmo de queda semelhante às espécies comerciais (bovinos, ovinos e suínos) até 6 horas *post-mortem*, diferenciando-se somente nos valores médios normais para cada espécie.

Os valores médios de pH muscular nos músculos *Longissimus dorsi*, *Triceps brachii* e *Biceps femoris* não apresentam diferenças significativas em todos os períodos analisados embora, de 6 a 24 horas as médias de pH dos músculos *Longissimus dorsi* e *Biceps femoris* já apresentem um aumento no pH e as médias de pH do músculo *Triceps brachii* ainda encontravam-se em queda até a hora 24 *post-mortem*.

Ratos eutanasiados em condições de stress por contenção não apresentaram diferenças de pH em cada período *post-mortem*, porém a velocidade de queda do pH muscular é significativamente superior a queda na curva normal de pH *post-mortem* de ratos.

O uso de ratos como modelo de estudo para detectar alterações *post mortem* é promissor, pois as alterações de queda de pH seguem os valores e tempo de queda semelhantes as espécies comerciais.

Referências

ALVES, D.D.; MANCIO, A.B. Maciez da Carne Bovina – Uma Revisão. Revista da FZVA, v 14, p. 193-216, 2007.

ANDERSEN, H. J.; OKSBJERG, N.; THERKILDSEN, M. Potential quality control tools in the production of fresh pork, beef and lamb demanded by the European society. **Livestock Production Science**, vol. 94, p. 105–124, 2005.

APPLE, J. K.; DIKEMAN, M.E.; MINTON, J.E.; MCMURPHY, R.M.; FEDDE, M.R.; LEIGHT, D.E.; UNRUH, J.A. Effects of restrain and isolation stress and epidural blockade on endocrine and blood metabolite status, muscle glycogen metabolism, and indice of darck-cutting longissimus muscle of Sheep. **Journal of Animal Science**,v. 73, p. 2295-2307, 1995.

ARAÚJO, M.B., VOLTARELLI, F. A., CONTARTEZE, R. V. L., MANCHADO-GOBATTO F. B., MELLO M. A. R. Oxidative Stress in Rats exercised at different intensities. **Journal of Chinese Clinical Medicine** v. 4, p.11-18, 2009.

BAUMANS, V. The laboratory mouse. In: HUBRECHT, R.; KIRKWOOD, J. (Ed.). The UFAW Handbook on The Care and Management of Laboratory and Other Research Animals. Oxford: Blackwell, p. 276-310. 2010.

BEAUSOLEIL, N. J.; STAFFORD, K. J.; MELLOR, D. J. Sheep show more aversion to a dog than to a human in an arena test. *Applied Animal Behaviour Science*, v. 91, p. 219–232, 2005.

BELTRÁN, J. A., JAIME, I., SANTOLARIA, P., SANUDO, C., ALBERTI, P., & RONCALÉS, P. Effect of stress-induced high *post mortem* pH on protease activity and tenderness of beef. **Meat Science**, 45(2), 201–207, 1997.

BLACKMORE, D.K.; PETERSEN, G.V. Stunning and slaughter of sheep and calves in New Zealand. **New Zealand Veterinary Journal**, 29, 99–102.1981.

BONAGURIO, S.; PÉREZ, J.R.O.; GARCIA, I.F.F.; BRESSAN, M.C.;LEMONS, A.L.S.C.Qualidade da carne de cordeiros Santa Inês puros e mestiços com Texel

abatidos com diferentes pesos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, p. 1981-1991.2003.

BOND, G. B.; OSTRENSKY, A.; ALMEIDA, R.; MOLENTO, C. F. M. Diagnóstico de bem-estar em bovinos de leite no Estado do Paraná. *Projeto bem-estar de bovinos leiteiros: relatório parcial*. Laboratório de Bem-estar Animal – LABEA/UFPR, Curitiba, p.37, 2007.

BOND, G. B.; OSTRENSKY A. A.; MOLENTO, C. F. M. Métodos de diagnóstico e pontos críticos de bem-estar de bovinos leiteiros. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.42, n.7, jul. 2012.

BRASIL 2000. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa no. 3, de 17 de janeiro de 2000. Regulamento técnico de métodos de insensibilização para o abate humanitário de animais de açougue. S.D.A./M.A.A. **Diário Oficial da União**, Brasília, p.14-16.

BRAZAL, T.; BOCCARD, R. Efectos de dos tratamientos ante mortem sobre localidad de la canal y de la carne de cordero. **Produccion Animal**, v. 8, p. 97-125. 1977.

BRESSAN, M.C., PRADO, O.V., PÉREZ, J.R.O., LEMOS, A.L.S.C., BONAGURIO, A. Efeito do peso ao abate de cordeiros Santa Inês e Bergamácia sobre as características físico-químicas da carne. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 3, p. 293-303, 2001.

BRIDI, A.M., FONSECA, N.A.N., SILVA, C.A., BALARIN, M.R.S., FLAIBAN, K.K.M.C., CONSTANTINO, C., TARSITANO, M.A., CARDOSO, T.A.B. Indicadores de estresse e qualidade de carne em frangos abatidos pelo método “Halal”. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 6, p. 2451-2460, 2012.

BURNISTON, J.G. Changes in the rat skeletal muscle proteome induced by moderate-intensity endurance exercise. **Biochimica et Biophysica Acta**. v. 1784, p. 1077-1086, 2008.

CAPORALE, V., ALESSANDRINI, B., DALLA VILLA, P., DEL PAPA, S. Global perspectives on animal welfare: **Europe. Rev. Science Technology**. 24: 567–577. 2005.

CARRAMENHA, C.P., CARREGARO, A.B. Estresse e morte súbita em Medicina Veterinária. **Ars Veterinária**, v. 28, n.2, p. 090-099. 2012.

COCKRAM, M.S.; BAXTER, E.M.; SMITH, L.A.; BELL, S.; HOWARD, C.M.; PRESCOTT, R.J.; MITCHELL, M.A. Effect of driver behaviour, driving events and road type on the stability and resting behaviour of sheep in transit. **Animal Science**, v. 79, p. 165-176.2004.

DALLA COSTA, O.A., LUDKE, J.V., COSTA, M.J.R.P., FAUCITANO, L., PELOSO, J.V., DALLA ROZA, D. Efeito das condições pré-abate sobre a qualidade de suínos pesados. **Archivos de zootecnia**, v. 59, n. 227, p. 391-402, 2010.

DAMATTA, R. A. Animal models in biomedical research. *Scientia Medica*, Porto Alegre. v. 20, n. 3, p. 210 – 211. 2010.

DANIELSKI, J.C.R.; BARROS, D.M.; CARVALHO, F.A.H. O uso de animais pelo ensino e pela pesquisa: prós e contras. **RECIIS – R. Eletr. de Com. Inf. Inov. Saúde**, v.5, n.1, p.72-84, 2011.

DEISS, V.; TEMPLE, D.; LIGOUT, S.; RACINE, C.; BOUIX, J.; TERLOUW, C.; BOISSY, A. Can emotional reactivity predict stress responses at slaughter in sheep? **Applied Animal Behaviour Science**, v. 119, p. 193–202.2009.

DEVINE, C.E.; LOWE, T.E.; WELLS, R.W.; EDWARDS, N.J.; EDWARDS, J.E.; STARBUCK, T.J.; SPECK, P.A. Pre-Slaughter stress arising from handling and its interactions with electrical stimulation on tenderness of lambs. **Meat science**, v. 73, p. 304-312.2006.

ELY, D. R., DAPPER, V., MARASCA, J.; CORRÊA, A J. B., GAMARO, G. D., XAVIER, M. H., MICHALOWSKI, M. B., CATELLI, D.; ROSAT, R., FERREIRA, M. B. C., DALMAZ, C. Effect of Restraint Stress on Feeding Behavior of Rats. *Physiology & Behavior*, 61: 395–398. 1997.

EWBANK, R. Behavioral responses to stress in farm animals. In: *Animal Stress* (ed. GP Moberg). **American Physiological Society, Bethesda**, p. 71–79.1985.

FAOSTAT 2009. www.fao.org. Food and Agriculture Organization (FAO) of the United Nations, FAO Statistical databases.

FEIJÓ, A.G.S.; BRAGA, L.M.G.M.; PITREZ, P.M.C. **Animais na pesquisa e no ensino: aspectos éticos e técnicos**. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2010. 421 p.

FELL, L.R.; COLDITZ, I.G.; WALKER, K.H.; WATSON, D.L. Associations between temperament, performance and immune function in cattle entering a commercial feedlot. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 39, p. 795–802.1999.

FERGUSON, D.M.; WARNER, R.D. Have we underestimated the impact of pre-slaughter stress on meat quality in ruminants? **Meat Science**, v. 80, p. 12–19.2008.

FINNIE, J.W. Brain damage caused by a captive bolt pistol. **Journal of Comparative Pathology**, v. 3, p. 253-258.1993.

FITZPATRICK, J.; SCOTT, M.; NOLAN, A. Assessment of pain and welfare in sheep. **Small Ruminant Research**, v. 62, p. 55–61. 2006.

GALLO, C.; TADICH, N. Transporte terrestre de bovinos: efectos sobre el bienestar animal y la calidad de la carne. *Agro-ciência, Concepción*, v. 21, n. 2, p. 37-49, 2005.

GOMES, C. C. M. *Relação ser humano-animal frente a interações potencialmente aversivas na rotina de criação de vacas leiteiras*. Dissertação (Mestrado em Agro ecossistemas) – Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias. Florianópolis, 2008.

GOUGOULIS, D.A.; KYRIAZAKIS, I.; FTHENAKIS, G.C. Diagnostic significance of behaviour changes of sheep: A selected review. **Small Ruminant Research**, v. 92, p. 52–56.2010.

GRANDIN, T. Assessment of stress during handling and transport. **Journal of Animal Science**, v. 75, p. 249-257.1997.

GRANDIN, T. **Livestock Handling and Transport**. CABI Publishing, Wasllingford, Oxon (Reino Unido).2000.

GRANDIN, T. Auditing animal welfare at slaughter plants. **Meat Science**, v. 86, p. 56–65.2010.

GREGORY, N. G. *Animal welfare and meat science*. Wallingford: CABI Publishing, 1998.

GREGORY, N.G.; SHAW, F.D. Penetrating captive bolt stunning and exsanguination of cattle in abattoirs. **Journal of Applied Animal Welfare Science**, v. 3, p. 215–230.2000.

HEDRICK, H.B.; ABERLE, E.D.; FORREST, J.C.; JUDGE, M.D.; MERKEL, R.A. **Principles of meat science**. Dubuque: Kendal/Hunt Publ. Co.1994.

HEMSWORTH, P. Human-animal interactions in livestock production. *Applied Animal Behaviour Science*, Amsterdam, v. 81, n. 3, p.185-198, 2003.

HORTON, G.M.J.; BALDWIN, J.A.; EMANUELE, S.M.; WOHLT, J.E.; MCDOWELL, L.R. Performance and blood chemistry in lambs following fasting and transport. **Animal Science**, v. 62, p. 49-56.1996.

HÖTZEL, M. J.; MACHADO FILHO, L. C. P. Bem-estar Animal na Agricultura do Século XXI. *Revista de Etologia*, São Paulo, v. 6, n. 1, p. 3-15, 2004.

HÖTZEL, M. J. et al. Influência de um Ordenhador Aversivo sobre a Produção Leiteira de Vacas da Raça Holandesa. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.34, n.4, p.1278- 1284, 2005.

HULTGREN, J.; WIBERG, S.; BERG, C.; CVEK, K.; KOLSTRUP, C. L. Cattle behaviours and stockperson actions related to impaired animal welfare at Swedish slaughter plants. *Applied Animal Behaviour Science*. Amsterdam, v. 152, p. 23-37, 2013.

JARILLO-LUNA, R. A., RIVERA-AGUILAR, V., PACHECO-YÉPEZ, J., GODÍNEZ-VICTORIA, M., OROS-PANTOJA R., MILIAR-GARCÍA, A., CAMPOS-RODRÍGUEZ, R. Nasal IgA secretion in a murine model of acute stress. The possible role of catecholamines. *Journal of Neuroimmunology*. 278: 223–231. 2015.

JARVIS, A.M.; COCKRAM, M.S.; MCGILP, I.M. Bruising and biochemical measures of stress, dehydration and injury determined at slaughter in sheep transported from farms or markets. **British Veterinary Journal**, v. 152, p. 719–722.1996.

KING, D.A.; SCHUEHLE, T.H.; PFEIFFER, C.E.; RANDEL, R.D.; WELSH, J.R.; OLIPHINT, R.A.; BAIRD, B.E.; CURLEY, J.R.K.O.; VANN, R.C.; HALE, D.S.; SAVELL, J.W. Influence of animal temperament and stress responsiveness on the carcass quality and beef tenderness of feedlot cattle. **Meat Science**, v. 74, p. 546–556.2006.

KNOWLES, T.G. A review of the road transport of cattle. **Veterinary Record**, v. 144, p. 197-201. 1999.

KOOHMARAIE, M. Muscle proteinases and meat aging. **Meat Science**, v. 36, n. 3, p. 93-104, 1994.

KOOLHAAS, J. M. The laboratory rat. In: HUBRECHT, R.; KIRKWOOD, J. (Ed.). *The UFAW Handbook on The Care and Management of Laboratory and Other Research Animals*. Oxford: Blackwell, 2010. p. 311-326, 2010.

KORTE, S.M. Corticosteroids in relation to fear, anxiety and psychopathology. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v. 25, p. 117–142. 2001.

KRAWCZEL, P.D.; FRIEND, T.; CALDWELL, D.J.; ARCHER, G.; AMEISS, K. Effects of continuous versus intermittent transport on plasma constituents and antibody response of lambs. **Journal of Animal Science**, v. 85, p. 468–476. 2007.

LACOURT, A.; TARRANT, P.V. Glycogen depletion patterns in myofibres of cattle during stress. **Meat Science**, v. 15, p. 85–100. 1985.

LAWRIE, R. A. 2005. **Ciência da carne**. Porto Alegre: Artmed Editora. 384 p.

LEE, S.H., JOO, S.T., RYU, Y.C. Skeletal muscle fiber type and myofibrillar proteins in relation to meat quality. **Meat Science**, v.86, p. 166–170, 2010.

LE NEINDRE, P.; BOIVIN, X.; BOISSY, A. Handling of extensively kept animals. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 49, p. 73-81. 1996.

LIMA, L. R.; BARBOSA FILHO, J. A. D. Impacto do manejo pré-abate no bem-estar de caprinos e ovinos. **Journal of Animal Behaviour Biometeorology**. v.1, n.2, p.52-60. 2013.

MADRUGA, M.S. Castrations and slaughter age effects on panel assessment and aroma compounds of the mestiço goats meat. **Meat Science**, v. 56, p. 117-125. 2000.

MAGANHINI, M. B., MARIANO B., SOARES A. L., GUARNIERI, P. D., SHIMOKOMAKI M., IDA E. I. Carnes PSE e DFD em lombo suíno numa linha de abate industrial. **Ciência Tecnologia Alimentar**, 27(supl.): 69-72, 2007.

MALTIN, C.; BALCERZACK, D.; TILLEY, R.; DELDAY, M. Determinants of meat quality: tenderness. **Proceedings of the Nutrition Society**, London, v. 62, n. 2, p. 337-347, 2003.

MIRANDA-DE LA LAMA, G.C.; RIVERO, L.; CHACÓN, G.; GARCIA-BELENGUER, S.; VILLARROEL, M.; MARIA, G.A. Effect of the pre-slaughter logistic chain on some indicators of welfare in lambs. **Livestock Science**, v. 128, p. 52–59. 2010.

MOLENTO, C.F.M. Bem-estar e produção animal: aspectos econômicos – revisão. **Archives of Veterinary Science**, v. 10, p. 1-11. 2005.

MOTA, S. M. Avaliação de um programa de treinamento em Bem-estar Animal e das atitudes dos inspetores envolvidos na fiscalização de Frigoríficos de Suínos. 2013. 129 f. Dissertação (Mestrado em Agro ecossistemas) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2013.

MOUGHAN, P.J., SMITH, W.C. AND JAMES, K.A.C. Preliminary observations on the use of the rat as a model for the pig in the determination of apparent digestibility of dietary proteins. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, 27: 509-512, 1984.

MUNETTA, Y., YOSHIKAWA, T., MINAGAWA, Y., SHIBAHARA, T., MAEDA, R., OMATA, Y. NATER, U. M. AND ROHLEDER, N. Salivary alpha-amylase as a non-invasive biomarker for the sympathetic nervous system: current state of research. **Psychoneuroendocrinology** 34: 486 – 496. 2009.

NOCKELS, C.F. Mineral alterations associated with stress, trauma, and infection and the effect on immunity. **Cont Education Practices Veterinarian**, v. 12, p. 1133-1139. 1990.

OIE. Organização Mundial de Saúde Animal. Código sanitario para los animales terrestres. 20. Ed. 2011.

OLIVEIRA, C.B.; BORTOL, E.C.; BARCELLOS, J.O.J. Diferenciação por qualidade da carne bovina: a ótica do bem-estar animal. **Ciência Rural**, v. 38, p. 2092-2096. 2008.

OSÓRIO, J.C.S.; SAÑUDO, C.; SIERRA, I. Perdas por transporte en ovinos. **Revista de La Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia**, v. 16, p. 480-486. 1991.

PARANHOS DA COSTA, M. J. R.; COSTA E SILVA, E. V.; CHIQUITELLI NETO, M. E.; ROSA, M. S. Contribuição dos estudos de comportamento de bovinos para implementação de programas de qualidade de carne. In: ENCONTRO ANUAL DE ETOLOGIA, 20., 2002, S.I. Anais... Natal: Sociedade Brasileira de Etologia, 2002. P. 71 – 89.

PARDI, M.C., I.F. SANTOS, E.R. SOUZA E H.S. PARDI. **Ciência, higiene e tecnologia da carne**. 2ªed. Editora UFG. Goiânia. v.1. 623 p. 2001.

PEARSON, A.J.; KILGOUR, R.; DE LANGEN, H.; PAYNE, E. Hormonal responses of lambs to trucking, handling and electrical stunning. Proceeding of New Zealand Society. **Animal Production**, v. 37, p. 243 - 248. 1977.

PETERS, M.D.P.; BARBOSA SILVEIRA, I.D.; PINHEIRO MACHADO FILHO, L.C.; MACHADO, A.A. E PEREIRA, L.M.R. Manejo aversivo em bovinos leiteiros efeitos no bem estar, comportamento e aspectos produtivos. **Archivos de Zootecnia**, 59: 435- 442. 2008.

PLOUS, S. Attitudes toward the use of animals in Psychological research and education. *American Psychologist*, Washington, DC, v. 51, n. 11, p. 1167-1180, 1996.

RAYMUNDO, M.M.; GOLDIM, J.R. Ética da pesquisa em modelos animais. **Bioética**, v.10, n.1, p.31-44, 2002.

ROÇA, R.O.; PADOVANI, C.R.; FILIPI, M.C.; SCHWACH, E.; UEMI, A.; SHINKAI, R.T.; BIONDI, G.F. Efeitos dos Métodos de Abate de Bovinos na eficiência da Sangria. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, p. 244-248. 2001.

ROÇA, R.O. **Modificações *post mortem* da carne**. Disponível em: <<http://www.fca.unesp.br>> Acesso em: 12 dez. 2014.

RODBOTEN, M.; KUBBEROD, E.; LEA, P. A sensory map of the meat universe. **Meat Science**, v.68, p.137-144, 2004.

ROSENFELD, A.; WELLER, A. Behavioral effects of environmental enrichment during gestation in WKY and Wistar rats. **Behavioural Brain Research**, Amsterdam, v. 233, p. 245-255, 2012.

RUSSELL, B.C.; MCALISTER, G.; ROSS, I.S.; PETHICK, D.W. Lamb and sheep meat eating quality - industry and scientific issues and the need for integrated research. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 45, p. 465-467. 2005.

SAÑUDO, C. Condiciones y técnicas para controlar la calidad del producto. In: CAÑEQUE, V.; SAÑUDO, C. (Coord.). Metodología para el estudio de la calidad de la canal y de la carne en rumiantes. Madrid: Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria de Ministerio de Ciencia y Tecnología, p. 17- 47. 2000.

SAVELL, J.W.; MUELLER, S.L.; BAIRD, B.E. The chilling of carcasses. **Meat Science**, v.70, p.449-459, 2005.

SCAHAW, E.C. The welfare of animals during transport (details for horses, pigs, sheep & cattle). **Report of the Scientific Committee on Animal Health and Animal Welfare**. Brussels, European Commission. 2002.

SILVA, N.V.; SILVA, J.H.V.; COELHO, M.S.; OLIVEIRA, E.R.A.; ARAÚJO, J.A.; AMÂNCIO, A.L.L. Características de Carcaça e Carne Ovina: Uma abordagem das variáveis metodológicas e fatores de influência. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 2, p. 103-110. 2008.

SMITH, W.C., MOUGHAN, P.J. AND JAMES, K.A.C. Comparative apparent ileal digestibility of amino acids in a mixed meal diet measured with the growing rat and pig. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, 33: 669-671, 1990.

SMITH, G.C.; TATUM, J.D.; BELK, K.E.; SCANGA, J.A.; GRANDIN, T.; SOFOS, J.N. Review. Traceability from a US perspective. **Meat Science**, v. 71, p. 174–193. 2005.

SOUZA, X. R.; BRESSAN, M. C.; PÉREZ, J. R. O.; KABEYA, D. M. Efeitos do grupo genético, sexo e peso ao abate sobre a qualidade de carne de cordeiros em crescimento. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 24(4): 543-549, 2004.

TERLOUW, E.M.C.; ARNOULD, C.; AUPERIN, B.; BERRI, C.; LE BIHAN-DUVAL, E.; DEISS, V.; LEFE, V.R.E.F.; LENSINK, B.J.; MOUNIER, L. Pre-slaughter conditions, animal stress and welfare: current status and possible future research. **Animal**, v. 2, p. 1501–151. 2008.

THOMPSON, J.M.; O'HALLORAN, W.J.; MCNEILL, D.M.J.; JACKSON-HOPE, N.J.; MAY, T.J. The effect of fasting on liveweight and carcass characteristics in lambs. **Meat Science**, v. 20, p. 293-309. 1987.

VANHONACKER, F.; VERBEKE, W.; VANPOUCKE, E.; TUYTTENS, F. Docitizens and farmers interpret the concept of farm animal welfare differently? **Livestock Science**, v. 116, p. 126–136. 2008.

VELARDE, A.; GISPERT, M.; DIESTRE, A.; MANTECA, X. Effect of electrical stunning on meat and carcass quality in lambs. **Meat Science**, v. 63, p. 35-38. 2003.

VOLTARELLI, F. A.; MELLO, M. A. R.; GOBATTO, C. A. Limiar anaeróbio determinado pelo teste do lactato mínimo em ratos: efeito dos estoques de glicogênio muscular e do treinamento físico. **Revista Portuguesa de Ciências do Desporto**, 4:16–25. 2004.

WARRISS, P.D. The handling of cattle pre-slaughter and its effects on carcass meat quality. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 28, p. 171-186. 1990.

WARRISS, P. D. **Meat Science: an introductory text**. (Chapters 1 and 10). Wallingford: *CABI Publishing*, 2000. 310 p.

WEBSTER, J. *Animal welfare: limping towards Eden*. 2. ed. Oxford, UK: Blackwell. 2005.

WEGLARZ, A. Meat quality defined based on pH and colour depending on cattle category and slaughter season. **Czech Journal of Animal Science**, v. 55, n.12 p. 548–556, 2010.

WULF, D. M.; EMNETT, R. S.; LEHESKA, J. M.; MOELLER, S. J. Relationships among glycolytic potential, dark cutting (dark, firm and dry) beef, and cooked beef palatability. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 80, n. 7, p. 1895-1903, 2002.

Anexos

Anexo 1

**Artigo publicado no periódico Semina: Ciências Agrárias,
Londrina, v. 35, n. 3, p. 1351-1358, maio/jun. 2014.**

DOI: 10.5433/1679-0359.2014v35n3p1351

**Avaliação do diagnóstico de perihepatite em suínos após o abate e
sua relação com os níveis de enzimas hepáticas**

**Evaluation of the diagnosis of perihepatitis in swine after slaughter
and relationship with the levels of liver enzymes**

Sandra Vieira de Moura¹; Mateus Silveira Lopes²; Eduardo Schmitt³;
Viviane Rohrig Rabassa⁴; Elizabeth Schwegler^{5*}; Augusto Schneider⁴;
Maikel Alan Goulart²; Ricardo José Buosi⁶; Francisco Augusto Burkert Del Pino⁷;
Cristina Gevehr Fernandes⁷; Ivan Bianchi⁴; Marcio Nunes Corrêa⁷

Resumo

O fígado é um órgão de valor comercial diferenciado, porém, em virtude das suas funções metabólicas, é suscetível a diversos tipos de alterações, destacando-se um grande número de descartes por perihepatite. O objetivo deste estudo foi avaliar a sensibilidade e especificidade do diagnóstico desta alteração pelo Serviço de Inspeção Federal (SIF), segundo exame histopatológico, e correlacionar estes achados com os níveis plasmáticos de AST e GGT. Foram utilizadas 154 matrizes da raça Landrace de descarte. O abate foi feito com o método de insensibilização por estímulo elétrico e posterior sangria, sendo coletados 5 mL de sangue total, para determinação dos níveis de GGT e AST. Durante a evisceração, foi avaliada a condição do fígado pela inspeção sanitária classificando-o como liberado ou condenado por perihepatite. Fragmentos de fígado foram colhidos, para fins de comparações histopatológicas. Na presença de alteração do parênquima hepático, essa foi classificada em degenerativa, inflamatória ou reparativa. Os resultados do estudo demonstraram que as lesões encontradas no tecido hepático, consideradas como perihepatite pela inspeção sanitária, tratavam-se muitas vezes de alterações hepáticas como fibroses, degeneração gordurosa ou hepatites discretas. Os níveis de GGT se apresentaram elevados, sendo exacerbados em lesões de caráter inflamatório e degenerativo, em comparação com animais sem lesão hepática ($p < 0,05$), o que não foi observado para os níveis de AST ($p > 0,05$). Assim, observou-se que o diagnóstico de perihepatite pelo SIF apresentou baixa especificidade e sensibilidade, e que a enzima GGT é um bom indicador de lesões hepáticas em suínos.

Palavras-chave: Fígado, AST, GGT, serviço de inspeção federal

Abstract

The liver is an organ with a differential value on the market. However, due to its metabolic functions it is susceptible to various types of alterations, including a large rate of disposal by perihepatitis. The aim of this study was to evaluate the sensitivity and specificity of the diagnosis of perihepatitis by the Federal

¹ Discente de Doutorado, Programa de pós-graduação em Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, UFPel, Pelotas, RS. E-mail: sanvimoura@bol.com.br

² Médicos Veterinários, UFPel, Pelotas, RS. E-mail: mateus.s.lopes@gmail.com; maikelalan.goulart@gmail.com

³ Pesquisador, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, EMBRAPA, Porto Velho, RO. E-mail: e.schmitt@terra.com.br

⁴ Profs. Adjuntos, UFPel, Pelotas, RS. E-mail: vivianerabassa@gmail.com; augusto.schneider@live.com; ivanbianci@gmail.com

⁵ Profª Temporária, Instituto Federal Catarinense, Campus Araquari, SC. E-mail: bethveterinaria@gmail.com

⁶ Fiscal Federal Agropecuário, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, Videira, SC. E-mail: rjb@formatto.com.br

⁷ Profs. Associados, UFPel, Pelotas, RS. E-mail: fdelpino@pesquisador.cnpq.br; crisgevf@yahoo.com.br; marcio.nunescorreia@gmail.com

* Autor para correspondência

Inspection Service (FIS), according to histopathological examination and correlate these findings with plasmatic concentrations of AST and GGT. One hundred and fifty four culled sows of the Landrace breed were used. Slaughter was performed by the method of desensitization by electrical stimulation and subsequent exsanguination. Then 5 mL of whole blood was collected to evaluate concentrations of GGT and AST. During evisceration, liver condition was assessed by visual inspection and classified as good or condemned by perihepatitis. Also, fragments of the liver were collected to histopathologic examination. The alterations in the liver parenchyma were classified as degenerative, inflammatory or reparative. The alterations found in liver tissues, considered as perihepatitis by visual inspection, were often due to fibrosis, fatty degeneration or mild hepatitis. The serum concentrations of GGT were high. Moreover, its concentrations were higher in livers with lesions of inflammatory and degenerative nature when compared to livers without injuries ($p < 0.05$). However, the same was not observed for AST concentrations ($p > 0.05$). Concluding, the perihepatitis diagnosis from the FIS showed low specificity and sensitivity, and the enzyme GGT was a good indicator of liver injuries in swine.

Key words: Liver, AST, GGT, federal inspection service

Introdução

A identificação, caracterização e registro de processos patológicos em animais abatidos em frigoríficos constituem uma fonte de dados importante para a avaliação da condição sanitária de rebanhos, uma vez que permite identificar a ocorrência de doenças subclínicas, podendo quantificá-las e caracterizá-las segundo a gravidade das lesões (POINTON et al., 1992; MORÉS; SOBESTIANSKY; LOPEZ, 2000).

Com a otimização dos processos industriais a condenação não só da carne, mas também das vísceras, representam hoje grandes perdas econômicas para a indústria de subprodutos. O fígado é um órgão de valor comercial diferenciado, porém, em virtude das suas funções metabólicas, é susceptível a diversos tipos de alterações (BONESI et al., 2003).

Entre os achados patológicos, pode ser destacado um grande número de descartes por perihepatite, caracterizada por um processo inflamatório do tecido conjuntivo da cápsula hepática (JONES; HUNT; KING, 2000). Dentre as causas de perihepatite em suínos, destaca-se a pericardite, por contaminar órgãos anexos ao tórax, levando à condenação de fígados no abate (POINTON et al., 1992). Ainda, em outras espécies há relatos desta alteração por complicação de processos inflamatórios pélvicos (SCHOENFELD et al., 1992). Segundo a portaria

nº 711 de 01 de novembro de 1995 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, na linha de inspeção de fígado, deverá ser marcado com chapinha cor vermelha, (tipo I) no preciso local da lesão ou lesões, que possam ter implicações com a carcaça e os outros órgãos (tuberculose, perihepatite, cerosite ou neoplasias). Identificar a peça e notificar as demais linhas de “Mesa de Inspeção”, para proceder a separação e marcação com chapinhas de número idêntico, dos órgãos e carcaça correspondentes, para a remessa à Inspeção Final, com isso fica estabelecido que lesões indicativas de perihepatite acarretem na condenação do órgão e a carcaça deve ser avaliada em busca de possível comprometimento sistêmico.

Uma forma de diagnóstico clínico para alterações hepáticas é a avaliação da concentração plasmática da enzima gama-glutamyltransferase (GGT), que se encontra associada às membranas, mas também está no citosol, especialmente nos epitélios dos ductos biliares e renais (RAPOSO et al., 2004). Os níveis de GGT no plasma são usados clinicamente como indicação de lesão celular do músculo cardíaco e células hepáticas (POND; SU; MERSMANN, 1997). Em lesões de origem hepática, como colestase, proliferação de ductos biliares, cirrose e no colangiocarcinoma há aumento de sua concentração (GONZÁLEZ; SILVA, 2003).

Outro importante marcador correlacionado às disfunções hepáticas é a aspartato aminotransferase

(AST), por ser uma enzima citoplasmática e mitocondrial presente em vários tecidos como fígado, músculos esquelético e cardíaco (TENNANT, 1997). Tennant (1997) salienta que em todas as espécies domésticas a atividade da AST é alta no fígado, portanto, na lesão hepática aguda ou crônica, a concentração plasmática de AST será elevada.

O objetivo deste estudo foi avaliar a sensibilidade e especificidade do diagnóstico de perihepatite pela Inspeção Federal, quando comparado ao diagnóstico histopatológico, bem como relacionar estes achados com os níveis plasmáticos de AST e GGT, determinando a eficiência destes no diagnóstico de alterações hepáticas em suínos.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Abatedouro Frigorífico Sagrinco Ltda., sob o Serviço de Inspeção Federal (SIF) nº 970, na cidade de Videira – SC. Foram utilizadas 154 matrizes suínas de descarte, da raça Landrace, oriundas de duas granjas distintas. Os animais foram submetidos a, no mínimo, 12 horas de dieta hídrica antes do transporte. O abate foi feito com o método de insensibilização por estímulo elétrico e posterior sangria.

Durante a sangria foram coletados 5 mL de sangue total em tubos de ensaio contendo anticoagulante (EDTA 10%) na proporção de 12 µL/mL de sangue. As amostras foram centrifugadas para extração do plasma (1800 x g/10 min.), distribuídas em microtubos e congeladas a uma temperatura de -18 °C. No plasma foi determinada a atividade enzimática de GGT, pela técnica de Szasz modificada (Gama GT Liquiform, Labtest Diagnóstica S.A., Brasil), e de AST, através da

metodologia cinética-UV (AST/GOT Liquiform, Labtest Diagnóstica S.A., Brasil), com a utilização de espectrofotômetro de luz visível (FEMTO 435, Brasil).

Durante a evisceração, foi avaliada a condição do fígado pela inspeção sanitária classificando-o como liberado ou condenado por perihepatite.

Fragments de fígado foram colhidos sempre da porção do lobo esquerdo, sendo coletadas amostras de lesões macroscópicas (caso houvesse), juntamente com regiões sadias, afim de comparações histopatológicas. Após coleta as amostras foram fixadas em formol tamponado a 10%, sendo então encaminhadas para o Laboratório Regional de Diagnóstico da Universidade Federal de Pelotas (Setor de Diagnóstico Patológico). As amostras foram posteriormente clivadas e processadas para inclusão em parafina. Realizaram-se, então, cortes histológicos (5 µm), os quais foram corados com hematoxilina-eosina e avaliados por microscopia óptica.

De um modo geral, avaliou-se o grau de integridade do parênquima hepático, definido pela avaliação da arquitetura tecidual. Na presença de qualquer alteração, essa foi designada através dos padrões de diagnóstico morfológico que incluíram a caracterização do processo, sendo classificada em degenerativa, inflamatória ou reparativa.

Os resultados foram analisados utilizando o programa Statistix® (2003). Para comparação entre as formas de diagnóstico no frigorífico e por exame histopatológico foi utilizado o teste de χ^2 , sendo posteriormente calculada a sensibilidade e especificidade do diagnóstico. A sensibilidade e a especificidade do diagnóstico foram determinadas de acordo com as fórmulas abaixo:

$$\text{Sensibilidade} = \frac{\text{Total de Fígados Negativos}}{\text{Total Fígados Negativos} + \text{Total Fígados Positivos}} \times 100$$

$$\text{Especificidade} = \frac{\text{Total de Fígados Positivos}}{\text{Total Fígados Negativos (Insp.) e Positivos (Patol.)} + \text{Total Fígados Positivos}} \times 100$$

Para avaliação dos níveis plasmáticos de AST e GGT foi utilizada análise de variância considerando como variável independente a caracterização da lesão hepática (degenerativa, inflamatória ou reparativa), bem como todas as interações entre estas variáveis.

Resultados

Do total de 154 fígados inspecionados pelo SIF, 133 foram coletados para a avaliação histopatológica, visto que os demais apresentaram outros tipos de lesão que acarretaram na condenação do órgão e/ou carcaça, sendo aproveitados somente aqueles que foram condenados por perihepatite ou os que foram liberados para consumo. Destes, 48

fígados foram diagnosticados como negativos para a presença de perihepatite e 85 foram positivos e, portanto, considerados inaptos ao consumo humano. Um número similar a este foi encontrado na análise histopatológica, sendo diagnosticado um total de 53 amostras negativas e 80 positivas para lesões hepáticas (Tabela 1). Entretanto, dos fígados condenados e liberados pelo SIF, um número reduzido coincidiu com aqueles negativos e positivos para lesões histopatológicas. A sensibilidade segundo a histopatologia foi de 33,96%, sendo esta, a proporção de verdadeiros positivos. A especificidade encontrada foi de 62,5%, sendo a proporção de verdadeiros negativos. Estas taxas de sensibilidade e especificidade são consideradas baixas.

Tabela 1. Relação entre os diagnósticos de perihepatite pelo Serviço de Inspeção federal e por exame histopatológico em suínos.

Diagnóstico Histopatológico	Diagnóstico no Frigorífico		Total Histopatológico
	Negativo	Positivo	
Negativo	18	35	53
Positivo	30	50	80
Total Frigorífico	48	85	133

Fonte: Elaboração dos autores.

Dos 63,9% de fígados diagnosticados com perihepatite pelo SIF, 43,5% apresentavam hepatites discretas, 16,4% com degeneração gordurosa, 12,9% com fibroses hepáticas e 27,2% com infiltrados celulares, segundo análise histopatológica. Ainda, dos 36% de fígados liberados pelo SIF, 47,9% apresentavam hepatites discretas, 18,7% com degeneração gordurosa 16,6% com fibrose hepática, e 16,8% com infiltrados celulares (Tabela 2).

Quanto aos níveis de AST, animais diagnosticados com lesões hepáticas no exame histopatológico apresentaram níveis médios de 70,6 U/L, enquanto que naqueles sem lesões microscópicas os níveis médios foram de 71,0 U/L ($p > 0,05$). Também não foi observada diferença quanto aos níveis de AST entre lesões inflamatórias, degenerativas ou reparativas (Tabela 3).

Tabela 2. Resultados percentuais dos fígados condenados e liberados pelo SIF, e sua relação com os resultados encontrados no exame histopatológico.

Diagnóstico Histopatológico	Diagnóstico no Frigorífico	
	Condenado	Liberado
Hepatite Discreta	43,5	47,9
Degeneração Gordurosa	16,4	18,7
Fibrose	12,9	16,6
Infiltrado celular	27,2	16,8

Fonte: Elaboração dos autores.

Tabela 3. Níveis plasmáticos de AST e GGT em suínos com ou sem lesões hepáticas e sua relação com a característica da lesão.

Caracterização da lesão hepática	AST (U/L)	GGT (U/L)
Sem lesão	71,0	104,3 ^a
Inflamatória	69,3	143,7 ^b
Degenerativa	70,9	140,4 ^b
Reparativa	73,1	117,4 ^{ab}

Letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente ($p < 0,05$).

Fonte: Elaboração dos autores.

Para os níveis plasmáticos de GGT, houve diferença entre animais com (133,9 U/L) ou sem (104,3 U/L) lesão hepática, diagnosticada a partir do exame histopatológico ($p < 0,05$). Quanto à caracterização da lesão, aquelas classificadas como inflamatórias e degenerativas causaram um aumento significativo nos níveis plasmáticos de GGT ($p < 0,05$), porém não havendo aumento em lesões reparativas (Tabela 3).

Discussão

A taxa anual de descarte na suinocultura comumente varia de 25 a 40%, podendo chegar a 50% (STEIN et al., 1990). Em sistemas manejados intensamente, o número de fêmeas descartadas involuntariamente por razões como infertilidade, anestro e transtornos clínicos são maiores do que o número de descartes voluntários por razões como pequeno tamanho de leitegada, abortos, temperamento e idade (DAGORN; AUMAITRE, 1979), o que precisa ser minimizado para que sejam obtidos adequados índices produtivos. O diagnóstico das enfermidades que acometem o

rebanho com maior frequência, como as alterações hepáticas encontradas neste estudo, pode ajudar na melhora deste índice.

Transtornos infecciosos na cavidade abdominal ou pélvica podem desencadear perihepatite aguda, onde Penna, Hajjar e Braz (2000) relata a síndrome de Fitz-Hugh e Curtis, a qual consiste em uma contaminação ascendente, desencadeada pela *Neisseria gonorrhoeae* ou *Chlamydia trachomatis*, da trompa de Falópio à cápsula hepática e ao peritônio adjacente nas mulheres. Este fato sugere a possibilidade de correlação entre o descarte de fêmeas suínas por falhas reprodutivas e alta incidência de transtornos hepáticos, como a perihepatite. Porém, para elucidar esta hipótese seriam necessários estudos avaliando a flora bacteriana do trato reprodutivo destes animais.

Os achados histopatológicos deste trabalho podem coincidir com hepatopatias virais relatadas por Halbur et al. (2001), que observou lesões discretas a moderadas com característica de hepatite multifocal linfoplasmocítica e necrose hepatocelular no exame macroscópico de fígados

de suínos contaminados com Vírus da Hepatite E (HEV), juntamente com níveis séricos ligeiramente elevados de enzimas hepáticas. Estudos de soroprevalência do anticorpo contra o HEV (anti-HEV) demonstraram o caráter endêmico desta virose em diversas regiões da América do Sul (PARANÁ et al., 1997). Neste sentido, a infecção de HEV não pode ser descartada como achado de inspeção, visto que de acordo com Chandler et al. (1999) parece ser difundida mundialmente na suinocultura.

Outras causas de hepatite em suínos são a toxoplasmose e a infecção por *Yersinia sp.* Já as causas de necrose hepática em suínos são intoxicações por gossipol e intoxicação ou deficiência de selênio/vitamina E, entre outras (LEMAN et al., 1992). Quanto aos casos de degeneração gordurosa, estes podem ocorrer em casos de aflatoxicose, quando a toxina é ingerida em níveis elevados. Porém, em intoxicações crônicas pode ser observada fibrose hepática (MALLMANN; SANTURIO; WENTZ, 1994). Assim, estas causas de distúrbios hepáticos podem estar influenciando no descarte involuntário destas fêmeas suínas, de acordo com as lesões observadas neste estudo, auxiliando na tomada de decisões e monitoramento de doenças nestes criatórios.

Foi observado aumento nos níveis de GGT (10-52 U/L, RADOSTITS et al., 2000) em todas as classificações de lesões, demonstrando a sua importância no diagnóstico de alterações hepáticas em suínos. Esta enzima apresenta grande atividade no fígado e rins, porém, a GGT de origem renal é excretada na urina, fazendo com que o seu aumento plasmático seja altamente indicativo de lesão hepática (GONZÁLEZ, SILVA, 2003). O fato de animais sem lesão hepática também apresentarem níveis alterados de GGT, entretanto em níveis inferiores àqueles com lesões de caráter inflamatório ou degenerativo, pode indicar que estas fêmeas foram expostas a fatores hepatotóxicos ou agentes infecciosos causadores de lesões hepáticas, porém em níveis menores do que aquelas fêmeas demonstrando lesões histológicas.

Além de não haver diferença entre fêmeas com ou sem lesão hepática quanto aos níveis de AST, os valores observados se mantiveram dentro dos limites fisiológicos (32-84 U/L, RADOSTITS et al., 2000), demonstrando que esta enzima não é um bom indicador de lesões hepáticas em suínos.

De modo geral, existem poucas informações sobre acompanhamentos de testes laboratoriais diversos, como histopatológico e microbiológico, como fator de diagnóstico preciso de lesões macroscópicas encontradas em fígados descartados pelo SIF, especialmente no Brasil. Devido a esta falta de informação sobre o assunto, este estudo é um bom indicador de que outras avaliações precisam ser realizadas, possibilitando que os parâmetros de classificação de lesões hepáticas em frigoríficos sejam aperfeiçoados, minimizando a liberação de órgãos contendo lesões para o consumo humano.

Conclusão

Os resultados obtidos neste estudo demonstram que o diagnóstico de lesões hepáticas durante a inspeção sanitária realizada em frigoríficos apresenta especificidade e sensibilidade baixas, quando comparada com o diagnóstico histopatológico. Ainda, observou-se que a enzima GGT é um bom indicador de lesões hepáticas em suínos.

Referências

- BONESI, G. L.; SCALONE, B. C. V.; OKANO, W.; ROSA, A. Lesões hepáticas em bovinos abatidos em matadouro-frigorífico. *Revista Higiene Alimentar*, São Paulo, v. 17, n. 106, p. 78-83, 2003.
- CHANDLER, J. D.; RIDDELL, M. A.; LI, F.; LOVE, R. J.; ANDERSON, D. A. Serological evidence for swine hepatitis E virus infection in Australian pig herds. *Veterinary Microbiology*, Barcelona, v. 68, n. 1-2, p. 95-105, 1999.
- DAGORN, J.; AUMAITRE, A. Sow culling: reasons for and effect on productivity. *Livestock Production Science*, Amsterdam, v. 6, n. 2, p. 167-177, 1979.

- GONZÁLEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. *Introdução à bioquímica clínica veterinária*. Porto Alegre: UFRGS, 2003. 198 p.
- HALBUR, P. G.; KASORNDORKBUA, C.; GILBERT, C.; GUENETTE, D.; POTTERS, M. B.; PURCELL, R. H.; EMERSON, S. U.; TOTH, T. E.; MENG, X. J. Comparative pathogenesis of infection of pigs with hepatitis E viruses recovered from a pig and a human. *Journal of Clinical Microbiology*, Barcelona, v. 39, n. 3, p. 918-923, 2001.
- JONES, T. C.; HUNT, R. D.; KING, N. W. *Patologia veterinária*. 6. ed. São Paulo: Editora Manole, 2000. 1415 p.
- LEMAN, A. D.; STRAW, B. E.; MENGELING, W. L.; D'ALLAIRE, S.; TAYLOR, D. J. *Diseases of swine*. London: Wolfe Publishing Ltd, 1992. 1021 p.
- MALLMANN, C. A.; SANTURIO, J. M.; WENTZ, I. Aflatoxinas – aspectos clínicos e toxicológicos em suínos. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 24, n. 3, p. 635-643, 1994.
- MORÉS, N.; SOBESTIANSKY, J.; LOPEZ, A. *Avaliação patológica de suínos no abate manual de identificação*. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de tecnologia, 2000. 40 p.
- PARANÁ, R.; COTRIM, H. P.; CORTEY-BOENNEC, M. L.; TREPO, C.; LYRA, L. Prevalence of hepatitis E virus IgG in patients from a referral center of liver disease in Salvador-Bahia, Brazil. *American Journal of Tropical Medicine Hygiene*, v. 57, n. 1, p. 60-61, 1997.
- PENNA, G. O.; HAJJAR, L. A.; BRAZ, T. M. Gonorréia. Artigo de revisão. *Revista da sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, Uberaba, v. 33, n. 5, p. 451-464, 2000.
- POINTON, A. M.; MERCY, A. R.; BACKSTROM, L.; DIA, G. D. *Diseases of swine*. 7. ed. Ames: Iowa State University, 1992. 980 p.
- POND, W. G.; SU, D. R.; MERSMANN, H. J. Divergent concentrations of plasma metabolites in swine selected for seven generations for high or low plasma total cholesterol. *Journal of Animal Science*, Champaign, v. 75, n. 2, p. 311-316, 1997.
- RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. *Clínica veterinária. Um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos*. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. 1737 p.
- RAPOSO, J. B.; FERNANDES, C. G.; BAIALARDI, C. E. G.; DRIEMEIER, D. Observações clínicas e bioquímicas em ovinos e bovinos intoxicados experimentalmente por *Myoporium laetum*. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 32, n. 1, p. 9-17, 2004.
- SCHOENFELD, A.; FISCH, B.; COHEN, M.; VARDY, M.; OVADIA, J. Ultrasound findings in perihepatitis associated with pelvic inflammatory disease. *Journal of Clinical Ultrasound*, v. 20, n. 5, p. 339-342, 1992.
- STATISTIX®. Statistix 8 user's manual. Analytical software. Florida, USA: Tallahassee, 2003.
- STEIN, T. E.; DIJKHUIZEN, A.; D'ALLAIRE, S.; MORRIS, R. S. Sow culling and mortality in commercial swine breeding herds. *Preventive Veterinary Medicine*, Colorado, v. 9, n. 2, p. 85-94, 1990.
- TENNANT, B. C. Hepatic function. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 5th ed. London: Academic Press, 1997. p. 327-352.