

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



Dissertação

**Método minimamente invasivo para castração de machos bovinos: impactos
sobre a dor e inflamação**

Leonardo Garcia Oliveira

Pelotas, 2016

Leonardo Garcia Oliveira

Método minimamente invasivo para castração de machos bovinos: impactos sobre a dor e inflamação

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

Orientador: Dr. Thomaz Lucia Junior

Co-orientador: Prof. Dr. Arnaldo Diniz Vieira

Pelotas, 2016

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

O48p Oliveira, Leonardo Garcia

Método minimante invasivo para castração de machos bovinos: impactos sobre a dor e inflamação / Leonardo Garcia Oliveira. – 37f. – Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Veterinária. Universidade Federal de Pelotas. Faculdade de Veterinária. Pelotas, 2016. – Orientador Thomaz Lucia Junior; coorientador Arnaldo Diniz Vieira.

1.Veterinária. 2.Bovinos. 3.Castração.
4.Marcadores. 5.Bem-estar. I.Lucia Junior,
Thomaz. II.Vieira, Arnaldo Diniz. III.Título.

CDD: 636.2

Leonardo Garcia Oliveira

Método minimamente invasivo para castração de machos bovinos: impactos sobre a dor e inflamação

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 08/04/2016

Banca examinadora:

Prof. Dr. Thomaz Lucia Junior (Orientador)
Doutor em Medicina Veterinária pela University of Minnesota (EUA).

Prof^a. Dr^a. Fabiane Borelli Grecco
Doutora em Medicina Veterinária: Universidade Federal de Pelotas

Dr^a. Karina Lemos Goularte
Doutora em Medicina Veterinária: Universidade Federal de Pelotas

Dr^a. Monique Tomazele Rovani
Doutora em Medicina Veterinária: Universidade Federal de Santa Maria

Agradecimentos

Primeiramente agradeço a Deus, pois o que está escrito e destinado à nossa pessoa é dele que vem e basta acreditar.

Logo após, os agradecimentos vão a minha família, que nas pessoas de Jaber, Lara, Noely, Rafael, Thauane, o que os resume é gratidão, por serem o esteio de toda a minha trajetória de vida.

Em especial, ao meu filho Douglas e minha companheira Pâmela, estas duas pessoas, anjos de Deus, colocados em minha vida para que nesta, sejam mudadas as atitudes, ambições e que sendo minha família nunca desistiram de estar ao meu lado, me aconselhando, amparando, confortando e festejando nos momentos bons e nos transtornos apresentados pelo caminho.

Ao grupo Repropel, por amparar e mostrar um mundo diferenciado, que até então desconhecia e que agora é admirado por mim. Dentro deste grupo agradecer especialmente sem diminuir aos demais, a Carlos, Fernando, Cristina e Guilherme, por terem dado a mim um pouco de seu tempo, dedicação e paciência, por me ajudarem e serem amigos nesse momento, saibam que desta nova vida, vocês tem uma enorme parcela, por isso, muito obrigado por tudo!!!

Aos orientadores, Thomaz, Bernardo, Arnaldo e Rafael, que em minha humilde ótica são extremamente honrosos por esse “título” que carregam e por estarem onde estão, por serem pessoas diferenciadas, por fazerem jus ao que fazem, que é formar pessoas e profissionais diferentes para a sociedade, saibam que levarei os ensinamentos e exemplos absorvidos de vocês para sempre.

Agradecer, agradecer sempre todas as pessoas que direta ou indiretamente fizeram e fazem parte desta minha vida, desta fase concluída.

Muito obrigado e que Deus ilumine a todos!

Resumo

OLIVEIRA, Leonardo Garcia. **Método minimamente invasivo para castração de machos bovinos: impactos sobre a dor e inflamação.** 2016. 37f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2016.

A técnica de castração em bovinos é realizada com o objetivo de suprimir os níveis de testosterona, desta forma, impedindo a reprodução, eliminando o comportamento agressivo e a sodomia conseqüentemente melhorando o acabamento e a deposição de gordura na carcaça destes animais. Nos últimos anos, tem-se observado a crescente preocupação com o bem-estar e métodos de produção adequados por parte do mercado consumidor. O objetivo deste trabalho foi determinar o grau de desconforto provocado pelas técnicas de castração cirúrgica ou injeção intratesticular sobre os parâmetros de dor e inflamação, em machos bovinos. No experimento 1, foram utilizados 27 terneiros, com idade até 20 dias, peso vivo médio de 36kg, subdivididos nos seguintes grupos experimentais: controle (não castrados); submetidos à castração cirúrgica (CC); e submetidos à castração química por injeção intratesticular de cloreto de sódio 20% (IIT). Foram realizadas coletas de sangue em momentos distintos após o procedimento (0, 24, 48, 72 e 96 h) para a determinação dos níveis da proteína de fase aguda negativa Paraoxonase (PON1). A temperatura no canto do olho foi avaliada por termografia, nos mesmos períodos. A temperatura escrotal foi analisada 30 s antes do procedimento (D0), no momento do procedimento (D1) e em três períodos após o procedimento: aos 60 s (D2); às 24 horas (D3) e às 48 horas (D4), também por termografia. No experimento 2, os níveis séricos de cortisol foram comparados entre os mesmos métodos, entre os grupos controle, CC, IIT em 24 terneiros, com idade entre 4 -15 dias. As amostras de sangue foram coletadas no momento da realização de cada procedimento e 30 e 60 min depois. No experimento 1, a temperatura de canto de olho (38 – 39°C, em média) não diferiu entre os métodos ($P < 0,05$). A temperatura escrotal no grupo CC permaneceu superior no D1 em relação aos demais grupos ($P < 0,05$), mas no D4, os grupos CC e IIT apresentaram temperatura superior em relação ao controle ($P < 0,05$). Não houve diferença na concentração de PON1 entre os grupos ($P < 0,05$). No experimento 2, os níveis de cortisol não diferiram entre os grupos ($P < 0,05$), mas ocorreu uma interação entre o momento da coleta e o método ($P < 0,05$), pois no controle houve manutenção dos níveis de cortisol, enquanto os níveis aumentaram no CC após 30 min, mantendo-se até os 60 minutos, mas no IIT, o maior nível de cortisol ocorreu após 30 min, declinando no decorrer do tempo. Nenhum dos métodos procedimentos induziu reação inflamatória relevante que alterasse os marcadores sistêmicos de dor e inflamação.

Palavras-chave: castração; marcadores; bem-estar; bovinos

Abstract

OLIVEIRA, Leonardo Garcia. **Minimally invasive method for castration of male bovines: impact on pain and inflammation.** 2016. 37f. Dissertation (Master degree in Sciences) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2016.

Reproductive activity, eliminating aggressive behavior and sodomy, thus improving fat deposition and carcass termination in castrated calves. Over the last years, costumers became increasingly concerned about animal welfare and the use of appropriate methods to manage animals. The objectives of this study were to determine the degree of discomfort caused by castration through surgery and intratesticular injection (IIT) on parameters of pain and inflammation in calves. In experiment 1, 27 calves were used, with up to 20 days of age and 36 kg of live weight. Calves were split in three distinct castration methods: control (non-castrated); surgically castrated (CC). and submitted to chemical castration through IIT of 20% NaCl. Blood samples were collected at distinct moments after the procedures (0, 24, 48, 72 and 96 h) to determine the serum levels of acute phase protein paraoxanase (PON1). The temperature in the inner corner of the eye was determined by thermography, at the same periods. Scrotal temperature was measured 30 s before the procedures (D0), at the time of the procedures (D1) and at three periods after the procedures; at 60 s (D2); at 24 h (D3); and at 48 h (D4), also through thermography. In experiment 2, the serum cortisol levels were compared among the same castration methods, in 24 calves (4-15 d of age). Blood samples were collected at the time of the procedure and also at 30 and 60 min after. In experiment 1, the temperature in the inner corner of the eye (38 - 39°C, in average) did not differ among methods ($P>0.05$). Scrotal temperature was greater at D1 for CC than for the other groups ($P<0.05$), with subsequent increase at D4 for calves in CC and IIT, compared to the control ($P<0.05$). No difference among methods ($P>0.05$) was observed for serum levels of PON1. In experiment 2, serum cortisol levels did not differ across methods ($P>0.05$), but a method per period interaction indicated that cortisol levels increased in CC after 30 min and remained stable up to 60 min, although cortisol levels for calves in IIT were greatest after 30 min, declining over time after that. None of the tested methods induced relevant inflammatory reaction capable to alter systemic markers of pain and inflammation.

Keywords: castration; markers; welfare; calves

Lista de Figuras

- Figura 1 Temperatura do canto do olho (°C) em machos bovinos com idade de 4 a 20 dias (n=27), submetidos à castração cirúrgica (castrado), castração química (injetado) ou não castrados (controle)..... 21
- Figura 2 Temperatura escrotal (°C) em 27 machos bovinos com idade entre 4 e 20 dias (n = 27), submetidos à castração cirúrgica (castrado), castração química (injetado) ou não castrados (controle)..... 22
- Figura 3 Níveis de paraoxonase (U/ml) em machos bovinos com idade entre 4 e 20 dias (n = 27), submetidos à castração cirúrgica (castrado), castração química (injetado) ou não castrados (controle)..... 23

Lista de Tabelas

Tabela 1	Níveis séricos de cortisol (ug/dl) em machos bovinos com idade entre 4 e 15 dias de idade submetidos a castração por diferentes métodos em distintos períodos com relação a execução dos procedimentos	23
----------	--	----

Sumário

1 Introdução.....	9
1.1 Fisiologia reprodutiva.....	10
1.2 Castração cirúrgica.....	10
1.3 Castração não cirúrgica.....	11
1.3.1 Castração química.....	12
1.4 Avaliação da dor e inflamação.....	13
1.4.1 Paraoxonase (PON1).....	14
1.4.2 Cortisol.....	14
1.4.3 Avaliação por termografia.....	15
2 Hipótese.....	16
3 Objetivo.....	17
4 Metodologia.....	18
4.1 Experimento 1.....	18
4.2 Experimento 2.....	20
4.3 Análise estatística.....	20
5 Resultado.....	21
6 Discussão.....	24
7 Considerações Finais.....	28
Referências.....	29
Anexo.....	36

1 Introdução

O Brasil possui o maior rebanho comercial do mundo, estando entre os principais produtores de carne bovina, juntamente com EUA, Índia e Austrália (Florindo et al., 2015). Dentro do sistema de produção bovina no Brasil, existe uma diferença marcante entre animais castrados e inteiros, sendo os castrados terminados em sistemas de pastagem e os animais inteiros terminados em sistema de confinamento e semi-confinamento principalmente na região central do país (Dill et al., 2015).

O manejo de castração como é comumente realizado, com pouco ou nenhum cuidado com o bem-estar animal, apresenta um importante impacto na eficiência do sistema de produção, assim como um impacto na visibilidade que os sistemas de produção animal causam na sociedade (Heid & Hamm, 2013). A premissa de bem-estar animal preconiza cinco princípios básicos que devem ser atendidos pela produção pecuária: evitar condições de fome, sede e desnutrição; evitar medo e angústia; evitar desconforto físico e térmico, dor, injúrias e doenças; e garantir condições em que os animais possam expressar seu comportamento normal. Os grandes mercados consumidores de carne bovina direcionam suas atenções para práticas de manejo que causem o menor desconforto possível, respeitando as diretrizes do bem-estar animal, contemplando assim a tendência mundial com a adequação de processos e qualidade sanitária (Heid & Hamm, 2013).

A castração é um método de contracepção que visa abolir as funções reprodutivas, de forma definitiva ou temporária, no caso de ser reversível (Speroff and Darney, 2010). Esta técnica é um manejo mundialmente difundido nos diversos modelos de criação pecuária, tendo diversos objetivos, como, impedir gestações indesejadas, sodomia em sistemas de confinamentos, estabelece melhor controle sobre o temperamento dos animais e melhorar o rendimento da carcaça (Climaco et al., 2008). A redução na taxa metabólica basal e na energia de manutenção dos animais na fase de engorda interferem na conversão alimentar, no ganho de peso e o pH muscular, possibilitando que o animal castrado tenha melhor acabamento e

deposição de gordura, pela supressão dos níveis de testosterona (Stafford and Mellor, 2005a),efeitos que também foram demonstrados em suínos(Heid and Hamm, 2013).

Independentemente do método a ser utilizado, alguns aspectos relativos à época do ano e ao clima devem ser avaliados, antes de iniciar o manejo, bem como a técnica a ser efetuada e a idade do animal, visando minimizar o estresse do indivíduo(Bretschneider, 2005). Os métodos de castração são classificados como: cirúrgicos e não cirúrgicos.

1.1 Fisiologia reprodutiva

Os testículos são os órgãos reprodutivos masculino responsáveis pela produção de espermatozoides, sendo formado pelos túbulos seminíferos, células de Leydig e de Sertoli, capilares, vasos linfáticos e estruturas de preenchimento (Senger, 2003). A regulação do início da atividade nos túbulos seminíferos é realizada pelo hormônio folículo estimulante (FSH) que tem ação nas células de Sertoli, que tem função de nutrir e controlar as espermatogônias (Hafez, 1982). As células de Leydig, localizadas entre os túbulos seminíferos, são assistidas pelo hormônio luteinizante (LH), sintetizando hormônios esteróides, em especial a testosterona (Hafez, 1982; Swenson, 1996).

A produção de testosterona e a multiplicação das espermatogônias está diretamente ligada à capacidade das células de Leydig em responder ao estímulo do LH (Boockfor et al., 1983). Enquanto a diferenciação e a proliferação das células de Sertoli e Leydig são controladas por LH e FSH, o desenvolvimento das células germinativas é comandado pelos esteroides e pelos fatores de crescimento secretados por estas células (Walker, 2003).

1.2 Castração cirúrgica

A orquiectomia, caracterizada pela remoção cirúrgica dos testículos, é o método mais difundido e eficiente de castração e esterilização de machos bovinos (Bretschneider, 2005), sendo executado com o objetivo de evitar a reprodução e reduzir o comportamento agressivo de machos (Amatayakul-Chantler et al., 2013). A orquiectomia é uma técnica invasiva, que necessita de um técnico experiente,

exigindo cuidados específicos no decorrer do procedimento (da Silva et al., 2009), a fim de minimizar transtornos ao animal. Mesmo sendo método extremamente eficaz, a castração em bovinos nem sempre é feita por profissionais, seguindo os padrões exigidos para um procedimento cirúrgico, sendo em muitos casos, realizado pelo pessoal de campo sem cuidados com o bem-estar animal (Oliveira et al., 2006). Mesmo sendo executada com anestesia é um procedimento cruento, que pode gerar perdas monetárias e do próprio animal com o risco de miíases e infecções secundárias (Stafford et al., 2002). Como a orquiectomia extirpa as gônadas sexuais dos machos, este método é considerado um procedimento mutilatório.

Existem outros métodos cirúrgicos capazes de eliminar as funções reprodutivas de um bovino. Dentre estes podemos citar a deferentectomia e a caudepididimectomia bilateral (da Silva et al., 2009). No entanto, estes métodos vêm sendo menos utilizados na rotina, por não serem efetivos em minimizar o comportamento reprodutivo, pois a secreção de hormônios esteroides pelos testículos não é alterada, sendo comumente utilizados para preparo de rufiões (Bezerra et al., 2007).

1.3 Castração não cirúrgica

Os métodos não cirúrgicos são baseados no uso de técnicas ou substâncias que inibem os processos da função reprodutiva ou que impedem a produção de gametas viáveis (Bowen, 2008). Os métodos não cirúrgicos se tornaram mais populares, especialmente nos últimos anos, em função de apresentarem relação custo: benefício acessível e por trazerem benefícios para o bem-estar dos animais (Von Borell et al., 2009).

Porém, mesmo sem o procedimento cirúrgico, alguns destes métodos de castração que utilizam o estrangulamento do suprimento sanguíneo testicular por compressão dos vasos, causam um desconforto e estimulam reações fisiológicas tirando o organismo da normalidade (Thornton & Waterman-Pearson, 2002). A utilização do burdizzo e de anéis de borracha ou látex são exemplos de procedimentos de castração não cirúrgicos que afetam o bem-estar animal (King et al., 1991; Melches et al., 2007). Esta técnica tem aplicação simples e barata, sendo eficiente em animais jovens, com 2-4 meses de idade (Boesch et al., 2008). No entanto, é necessária a aplicação de anestesia local para minimizar os sintomas

dolorosos no momento do tratamento(Lomax and Windsor, 2013).Porém, os efeitos podem persistir por um longo período, gerando dor após os efeitos da anestesia local, além da possibilidade de ocorrência de lesões crônicas(Boesch et al., 2008; Stafford et al., 2002).

Outro método de esterilização utilizado é decorrente de uma reação imunológica a diferentes componentes do eixo hipotálamo-hipófise-gônada, como o GnRH (hormônio liberador de gonadotrofina)resultando no bloqueio da espermatogênese, atrofia das gônadas e inativação de suas funções (Bowen, 2008; Cooper and Larsen, 2006). Em animais de produção, a castração imunológica é preconizada no período de terminação, para dinamizar a utilização da testosterona natural sobre o ganho de peso e a conversão alimentar de bovinos (Freitas et al., 2008) e diminuir o estresse de procedimentos cirúrgicos em animais adultos, reduzindo o desgaste e a perda de peso, melhorando o comportamento dentro de confinamento e o acabamento final dos bovinos resultando em melhor qualidade de carne (Amatayakul-Chantler et al., 2013).

Robertson et al. (1982) trabalhando com bovinos machos em diferentes idades, observaram efeito pouco traumático da imunocastração para o animal. Porém,existem fatores limitantes, como o efeito reversível,que exige repetidas aplicações, que devem ser realizadas por um técnico qualificado, como um Médico Veterinário, o que pode tornar este método menos viável economicamente. Também existe a possibilidade de falhas no procedimento, devido à diferentes respostas imunológicas individuais(Cooper and Larsen, 2006).

1.3.1 Castração química

A castração química é baseada na injeção intratesticular (IIT) de soluções que inibem o desenvolvimento ou induzem à regressão das gônadas, sendo considerado um método menos invasivo e menos traumático ao animal, quando comparado com as técnicas tradicionais, de rápida execução e de baixo custo (Emir et al., 2008). Segundo Andrade Neto et al. (2014), a IIT de uma solução a 20% de NaCl e 2% de lidocaína foi eficaz em machos bovinos com até 20 dias de vida. Após este procedimento, foram observados azospermia e a supressão da secreção de testosterona, ratificada quando os animais foram desafiados com GnRH. Exames histológicos demonstraram uma total desorganização do parênquima testicular

(fibrose) e necrose coagulativa nas células de Leydig e nos túbulos seminíferos. Porém, o grau de dor e de inflamação resultantes de sua aplicação em bovinos jovens não foram avaliados neste experimento.

Em bovinos, vários agentes esclerosantes já foram testados na IIT, tais como: cloreto de cálcio (Koger, 1978), gluconato de zinco (Oliveira et al., 2011) e ácido láctico (Okwee-Acai et al., 2008). Estes agentes provocaram menor liberação de cortisol em relação ao emprego do burdizzo, apesar da manifestação de dor após a injeção (Cohen et al., 1990). Estes compostos são infundidos no parênquima testicular, causando inflamação, fibrose e danos estruturais nos testículos, epidídimos e ductos deferentes, reduzindo a concentração de andrógenos e prejudicando a espermatogênese (Kutzler and Wood, 2006), sendo um processo degenerativo irreversível. Estes compostos também já foram utilizados na IIT em outras espécies, como primatas, roedores, bovinos, bubalinos, ovinos, caprinos, cães, felinos e até mesmo em humanos (revisado por Bowen (2008)).

1.4 Avaliação da dor e inflamação

O bovino é descrito como um animal apresenta uma limitada expressão característica de dor, em comparação com outras espécies, como a equina (Gleerup et al., 2015). Segundo Ceciliani et al. (2012) não existem marcadores de estresse e de dor considerados específicos e fidedignos que identifiquem estas reações em ruminantes. Estudos recentes vêm sendo conduzidos para avaliar a expressão dolorosa demonstrada por outras espécies, existindo classificação padronizada para equinos (Dalla Costa et al., 2014) e ratos (Sotocinal et al., 2011).

As reações de estresse e de dor em ruminantes, mesmo inespecíficas, são caracterizadas por alterações fisiológicas, tanto nas proteínas de fase aguda (PFA), como cortisol (King et al., 1991), paraoxonase (Devarajan et al., 2014), como na temperatura no canto do olho (Stewart et al., 2008), que possui uma vascularização que responde rapidamente as reações cardíacas alterando sua temperatura. Estas reações se iniciam rapidamente após a ação do agente estressor, estendendo-se até 7 dias. Esta reação resultada mudança do metabolismo hepático, com aumento ou diminuição na concentração destas proteínas, consideradas positivas e negativas, respectivamente (Ceciliani et al., 2012).

1.4.1 Paraoxonase (PON1)

Processos inflamatórios e estressores estimulam a produção de citocinas pró-inflamatórias locais que agem como um sinalizador para o fígado gerar uma resposta, induzindo a produção ou redução de proteínas de fase aguda (PFA) (Devarajan et al., 2014). A PON1 se encontra diminuída em processos inflamatórios e de estresse, sendo considerada uma PFA negativa (Schneider et al., 2013).

A concentração circulante de PON1 e a intensidade de resposta a um agente estressor relacionada com a gravidade do distúrbio e com a extensão do dano tecidual em animais, está diretamente relacionada com a ativação dos hepatócitos e sua resposta pelas PFAs (Murata et al., 2004). A PON1 mantém seus níveis séricos basais em torno de $83,0 \pm 7,0$ U/ml, sendo característico da resposta a agentes inflamatórios e estressores um declínio deste valor para $69,0 \pm 8,0$ U/ml em bovinos (Bionaz et al., 2007; Ceciliani et al., 2012).

1.4.2 Cortisol

O cortisol é considerado um dos marcadores para a avaliação de dor e de sofrimento mais tradicionais (Bretschneider, 2005). A resposta do cortisol a agentes estressores ocorre em um pico plasmático, durante a primeira hora após o processo (Stafford and Mellor, 2005a; Stafford et al., 2002). Este pico pode chegar a valores séricos em torno de 45 até 129 nmol/L, induzido pelo processo de castração em bovinos (Mellor and Stafford, 2000).

Porém, o cortisol pode não ser um marcador preciso de dor, pois existe uma variação individual acentuada nos seus níveis séricos e sua alteração pode ser ocasionada por qualquer desvio fisiológico, como em função do processo de contenção (Stafford et al., 2002). Este fato foi comprovado por observações feitas por Stafford and Mellor (2005a), em bovinos submetidos a diferentes métodos de castração, nos quais os níveis séricos mais baixos de cortisol foram identificados em animais com limiares de dor mais elevados. Contudo, o cortisol é um componente da resposta ao estresse em bovinos que deve ser avaliado (Coetzee et al., 2008).

1.4.3 Avaliação por termografia

A termografia é tradicionalmente utilizada para avaliar e diagnosticar processos inflamatórios (Turner, 2001). Porém, a avaliação da temperatura do canto do olho em bovinos é conduzida para avaliar a resposta do sistema nervoso autônomo durante procedimentos dolorosos (Stewart et al., 2007). Existe a expectativa de que ocorra uma queda na temperatura do canto do olho em resposta à liberação de adrenalina pelo processo, devido a uma mediação do sistema nervoso simpático, que reduz no fluxo sanguíneo local, ocorrendo perda de calor destes capilares orbitais (Stewart et al., 2008).

Estes eventos ocorreram simultaneamente, dentro da primeira hora após a realização de um procedimento causador de estresse, reforçando a hipótese que estas medidas são capazes de identificar e caracterizar uma resposta do bovino com estresse, semelhante ao que ocorre em equinos. Nesta espécie, a avaliação da temperatura do canto do olho é considerada de boa acurácia para identificar processos estressores (Valera et al., 2012).

2 Hipótese

A castração química de machos bovinos pela injeção intratesticular com solução de NaCl 20% e lidocaína é menos traumática do que os processos tradicionais de castração, reduzindo situações desnecessárias de estresse e atendendo aos padrões de bem-estar animal no quesito dor e inflamação.

3 Objetivo

Determinar o grau de dor e inflamação provocado pelas técnicas de castração cirúrgica e química através da IIT de solução concentrada de NaCl e lidocaína, através de marcadores sistêmicos de dor e inflamação nas duas primeiras semanas de vida de machos bovinos.

4 Metodologia

Todos os procedimentos foram aprovados pela Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA-UFPel, registro nº2258).

4.1 Experimento 1

Foram utilizados 27 terneiros, com idade entre 4-20 dias e peso vivo médio de 36 kg, em uma propriedade no sul do Brasil. Os animais foram mantidos em piquete com pastagem melhorada de azevém, sob as mesmas condições ambientais, junto às suas mães. Os animais foram identificados individualmente através de brincos numerados e marcação com tinta. Estes foram distribuídos aleatoriamente em três grupos homogêneos (n=9) e mantidos sob as mesmas condições. Os grupos experimentais foram: controle, submetidos apenas à contenção; castrados (CC), submetidos à castração cirúrgica; e submetidos à castração química através da injeção intra-testicular (IIT) de solução hiper-saturada de NaCl a 20%.

Nos três grupos, os animais foram adequadamente contidos e a antisepsia do escroto realizada com solução de iodo-etanol (tintura de iodo 2%, 1L, Rioquímica) e 2% de clorexidina (solução de Digliconato de Clorexidina Degermante 2%, Rioquímica). A orquiectomia foi realizada conforme técnica convencional, com a incisão da bolsa escrotal exteriorização e extirpação dos testículos após a secção do cordão espermático (Neto et al., 2014). Para a IIT, foi preparada solução hipertônica contendo cloreto de sódio a 20% (200 mg/ml) e lidocaína a 2% (20mg/ml) em solução fisiológica, armazenada em frascos estéreis mantidos a 5°C até sua utilização. Os terneiros foram tratados com 1,5 a 4 ml de solução em cada testículo (de acordo com o tamanho dos testículos, evitando ruptura dos mesmos), usando uma agulha 40 × 0,8 mm. A IIT ocorreu pela porção caudal do órgão, até que o parênquima testicular fosse repleto.

A termografia e a quantificação dos níveis da proteína de fase aguda negativa paraoxonase (PON1) foram aplicadas para determinar o grau de resposta inflamatória induzida (medida de desconforto) (Całkosinski et al., 2015).

Termografia do canto do olho e do escroto

Os animais foram submetidos a análise termográfica da região escrotal e ocular utilizando o termógrafo FLIR® E25. Em ambos os locais, a termografia foi realizada no momento do procedimento (D0) e 24, 48, 72 e 96 h após (D1, D2, D3 e D4, respectivamente). Cada termograma gerado foi analisado pelo software de análise da FLIR® (FLIR QuickReport™ PC software), para a obtenção da temperatura máxima e média nos locais avaliados.

Quantificação dos níveis da paraoxonase

Os animais foram submetidos a coletas de sangue, em cinco momentos (D0, no momento do tratamento), (D1, 24 horas após), (D2, 48 horas após), (D3, 72 horas após) e (D4, 96 horas após) para a quantificação dos níveis de PON1. Para as coletas de sangue, foi realizada a antissepsia, semelhante à descrita anteriormente para a região escrotal, porém no terço médio do pescoço. A coleta foi realizada por punção da veia jugular com o auxílio do sistema de coleta a vácuo BD Vacutainer®, com agulha 25 x 8 mm, em tubos estéreis sem anticoagulante de 10 ml. As amostras de sangue foram centrifugadas a 6000 rpm, durante 10 min. Alíquotas de soro de cada animal foram armazenadas em nitrogênio líquido (-196°C).

A atividade de PON1 no soro foi determinada no Laboratório de Nutrigenômica da Faculdade de Nutrição, da Universidade Federal de Pelotas. Resumidamente, foi utilizada solução, composta por tampão Tris/HCl 20 mM, 1 mM de cloreto de cálcio e 4mM de fenilacetato. As amostras foram diluídas em Tampão 20mM Tris/HCl na proporção de 1:3. A leitura foi realizada em espectrofotômetro (Cirruss 80ST) usando 3,3 µl da amostra diluída em 500 µl da solução de trabalho no comprimento de onda de 270 nm por um período de 60 segundos. A atividade da enzima foi determinada pela seguinte fórmula: Δ Absorbância x 115 x 3. A atividade da PON1 foi expressa em U/ml.

4.2 Experimento 2

Em um segundo experimento, foram utilizados 24 terneiros, com idade entre 4 e 15 dias e peso vivo médio de 32 kg, em uma propriedade no sul do Brasil. Os animais foram distribuídos aleatoriamente em três grupos, conforme descrito anteriormente: controle (n=8), CC (n=7) e IIT (n=9). O manejo, a identificação dos animais e a coleta das amostras de sangue foram semelhantes ao descrito no experimento 1. As amostras de sangue foram coletadas no momento da realização de cada procedimento (D0) e 30 e 60 minutos após. A quantificação dos níveis séricos de cortisol foi realizada pela técnica de eletroquimioluminescência em laboratório comercial.

4.3 Análise estatística

O efeito dos tratamentos sobre os níveis de PON1 e cortisol e sobre a temperatura escrotal e no canto do olho foi avaliado por análise de variância com medidas repetidas, através do procedimento MIXED (SAS®). Quando necessário, os dados que não apresentaram normalidade foram submetidos a transformações, mas os resultados foram relatados nas escalas originais.

5 Resultados

O efeito dos tratamentos sobre a temperatura no canto dos olhos é mostrado na Figura 1. Não foram observadas diferenças entre os métodos de castração ($P < 0,05$), em nenhum dos momentos avaliados. A temperatura média local variou entre 38-39°C, indicando que não houve estímulo doloroso relevante.

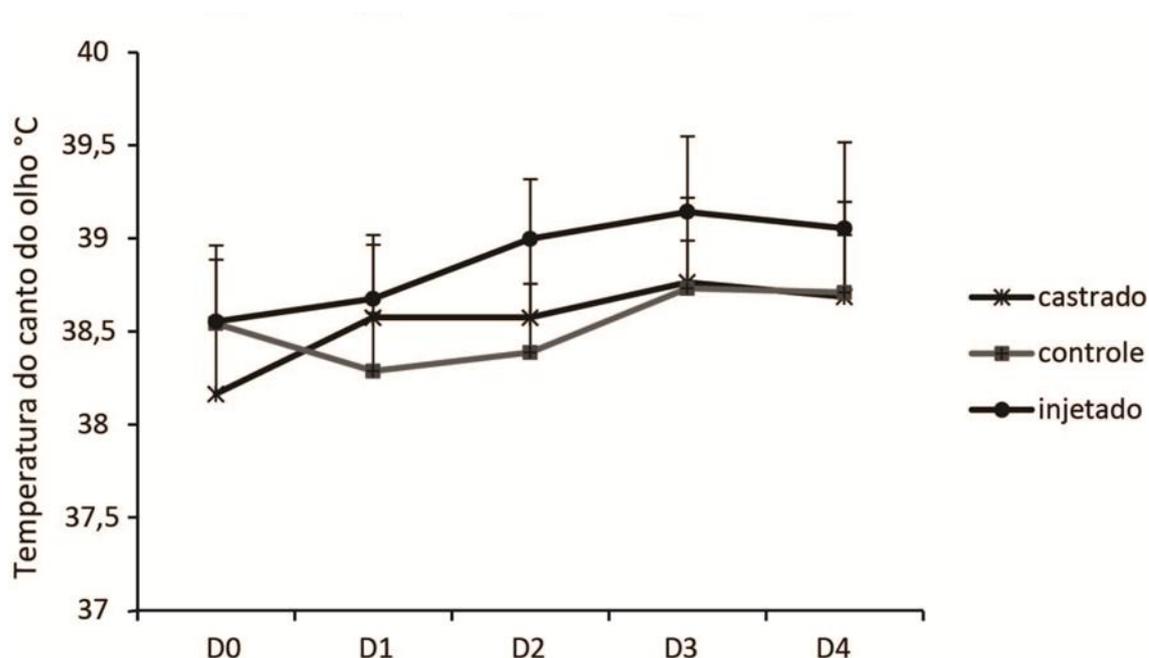


Figura 1: Temperatura do canto de olho (°C) em machos bovinos com idade entre 4 e 20 dias ($n = 27$), submetidos à castração cirúrgica (castrado), castração química (injetado) ou não castrados (controle)

D0: no momento do tratamento; D1: 24 h após; D2: 48 h após; D3: 72 h após; D4: 96 h após.

Após os tratamentos a variação na temperatura no escroto entre os tratamentos está mostrada na Figura 2. No D1, os animais do grupo CC apresentaram temperatura superior ($P < 0,05$) aos animais dos demais grupos. No D4, os animais dos grupos CC e IIT apresentaram temperatura superior à do grupo controle ($P < 0,05$).

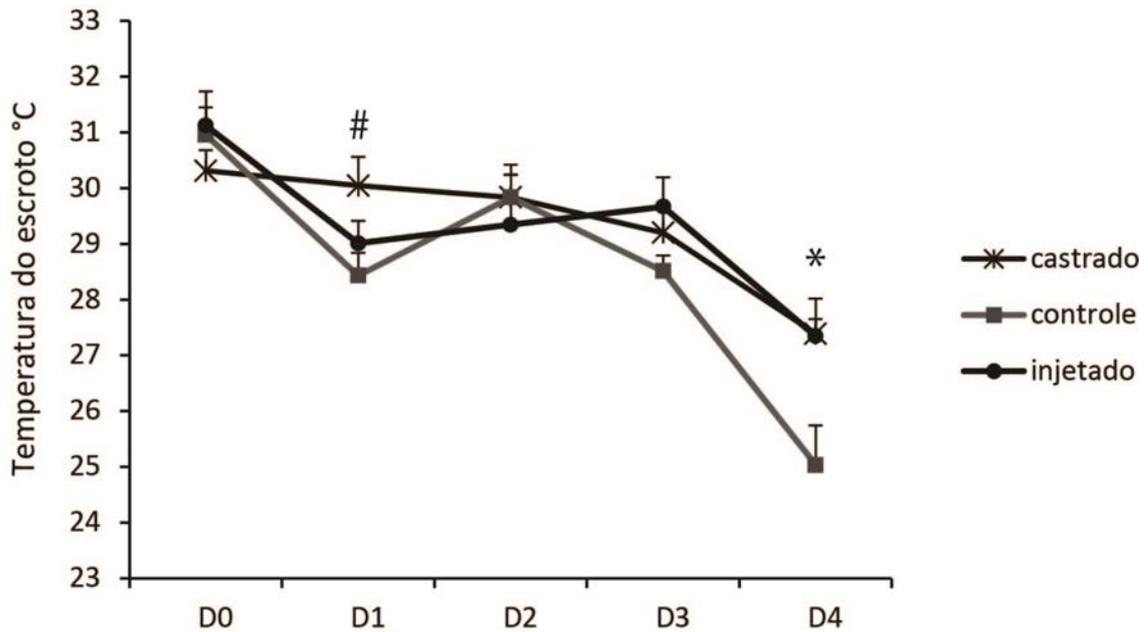


Figura 2: Temperatura escrotal (°C) em 27 machos bovinos com idade entre 4 e 20 dias (n = 27), submetidos à castração cirúrgica (castrado), castração química (injetado) ou não castrados (controle).

D0: no momento do tratamento; D1: 24 h após; D2: 48 h após; D3: 72 h após; D4: 96 h após.

#Diferença no D1 ($P < 0,05$)

*Diferença no D4 ($P < 0,05$).

Os níveis de PON1 no plasma sanguíneo variaram entre 28 e 50 U/ml. Não foram observadas diferenças ($P < 0,05$) nos níveis circulatórios de PON1 entre os grupos (Figura 3).

Os níveis de cortisol não diferiram ($P < 0,05$) entre os grupos (Tabela 1). No entanto, observou-se um efeito ao longo do período avaliado no grupo CC ($P < 0,05$), com nível elevado de cortisol após 30 min, que foi mantido por até 60 min. No grupo ITT, ocorreu elevação dos níveis séricos de cortisol 30 min após o procedimento ($P < 0,05$), com declínio aos 60 min.

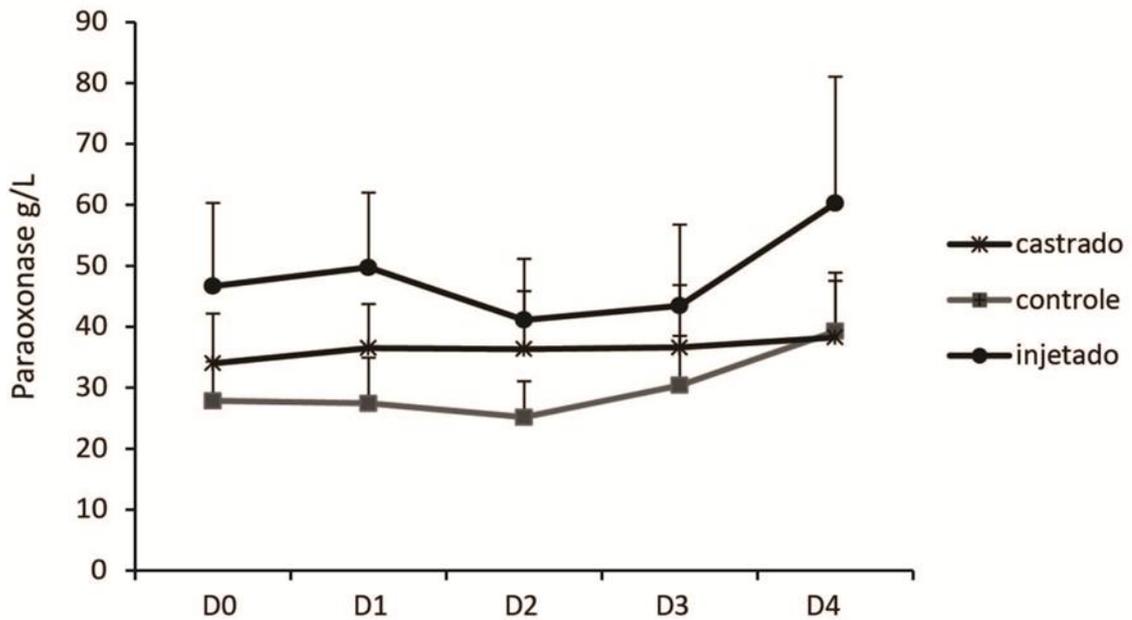


Figura 3: Níveis de paraoxonase (U/ml) em machos bovinos com idade entre 4 e 20 dias ($n = 27$), submetidos à castração cirúrgica (castrado), castração química (injetado) ou não castrados (controle).

D0: no momento do tratamento; D1: 24 h após; D2: 48 h após; D3: 72 h após; D4: 96 h após.

Tabela 1: Níveis séricos de cortisol (ug/dl) em machos bovinos com idade entre 4 e 15 dias de idade submetidos a castração por diferentes métodos em distintos períodos com relação a execução dos procedimentos

Método	Período (min)			
	n	0	30	60
Controle	8	$1,4 \pm 0,2^a$	$1,5 \pm 0,2^a$	$1,2 \pm 0,1^a$
Castrado	7	$0,9 \pm 0,1^a$	$1,6 \pm 0,2^b$	$1,4 \pm 0,2^b$
Injetado	9	$1,4 \pm 0,2^a$	$1,8 \pm 0,2^b$	$1,3 \pm 0,2^a$

^{a,b} Letras distintas indicam diferença significativa na linha ($P < 0,05$).

6 Discussão

A castração cirúrgica foi associada com uma resposta aguda expressa por aumento na temperatura escrotal, que pode ser atribuída a um maior aporte sanguíneo decorrente da liberação de mediadores de resposta inflamatória. Esta resposta inflamatória também pode ser devido ao fato de que os animais castrados têm o mecanismo de termorregulação escrotal comprometido pela ausência dos testículos ou pela lesão tecidual. Aumento na temperatura escrotal também pode ser observado 48 h após a castração cirúrgica e 21-5 dias após castração com borracha (Moya, 2014), o que seria devido ao dano tecidual e à inflamação resultante dos métodos físicos de castração. Durante o procedimento de castração, e também após, não foram observadas manifestações dolorosas relevantes nos animais submetidos a castração química, tendo ocorrido apenas uma leve reação no momento da introdução da agulha na pele escrotal, semelhante à reação relatada por Martins et al. (2011), em búfalos. Essa redução na manifestação dolorosa é altamente desejável, o que indica que a castração química através de IIT pode ser menos traumática do que a castração com burdizzo (Martins et al., 2011). Porém, ainda não existem trabalhos avaliando a castração com agentes químicos como o NaCl em machos bovinos nas primeiras semanas de vida. Quando realizada em bovinos com cloreto de cálcio (Koger, 1978) e ácido láctico (Cohen, 1990), a IIT provocou menor liberação de cortisol quando comparada com castração por burdizzo, apesar da ocorrência de manifestação de dor após a IIT (Cohen, 1990). Além disso, a castração química com cloreto de cálcio não determinou nenhuma alteração significativa em vários parâmetros de estresse, quando usada em caprinos e cães (Jana et al., 2005; 2007).

Um entrave para analisar processos dolorosos em bovinos jovens é que a maioria dos estudos publicados investigam a dor e o estresse em animais com idade superior a três meses, não existindo valores de referência para animais jovens (Currah et al., 2009; Stafford and Mellor, 2005b; Stewart et al., 2010). O estresse associado a castração é maior quando o procedimento é realizado em animais com idades mais avançadas (Mellor et al., 1991), determinando importantes perdas

acarretadas pelas complicações (Bretschneider, 2005). As respostas dolorosas e inflamatórias em animais castrados em idades mais avançadas poderiam ser reduzidas com a administração de anestesia local (Earley and Crowe, 2002) ou de anti-inflamatórios não esteroides (Coetzee et al., 2007) (Currah et al., 2009). Entretanto, nenhuma destas alternativas foi capaz de diminuir a ocorrência de dor e de complicações pós-castração, como a redução na ingestão de alimentos. Como a resposta ao estresse é menor quando a castração ocorre próxima ao redor ao nascimento dos animais (Bretschneider, 2005; Lyons-Johnson, 1998), ou em animais jovens, independentemente do método utilizado, é recomendada a castração precoce (Bretschneider, 2005). A castração nos primeiros dias de vida dos animais está associada com redução no desconforto e com facilidade de manejo, podendo resultar em melhoria no peso ao desmame (Bretschneider, 2005). Assim, nos primeiros dias da vida do animal, provavelmente nenhuma das técnicas de castração testadas neste estudo causariam um estresse fisiológico detectável, o que seria mais evidente na castração de bovinos mais velhos (Ting, 2003). Portanto, o principal achado do presente estudo foi o fato de que os diferentes métodos de castração avaliados não induzem reação inflamatória relevante em terneiro com até 20 dias de idade. A associação entre a idade à castração e o estresse relacionado ao trauma e ao desconforto provavelmente é associado com o aumento do tamanho testicular (Mellor et al., 1991).

A avaliação de parâmetros sanguíneos é capaz de detectar efeitos decorrentes de procedimentos cirúrgicos e de manejo nos animais. No entanto, este método é considerado invasivo, podendo se constituir em uma fonte de ansiedade ao animal e contribuir com a secreção dos hormônios de estresse como o cortisol, (Stewart, 2005), o que pode interferir nos resultados obtidos nestas análises. Até mesmo a imobilização e a contenção dos animais, como ocorreu no grupo controle, pode provocar uma excessiva resposta hormonal do organismo (Zimecki e Artym, 2004). Neste contexto, são necessários métodos não invasivos para a avaliação de dor e inflamação resultante da castração, como a termografia. A temperatura do canto de olho é correlacionada com um aumento da temperatura ocular e dos níveis de cortisol no sangue e saliva dos animais, após a administração de ACTH (Cook et al., 2001). A diminuição da temperatura no canto do olho pode ser causada por vasoconstrição do sistema simpático em resposta à dor aguda, sendo um marcador para monitorar eventos que causem mudanças bruscas (Stewart et al., 2008). Em

touros castrados, dois min após o procedimento, a temperatura ocular é reduzida rapidamente, mas, 15 min após a castração, ocorre um rápido aumento nesta temperatura e dos níveis circulatórios de cortisol (Stewart et al., 2010), indicando a ativação do sistema nervoso parassimpático, havendo dilatação dos vasos sanguíneos e aumento do fluxo sanguíneo periférico. No entanto, nas condições do presente estudo, não houve efeito dos métodos de castração sobre a temperatura do canto do olho, sugerindo que não houve estímulo doloroso acentuado. Medidas indiretas utilizadas em alguns estudos incluem alterações nas concentrações de marcadores neuroendócrinos e inflamatórios, como cortisol (Stafford and Mellor, 2005b), epinefrina (Stewart et al., 2010) e proteínas de fase aguda. Além dos marcadores sistêmicos, as medidas da frequência cardíaca (Stewart et al., 2010) e o uso de pedômetros (Currah et al., 2009) são métodos alternativos não invasivos utilizados para a verificação do estresse e dor.

No presente estudo, nenhum dos métodos de castração testados induziu uma reação inflamatória capaz de alterar marcadores sistêmicos, quando realizadas nos primeiros 20 dias de vida. Ainda que a PON1 seja uma proteína de fase aguda negativa, apresentando redução nos seus níveis séricos após a ocorrência de uma lesão (Schneider et al., 2013), o presente estudo não identificou diferenças nos níveis de PON1 entre os grupos. Com relação ao cortisol, houve elevação nos níveis séricos a partir dos 30 min após a castração cirúrgica, mantendo-se elevado até os 60 min, enquanto que nos terneiros submetidos à castração química os níveis séricos de cortisol foram elevados 30 min após o procedimento, mas se mostraram reduzidos aos 60 min. No entanto, apesar da interação ocorrida em função do tempo, não houve efeito direto dos métodos de castração, conforme também relatado por Coetzee et al. (2008). A concentração de cortisol tem sido amplamente utilizada como um indicador de dor e estresse fisiológico em animais submetidos a castração (AVMA 2014). Em terneiros castrados cirurgicamente, o aumento na concentração de cortisol, na saliva (Moya, 2014) e na circulação (Molony, 1995) indica que este procedimento seria doloroso e estressante para os animais, ainda que outro estudo não tenha identificado alteração nos níveis de cortisol no plasma em função de diferentes técnicas de castração (Fisher et al., 2001). O maior pico na concentração sérica de cortisol ocorreria 12-24 min após a castração, com redução 60-96 min após (Molony, 1995). O menor pico na resposta do cortisol ocorreu após castração com anel de borracha, enquanto que o pico sustentado por mais tempo

ocorreu após castração por burdizzo. Níveis elevados de cortisol cerca de 30 min após procedimentos cirúrgicos também foram relatados em bovinos com 1-2 meses de idade submetidos a descorna e 21 d após a castração (Mosher et al., 2013). Além do cortisol, os níveis circulatórios de outra proteína de fase aguda, a haptoglobina, também foram mais elevados após a castração, em comparação com os níveis observados em touros não castrados (Repenning et al., 2013). Por outro lado, níveis reduzidos de cortisol foram relatados após administração de anestésicos locais (Thüer et al., 2007) e de anti-inflamatórios não esteroides (Currah et al., 2009).

Coletivamente, os dados do presente estudo sugerem que nenhum dos métodos repercutiu em uma reação inflamatória relevante. Entretanto, a IIT pode ser uma alternativa viável, comparada com a orquiectomia, evitando complicações pós-operatórias, como infecções microbianas e parasitárias no local da ferida. Além disso, a IIT com uso de NaCl utiliza um composto não tóxico de baixo custo, diminuindo a possibilidade de efeitos adversos indesejáveis.

7 Considerações Finais

Nas condições do presente estudo, observou-se que os métodos de castração utilizados não alteram a temperatura de canto de olho e a atividade da PON1, sugerindo que as técnicas não promovem alterações sistêmicas quando realizadas nos primeiros 20 dias de vida. Deste modo, nenhum dos procedimentos induziu uma reação inflamatória capaz de alterar marcadores sistêmicos de dor e inflamação. A causa da elevação de temperatura no D4 nos grupos castração cirúrgica e química ainda deve ser melhor investigada. Novos marcadores que possam ser utilizados para a avaliação de processos inflamatórios e de bem-estar animal ainda devem ser analisados. Portanto, a IIT se mostra vantajosa por ser uma alternativa para evitar as complicações pós-operatórias, como infecções microbianas e parasitárias, inerentes da castração cirúrgica e por ser utilizado um composto não tóxico de baixo custo, diminuindo a possibilidade de efeitos adversos indesejáveis.

Ressalta-se a importância deste estudo e de seus resultados na compreensão das reações causadas pelos procedimentos de castração sobre o bem-estar animal. Tal entendimento faz-se fundamental para otimizar o manejo de castração nos primeiros dias de vida dos animais, e conseqüentemente, a eficiência produtiva dos rebanhos. A elucidação do grau de inflamação provocado pelas técnicas de castração cirúrgica ou química realizada neste experimento sobre os parâmetros avaliados em machos bovinos nas primeiras semanas de vida pode contribuir com o entendimento de novas técnicas de castração e no desenvolvimento de tecnologias que causem menos desconforto aos animais.

Referências

AMATAYAKUL-CHANTLER, S.; HOE, F.; JACKSON, J.; ROÇA, R.D.O.; STEGNER, J.; KING, V.; HOWARD, R.; LOPEZ, E.; WALKER, J. Effects on performance and carcass and meat quality attributes following immunocastration with the gonadotropin releasing factor vaccine Bopriva or surgical castration of *Bos indicus* bulls raised on pasture in Brazil. **Meat Science**, v.95, p.78-84, 2013.

ANDRADE NETO, O.; GASPERIN, B.G.; ROVANI, M.T.; ILHA, G.F. NÓBREGA Jr., J.E.; MONDADORI, R.G.; GONÇALVES, P.B.D.; ANTONIAZZI, A.Q. Intratesticular hypertonic sodium chloride solution treatment as a method of chemical castration in cattle. **Theriogenology**, v.82, p.1007-1011, 2014.

BEZERRA, K.B.; PEREIRA, H.M.; JÚNIOR, F.S.F.; SANTOS, H.P.; CARVALHO RODRIGUES, T.H.; SOUSA, V.E. Avaliação da técnica cirúrgica de fixação da curvatura caudal da flexura sigmóide e miectomia do músculo retrator do pênis, no preparo de rufiões em bovinos. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.1, p.130-136, 2007.

BIONAZ, M.; TREVISI, E.; CALAMARI, L.; LIBRANDI, F.; FERRARI, A.; BERTONI, G. Plasma paraoxonase, health, inflammatory conditions, and liver function in transition dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.1740-1750, 2007.

BLACKSHAW, J.K.; BLACKSHAW, A. Heat stress in cattle and the effect of shade on production and behaviour: a review. **Animal Production Science**, v.34, p.285-295, 1994.

BOESCH, D.; STEINER, A.; GYGAX, L.; STAUFFACHER, M. Burdizzo castration of calves less than 1-week old with and without local anaesthesia: Short-term behavioural responses and plasma cortisol levels. **Applied Animal Behaviour Science**, v.114, p.330-345, 2008.

BOOCKFOR, F.R.; BARNES, M.A.; DICKEY, J.F. Effects of unilateral castration and unilateral cryptorchidism of the holster in bull on in vitro Leydig Cell response. **Journal of Animal Science**, v.56, p.1386-1392, 1983.

BOWEN, R.A. Male contraceptive technology for non human male mammals. **Animal Reproduction Science**, v.105, p.139-143, 2008.

BRETSCHNEIDER, G., Effects of age and method of castration on performance and stress response of beef male cattle: a review. **Livestock Production Science**, v.97, p.89-100, 2005.

CAŁKOSINSKI, I.; DOBRZYNSKI, M.; ROSINCZUK, J.; DUDEK, K.; CHROSZCZ, A.; FITA, K.; DYMAREK, R. The use of infrared thermography as a rapid, quantitative, and non invasive method for evaluation of inflammation response in different anatomical regions of rats. **BioMed Research International**, v.1, p.1-9. 2015.

CECILIANI, F.; CERON, J.; ECKERSALL, P.; SAUERWEIN, H. Acute phase proteins in ruminants. **Journal of Proteomics**, v.75, p.4207-4231, 2012.

CLIMACO, S.M.; RIBEIRO, E.L.A.; MIZUBUTI, I.Y.; ROCHA, M.A.; SILVA, L.D.D.F.; PEREIRA, E.S. Desempenho e características de carcaça de bovinos de corte inteiros ou castrados e suplementados ou não durante o inverno. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v.28, p.209-214, 2008.

COETZEE, J.F.; GEHRING, R.; BETTENHAUSEN, A.C.; LUBBERS, B.V.; TOERBER, S.E.; THOMSON, D.U.; KUKANICH, B.; APLEY, M.D. Attenuation of acute plasma cortisol response in calves following intravenous sodium salicylate administration prior to castration. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v.30, p.305-313, 2007.

COETZEE, J.F.; LUBBERS, B.V.; TOERBER, S.E.; GEHRING, R.; THOMSON, D.U.; WHITE, B.J.; APLEY, M.D., Plasma concentrations of substance P and cortisol in beef calves after castration or simulated castration. **American Journal of Veterinary Research**, v.69, p.751-762, 2008.

COHEN, R.; KING, B.; THOMAS, L.; JANZEN, E. Efficacy and stress of chemical versus surgical castration of cattle. **Canadian Journal of Animal Science**, v.70, p.1063-1072, 1990.

COOPER, D.W.; LARSEN, E. Immunocontraception of mammalian wildlife: ecological and immunogenetic issues. **Reproduction**, v.132, p.821-828, 2006.

CURRAH, J.M.; HENDRICK, S.H.; STOOKEY, J.M. The behavioral assessment and alleviation of pain associated with castration in beef calves treated with flunixin meglumine and caudal lidocaine epidural anesthesia with epinephrine. **The Canadian Veterinary Journal**, v.50, p.375-382, 2009.

DA SILVA, L.A.F.; COSTA, A.C.; SOARES, L.K.; BORGES, N.C.; FERREIRA, J.L. Orquiectomia em bovinos empregando abraçadeira de náilon na hemostasia preventiva: efeito da estação do ano, método de contenção e técnica cirúrgica. **Ciência Animal Brasileira**, v.10, p.261-270, 2009.

DALLA COSTA, E.; MINERO, M.; LEBELT, D.; STUCKE, D.; CANALI, E.; LEACH, M.C. Development of the Horse Grimace Scale (HGS) as a pain assessment tool in horses undergoing routine castration. **PLoS One**, v.9, n.1, 2014.

DEVARAJAN, A.; SHIH, D.; REDDY, S.T. Inflammation, infection, cancer and all that the role of paraoxonases. In: Oxidative stress and inflammation in non-communicable diseases-molecular mechanisms and perspectives in therapeutics. **Springer International Publishing Switzerland**, p 33-41, 2014.

DILL, M.D.; DALLA CORTE, V.F.; BARCELLOS, J.O.J.; CANOZZI, M.E.A.; OLIVEIRA, T.E. Análise comparativa da competitividade do Brasil e EUA no mercado internacional da carne bovina. **Revista Ceres**, v.60, n.6, p.765-771, 2015.

EARLEY, B.; CROWE, M.A., Effects of ketoprofen alone or in combination with local anesthesia during the castration of bull calves on plasma cortisol, immunological, and inflammatory responses. **Journal of Animal Science**, v.80, n.4, p.1044-52, 2002.

EMIR, L.; DADALI, M.; SUNAY, M.; EROL, D.; ÇAYDERE, M.; ÜSTÜN, H. Chemical castration with intratesticular injection of 20% hypertonic saline: a minimally invasive method. In: **Urologic oncology: seminars and original investigations**, p. 392-396, 2008.

FISHER, A.D.; KNIGHT, T.W.; COSGROVE, G.P.; DEATH, A.F.; ANDERSON, C.B.; DUGANZICH, D.M.; MATTHEWS, L.R. Effects of surgical or banding castration on stress responses and behaviour of bulls. **Australian Veterinary Journal**, v.79, p.279-284, 2001.

FLORINDO, T.J.; MEDEIROS, G.I.B.; COSTA, J.S.; RUVIARO, C.F. Competitividade dos principais países exportadores de carne bovina no período de 2002 a 2013. **Revista de Economia e Agronegócio**, v.12, 2015.

FREITAS, A.D.; RESTLE, J.; PACHECO, P.S.; PADUA, J.T.; LAGE, M.E.; MIYAGI, E.S.; SILVA, G.D. Características de carcaças de bovinos Nelore inteiros vs castrados em duas idades, terminados em confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, p.1055-1062, 2008.

GLEERUP, K.B.; FORKMAN, B.; LINDEGAARD, C.; ANDERSEN, P.H. An equine pain face. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v.42, p.103-114, 2015.

HAFEZ, E.S.E., Anatomia Funcional da reprodução masculina, In: ASHDOWN, R.R., HANCOCK, J.L. (Eds.) **Reprodução Animal**. Manole, São Paulo, pp. 7-31. 1982.

HEID, A.; HAMM, U. Animal welfare versus food quality: Factors influencing organic consumers' preferences for alternatives to piglet castration without anaesthesia. **Meat Science**, v.95, p.203-211, 2013.

KING, B.; COHEN, R.; GUENTHER, C.; JANZEN, E. The effect of age and method of castration on plasma cortisol in beef calves. **Canadian Journal of Animal Science**, v.71, p.257-263, 1991.

KOGER, L. Calcium chloride castration. **Modern Veterinary Practice**, v.59, p.119-121, 1978.

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

LOMAX, S.; WINDSOR, P., Topical anesthesia mitigates the pain of castration in beef calves. **Journal of Animal Science**, v.91, p.4945-4952, 2013.

LYONS-JOHNSON, D. Earlier castration reduces stress. **Agricultural Research**, v.15, 1998.

MARTINS, L.T.; GONÇALVES, M.C.; TAVARES, K.C.S.; GAUDÊNCIO, S.; SANTOS NETO, P.C.; DIAS, A.L.G.; GAVA, A.; SAITO, M.E.; OLIVEIRA, C.A.; MEZZALIRA, A.; VIEIRA, A.D. Castration methods do not affect weight gain and have diverse impacts on the welfare of water buffalo males. **Livestock Science**, v.140, p.171-176, 2011.

MELCHES, S.; MELLEMA, S.C.; DOHERR, M.G.; WECHSLER, B.; STEINER, A. Castration of lambs: a welfare comparison of different castration techniques in lambs over 10 weeks of age. **The Veterinary Journal**, v.173, p.554-563, 2007.

MELLOR, D.J.; MOLONY, V.; ROBERTSON, I.S., Effects of castration on behaviour and plasma cortisol concentrations in young lambs, kids and calves. **Research in Veterinary Science**, v.51, p.149-154, 1991.

MELLOR, D.J.; STAFFORD, K.J., Acute castration and/or tailing distress and its alleviation in lambs. **New Zealand Veterinary Journal**, v.48, p.33-43, 2000.

MOSHER, R.A.; WANG, C.; ALLEN, P.S.; COETZEE, J.F. Comparative effects of castration and dehorning in series or concurrent castration and dehorning procedures on stress responses and production in Holstein calves. **Journal of Animal Science**, v.91, 2013.

MURATA, H.; SHIMADA, N.; YOSHIOKA, M., Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. **The Veterinary Journal**, v.168, p.28-40, 2004.

OKWEE-ACAI, J.; OJOK, L.; ACON, J. Testicular morphologic and hormonal responses to an intratesticular injection of lactic acid for induction of chemosterilisation in adult mubende goats. **African Journal of Animal Biomedical Sciences**, v.3, p.5-11, 2008.

OLIVEIRA, E.; SILVA, F.; MULLER, P.; BRITO, L.; FAGUNDES, A.; SÁ, M.; MELO, C.; SILVA JUNIOR, V. Castração química de caninos e felinos por meio de injeção intratesticular de gluconato de zinco- quebrando paradigmas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.35, p.262-265, 2011.

OLIVEIRA, R.L.; BARBOSA, M.A.A.D.F.; LADEIRA, M.M.; SILVA, M.M.P.D.; ZIVIANI, A.C.; BAGALDO, A.R. Nutrição e manejo de bovinos de corte na fase de cria. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.7, 2006.

REPENNING, P.E.; AHOLA, J.K.; CALLAN, R.J.; FOX, J.T.; FRENCH, J.T.; GILES, R.L.; PEEL, R.K.; WHITTIER, J.C.; ENGLE, T.E. Effects of pain mitigation and method of castration on behavior and feedlot performance in cull beef bulls. **Journal of Animal Science**, v.91,p. 75-83, 2013.

ROBERTSON, I.; FRASER, H.; INNES, G.; JONES, A., Effect of immunological castration on sexual and production characteristics in male cattle. **The Veterinary Record**, v.111, p.529-531, 1982.

SCHNEIDER, A.; CORRÊA, M.; BUTLER, W. Acute phase proteins in Holstein cows diagnosed with uterine infection. **Research in Veterinary Science**, v.95, p.269-271, 2013.

SENGER, P., The organization and function of the male reproductive system. In: Pathways to pregnancy and parturition. **Current Conceptions Inc Pullman**, p. 44-79, 2003.

SHARPE, R.; MCKINNELL, C.; KIVLIN, C.; FISHER, J. Proliferation and functional maturation of Sertoli cells, and their relevance to disorders of testis function in adulthood. **Reproduction**, v.125, p.769-784, 2003.

SOTOCINAL, S.G.; SORGE, R.E.; ZALOUM, A.; TUTTLE, A.H.; MARTIN, L.J.; WIESKOPF, J.S.; MAPPLEBECK, J.C.; WEI, P.; ZHAN, S.; ZHANG, S., The Rat Grimace Scale: a partially automated method for quantifying pain in the laboratory rat via facial expressions. **Molecular Pain**, v.7, n.1, 2011.

SPEROFF, L.; DARNEY, P.D., A clinical guide for contraception. **Lippincott WILLIAMS & WILKINS**, 2010.

STAFFORD, K.; MELLOR, D. Dehorning and disbudding distress and its alleviation in calves. **The Veterinary Journal**, v.169, p.337-349, 2005a.

STAFFORD, K.J.; MELLOR, D.J. The welfare significance of the castration of cattle: A review. **New Zealand Veterinary Journal**, v.53, p.271-278, 2005b.

STAFFORD, K.J.; MELLOR, D.J.; TODD, S.E.; BRUCE, R.A.; WARD, R.N. Effects of local anaesthesia or local anaesthesia plus a non-steroidal anti-inflammatory drug on the acute cortisol response of calves to five different methods of castration. **Research in Veterinary Science**, v.73, p.61-70, 2002

STEWART, M.; STAFFORD, K.J.; DOWLING, S.K.; SCHAEFER, A.L.; WEBSTER, J.R. Eye temperature and heart rate variability of calves disbudded with or without local anaesthetic. **Physiology & Behavior**, v.93, p.789-797, 2008.

STEWART, M.; VERKERK, G.A.; STAFFORD, K.J.; SCHAEFER, A.L.; WEBSTER, J.R. Noninvasive assessment of autonomic activity for evaluation of pain in calves, using surgical castration as a model. **Journal of Dairy Science**, v.93, p.3602-3609, 2010.

STEWART, M.; WEBSTER, J.R.; VERKERK, G.A.; SCHAEFER, A.L.; COLYN, J.J.; STAFFORD, K.J. Non-invasive measurement of stress in dairy cows using infrared thermography. **Physiology & Behavior**, v.92, p.520-525, 2007.

SWENSON, M.J., Processos reprodutivos no macho, In: STABENFELDT, G.H., EDQVIST, L.E. (Eds.) **Fisiologia dos animais domésticos**. Guanabara, Rio de Janeiro, p.719-730, 1996.

THORNTON, P.; WATERMAN-PEARSON, A. Behavioural responses to castration in lambs. **Animal Welfare**, v.11, p.203-212, 2002.

THÜER, S.; MELLEMA, S.; DOHERR, M.G.; WECHSLER, B.; NUSS, K.; STEINER, A., Effect of local anaesthesia on short- and long-term pain induced by two bloodless castration methods in calves. **The Veterinary Journal**, v.173, p.333-342, 2007.

TURNER, T.A., Diagnostic thermography. **The Veterinary clinics of North America, Equine practice**, v.17, p.95-113, 2001.

VALERA, M.; BARTOLOMÉ, E.; SÁNCHEZ, M.J.; MOLINA, A.; COOK, N.; SCHAEFER, A., Changes in eye temperature and stress assessment in horses during show jumping competitions. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.32, p.827-830, 2012.

VON BORELL, E.; BAUMGARTNER, J.; GIERSING, M.; JÄGGIN, N.; PRUNIER, A.; TUYTTENS, F.; EDWARDS, S. Animal welfare implications of surgical castration and its alternatives in pigs. **Animal**, v.3, p.1488-1496, 2009.

Anexo

Pelotas, 04 de abril de 2014

De: Prof. Dr. Éverton Fagonde da Silva

Presidente da Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA)

Para: Professor Arnaldo Diniz Vieira

Departamento de Patologia Animal da Faculdade de Veterinária

Senhor Professor:

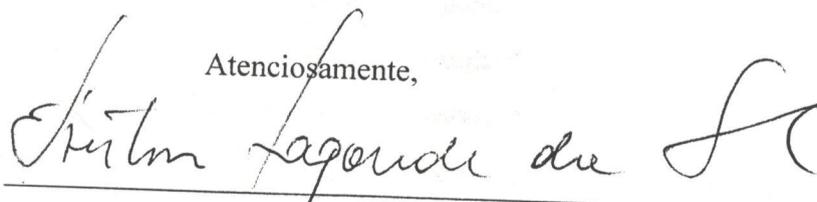
A CEEA analisou o projeto intitulado: **“Métodos minimamente invasivos para a castração de machos bovinos: Impactos sobre o bem estar e produtividade dos animais”**, processo nº 23110.002258/2014-11, sendo de parecer **FAVORÁVEL** a sua execução, considerando ser o assunto pertinente e a metodologia compatível com os princípios éticos em experimentação animal e com os objetivos propostos.

Solicitamos, após tomar ciência do parecer, reenviar o processo à CEEA.

Salientamos também a necessidade deste projeto ser cadastrado junto ao Departamento de Pesquisa e Iniciação Científica para posterior registro no *COCEPE* (código para cadastro nº **CEEA 2258**).

Sendo o que tínhamos para o momento, subscrevemo-nos.

Atenciosamente,



Prof. Dr. Éverton Fagonde da Silva

Presidente da CEEA

Ciente em: 16/04/2014

Assinatura do Professor Responsável:

