

LAÍS QUERINO BARBOZA FREIRE

**AVALIAÇÃO DE DIFERENTES TÉCNICAS DE EXAME DIAGNÓSTICO
PARA ADENITE VESICULAR EM BOVINOS**

GARANHUNS-PE

2021

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
UNIDADE ACADÊMICA DE GARANHUNS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANIDADE E REPRODUÇÃO DE
ANIMAIS DE PRODUÇÃO

LAÍS QUERINO BARBOZA FREIRE

AVALIAÇÃO DE DIFERENTES TÉCNICAS DE EXAME DIAGNÓSTICO
PARA ADENITE VESICULAR EM BOVINOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Sanidade e Reprodução de Animais de Produção da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Sanidade e Reprodução de Animais de Produção.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Gustavo Ferrer Carneiro

GARANHUNS-PE

2021

FICHA CATALOGRÁFICA

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

F866a Freire, Lais Querino Barboza

Avaliação de diferentes técnicas de exame diagnóstico para adenite vesicular em bovinos/ Lais Querino Barboza Freire. - 2021.

65 f. : il.

Orientador: Gustavo Ferrer Carneiro.
Inclui referências, apêndice(s) e anexo(s).

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Sanidade e Reprodução de Ruminantes, Garanhuns, 2021.

1. Vesiculite. 2. Infecção. 3. Subfertilidade. 4. Histograma . I. Carneiro, Gustavo Ferrer, orient. II. Título

CDD 636.2

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANIDADE E REPRODUÇÃO DE
ANIMAIS DE PRODUÇÃO**

**AVALIAÇÃO DE DIFERENTES TÉCNICAS DE EXAME DIAGNÓSTICO
PARA ADENITE VESICULAR EM BOVINOS**

Dissertação elaborada por:
LAÍS QUERINO BARBOZA FREIRE

Apresentada em:

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Gustavo Ferrer Carneiro (Orientador)
Departamento de Medicina Veterinária
Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE

Prof. Dr. Marcelo Mendonça (Titular)
Universidade Federal do Agreste de Pernambuco – UFAPE

Profa. Dra. Norma Lúcia de Souza Araújo (Titular)

Departamento de Ciências Veterinárias
Professora da Universidade Federal da Paraíba – UFPB

*À minha amada família por todo seu amor e apoio,
que sempre ensinou que a educação
tem o poder de mudar vidas.*

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus agradeço pela grande dádiva da vida, por me guiar durante todo meu caminho, me dando forças para seguir em frente. Pude sentir sua presença dia após dia através de cada batalha vencida e de cada pequeno milagre que acontecia em minha vida. Sem Deus e a interseção de Nossa Senhora nada disso seria possível. Para Deus nada é impossível!

Aos meus amados pais Francisco e Verônica que tanto me apoiaram nesta caminhada. Sem o amor, apoio e confiança de vocês eu não estaria aqui. Obrigada por sempre me incentivar a acreditar no poder da educação. O amor de vocês me dá forças para seguir.

As minha queridas avós D. Zizi (*in memoriam*) e D. Bastinha (*in memoriam*), duas mulheres de força e coragem. Seu amor e cuidado sempre serão parte das minhas lembranças. Obrigado por todos os seus ensinamentos, sem eles eu não seria quem sou.

Aos meus queridos irmãos Leandro (*in memoriam*) e Leonardo meu sincero agradecimento. Vocês me ensinam a cada dia o poder de sonhar e lutar por aquilo em que acreditamos, sem o amor de vocês os dias seriam mais difíceis. À minha querida cunhada Yara, sempre pronta a ajudar e incentivar. À meu querido sobrinho Daniel, que mesmo tão pequeno já me ensina tanto sobre um amor inexplicável. E à toda a minha família por todo o carinho e confiança. Vocês me fazem acreditar que eu posso tudo.

A todos os meus queridos mestres e professores meu sincero obrigado. Em especial agradeço ao meu querido orientador Prof. Dr. Gustavo Ferrer, por todo apoio, ajuda e orientação. Meu sincero agradecimento ao Prof. Marcelo Mendonça por me apresentar o incrível mundo da microbiologia, que eu tanto resisti a conhecer. Sempre pronto a ensinar, mas a dar os puxões de orelha quando necessário. Seu apoio, atenção e cuidado foram fundamentais. Levarei seus ensinamentos por toda minha vida. Agradeço também ao Dr. Jobson, sempre disposto a ensinar e ajudar. Não poderia deixar de agradecer também à minha querida Prof. Dr. Norma sempre amorosa e paciente, que me ajuda e aconselha desde os tempos de graduação. A senhora me ensina muito mais do que imagina. Levarei seus ensinamentos comigo para sempre.

A todos os meus grandes amigos. Às queridas Kaliane, Naianne, Tuanne e Gilvannya obrigada por todo o carinho e cuidado. Emanuel, Mônica e Renata agradeço por serem ouvidos sempre dispostos a me ouvir, pela paciência de sempre, por todo o carinho, ajuda e incentivos diários. Vocês tornaram meus fardos mais fáceis de carregar.

Agradeço a todos os que compõem o LABRAPE/LAPEMI por toda ajuda, ensinamentos, companheirismo e amizade, com vocês a caminhada se tornou mais leve e prazerosa, em especial a Antônio, Wisley e Ueliton, que dividiram comigo, diariamente as alegrias e preocupações que o mestrado proporcionava. Agradeço também a todos os meus mais queridos estagiários, sem a ajuda de vocês nada disto seria possível. Vocês foram verdadeiros anjos enviados por Deus em minha vida.

Agradeço a toda equipe do Matadouro Municipal de Garanhuns- PE que sempre me recebeu com atenção e solicitude, e também a todos os proprietários que se dispuseram a participar desta pesquisa.

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de Mestrado, a qual foi de extrema importância para continuidade e desenvolvimento deste trabalho.

À Clínica de Bovinos de Garanhuns por todo o apoio na realização desta pesquisa.

A todos os que compõem a UFRPE-UAG, hoje nomeada Universidade Federal do Agreste de Pernambuco (UFAPE), que me acolheram tão bem. Por toda disponibilidade e solicitude meu sincero obrigado.

Aos animais, dignos de toda dedicação, cuidado e respeito. Vocês trazem alegria e amor à nossas vidas. Verdadeiras fontes de inspiração diária.

Enfim, meu muito obrigado a todos os que contribuíram para meu sucesso e crescimento pessoal e profissional. Sou o resultado da confiança e força de todos vocês.

Agradeço!

“Que o medo de errar não lhe impeça de aprender
Que o medo da vida não lhe impeça de viver”

Bráulio Bessa

RESUMO

A adenite vesicular é um processo inflamatório que acomete glândulas vesiculares. O bovino é considerado como a espécie mais acometida. É uma enfermidade que pode levar a queda de índices reprodutivos. Possui etiologia infecciosa, sendo a infecção bacteriana a causa mais frequente, apresenta sinais clínicos inespecíficos ou ausentes, o que torna seu diagnóstico precoce ainda mais complexo na rotina prática. Este trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência de diferentes técnicas para o diagnóstico precoce de adenite vesicular. Foram realizados dois estudos de modo paralelo, o primeiro realizou avaliação das técnicas de palpação transretal, ultrassonografia e avaliação microbiológica de glândulas vesiculares de bovinos e em paralelo, um estudo preliminar com o objetivo de realizar uma avaliação quantitativa da ultrassonografia de glândulas vesiculares de bovinos utilizando-se histograma em escala de cinza (HEC).

Para o primeiro estudo foram utilizados 23 bovinos, machos, SRD (mestiços de zebuínos), com idades de 2 – 5 anos, oriundos do abatedouro municipal da cidade de Garanhuns-Pernambuco. As avaliações eram realizadas 24h antes do abate. Era realizada palpação transretal, seguida da avaliação ultrassonográfica, utilizando aparelho de ultrassonografia Aquila Vet Bisound Esaote®, transdutor transretal linear com frequência variando de 5,0 – 7,5 MHz. Após o abate, as glândulas eram coletadas e encaminhadas para processamento microbiológico no Laboratório de Reprodução Animal de Pernambuco (LABRAPE) da UFRPE- UAG, onde as culturas bacterianas positivas eram classificadas e identificadas. Todos os animais avaliados foram submetidos às três técnicas de diagnóstico. Na avaliação de HEC foram utilizados 12 bovinos, com idades de 2- 7 anos, oriundos de propriedades de Garanhuns-PE e cidades circunvizinhas, sem histórico de problemas reprodutivos ou alterações clínicas. Os animais foram submetidos a palpação transretal e ultrassonografia das glândulas vesiculares utilizando a mesma técnica supracitada. Posteriormente as imagens obtidas foram submetidas ao software GIMP® 2.8, do qual obteve-se um gráfico de histograma em escala de cinza com valores numéricos referentes ecogenicidade e a ecotextura. Como resultados, 13,04% dos animais apresentaram alterações à palpação transretal, em 26,08% dos animais foram identificadas alterações durante a ultrassonografia e 56,52% apresentou crescimento microbiológico. Foram isolados um total de sete microorganismos distintos, sendo identificado em alguns casos bactérias diferentes em um mesmo indivíduo. Houve correlação significativa entre resultados de microbiologia e palpação transretal e

ultrassonografia e microbiologia. Conclui-se que em nossas condições experimentais, a palpação retal e a ultrassonografia não demonstraram ser técnicas suficientes para a determinação de um diagnóstico precoce de adenite vesicular, sendo mais eficiente em casos onde existiam alterações consideráveis do parênquima glandular. Recomenda-se a sua associação a técnicas complementares como a cultura bacteriana para proceder um diagnóstico mais preciso. Com relação a avaliação em HEC observou -se uma relação inversamente proporcional entre idade e valores numéricos de ecogenicidade, onde animais mais velhos apresentaram menores valores numéricos de ecogenicidade, com relação a ecotextura observou-se um aumento do valor proporcional a idade, onde o valor numérico de ecotextura aumentou conforme o aumento da idade, com animais mais velhos apresentaram maiores valores. A técnica demonstrou resultados similares a análise qualitativa das imagens, porém requer mais estudos para melhor definição de valores de normalidade.

Palavras Chave: Vesiculite, Histograma, Subfertilidade, Infecção

ABSTRACT

Vesicular adenitis is an inflammatory process that affects vesicular glands. Bovine is considered to be the most affected species. It is a disease that can lead to a decline in reproductive rates. It has an infectious etiology, with bacterial infection being the most frequent cause, presenting unspecific or absent clinical signs, which makes its early diagnosis even more complex in the practical routine. This work aimed to evaluate the efficiency of different techniques for the early diagnosis of vesicular adenitis. Two studies were carried out in parallel, the first performed an evaluation of the techniques of transrectal palpation, ultrasonography and microbiological evaluation of bovine vesicular glands and in parallel, a preliminary study with the objective of carrying out a quantitative evaluation of the ultrasonography of bovine vesicular glands using a grayscale histogram (GSH). For the first study, 23 bovines, male, mixed bred, aged 2-5 years old, from the slaughterhouse of Garanhuns City - Pernambuco, were used. All evaluations were performed 24 hours before slaughter. Transrectal palpation was performed, followed by ultrasound evaluation, using an Aquila Vet Bisound Esaote® ultrasound device, linear transrectal transducer with a frequency ranging from 5.0 - 7.5 MHz. After slaughter, the glands were collected and sent for microbiological processing in the Animal Reproduction Laboratory of Pernambuco (LABRAPE) at UFRPE-UAG. Positive bacterial cultures were classified and identified. All animals evaluated were submitted to the three diagnostic techniques. In the evaluation of GSH, 12 bovines, aged 2-7 years, from farms located in Garanhuns-PE and surrounding cities, were used, with no history of reproductive problems or clinical changes. The animals were submitted to transrectal palpation and ultrasonography of the vesicular glands using the same technique mentioned above. Subsequently, images obtained were submitted to the GIMP® 2.8 software, from which a GSH graph was obtained with numerical values referring to echogenicity and ecotexture. As a result, 13.04% of the animals showed changes on transrectal palpation. In 26.08% of the animals changes were identified during ultrasound evaluation and 56.52% showed microbiological growth. A total of seven different microorganisms were isolated, and in some cases different bacteria were identified in the same individual. There was a significant correlation between results from microbiology and transrectal palpation and ultrasound evaluation and microbiology. It is concluded that in our experimental conditions, rectal palpation and ultrasound did not prove to be efficient techniques for determining an early diagnosis of vesicular adenitis, being more

efficient in cases where there were considerable changes in the glandular parenchyma. Its association with complementary techniques such as bacterial culture is recommended to make a more accurate diagnosis. Regarding the evaluation in GSH, an inversely proportional relationship was observed between age and numerical echogenicity values, where older animals presented lower numerical echogenicity values. With respect to ecotexture an increase in the value proportional to age was observed, where the numerical ecotexture value increased with increasing age, with older animals showing higher values. The technique has shown similar results to qualitative analysis of the images, however further studies will be necessary to better define normal values.

Key Words: Vesiculitis, Histogram, Subfertility, Infection

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação esquemática sistema reprodutor masculino bovino.	19
Figura 2 . Glândula vesicular bovino.....	20
Figura 3. Palpação transretal em bovino.	23
Figura 4 .Avaliação ultrassonográfica de glândula vesicular em bovinos	27
Figura 5. Visualização ultrassonográfica da glândula vesicular normal em bovino. Apresenta parede bem definida, hiperecótica (setas brancas), parênquima homogêneo, bexiga (bx).....	28
Figura 6. Glândula vesicular de bovino com perda da definição lobular característica, parede discretamente espessada em porção dorsal espessada, parênquima heterogêneo com presença de pontos hiperecóticos. Presença de área cística com conteúdo anaecótico na porção dorsal da glândula (seta branca).....	29
Figura 7. Histograma de cinza elaborado pelo software GIMP® 2.8, a partir da análise da área de glândula vesicular bovina.....	31

ARTIGO 1: Análise do histograma em escala de cinza para avaliação de ecogenicidade e a ecotextura das glândulas vesiculares de bovinos

Fig. 1. Imagem ultrassonográfica de glândula vesicular em corte longitudinal para delimitação e aferição da escala de cinza em seis áreas no sentido longitudinal após identificação de paredes dorsais e ventrais	42
Fig. 2. Histograma de cinza elaborado pelo software GIMP® 2.8 a partir da análise da área de glândula vesicular de bovino.....	43
Fig.3. Valores numéricos médios de ecogenicidade representada pelo valor numérico de pixel, de glândula vesicular (direita e esquerda) de bovinos, obtidos por ultrassonografia.....	44
Fig. 4. Valores numérico médios de ecotextura representada pela amplitude de variação do eco (desvio padrão da intensidade pixel) do parênquima da glândula vesicular (direita e esquerda) de bovinos obtidas por ultrassonografia.....	45
Fig.5. Relação entre ecogenicidade e idade de glândula vesicular direita.....	45
Fig.6. Relação entre ecogenicidade e idade de glândula vesicular esquerda.....	46
Fig.7. Relação entre ecotextura e idade de glândula vesicular direita.....	46
Fig.8. Relação entre ecotextura e idade de glândula vesicular esquerda.....	47

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1: Análise do histograma em escala de cinza para avaliação de ecogenicidade e a ecotextura das glândulas vesiculares de bovinos

Tabela 1. Características dos animais e perímetros escrotais de bovinos submetidos aos diferentes métodos de diagnóstico de adenite vesicular44

ARTIGO 2: Avaliação de diferentes técnicas de diagnóstico para adenite vesicular em bovinos

Tabela 1. Características dos animais e perímetros escrotais de bovinos submetidos aos exames 42

Tabela 2. Avaliação de glândulas vesiculares em bovinos..... 53

Tabela 3. Avaliação das glândulas vesiculares de bovinos pelos métodos de palpação transretal, análise microbiológica e ultrassonografia. 54

Tabela 4. Correlação de Spearman entre os métodos de palpação transretal, análise microbiológica e ultrassonografia) utilizados no diagnóstico de adenite vesicular em bovinos..... 54

Tabela 5. Microrganismos identificados nas glândulas vesiculares de bovinos pós-abate 55

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....	16
2. OBJETIVOS.....	18
2.1. Objetivo Geral	18
2.2. Objetivos Específicos	18
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	19
3.1. Anatomofisiologia das Glândulas Vesiculares.....	19
3.2. Adenite Vesicular	21
3.3. Etiologia e Patogenia	21
3.4. Epidemiologia	22
3.5. Sinais Clínicos.....	22
3.6. Diagnóstico.....	23
3.7. Tratamento	24
3.8. Ultrassonografia das glândulas vesiculares.....	25
3.8.1. Princípios da Ultrassonografia	25
3.8.2. Utilização da Ultrassonografia na Reprodução dos Machos.....	26
3.8.3. Técnica de exame e interpretação de imagens.....	26
3.8.4. Histograma em escala de cinza (HEC)	29
REFERÊNCIAS.....	32
4. ARTIGOS CIENTÍFICOS.....	37
4.1. ARTIGO 1:.....	37
4.2. ARTIGO 2:.....	48
APÊNDICES.....	59
APÊNDICE A – Termo de livre consentimento.....	59
APÊNDICE B – Ficha de Avaliação	60
ANEXOS	61
ANEXO A - Licença CEUA/UFRPE.....	61
ANEXO B Instruções aos Autores (Revista Pesquisa Veterinária)	62

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A eficiência econômica de um sistema de produção está associada à capacidade produtiva e reprodutiva de um rebanho, portanto a eficiência reprodutiva dos rebanhos interfere diretamente na eficiência total de produção (MELO,2013).

Alterações funcionais ou no desenvolvimento do trato genital são uma das principais causas de redução da eficiência reprodutiva. A fertilidade pode ser definida como “status” decorrente do desempenho reprodutivo ideal, falhas na fertilidade podem levar a infertilidade, onde há suspensão temporária das atividades reprodutivas, esterilidade, suspensão permanente ou ainda a subfertilidade caracterizada por uma redução de fertilidade, porém sem que ocorra sua total suspensão (GRUNERT; BIRGEL; VALE,2005).

Aspectos relacionados à reprodução do macho são avaliadas com menor frequência quando comparado às fêmeas, sendo frequente a substituição do macho. Isso se deve principalmente à dificuldade de reverter casos de infertilidade, estando o sucesso do tratamento relacionado a um diagnóstico precoce e correção da causa do problema. A avaliação andrológica como exame de rotina, permite a redução do descarte de animais diagnosticados como estéreis ou subférteis. Fatores limitantes como custo podem interferir no estabelecimento desta avaliação, porém as perspectivas advindas de um bom processo de seleção reprodutiva são inúmeras e apresentam uma relação custo-benefício positiva (FOSTER, 2009; SILVA et al.,2015).

Alterações que afetam o sistema reprodutor podem ter origem degenerativa, de desenvolvimento, inflamatórias ou neoplásicas (GRUNERT; BIRGEL; VALE 2005; NASCIMENTO; SANTOS, 2011). Com relação às afecções inflamatórias, podem ser citadas as que acometem glândulas acessórias como a adenite vesicular, processo inflamatório em glândulas vesiculares. Enfermidade relevante na clínica reprodutiva devido às dificuldades de diagnóstico e tratamento, altos índices de recidiva, risco de contaminação de fêmeas com agentes patogênicos sexualmente transmissíveis e inutilização de animais devido a sua queda de desempenho reprodutivo, levando a perdas econômicas consideráveis. (CAVALIERI; VAN CAMP, 1997; SILVA, 2014).

A avaliação reprodutiva dos machos com o uso do ultrassom não é realizada de forma rotineira, porém seu uso se mostra como um importante teste complementar, especialmente no caso de desordens subclínicas (GABOR et al., 1998; HANSAR et al. 2014). O diagnóstico de adenite vesicular pode ser determinado através do exame

andrológico, através de avaliação de glândulas acessórias por palpação transretal e avaliação ultrassonográfica. A avaliação macroscópica e microscópica espermática, espermocultura e cultura microbiana do lavado do lúmen da vesícula seminal coletado mediante endoscopia também podem ser realizados, porém são menos frequentemente utilizados e endoscópica. Na rotina prática o diagnóstico geralmente é limitado a palpação transretal e ultrassonografia (CARDILLI; SALES; CANOLA, 2014; SILVA,2014; VARNER,2016).

A adenite vesicular é uma enfermidade de sinais clínicos inespecíficos ou inexistente o que torna seu diagnóstico precoce difícil. Diante deste contexto objetiva-se determinar a eficiência de diferentes técnicas e suas associações no diagnóstico da adenite vesicular em bovinos.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar a eficiência de diferentes técnicas de diagnósticas para adenite vesicular em bovinos.

2.2. Objetivos Específicos

- a) Verificar a eficácia da palpação retal e da avaliação ultrassonográfica no diagnóstico precoce de adenite vesicular em bovinos;
- b) Determinar a eficácia da avaliação microbiológica no diagnóstico de adenite vesicular em bovinos;
- c) Correlacionar achados ultrassonográficos aos dados obtidos da avaliação microbiológica e palpação transretal;
- d) Realizar análise quantitativa das imagens ultrassonográficas de glândulas vesiculares através de histograma em escala de cinza (HEC) de bovinos adultos, mestiços e saudáveis.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Anatomofisiologia das Glândulas Vesiculares

O sistema reprodutor masculino é constituído por órgãos individuais que atuam em conjunto. Suas principais funções estão relacionadas ao desenvolvimento, amadurecimento, armazenamento, transporte de gametas (espermatozoides), produção e secreção de hormônios. Este sistema é constituído por um par de testículos, ducto contorcido do epidídimo (*ductus epididymidis*), ducto deferente (*ductus deferens*), uretra (*pars pelvina urethrae*), glândulas genitais acessórias (*glandulae genitales accessoriae*) e pênis (KÖNIG; LIEBICH, 2011) (Figura 1).

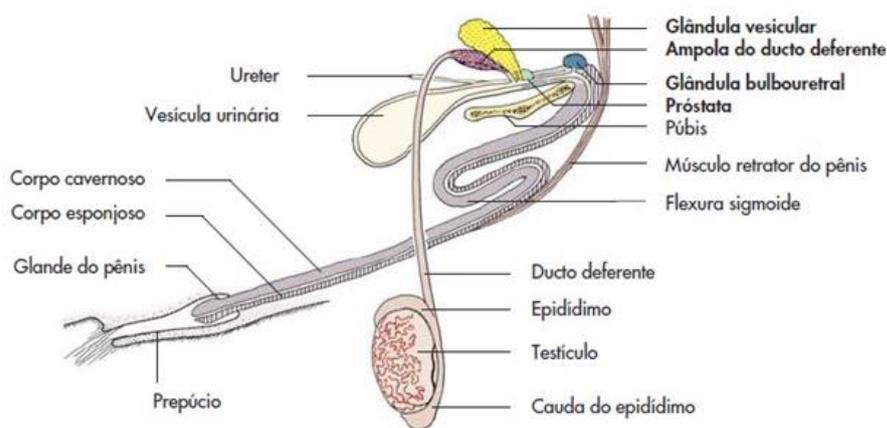


Figura 1. Representação esquemática sistema reprodutor masculino bovino. (FONTE: KÖNIG; LIEBICH, 2011).

As glândulas vesiculares, próstata e glândulas bulbouretrais (glândulas de Cowper), formam o conjunto de glândulas acessórias. Suas funções e manutenção são diretamente influenciadas por andrógenos, e a presença de cada uma varia entre as espécies. O touro apresenta um conjunto completo de glândulas, localizado na extensão da parte pélvica da uretra. Estas atuam na síntese de secreções que constituem a porção líquida do sêmen, conferem volume e tampões ao ejaculado, auxiliam diretamente na nutrição dos espermatozoides enquanto permanecem no sistema reprodutor masculino e transporte dos espermatozoides até o sistema reprodutor feminino. A contribuição de cada uma das glândulas acessórias para o ejaculado é variável entre as espécies e é responsável

pelas diferenciações na concentração, volume e características dos ejaculados. (BRACKETT, 2006; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2011; KÖNIG; LIEBICH, 2011; KLEIN, 2014).

As glândulas vesiculares bovinas são órgãos pares, em forma de tubo, lobuladas, firmes e compactas, apresentam lúmen estreito e ramificado. Localizam-se dentro das pregas genitais, lateralmente às ampolas, próximo ao colo da bexiga. Apresentam comprimento entre 6-10 cm em touros jovens, até 15 cm em touros adultos, seu diâmetro varia entre 1,5 – 3 cm, e podem ser palpadas transretalmente (Figura 2). Sua mucosa é pregueada e composta por epitélio cuboide ou pseudoestratificado colunar rico em grânulos de secreção (REICHENBACH; MORAES; NEVES, 2008; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2011; KLEIN, 2014).



Figura 2 . Glândula vesicular bovino (FONTE: Arquivo pessoal)

As secreções das glândulas vesiculares podem conferir coloração amarelada ao plasma seminal bovino e são responsáveis pela maior parte de seu volume. As substâncias secretadas incluem frutose, sorbitol, citrato, inositol, ácido ascórbico, ácido cítrico, fosfato, lipídeos, aminoácidos, proteínas e prostaglandinas. Os carboidratos são a maior fonte energética para a motilidade dos espermatozoides, sendo a frutose o

monossacarídeo mais abundante (BRACKETT, 2006; REICHENBACH; MORAES; NEVES, 2008; KÖNIG; LIEBICH, 2011; KLEIN, 2014).

3.2. Adenite Vesicular

As glândulas vesiculares são frequentemente afetadas por alterações inflamatórias e de desenvolvimento. A vesiculite seminal ou adenite vesicular é resultado do processo inflamatório agudo ou crônico destas glândulas, comumente observada em animais domésticos e principalmente em touros reprodutores. Pode ser uni ou bilateral, acometer apenas as glândulas ou afetar também tecidos urogenitais adjacentes, como ampolas, epidídimos, testículos, próstata, glândulas bulbouretrais e uretra (HULL; VOGEL, 2008; NASCIMENTO; SANTOS; EDWARDS, 2016; OLIVEIRA et al., 2018).

3.3. Etiologia e Patogenia

Infecções bacterianas são a causa mais frequente da adenite vesicular, entre os agentes etiológicos já isolados podem ser citados: *Brucella abortus*, *Arcanobacterium pyogenes*, *Escherichia Coli*, *Mycobacterium bovis*, *Histophilus somni*, *Mycoplasma bovigentialium*, *Actinobacillus actinoides*, *Corynebacterium renale*, *Ureaplasma* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Clamidia* spp. e *Pseudomonas Aureginosa*. Destes *Brucella abortus* e *Arcanobacterium pyogenes* são os agentes mais comumente isolados em casos de adenite vesicular. Já foram relatados casos de etiologia viral e fúngica, porém com menor frequência. (CAVALIERI; VAN CAMP, 1997; NASCIMENTO; SANTOS; EDWARDS, 2016).

Entre os agentes isolados observa-se uma grande variedade de bactérias sendo observados bacilos gram positivos como *Arcanobacterium pyogenes*, bacilos gram negativos como *Pseudomonas Aureginosa* e cocos gram positivos como *Streptococcus* spp. Estes agentes podem ser classificados também como enterobactérias, como *Staphylococcus* spp., *Proteus* spp. entre outros. Considerado como um dos agente mais comum o *Arcanobacterium pyogenes* é um bacilo gram positivo, anaeróbico facultativo. Agente frequentemente isolado é um patógeno comensal e oportunista de animais domésticos e selvagens. É considerada como parte da microbiota de pele e membranas mucosas de trato respiratório, urogenital, gastrointestinal, tendo sendo isolada em rúmen de bovinos, estômago de suínos, e em úberes de vacas saudáveis (RZEWUSKA et

al.,2019; GALÁN-RELAÑO et al.,2019). Infecções causadas por este agente caracterizam-se por lesões piogranulomatosa, supurativas como metrite, mastite, pneumonia, osteomielite e vesiculite (RZEWUSKA et al.,2019).

A patogenia da adenite vesicular ainda não foi totalmente elucidada. As teorias mais aceitas propõem infecções oriundas de vias ascendentes, através da uretra; vias descendentes por meio de testículos, epidídimo, ampola e próstata; anormalidades congênitas do sistema gênito - urinário que podem levar a um refluxo de sêmen ou urina até as glândulas vesiculares, vias diretas e hematógenas. Fatores como criação em confinamento associado a dietas altamente energéticas podem ser considerados como fatores predisponentes, isso ocorreria porque tais dietas predis põem a acidose ruminal, que pode levar a ruminite e através da via hematógena ocasionar a vesiculite. A sodomia entre animais confinados pode predispor a lesões em pênis e uretra, predispondo a uma infecção ascendente (VAN CAMP, 1997; HULL; VOGEL, 2008; ROVAY et al., 2008).

3.4. Epidemiologia

Na avaliação de sua ocorrência diagnosticada através da avaliação reprodutiva versus avaliação de peças de abatedouro apresenta variações entre a frequência, diagnósticos a partir de avaliação andrológica demonstraram que 0,85% dos animais avaliados apresentaram a patologia, diagnósticos decorrentes da avaliação de peças de abatedouro determinaram que 49% tinha a enfermidade seja na forma clínica ou subclínica (VOGEL, 2008). Estudos com a utilização de ultrassonografia demonstraram um índice de 44,9% de alterações bilaterais, que incluíam fibrose, inflamação e assimetria (GONZALEZ et al., 2019). Não são observadas diferenças significativas de ocorrência entre *Bos indicus* e *Bos taurus* (NASCIMENTO; SANTOS; EDWARDS, 2016). A adenite vesicular é mais frequentemente observada em animais jovens sexualmente maduros, principalmente em sua forma aguda, já sua forma crônica é frequentemente diagnosticada em animais idosos, com uma maior predisposição em épocas de estação de monta. Em equinos observou-se maior prevalência entre animais e idosos (CAVALIERI; VAN CAMP, 1997; ROVAY et al.,2008; HULL; VOGEL, 2008; SILVA,2014).

3.5. Sinais Clínicos

Os sinais clínicos são bastante variáveis, geralmente estão ausentes ou são inespecíficos, como: sinal de desconforto abdominal, cifose, reluta à monta, piospermia, hemospermia, anorexia, pirexia, dor ao defecar, durante a ejaculação e palpação. Entretanto alterações no desempenho reprodutivo do animal podem estar presentes ou não (HULL; VOGEL, 2008).

3.6. Diagnóstico

O diagnóstico de adenite vesicular pode ser determinado através da avaliação andrológica, através de avaliação de glândulas acessórias por palpação transretal e avaliação ultrassonográfica (Figura 3). Avaliação espermática macroscópica e microscópica, espermocultura e cultura microbiana do lavado do lúmen da vesícula seminal coletado mediante endoscopia, também podem ser realizados, além de avaliação endoscópica (CARDILLI; SALES; CANOLA, 2014; SILVA,2014; VARNER,2016).



Figura 3. Palpação transretal em bovino. (FONTE: Arquivo Pessoal)

Em casos positivos, durante a palpação é possível perceber a ocorrência de mudanças de forma e aumento de tamanho, assimetria, alteração de consistência do tecido que se torna firme e fibrótico e tende a apresentar menos lobulações do que uma glândula fisiológica. Essas alterações podem ser uni ou bilaterais, em casos crônicos podem ser observadas aderências a tecidos adjacentes e com menor frequência, podem ocorrer

abscessos palpáveis. Sinais de dor ao realizar pressão digital das vesículas também são observados (HULL; VOGEL, 2008; VARNER, 2016).

O sêmen de animais acometidos pode apresentar alterações, mesmo que não sejam observadas variações durante a palpação. Com relação às características macroscópicas, o sêmen apresenta aumento da viscosidade, resultado da presença de exsudato purulento, sendo importante nesses casos descartar infecções em pênis e prepúcio (CAVALIERI; VAN CAMP, 1997; HULL; VOGEL, 2008). Na avaliação microscópica do sêmen é observada presença de leucócitos e hemácias. A qualidade do sêmen pode estar comprometida, havendo queda de motilidade espermática e aumento do pH seminal. Concentração e morfologia geralmente não sofrem alterações (CAVALIERI; VAN CAMP, 1997).

Na avaliação ultrassonográfica de animais acometidos com adenite vesicular, nas glândulas vesiculares são visualizadas com aumento de ecogenicidade, alterações de tamanho e contornos, áreas hiperecogênicas, espessamento da parede glandular, visualizada como estruturas hiperecogênicas, perda de delimitação e irregularidades em seu contorno (CARDILLI; SALES; CANOLA, 2014; OLIVEIRA et al., 2018).

A cultura microbiana do lavado do lúmen da vesícula seminal, coletado mediante endoscopia também é uma alternativa de diagnóstico (VARNER, 2016)

Na rotina prática, o diagnóstico da adenite vesicular é feito frequentemente de modo subjetivo, através de exame clínico, palpação transretal e exame ultrassonográfico. Em alguns casos a análise de macroscopia e microscopia também é realizada (SILVA, 2014; VARNER, 2016).

3.7. Tratamento

O tratamento inclui antibioticoterapia de amplo espectro, por via sistêmica ou intraglandular, por duas a quatro semanas (HULL; VOGEL, 2008). Cultura microbiana do lavado do lúmen da vesícula seminal coletado mediante endoscopia podem auxiliar na escolha do antibiótico mais sensível, porém de modo geral, os resultados da antibioticoterapia costumam não ser muito eficientes, não promovendo a cura da infecção, podendo apenas permitir a remissão por tempo suficiente para viabilizar a utilização de sêmen. Anti-inflamatórios têm sido usados em casos de inflamação aguda com o intuito de reduzir o processo inflamatório e diminuir o risco de desenvolver

aderências ou fistulação no reto. A remoção cirúrgica também é sugerida, porém as taxas de sucesso da vesiculectomia total são baixas (CAVALIERI; VAN CAMP, 1997; HULL; VOGEL, 2008; SILVA,2016; VARNER,2016;). Em equinos a lavagem intraluminal da glândula com solução de Ringer com lactato por uretroscopia, e posterior infusão de antibiótico de eleição apresentou resultados eficazes, mas funcionando como um tratamento paliativo, melhorando a qualidade do sêmen temporariamente, sendo observadas recidivas após o tratamento. Também em equinos estudos utilizando solução cauterizante de ácido metacresolsulfônico e formaldeído à 30% de intraglandular demonstraram bons resultados (SILVA,2016).

3.8. Ultrassonografia das glândulas vesiculares

3.8.1. Princípios da Ultrassonografia

A ultrassonografia (US) ou ecografia é um meio diagnóstico não invasivo baseado na utilização de ondas sonoras com frequências inaudíveis pelo ser humano, acima de 20.000 Hertz (Hz), chamadas de ultrassom (KEALY, McALLISTER; GRAHAM,2012).

O efeito piezoelétrico é responsável pela formação de ondas de ultrassom que formarão as imagens ultrassonográficas. Trata-se de um fenômeno físico, onde uma corrente elétrica fornecida ao aparelho faz com que ocorra a vibração de cristais específicos presentes no transdutor do aparelho produzindo ondas sonoras, estas serão direcionada ao tecido, que atravessa as estruturas até chegar à superfície refletora, a partir da qual retorna ao transmissor que atua também como um receptor. Assim o sinal de retorno, denominado eco, é transformado em impulsos elétricos direcionado a um computador onde apresenta-se como pontos de luz, com vários tons de cinza produzindo a imagem ultrassonográfica. A intensidade do ponto de luz (*pixels*) é proporcional à amplitude do eco de retorno, quanto mais intenso o eco, maior o brilho do ponto. As imagens obtidas na US são o resultado da interação entre ondas sonoras e tecido (KEALY, McALLISTER; GRAHAM,2012; NEPOMUCENO et al.,2014).

Entre os modos de exibição de eco o Modo B (modo brilho ou bidimensional) é o mais frequente entre os aparelhos atualmente utilizados. As diferentes intensidades de brilho são apresentadas em escala de cinza, relacionada à ecogenicidade de cada tecido. A imagem é atualizada constantemente, o que permite uma exibição dinâmica. Uma escala

de centímetros permite ao operador apreciar a profundidade relativa de estruturas na imagem (NEPOMUCENO et al.,2014)

Termos utilizados para descrever a aparência de imagens consideram a intensidade, atenuação e textura da imagem eco tecidual. A ecogenicidade está relacionada a capacidade de uma estrutura de refletir ondas de ultrassom e produzir ecos. A ecotextura considera o padrão de imagem do tecido. De acordo com intensidade de eco as imagens podem ser denominadas como ecogênicas ou hiperecóticas e hipoecóticas quando apresentam alta e baixa intensidade de eco respectivamente, ou anaecóticas, no caso de áreas que não produzem eco. Nomenclaturas associadas à textura da imagem apresentam difícil padronização devido sua natureza subjetiva. Termos como heterogêneo e homogêneo podem ser utilizados para se referir tanto a ecogenicidade como a ecotextura de uma estrutura, e desse modo devem ser especificadas separadamente (NYLAN et al.,2004; NEPOMUCENO et al.,2014).

3.8.2. Utilização da Ultrassonografia na Reprodução dos Machos

Entre os usos destaca-se a realização de controle reprodutivo de indivíduos e rebanhos, por meio de diagnóstico gestacional precoce, sexagem fetal, avaliação folicular. Em machos avaliações testiculares apresentaram importantes correlações à produção espermática. A possibilidade de acompanhamento contínuo e não invasivo torna possível a obtenção de informações viabilizando o entendimento de eventos fisiológicos e tornando exequível uma série de biotécnicas reprodutivas (NEPONUCENO et al.,2014).

A utilização de ultrassonografia em tempo real não é uma técnica rotineiramente empregada na avaliação reprodutiva de machos, porém sua inclusão no exame andrológico permite a realização de uma detalhada pesquisa dos órgãos reprodutivos, tornando possível a avaliação da eficiência reprodutiva e o diagnóstico de patologias (OLIVEIRA; DIAS; FELICIANO,2014). Ela permite uma avaliação eficiente de genitália externa e interna, é possível avaliar parênquima testicular, túnica vaginal, cordões espermáticos, epidídimo, plexo pampiniforme e glândulas acessórias. (CARDILLI; SALES; CANOLA, 2014).

3.8.3. Técnica de exame e interpretação de imagens

As glândulas sexuais acessórias devem ser avaliadas ultrassonograficamente através de via transretal, o animal deve estar em posição quadrupedal e devidamente contido. A probe linear transretal deve ser inserida no reto do animal após a remoção de fezes e lubrificação com gel acústico (Figura 4). A frequência utilizada varia entre 5,0 e 7,5 MHz e visando a melhora na qualidade da imagem deve ser utilizado gel acústico na região dos cristais do transdutor (OLIVEIRA; DIAS; FELICIANO,2014; CARDILI; SALES; CANOLA,2014).



Figura 4 .Avaliação ultrassonográfica de glândula vesicular em bovinos. (FONTE: Arquivo pessoal)

Fisiologicamente as glândulas vesiculares de bovinos são estruturas irregulares e lobuladas, possuem padrão ultrassonográfico homogêneo com baixa ecogenicidade. Possuem lóbulos isoecóicos separados por regiões hipoecóicas circundadas por uma membrana hiperecóicas. Suas dimensões são variáveis de acordo com idade e origem do animal, zebuínos de 18 meses de idade apresentam dimensões ultrassonográficas de em média 12mm de largura e 35 mm de comprimento (CARDILI; SALES; CANOLA,2014; OLIVEIRA et al., 2018) (Figura 5). Em pequenos ruminantes é possível observar variações individuais de seu parênquima, mas há predominância de uma imagem predominantemente hipoecóica e baixa intensidade. Em equinos é possível observar a influência do conteúdo intraglandular na visibilização das glândulas, sendo observada uma hipoecogenicidade nas imagens, possivelmente relacionada ao acúmulo de fluidos,

desenvolvimento sexual e momento de colheita de sêmen. Imagens realizadas após a ejaculação mostram a glândula como estruturas mais hipocóicas de alta intensidade (OLIVEIRA; DIAS; FELICIANO,2014). Em equinos é possível observar alterações nas dimensões das glândulas conforme o estímulo sexual. A avaliação de animais fora da estação de monta é prejudicada devido ao baixo acúmulo de fluido no interior da glândula. Na avaliação ultrassonográfica são visibilizadas como estruturas anaecóicas, que podem apresentar variações de ecogenicidade entre os lóbulos (SILVA, 2016).

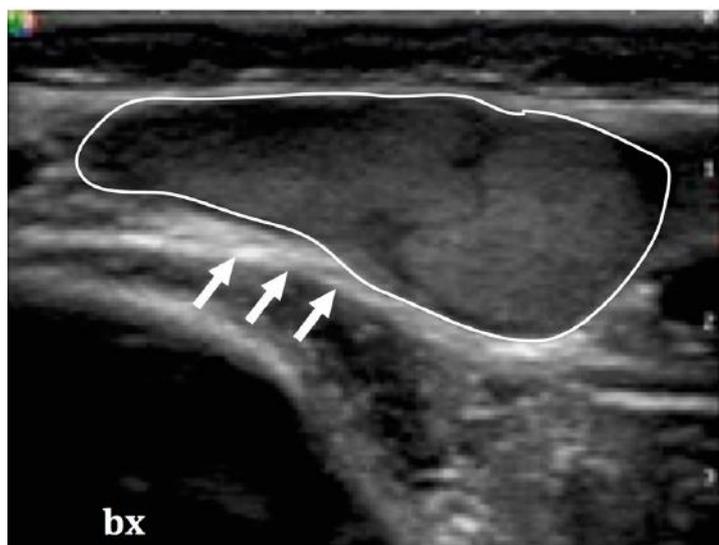


Figura 5. Visualização ultrassonográfica da glândula vesicular normal em bovino. Apresenta parede bem definida, hiperecótica (setas brancas), parênquima homogêneo, bexiga (bx). (FONTE: OLIVEIRA et al.,2018)

Em casos de adenite vesicular é visibilizado aumento de ecogenicidade, tamanho e contornos das glândulas vesiculares, com áreas hiperecogênicas, espessamento da parede glandular, Estruturas como cistos, abscessos, fluido interlobular são alterações visibilizados. Abscessos são visibilizadas como áreas circulares delimitadas, anaecóicas com pontos ecogênicos no interior da glândula, fluido interlobular é observado como áreas anaecóicas sem contorno definido e cistos como áreas anaecóicas circulares e delimitadas com paredes hiperecóicas. A perda de definição dos lóbulos da glândula é um achado frequente, alterações do padrão de ecogenicidade e ecotextura, com imagens de padrão heterogêneo e presença de pontos hiperecóticos podem ser sinais indicativos (OLIVEIRA, 2016; CARDILI; SALES; CANOLA, 2014; OLIVEIRA; DIAS; FELICIANO, 2014) (Figura 6).

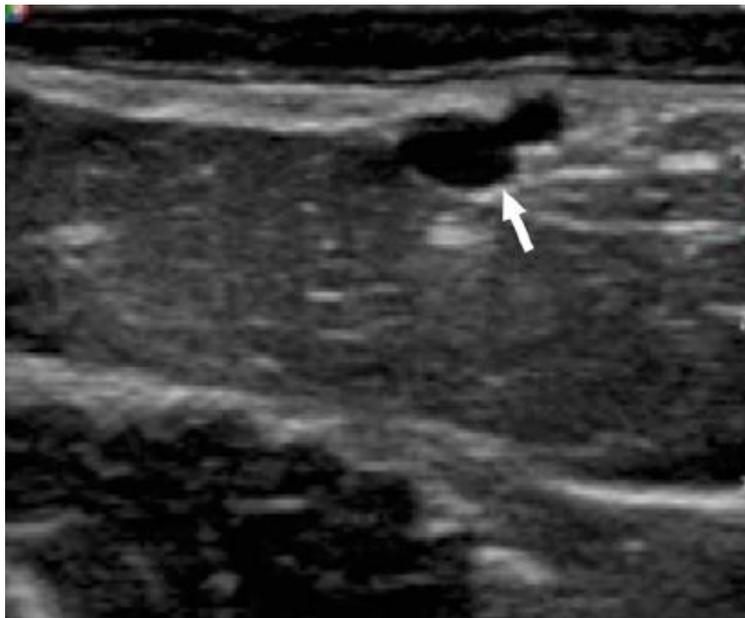


Figura 6. Glândula vesicular de bovino com perda da definição lobular característica, parede discretamente espessada em porção dorsal espessada, parênquima heterogêneo com presença de pontos hiperecóticos. Presença de área cística com conteúdo anaecóico na porção dorsal da glândula (seta branca). (FONTE: Oliveira et al., 2018)

3.8.4. Histograma em escala de cinza (HEC)

A ultrassonografia diagnóstica é uma técnica de avaliação segura e não invasiva, considerada como uma forma de diagnóstico subjetiva através de avaliação qualitativa, é diretamente influenciada por variáveis como habilidade do operador e qualidade do aparelho utilizado, estando passível a ocorrência de perda de precisão na determinação da ecogenicidade e ecotextura da estrutura analisada. Visando a elucidação da subjetividade da técnica, métodos de análise quantitativa computadorizada como o histograma em escala de cinza (HEC) podem ser aplicadas. (SANTOS FILHO et al., 2010; CAMELO, 2016; NEPOMUCENO et al., 2014; RIBEIRO et al., 2017).

A análise computadorizada de imagens ultrassonográficas tem sido bastante estudada com o intuito de reduzir as inconsistências da avaliação visual subjetiva e viabilizar uma abordagem quantitativa à escala de cinza, pela análise do valor de pixel, sendo utilizada para avaliação de ecogenicidade e ecotextura de diversos órgãos e espécies como: avaliação de cicatriz uterina em humanos (SANTOS FILHO et al., 2010), avaliação de malignidade de lesões mamárias em humanos (EROL et al., 2013), avaliação de nódulos tireoidianos em humanos (NAM et al., 2015), avaliação de músculo esquelético de pacientes humanos poli traumatizados (VIERA et al., 2019), baço em felinos (VESCOVI

et al., 2009), fígado em felinos (MONTEIRO et al., 2010), medula espinhal de cães (BONELLI et al., 2011), parede de artérias carótidas de equinos e muares (FOGAÇA et al., 2019), ligamento nucal de cavalos quarto de milha (SANTOS et al., 2019), ovário em bovinos (VASSENA et al., 2003), útero em suínos (KAUFFOLD et al., 2010), glândulas mamárias em ovelhas (DANTAS et al., 2016); testículos em ovinos (CAMELA, 2015; VELOSO NETO, 2017; RIBEIRO et al., 2017), glândulas acessórias de ovinos (CAMELA, 2015; RIBEIRO et al., 2017). Porém, cabe ressaltar que ainda não existem estudos da aplicabilidade da técnica na avaliação de glândulas vesiculares de bovinos.

A imagem ultrassonográfica é composta por diversos pontos luminosos (pixels), as características de cada tecido irão influenciar no valor numérico de pixels que compõe a imagem formada. As diferentes intensidades de brilho são apresentadas em escala de cinza, relacionada a ecogenicidade de cada tecido, quanto mais intenso o eco, maior o brilho do ponto (KEALY, McALLISTER; GRAHAM, 2012; NEPONUCENO et al., 2014; VELOSO NETO, 2017). A escala de cinza é utilizada na ultrassonografia principalmente para a avaliação da estimativa da impedância acústica e textura do tecido com base em alterações dos valores numéricos da ecogenicidade e da ecotextura, através visualização gráfica da forma de distribuição da variável em consideração. Cada tecido apresenta estrutura macroscópica e características histofisiológicas que geram ecotextura única e individualizada, e que sofrerá alterações caso haja presença de injúrias ao tecido (SANTOS FILHO et al., 2010; AHMADI et al., 2013).

Cada pixel representa um refletor de tecido, a escala de intensidade pixel varia de 0 a 255, onde o 0 é atribuído ao ponto preto ou anaecóico e o 255 ao ponto branco ou hiperecóico, podendo desse modo assumir 256 tons de cinza. O olho humano é capaz de diferenciar entre 10 – 12 diferentes tons de cinza, desse modo em algumas situações a impressão visual pode se tornar insuficiente para determinar a ecogenicidade exata dos tecidos. A avaliação dos valores numéricos de pixel assistidos por computador (VNP), que pode ser perceptível nas estruturas examinadas permite a diminuição da subjetividade da avaliação, tornando-a mais precisa e com maior repetibilidade (NYLAN et al., 2004; SANTOS FILHO et al., 2010; AHMADI et al., 2013; VELOSO NETO, 2017).

A aplicação da técnica de HEC pode ser feita através de programas específicos de avaliação de imagens ou através de programas presente no próprio aparelho de ultrassom. Após a captura de imagem é delimitada uma de região de interesse (ROI) a ser estudada, o HEC fornece representação gráfica com refletividade, disposição e quantidade de *pixels*

presentes nessa área, é elaborada uma representação gráfica do número de *pixels* associado a cada nível de cinza presente na imagem (SANTOS FILHO et al., 2010) (Figura 7).

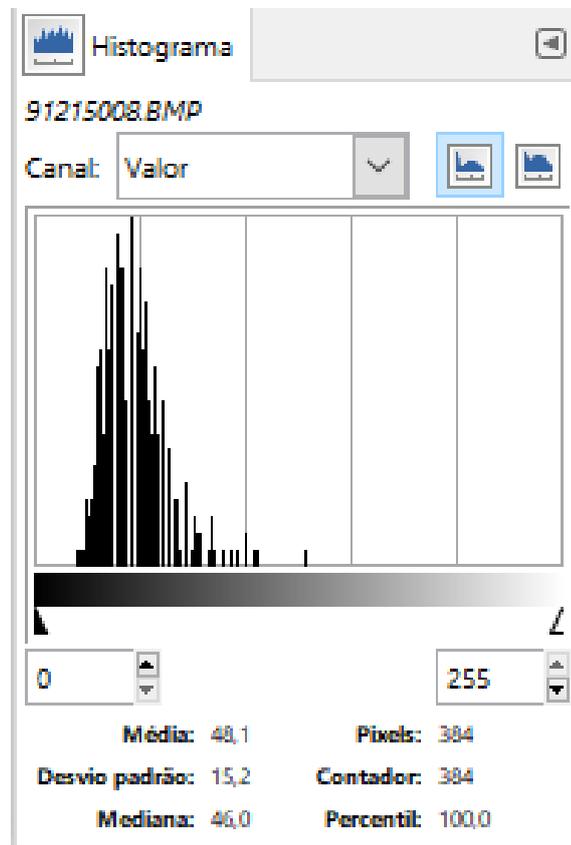


Figura 7. Histograma de cinza elaborado pelo software GIMP® 2.8, a partir da análise da área de glândula vesicular bovina. (Fonte: Arquivo Pessoal)

REFERÊNCIAS

- AHMADI, B. *et al.* Preliminary assessment of the quantitative relationships between testicular tissue composition and ultrasonographic image attributes in the ram. *The Veterinary Journal*, v. 198, n. 1, p. 282-285, 2013.
- BRACKETT, B. G. Reprodução em Mamíferos do Sexo Masculino. In: REECE, W. O. D.: *Fisiologia dos Animais Domésticos*. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. Cap. 38. p. 631-651.
- BEZERRA, Mauro José Gonçalves *et al.* Epididimite ovina por *Actinobacillus seminis* no Estado de Pernambuco. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Rio de Janeiro, v. 32, n. 5, p.369-373, 2012.
- BONELLI, M.A. *et al.* Análise de histograma dos níveis de cinza da medula espinhal normal em cães. *Medicina Veterinária*, v.5, n.4, Supl. 1, p. 136-141, 2011.
- CAMELA, E. S. C. Ultrassonografia de glândulas genitais acessórias em carneiros da raça dorper – Caracterização e correlações reprodutivas. 2015. 78 f. Dissertação de Mestrado - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- CARDILLI, D. J.; SALES, J.N.S.; CANOLA, J.C. Ultrassonografia do Sistema Reprodutor Masculino de Bovinos. In: FELICIANO, M. A. R.; OLIVEIRA, M. E. F.; RUSSIANO, W. R. *Ultrassonografia na Reprodução Animal*. São Paulo: Medvet, 2014. Cap. 7. p. 127-140.
- CAVALIERI, J.; VAN CAMP, S. D. Bovine Seminal Vesiculitis. *Veterinary Clinics Of North America: Food Animal Practice*, v. 13, n. 2, p.233-241,1997.
- CBRA. Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. 2. ed., CBRA, Belo Horizonte: CBRA, 1998
- DANTAS, A. Idade à puberdade e desenvolvimento da glândula mamária de cordeiras sob baixa e alta velocidades de crescimento. 2013. 80p. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2013
- EROL, B.; KARA, Ta.; GÜRSES, C.; KARAKOYUN, R.; KÖROĞLU, M.; SÜREN, D.; BÜLBÜLLER, N. Gray scale histogram analysis of solid breast lesions with

ultrasonography: can lesion echogenicity ratio be used to differentiate the malignancy. *Clinical Imaging*, v. 37, n. 5, p. 871-875, 2013.

FOSTER, R.A. Sistema Reprodutivo do Macho. In: MCGAVIN, M. D.; ZACHARY, J. F. *Bases da Patologia em Veterinária*. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009. p. 1317-1348.

FOGAÇA, J. L. et al. Grayscale histogram analysis to study the echogenicity and echotexture of the walls of the common carotid arteries of horses and mules. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 39, n. 3, p. 221-229, 2019.

GABOR, G. et al. Computer analysis of video and ultrasonographic images for evaluation of bull testes. *Theriogenology*, v. 50, n. 2, p.223-228, jul. 1998.

GALÁN-RELAÑO, Á.; GÓMEZ-GASCÓN, L.; LUQUE, I.; BARRERO-DOMÍNGUEZ, B.; CASAMAYOR, A.; CARDOSO-TOSET, F.; VELA, A. I.; FERNÁNDEZ-GARAYZÁBAL, J. F.; TARRADAS, C. Antimicrobial susceptibility and genetic characterization of *Trueperella pyogenes* isolates from pigs reared under intensive and extensive farming practices. ***Veterinary Microbiology***, [S.L.], v. 232, p. 89-95, maio 2019. Elsevier BV.

GRUNERT, E.; BIRGEL, E. H.; VALE, W. G. *Patologia e Clínica da Reprodução dos Animais Mamíferos Domésticos: Ginecologia*. Rio de Janeiro: Varela, 2005.

GONZALEZ, S. M. et al. Ocorrência de alterações das glândulas sexuais acessórias de touros de rodeio através do exame ultrassonográfico. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, Belo Horizonte, v. 43, n. 4, p. 809-814, dez. 2019.

HANSAR, E.; LEMMA, A.; YILMA, T. Pre-service ultrasonic and manual evaluation of the reproductive organs of dairy cows presumed to be in estrus. *Springerplus*, v. 3, n. 1, p.529-533, 2014.

HULL, B. L.; VOGEL, S. R. Seminal Vesiculitis. *Veterinary Clinics Of North America: Food Animal Practice*, v. 24, n. 2, p.267-272,2008.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. *Histologia Básica: texto/atlas*. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. 524 p.

- KAUFFOLD, J. et al. Use of B-mode ultrasound and grey-scale analysis to study uterine echogenicity in the pig. *Journal of Reproduction and Development*. v.56, n.4, p. 444-448, 2010.
- KEALY, J. K.; MCALLISTER, H.; GRAHAM, J. P. Radiografia e Ultrassonografia do cão e do gato. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012. 579 p.
- KLEIN, Bradley G. C. Tratado de Fisiologia Veterinária. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014. 1599 p.
- KÖNIG, H.E.; LIEBICH, H.-G. Anatomia dos Animais Domésticos: Texto e Atlas Colorido. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2011. 708p.
- MONTEIRO, J.N.M. et al. Ultrassonografia quantitativa do fígado de gatos hípidos – Nota prévia. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, São Paulo, v. 47, n. 5, p. 367-370, 2010.
- MELO, R.R.C. Puberdade e maturidade sexual em touros bovinos. *Agropecuária Científica no Semiárido: ACSA, Patos*, v. 10, n. 3, p.11-28,2013.
- NAM, S. J. et al. Quantitative Evaluation for Differentiating Malignant and Benign Thyroid Nodules Using Histogram Analysis of Grayscale Sonograms. *Journal Of Ultrasound In Medicine*, v. 35, n. 4, p. 775-782, 2016.
- NASCIMENTO, E. F.; SANTOS, R.L. Patologia da Reprodução dos Animais Domésticos. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. 151 p.
- NASCIMENTO, E. F.; SANTOS, R.L.; EDWARDS, J. F. Sistema Reprodutivo Masculino. In: SANTOS, R.L.; ALESSI, A. C. Patologia Veterinária. 2. ed. Rio de Janeiro: Roca, 2016. p. 1302-1346.
- NEPOMUCENO, A. C. et al. Princípios Físicos da Ultrassonografia e Aplicações na Reprodução Animal. In: FELICIANO, M. A. R.; OLIVEIRA, M. E. F.; VICENTE, W. R. R. Ultrassonografia na Reprodução Animal. São Paulo: Med Vet, 2014. Cap. 1. p. 1-15
- NYLAND, T.G. et al. Princípios Físicos, Instrumentação e Segurança do Diagnóstico por Ultra-som. In: NYLAND, T. G. et al. Ultra-som diagnóstico em pequenos animais. 2. ed. São Paulo: Roca, 2004. Cap. 1. p. 1-32.

OLIVEIRA, M.E. F; DIAS, L. M. K.; FELICIANO, M. A. R. Ultrassonografia do Sistema Reprodutor de Pequenos Ruminantes. In: FELICIANO, M. A. R.; OLIVEIRA, M. E. F.; VICENTE, W. R.R. Ultrassonografia na Reprodução Animal. São Paulo: Medvet, 2014. p. 162-176.

OLIVEIRA, R. P.L. et al. Ultrassonografia no auxílio do diagnóstico de vesiculite seminal em touros de corte. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 38, n. 6, p.1038-1042, 2018.

PINTO, L. F. B. et al. Live weight, carcass ultrasound images, and visual scores in Angus cattle under feeding regimes in Brazil. *Tropical Animal Health And Production*, [s.l.], v. 45, n. 6, p.1281-1287, 24 jan. 2013. Springer Nature

REICHENBACH, H.D; MORAES, J. C. F.; NEVES, J. P. Tecnologia do Sêmen e Inseminação Artificial em Bovinos. In: GONÇALVES, P. B. D.; FIGUEIREDO, J. R.; FREITAS, V. J. Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal. 2. ed. São Paulo: Roca, 2008. Cap. 4. p. 60-61.

RZEWUSKA, M.; KWIECIEŃ, E.; CHROBAK-CHMIEL, D.; KIZERWETTER-ŚWIDA, M.; STEFAŃSKA, I.; GIERYŃSKA, M. Pathogenicity and Virulence of *Trueperella pyogenes*: a review. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 20, n. 11, p. 2737, 4 jun. 2019. MDPI AG.

RIBEIRO, M.S. *et al.* Biometry and ultrasound evaluation of testicles and accessory glands in Santa Ines rams. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 46, n. 4, p. 317-323, 2017.

ROVAY, H. et al. Update on treatment of vesiculitis in bulls. *Theriogenology*, v. 70, n. 3, p.495-503, 2008.

SANTOS, W. A. *et al.* B-mode ultrasonography and gray scale histogram for evaluation of the nuchal ligament in Quarter horse. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 39, n. 8, p. 663-667, 2019.

SANTOS FILHO, O.O. et al. Estudo da cicatriz uterina de cesariana avaliada pelo histograma escala-cinza. *Revista da Associação Médica Brasileira*, v. 56, n. 1, p. 99-102, 2010.

SILVA, E. V. C. et al. Seleção de touros para reprodução a campo: novas perspectivas. *Rev. Bras. Reprodução. Animal*, Belo Horizonte, v. 39, n. 1, p.22-31, 2014.

SILVA, Y.F.R.S. Efeito do tratamento local de vesiculite seminal sobre a qualidade e longevidade do sêmen equino.2014.124p. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

VARNER, D.D. Approaches to breeding soundness examination and interpretations of results. *Journal of Equine Veterinary Science*, v.43, p.37-44,2016

VARONI, M.S. Avaliação da Espermatogênese e da Ecotextura testicular do cavalo Pantaneiro. 2014. 57f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2014.

VASSENA, R.,et al,Ultrasound image characteristics of ovarian follicles in relation to oocyte competence and follicular status in cattle. *Animal Reproduction Science*, v.76, n.1, p.25–41,2003.

VESCOVI, L.A., et al., Ultrassonografia quantitativa do baço de gatos normais.Revista de Medicina Veterinária, v.7, n.1, p. 4-10,2009.

VELOSO NETO, H. F. Ultrassonografia quantitativa da degeneração testicular induzida em ovinos.2017.85p. Tese de Doutorado.Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

VIEIRA, L.et al. Reliability of skeletal muscle ultrasound in critically ill trauma patients. *Revista Brasileira de Terapia Intensiva*,v. 31, n. 4, p. 464-47.2019.

4. ARTIGOS CIENTÍFICOS

4.1. ARTIGO 1:

Análise ultrassonográfica quantitativa de glândulas vesiculares de bovinos adultos

(Artigo a ser submetido a Revista Pesquisa Veterinária Brasileira)

Análise do histograma em escala de cinza para avaliação de ecogenicidade e a ecotextura das glândulas vesiculares de bovinos

Laís Q. B. Freire¹, Antonio B. S. Filho², Wisley S. Moraes¹, Ueliton A. de Lima¹, Marcelo Mendonça¹, Jobson Filipe de P. Cajueiro², Gustavo Ferrer Carneiro²

ABSTRACT.- Freire, L.Q.B.; Silva Filho, A.B.; Moraes, W. S.; Lima,U.A.; Mendonça, M.; Cajueiro, J.F.P. & Carneiro, G.F. 2021. *Gray-scale histogram analysis to assess echogenicity and echotexture of bovine vesicular glands*. ¹Universidade Federal do Agreste de Pernambuco – UFAPE, Av. Bom Pastor, s/n - Boa Vista, Garanhuns - PE, 55292-270, Brazil. ¹Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, Av. Dom Manuel de Medeiros s/n – Dois Irmãos, Recife-PE, 52171-900, Brazil.

E-mail: laisqfreire@gmail.com

The objective of this work was to perform a quantitative evaluation of the ultrasound of vesicular glands of bulls using a grayscale histogram (GSH). Twelve bulls from farms located at Garanhuns-PE and surrounding cities were used, with no history of reproductive problems or clinical alterations. The animals were submitted to transrectal palpation and ultrasound examination of the vesicular glands. In the analysis of ultrasound images, six points measuring about 6 mm in diameter were selected using the cranial and caudal walls as reference, three points parallel to cranial wall and 3 points parallel to caudal wall. Using the Software GIMP® 2.8 program, a GSH was obtained for each previously selected area, in which the mean and standard deviation of the numerical pixel values demonstrated in the histogram graph corresponds, respectively, to echogenicity and echotexture. An inversely proportional relationship was observed between age and numerical values of echogenicity, where older animals presented lower echogenicity values. The numerical values of echotexture, however, had a progressive increase when compared to age, older animals presented higher values. The qualitative analysis, which is based on the subjective evaluation of the image obtained by the sonographer and quantitative analysis observed similar conclusions. It is concluded that quantitative evaluation is efficient, but further studies are needed to define standard values of evaluation and comparison of qualitative analysis.

INDEX TERMS: Grayscale histogram, bovine, vesicular gland, ultrasound, andrology

RESUMO

Objetivou-se com este trabalho realizar uma avaliação quantitativa da ultrassonografia de glândulas vesiculares de bovino utilizando histograma em escala de cinza (HEC). Foram avaliados 12 bovinos, oriundos de propriedades de Garanhuns-PE e cidades circunvizinhas, sem históricos de problemas reprodutivos ou alterações clínicas. Os animais foram submetidos à palpação transretal e ultrassonografia das glândulas vesiculares. Na análise das imagens ultrassonográficas foram selecionadas seis áreas medindo cerca de 6mm² de diâmetro utilizando as paredes dorsais e ventrais como referência, três áreas paralelas a parede dorsal e áreas paralelas a parede ventral. Utilizando o programa software GIMP® 2.8 obteve-se um histograma em escala de cinza referente a cada área previamente selecionada, em que a média e o desvio-padrão dos valores numéricos de pixel demonstrados no gráfico de histograma correspondem, respectivamente a ecogenicidade e a ecotextura. REFAZER CONCLUSÃO

Termos indexados: Histograma de escala de cinza, bovino, glândula vesicular, ultrassonografia, andrologia

INTRODUÇÃO

A ultrassonografia vem sendo aplicada em grande escala na medicina veterinária, entretanto a avaliação andrológica dos machos com o uso da ultrassonografia não é realizada de forma rotineira, porém seu uso consiste numa importante ferramenta e/ou teste complementar, especialmente para avaliação de desempenho reprodutivo ou no caso de desordens subclínicas (Oliveira et al. 2014). Na andrologia pode ser utilizada na avaliação do parênquima testicular, túnica vaginal, cordões espermáticos, epidídimo, plexo pampiniforme e glândulas acessórias, propiciando uma investigação mais precisa da integridade dos órgãos, auxiliando no diagnóstico de condições de funcionalidade e acompanhamento de transformações, sendo também um recurso complementar na seleção e avaliação de reprodutores (Cardilli, 2014, Amorim 2010)

Padrões de ecogenicidade e ecotextura utilizados na avaliação ultrassonográfica consideram à intensidade, atenuação e textura da imagem eco tecidual e estão diretamente relacionadas a constituição morfológica do tecido (Nepomuceno et al. 2014). Esses parâmetros são classificados de forma subjetiva, por meio de avaliação qualitativa sofrendo influência de algumas variantes como, qualidade do aparelho, experiência do avaliador e sua interpretação, sendo uma avaliação passível à ocorrência de perda de precisão na determinação de parâmetros da estrutura analisada. Visando a elucidação da subjetividade da técnica, métodos de análise quantitativa computadorizada da imagem como o histograma em escala de cinza (HEC) surgem como uma alternativa. (Camela 2016, Nepomuceno et al. 2014, Ribeiro et al. 2017).

A técnica do histograma da imagem descreve a distribuição estatística dos tons de cinza em termo numérico de amostra (pixels) em cada segmento de imagem (Chandolia et al. 1997). Alguns

estudos já foram realizados visando a análise quantitativa de ecogenicidade e ecotextura utilizando histograma em escala de cinza de diversos órgãos e espécies como: parede de artérias carótidas de equinos e muares, testículos em equinos, ovário em bovinos, útero em suínos, glândulas mamárias em ovelhas, testículos em bovinos, testículos em ovinos, glândulas acessórias de ovinos, porém estudos das glândulas vesiculares de bovinos ainda são escassos (Camela 2016, Veloso Neto 2017.)

Diante deste contexto objetivou-se com esse estudo, avaliar quantitativamente ecogenicidade e ecotextura utilizando histograma em escala de cinza das glândulas vesiculares em machos da espécie bovina.

MATERIAIS E MÉTODOS

Local. Foi desenvolvido em seis fazendas da Microrregião Garanhuns do Agreste Meridional do Estado de Pernambuco, situado a 841 metros de altitude, com as seguintes coordenadas geográficas: Latitude: 8° 53' 27" Sul, Longitude: 36° 29' 48" Oeste, no período de Setembro a Dezembro de 2020. Os animais foram mantidos em sistema extensivo conforme a disponibilidade de forragem, com sal mineral e água *ad libitum*.

Animais. Foram avaliados 12 bovinos, machos, sendo 7 taurinos (holandês) e 5 zebuínos (mestiços de nelore), com idades entre 2 a 7 anos, sem históricos de problemas reprodutivos ou alterações clínicas. Os animais foram classificados segundo critério reprodutivo, uma vez que geralmente machos bovinos passam a ser utilizados como reprodutor a partir dos 18-24 meses de idade. Todos os animais foram pesados e mensurado valor de perímetro escrotal.

Estudo ultrassonográfico As glândulas vesiculares foram avaliados por palpação transretal e posteriormente foi realizada avaliação ultrassonográfica, utilizando aparelho de ultrassonografia Aquila Vet Bisound Esaote®, transdutor transretal linear com frequência variando de 5,0 – 7,5 MHz. As imagens foram armazenadas em dispositivo de memória removível (SanDisk Cruzer Blade®) para posterior análise da ecotextura e ecogenicidade. Todos os exames foram realizados por um único operador, sempre focando na formação de imagens livres de artefatos. As configurações do aparelho de ultrassonografia foram padronizadas e mantidas ao longo de todo o experimento.

Avaliação da ecotextura e ecogenicidade. Na análise das imagens ultrassonográficas da glândula vesicular em posição longitudinal foram selecionados seis pontos medindo cerca 6mm de diâmetro utilizando como referências as paredes craniais e caudais do referido órgão como referência, três áreas paralelas à parede cranial e três áreas paralelas à parede caudal, conforme Veloso Neto (2017), adaptado (Figura 1). Utilizando o software GIMP® 2.8 obteve-se um histograma em escala de cinza referente à cada área previamente selecionada, em que a média e o desvio-padrão dos valores numéricos de pixel demonstrados no gráfico de histograma correspondem, respectivamente à ecogenicidade e a ecotextura (Figura 2).

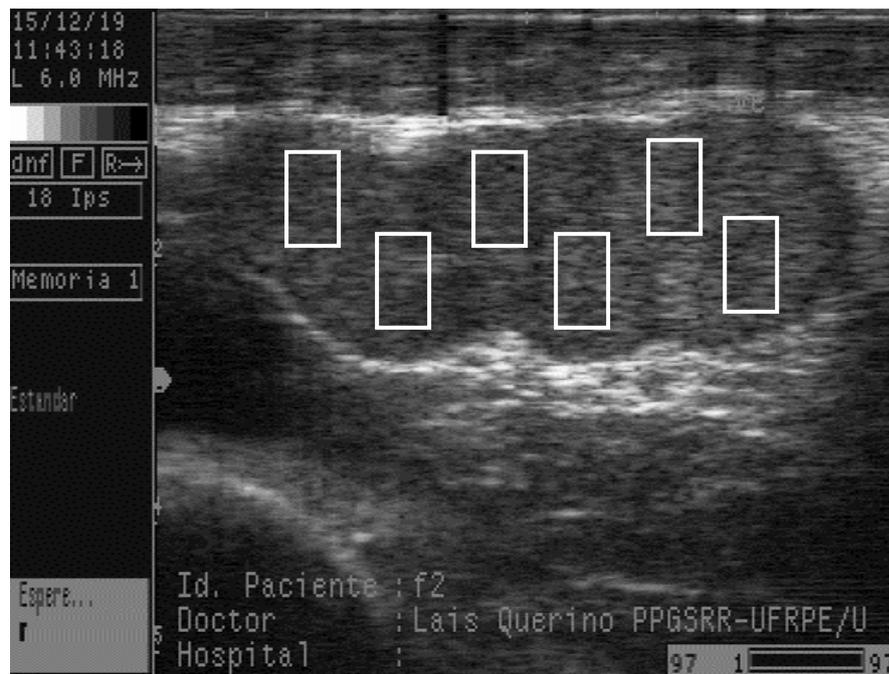


Fig. 1. Imagem ultrassonográfica de glândula vesicular de bovino em corte longitudinal para delimitação e aferição da escala de cinza em seis áreas no sentido longitudinal após identificação de paredes dorsais e ventrais.

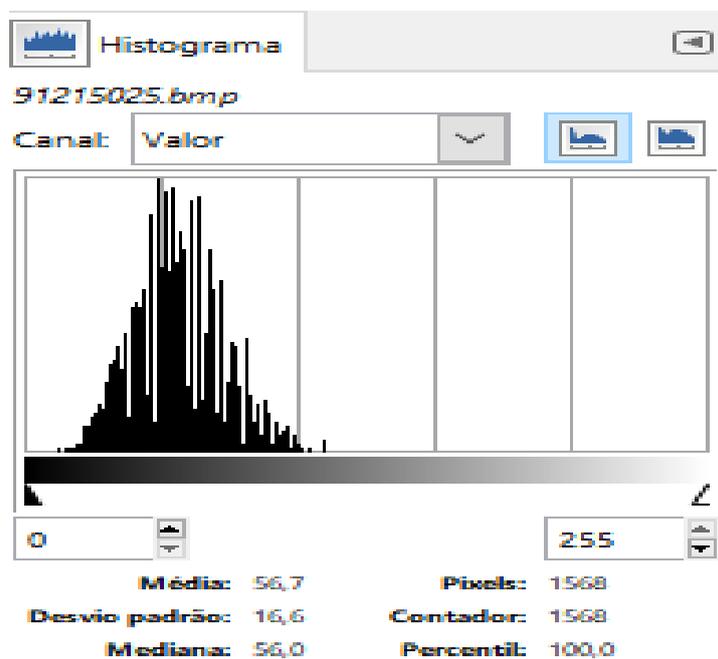


Fig. 2. Histograma de cinza elaborado pelo software GIMP@ 2.8, à partir da análise da área de glândula vesicular de bovino

Análise estatística. Análise estatística. Os dados foram submetidos a análise descritiva e representados pela média \pm desvio padrão.

O trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal Rural de Pernambuco (CEUA-UFRPE) (nº 5495230620/ID 000376).

RESULTADOS

Os animais avaliados não possuíam histórico clínico de transtornos reprodutivos ou queda de desempenho. Dados referentes ao peso, idade, escore corporal e circunferência escrotal podem ser encontrados na tabela 1.

Tabela 1. Descrição de características de avaliação prévia, perímetros escrotais de bovinos submetidos aos diferentes métodos de diagnóstico de adenite vesicular

Características	Valores
Raça	
<i>Holandês</i> (n, %)	7 (58,33)
<i>Mestiço de zebuíno</i> (n, %)	5 (41,67)
Peso (kg)	470,25±164,61
Idade (anos)	3,21±1,89
Escore	3,38±0,48
Circunferência escrotal (cm)	36,46±2,21
Alterações testiculares	Não detectado
Alterações em glândula vesicular direita	
<i>Palpação</i>	Negativo ^a
<i>Ultrassonografia</i>	Negativo
Alterações em glândula vesicular esquerda	
<i>Palpação</i>	Negativo
<i>Ultrassonografia</i>	Negativo

Valores são média ± desvio padrão, exceto quando especificado. ^a Negativo em 100% dos animais.

Não foram observadas alterações nas glândulas vesiculares na palpação transretal e na ultrassonografia, usando como padrão de normalidade a caracterização proposta na literatura. Os valores numéricos médios de ecogenicidade variaram de 34,90 a 63,95 na glândula direita e de 36,7 – 60,3 na glândula esquerda. Foi obtida média total de 43,76 na glândula direita e 43,52 na glândula esquerda (Figura 3)

Média glândula direita - 43,76
Média glândula esquerda - 43,52

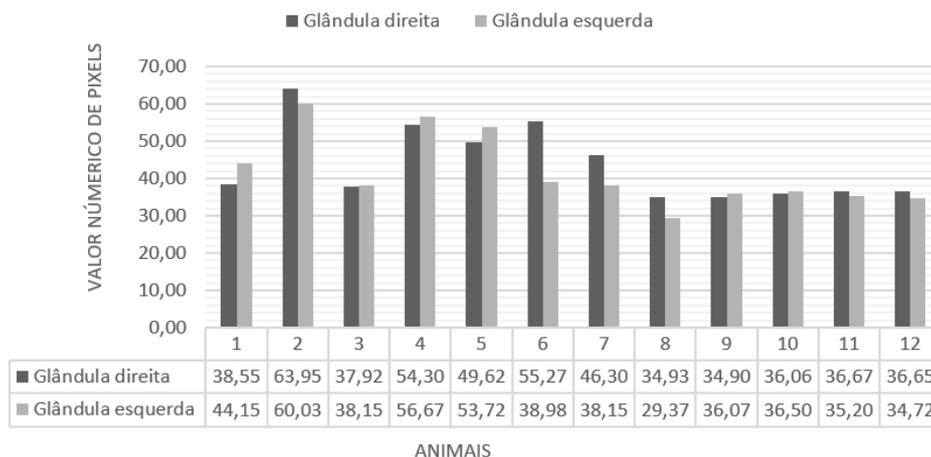


Fig. 3. – Valores numéricos médios de ecogenicidade, representada pelo valor numérico de pixel, de glândula vesicular (direita e esquerda) de bovinos, obtidas por ultrassonografia

Os dados da ecotextura de glândulas vesiculares direita e esquerda estão representados na Figura 4. O valor numérico da ecotextura, representado pela amplitude de variação do eco (AVE) variou de 8,2 a 13,36 na glândula direita e 10,35 a 13,50 na glândula esquerda, as médias totais de AVE foram 12,4 na glândula direita e 13,45 na glândula esquerda.

Média glândula direita - 12,4
Média glândula esquerda - 13,45

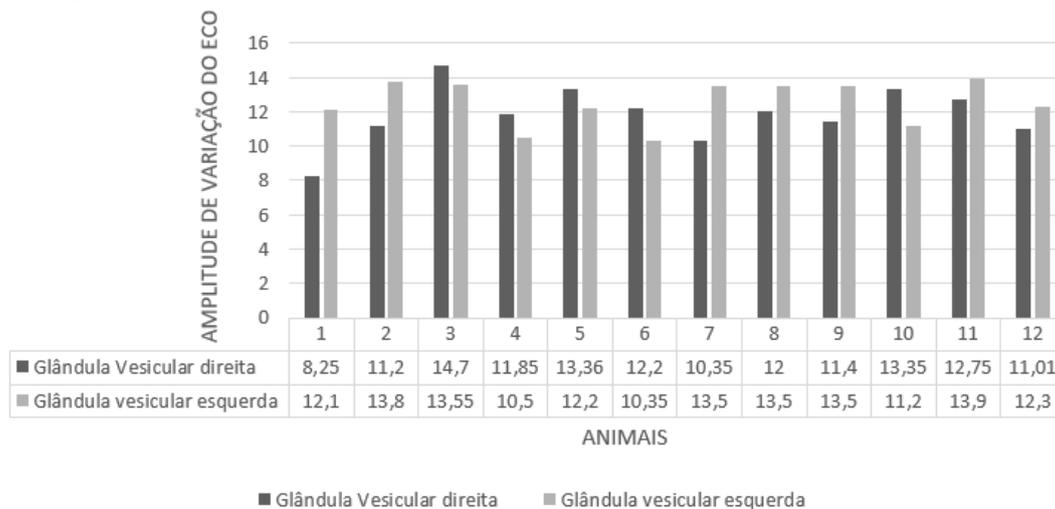


Fig. 4. Valores numéricos médios de ecotextura representada pela amplitude de variação do eco (desvio padrão da intensidade pixel) do parênquima da glândula vesicular (direita e esquerda) de bovinos, obtidas por ultrassonografia

Observou-se uma diminuição do valor de ecogenicidade em animais mais velhos havendo uma relação inversamente proporcional entre valores de ecogenicidade e idade. Animais mais velhos apresentaram menores valores numéricos de ecogenicidade (Figura 5 e 6).

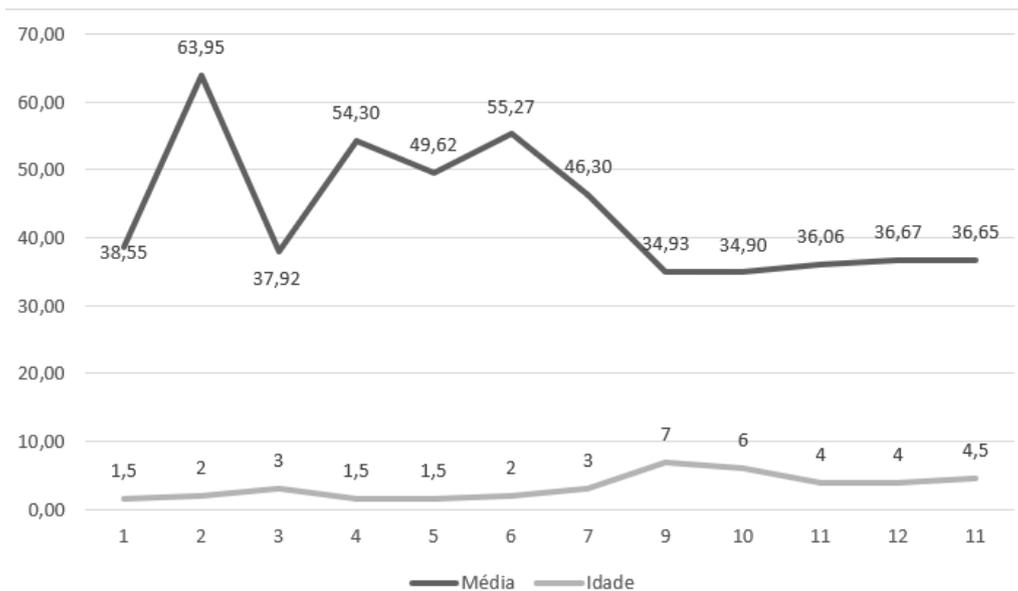


Fig.5. Relação entre ecogenicidade e idade da glândula vesicular direita de bovinos.

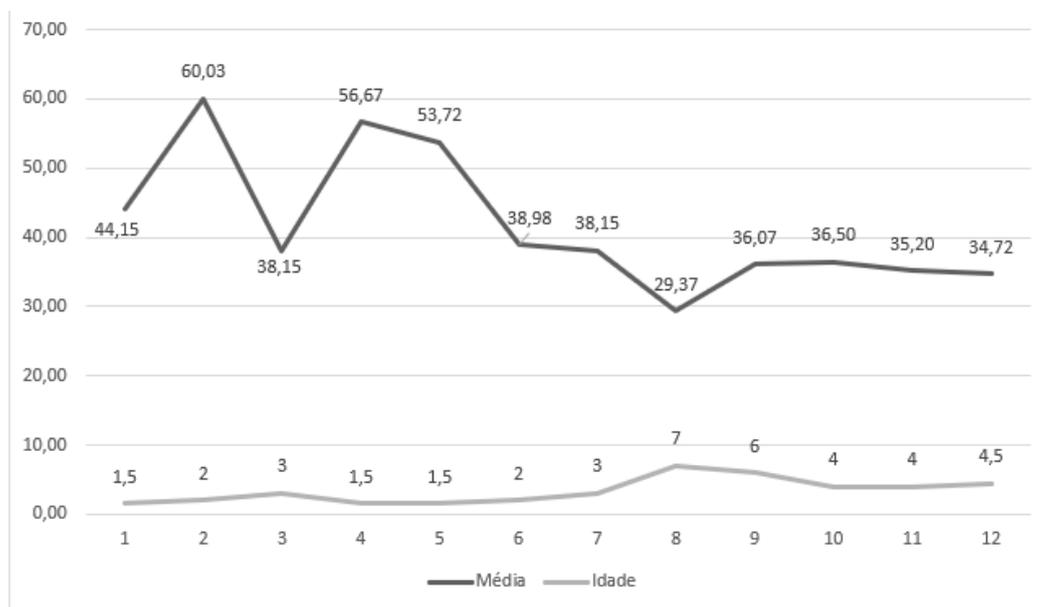


Fig.6. Relação entre ecogenicidade e idade da glândula vesicular esquerda bovinos.

O valor numérico da ecotextura, representado pela amplitude de variação do eco (AVE) se mostrou maior em animais mais velhos e menor em animais mais jovens. Observou-se um aumento progressivo desses dos valores numéricos de ecotextura conforme a idade dos animais aumentava (Figura 7 e 8).

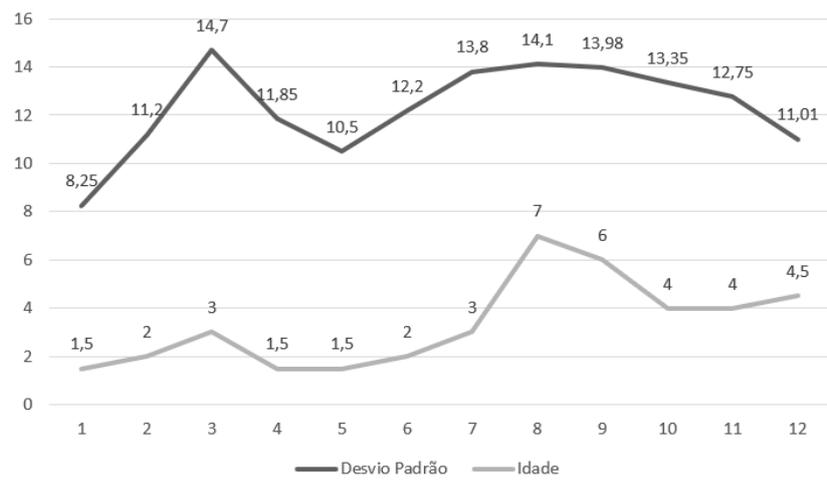


Fig. 7. Relação entre ecotextura e idade da glândula vesicular direita de bovinos

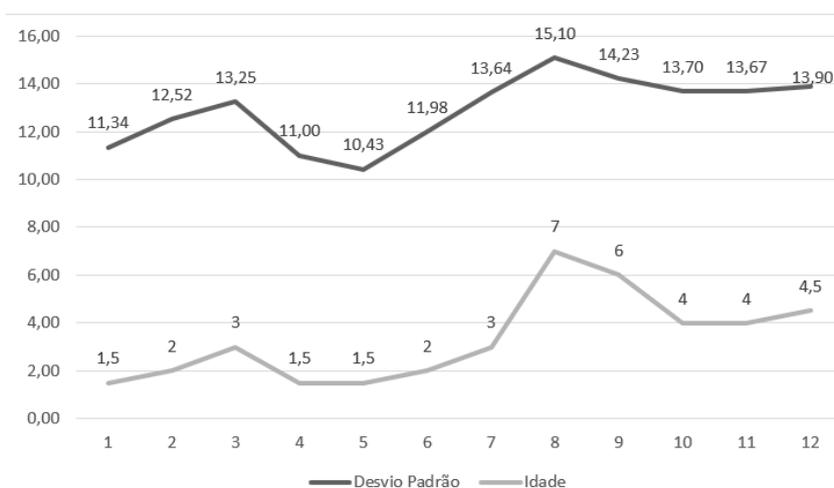


Fig. 8. Relação entre ecotextura e idade da glândula vesicular esquerda de bovinos

DISCUSSÃO

Conforme Cardilli et al. (2014) e Oliveira (2018) as glândulas vesiculares de bovinos são estruturas irregulares e lobuladas, possuem padrão ultrassonográfico homogêneo, com baixa ecogenicidade, seus lóbulos são isocócicos separados por regiões hipoecóicas circundada por uma membrana hiperecóica, o que condiz com os achados ultrassonográficos obtidos neste trabalho.

Diversos estudos trazem tentativas de emprego de uma metodologia menos subjetiva da técnica ultrassonográfica, como Camela (2015) que realizou uma caracterização de glândulas acessórias de ovinos da raça dorper utilizando análise quantitativa. Veloso Neto (2017) realizou estudo quantitativo da degeneração testicular de ovinos, entre outros estudos de diversos órgão de diversas espécies. Porém estudos específicos quantitativos de glândulas vesiculares de bovinos até o momento não foram realizados.

Na avaliação testicular de ovinos Veloso Neto (2017) observou que a ecogenicidade aumentava em uma relação direta com a idade, assim animais mais velhos apresentavam maiores valores. Neste estudo, à avaliação de glândulas vesiculares houve uma relação inversamente proporcional em relação à idade. Valores de ecogenicidade foram menores em animais mais velhos e animais mais jovens apresentarem valores menores. Este fato pode estar relacionado ao processo de maturidade sexual destes animais. Valores referentes à ecotextura apresentaram uma relação progressiva com a idade, conforme aumentou idade dos animais os valores de ecotextura também aumentavam, animais mais velhos apresentaram maiores valores e animais mais jovens menores valores.

Quando comparada a análise qualitativa e análise quantitativa observou-se que foram obtidas conclusões similares.

CONCLUSÃO

A análise quantitativa de histograma em escala de cinza se mostrou como uma técnica promissora condizendo com os achados qualitativos na análise ultrassonográfica, porém a ausência de estudos deste tipo faz com que esta ainda não seja uma técnica aplicável na rotina clínica, requerendo portanto, mais estudos comparativos entre os dois tipos de avaliação visando a comprovação de sua aplicação no intuito de diminuir a subjetividade na ultrassonografia e estabelecimento de um padrão numérico referentes a ecogenicidade e ecotextura de glândulas vesiculares de bovinos.

REFERÊNCIAS

- Amorim, A.K.G.A. 2010. Ultrassonografia dos testículos e epidídimos de carneiros jovens na fase puerperal. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife. 90p.
- CAMELA, E. S. C. 2015. Ultrassonografia de glândulas genitais acessórias em carneiros da raça dorper – caracterização e correlações reprodutivas. Dissertação de Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 78p.
- Cardilli, D. J., Sales, J. N.S., Canola, J. C. 2014. Ultrassonografia do Sistema Reprodutor Masculino de Bovinos. p. 127-140. In: Feliciano, M. A.R., Oliveira, M. E. F.; Russiano, W.R., Ultrassonografia na Reprodução Animal, 1ª ed. Medvet, São Paulo.
- Chandolia, R.K., Honaramooz, A., Omeke, B.C., Pierson, R., Beard, A.P. & Rawlings, N.C. 1997. Assessment of development of the testes and accessory glands by ultrasonography in bull calves and associated endocrine changes. *Theriogenology*. (48)1:119-132.
- Nepomuceno, A. C. Canola, J.C., Oliveira, M.E.F, Avante, M.L. Princípios Físicos da Ultrassonografia e Aplicações na Reprodução Animal. p.1-15. In: Feliciano, M. A. R., Oliveira, M. E. F, Vicente, W. R. R. 1ª ed. Med Vet, São Paulo.
- Oliveira, M. E. F., Dias, L. M. K., Feliciano, M. A. R. Ultrassonografia do Sistema Reprodutor de Pequenos Ruminantes. p.162-176. In: Feliciano, M. A. R., Oliveira, M. E. F, Vicente, W. R. R. 1ª ed. Med Vet, São Paulo.

Ribeiro, M.S., Quirino, C. R., Bartholazzi Junior, A., & Pacheco A. 2017. Biometry and ultrasound evaluation of testicles and accessory glands in Santa Ines rams. **Revta Brasileira de Zootecnia**.(46): 4317-323.

Veloso Neto, H. F. 2017. Ultrassonografia quantitativa da degeneração testicular induzida em ovinos. Tese de Doutorado. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife. 85p.

4.2. ARTIGO 2:
Avaliação de diferentes técnicas de diagnóstico para adenite vesicular em
bovinos
(Artigo a ser submetido a Revista Pesquisa Veterinária Brasileira)

Avaliação de diferentes técnicas de diagnóstico para adenite vesicular em bovinos

Laís Q. B. Freire¹, Antonio B. S. Filho², Wisley S. Moraes¹, Ueliton A. de Lima¹, Marcelo Mendonça¹, Jobson Filipe de P. Cajueiro², Gustavo Ferrer Carneiro²

ABSTRACT.- Freire, L.Q.B.; Silva Filho, A.B.; Moraes, W. S.; Lima,U.A.; Mendonça, M.; Cajueiro, J.F.P. & Carneiro, G.F. 2021. Evaluation of diferente diagnostic for vesicular adenitis in cattle. ¹Universidade Federal do Agreste de Pernambuco – UFAPE, Av. Bom Pastor, s/n - Boa Vista, Garanhuns - PE, 55292-270, Brazil. ¹Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, Av. Dom Manuel de Medeiros s/n – Dois Irmãos, Recife-PE, 52171-900, Brazil. E-mail: laisqfreire@gmail.com

Vesicular adenitis is an inflammatory process in the vesicular glands that can affect several domestic animals. Despite being reported as an uncommon disease, cattle are considered the most affected species. It is caused by vírus, bacteria, protozoa, fungi, but mainly by bacteria. It presents nonspecific or absent clinical signs, which makes its early diagnosis even more complex in the practical routine. This study aims to evaluate the efficiency of diferent diagnostic techniques for an early detection of vesicular adenitis in bulls. For this, a study was conducted comparing three different types of diagnostic techniques: transrectal palpation, ultrasonography and microbiological evaluation. Twenty-three cattle, males, zebu mixed bred, from slaughterhouse of the city of Garanhuns-PE, were used. The evaluations were carried out 24 hours before slaughter. Initially, transrectal palpation was performed, followed by ultrasound evaluation using an ultrasound device Aquila Vet Bisound Esaote®, a linear transrectal transducer with a frequency ranging from 5.0 – 7.5 MHz, with movements on the dorsal surface and longitudinal plane of the glands, After slaughter, the glands were aseptically collected and sent for microbiological processing at the Pernambuco Animal Reproduction Laboratory (LABRAPE) from UFAPE-UAG. Isolates were Microbiologically identified and classified. As results, 8.7% of the animals (2/23) presented alterations to transrectal palpation, in 26.08% (6/23) of the animals alterations were identified during ultrasonography and 56.5% (15/23), presented microbiological growth. A total of seven distinct microorganisms were isolated, and different bacteria were identified in the same individual. There was a significant correlation between microbiology results and transrectal palpation and microbiology results and ultrasound results. It was concluded that rectal palpation and ultrasonography did not show as effective technique in the early diagnosis of vesicular adenitis, being more efficient in cases where there were evident and palpable alterations in the glandular parenchyma. Therefore, its association with complementary techniques such as bacterial culture is recommended to achieve a more accurate diagnosis.

INDEX TERMS: Diagnosis, vesicular adenitis, bovine, ultrasonography, microbiology, transrectal palpation.

RESUMO

A adenite vesicular é um processo inflamatório nas glândulas vesiculares que pode acometer diversos animais domésticos. Apesar de ser relatado como uma enfermidade pouco frequente, bovinos são considerados como a espécie mais acometida. Pode ser causada por bactérias, vírus, protozoários, fungos, mas principalmente por bactérias. Apresenta sinais clínicos inespecíficos ou ausentes, o que torna seu diagnóstico precoce ainda mais complexo na rotina prática. Este trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência de diferentes técnicas diagnósticas para detecção precoce de adenite vesicular em bovinos. Para isto foi realizado um estudo comparando três diferentes tipos técnicas de diagnóstico: palpação transretal, ultrassonografia e avaliação microbiológica. Foram utilizados 23 bovinos, machos, SRD (mestiços de zebuínos), oriundos do abatedouro municipal da cidade Garanhuns-Pernambuco. As avaliações foram realizadas 24h antes do abate. Inicialmente foi realizada palpação transretal, logo em seguida era realizada avaliação ultrassonográfica, utilizando aparelho de ultrassonografia Aquila Vet Bisound Esaote®, com transdutor transretal linear na frequência de 5,0 – 7,5 MHz, com movimentos sobre a superfície dorsal e plano longitudinal das glândulas. Após o abate as glândulas eram coletadas assepticamente e encaminhadas para processamento microbiológico no Laboratório de Reprodução Animal de Pernambuco (LABRAPE) da UFRPE-UAG. Isolados microbiológicos foram classificados e identificados. Como resultados, 13,04% dos animais apresentaram alterações à palpação transretal, em 26,08% dos animais foram identificadas alterações durante a ultrassonografia e 56,52% apresentou crescimento microbiológico. Foram isolados um total de sete microorganismos distintos, sendo identificado em alguns casos bactérias diferentes em um mesmo indivíduo. Houve correlação significativa entre resultados de microbiologia e palpação transretal e ultrassonografia e microbiologia. Conclui-se que a palpação retal e a ultrassonografia não se mostraram como técnicas eficazes no diagnóstico precoce de adenite vesicular, sendo mais eficiente em casos onde existem alterações evidentes e palpáveis no parênquima glandular. Portanto indica-se a sua associação a técnicas complementares como a cultura bacteriana para atingir um diagnóstico mais preciso.

Termos Indexados: Diagnóstico, adenite vesicular, bovinos, ultrassonografia, microbiologia, palpação transretal

INTRODUÇÃO

Alterações funcionais ou no desenvolvimento do trato genital são uma das principais causas de redução da eficiência reprodutiva (Grunert et al. 2005). A avaliação reprodutiva dos machos com o uso do ultrassom não é realizada de forma rotineira, porém seu uso se mostra como um importante teste complementar, especialmente no caso de distúrbios subclínicos (Gabor et al. 1998).

Patologias do sistema reprodutor podem ter origem degenerativa, de desenvolvimento, inflamatórias ou neoplásicas (Grunert et al. 2005, Nascimento & Santos, 2011). A vesiculite seminal ou adenite vesicular é resultado do processo inflamatório agudo ou crônico de glândulas vesiculares, comumente observada em animais domésticos e principalmente em touros reprodutores. Pode ser uni ou bilateral, restrita à glândula ou pode acometer tecidos adjacentes (Hull & Vogel, 2008, Nascimento et al. 2016, Oliveira et al. 2018). Infecções bacterianas são a causa mais frequente desta enfermidade. Seus sinais clínicos são ausentes ou inespecíficos (Rovay et al. 2008).

O diagnóstico de adenite vesicular rotineiramente é realizado através da avaliação andrológica, pela avaliação de glândulas acessórias por palpação transretal e avaliação ultrassonográfica, e em alguns casos a avaliação espermática macroscópica e microscópica e, menos frequentemente, espermocultura (Cardilli et al. 2014, Varner 2016).

A palpação transretal e o exame ultrassonográfico podem ser insuficientes no estabelecimento de um diagnóstico definitivo e precoce, por serem técnicas subjetivas, dependentes quase inteiramente da habilidade e experiência do avaliador, sendo necessária em alguns casos a realização de métodos de diagnóstico mais específico e de maior custo, como avaliação endoscópica e cultura microbiana (Varner 2016, Silva, 2014). Diante deste contexto objetiva-se determinar a eficiência de 3 diferentes técnicas e sua correlação no diagnóstico de adenite vesicular em bovinos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Local e Animais. Foram avaliados 23 bovinos, machos, SRD (mestiços de zebuínos), oriundos do abatedouro municipal da cidade Garanhuns-Pernambuco, submetidos a avaliação prévia e posterior ao abate. Foram coletados valores referentes ao peso, idade, escore corporal, circunferência escrotal e avaliada a presença de alterações testiculares.

Avaliação Ultrassonográfica. Os animais foram submetidos a palpação transretal e avaliação ultrassonográfica das glândulas vesiculares utilizando aparelho ultrassonografia Aquila Vet Bisound Esaote®, transdutor transretal linear na frequência de 5,0 – 7,5 MHz, com movimentos sobre a superfície dorsal, plano longitudinal das glândulas. As imagens foram armazenadas em dispositivo de memória removível (SanDisk Cruzer Blade®) para posterior avaliação. A diferenciação entre animais positivos e negativos se deu a partir do padrão de imagem observado em casos de adenite vesicular conforme proposto por Cardilli et al. (2014) e Oliveira et al. (2018).

Avaliação microbiológica para animais oriundos de abatedouro. Após o abate dos animais as glândulas foram coletadas, acondicionadas adequadamente, transportadas e encaminhadas ao Laboratório de Reprodução Animal de Pernambuco (LABRAPE) da UFRPE- UAG.

Eram então dissecadas, higienizadas com Gluconato de Clorexidina 2%, medidas e levadas à capela de fluxo laminar, abertas com auxílio de lâmina de bisturi estéril, posteriormente com auxílio de um swab, coletado material para avaliação microbiológica, conforme Bezerra et al., (2012) adaptado. As amostras coletadas por swab foram semeadas em meio BHI (Brain Heart Infusion - Becton Dickinson - BD®, Heidelberg, Alemanha) e incubadas em estufa sobre aerobiose a $\pm 37^{\circ}\text{C}$ por 24-48 horas. Após este período amostras que apresentavam indicação de crescimento bacteriano eram semeadas em Agar Sangue de Carneiro 6% (v/v) e Agar Macconkey (HiMedia laboratories) e posteriormente incubadas novamente em estufa sob aerobiose na temperatura de $\pm 37^{\circ}\text{C}$ por até 48 horas. Após este período foram avaliadas as características de crescimento das colônias nas placas, como produção de hemólise, pigmento e características morfotintoriais. Também foram realizadas a confecção de lâminas pelo método de coloração Gram de acordo com Quinn et al. (2005), para diferenciação entre cocos e bacilos Gram positivos ou Gram negativos, posteriormente submetidos à prova da Catalase e Oxidase. Para identificação de bacilos Gram negativos foram utilizadas as seguintes provas bioquímicas: produção de urease, Caldo Nitrato, teste de VM/VP (VM - reação de Vermelho de Metila; VP - reação de Voges- Proskauer), teste em Ágar SIM (S - produção de H₂S; I - produção de Indol; M - motilidade) e teste em Ágar Citrato (utilização do carbono do citrato). Bacilos gram positivos foram submetidos ao teste de urease e à prova de hidrólise de bile esculina, então identificadas de acordo com a metodologia de Quinn et al. (2005) e ANVISA (2004). Para identificação dos cocos Gram positivos catalase positivas, foram utilizados os seguintes testes: Teste resistência a Bacitracina e Novobiocina e Coagulase. Para identificação de cocos Gram negativos catalase negativa foi realizado CAMP-teste de acordo com a ANVISA (2004).

Análise estatística. Os dados foram submetidos à análise descritiva e representados por percentagem, média \pm desvio padrão. Correlação não paramétrica de Spearman foi aplicada para os diferentes métodos de diagnóstico da adenite vesicular. Todas as análises foram realizadas com auxílio do software estatístico RStudio (CORE TEAM, 2018).

RESULTADOS

Dados referentes ao peso médio, idade, escore corporal, circunferência escrotal e comprimento de glândulas vesiculares de bovinos machos pós abate podem ser encontradas na Tabela 1. Não foram observadas alterações testiculares.

Tabela 1. Descrição de características de avaliação prévia, perímetros escrotais e comprimento de glândulas vesiculares de bovinos submetidos aos diferentes métodos de diagnóstico de adenite vesicular

Características	Valores
Peso (kg)	532,78±81,49
Idade (anos)	3,30±1,08
Escore corporal	3,24±0,42
Circunferência escrotal (cm)	32,74±3,04
Comprimento de glândula vesicular direita (cm)	13,09±1,82
Comprimento de glândula vesicular esquerda (cm)	12,57±1,95

Valores são média ± desvio padrão, exceto quando especificado.

Todos os animais foram submetidos a palpação transretal, avaliação ultrassonográfica e avaliação microbiológica, em alguns casos foram observados resultados positivos em mais de um teste para um mesmo animal, em outros haviam animais com apenas um ou dois dos testes positivos, havendo assim uma variação entre testes positivos. Na avaliação por palpação transretal 13,04 (3) dos animais apresentaram perca de alterações, 26,08 (6) na ultrassonografia e 56,5% (15) dos animais tiveram cultura bacteriológica positiva (Tabela 2). Observou-se que em 4,34% (1) apresentou alterações bilaterais na palpação transretal, mesmo resultado obtido na avaliação ultrassonográfica. Na avaliação microbiológica obteve-se resultado positivo de maneira bilateral em 21,7% (5) dos isolados (Tabela 3).

Tabela 2. Avaliação de glândulas vesiculares em bovinos

Método	Total	
	Positivo	Negativo
Palpação (n, %)	3 (13,04)	20 (86,95)
Ultrassonografia (n, %)	6 (26,08)	17 (73,90)
Microbiologia (n, %)	13(56,5)	15(65,20)

Tabela 3. Avaliação das glândulas vesiculares de bovinos pelos métodos de palpação transretal, análise microbiológica e ultrassonografia.

	Método	Bilateral		
		Positivo	Negativo	
Foram correlações positivas e	Palpação Transretal (n, %)	1 (4,34)	22 (91,3)	observadas
	Ultrassonografia (n, %)	1(4,34)	22 (95,65)	
	Microbiologia (n, %)	5 (21,7)	18 (78,2)	

significativas ($P < 0,05$) entre os testes de microbiologia e palpação transretal ($\rho = 0,3654$) e entre microbiologia e ultrassonografia ($\rho = 0,3086$). As relações positivas e significativas entre esses testes indicam correspondência entre as técnicas avaliadas no diagnóstico de adenite vesicular em bovinos. Por outro lado, apesar de positiva ($\rho = 0,2632$), a correlação entre os resultados dos testes por ultrassonografia e palpação transretal não foi significativa (Tabela 4).

Tabela 4. Correlação de Spearman entre os métodos de palpação transretal, análise microbiológica e ultrassonografia) utilizados no diagnóstico de adenite vesicular em bovinos.

Variable	by Variable	Spearman ρ	Prob> ρ
Ultrassonografia	Palpação	0,2632	0,0806
Microbiologia	Palpação	0,3654	0,0136*
Microbiologia	Ultrassonografia	0,3086	0,0392*

*Significativo pelo teste tem até 5% de probabilidade.

Nas culturas bacterianas positivas foi isolado um total de 7 microrganismos, na seguinte frequência: *Arcanobacterium* spp 5,26% (1), *Corynebacterium* spp. 31,57 % (6), *Klebsiella* spp. 5,26% (1), *Staphylococcus aureus* 5,26 (1), *Staphylococcus coagulase negativa* 15,78% (3), *Streptococcus* 26,31% (5), *Proteus* spp. 10,52% (2) (Tabela 5).

Tabela 5. Microrganismos identificados nas glândulas vesiculares de bovinos pós-abate

Microrganismos identificados	Valores
<i>Arcanobacterium</i> spp. (n, %)	1 (5,26)
<i>Corynebacterium</i> spp. (n, %)	6 (31,57)
<i>Klebsiella</i> spp. (n, %)	1 (5,26)
<i>Staphylococcus aureus</i> (n, %)	1 (5,26)
<i>Staphylococcus</i> . Coagulase negativa (n, %)	3 (15,78)
<i>Streptococcus</i> spp. (n, %)	5 (26,31)
<i>Proteus</i> spp. (n, %)	2 (10,52)

*Valores são número de animais e percentual.

DISCUSSÃO

Foram observadas consideráveis diferenças entre as técnicas de diagnóstico avaliadas. Segundo Santos & Nascimento (2016) a palpação transretal é uma técnica que pode ser utilizada rotineiramente no diagnóstico de adenite vesicular. Neste estudo foram observadas alterações na palpação transretal em apenas 2 touros (8,7%). Conforme Cavalieri & Camp (1997), deve haver alterações palpáveis na arquitetura da glândula para que o diagnóstico através da palpação transretal seja possível. Os autores também observaram que alguns animais o sêmen pode apresentar alterações, mesmo que não sejam observadas variações durante a palpação. Neste estudo observou-se que apenas animais com alterações significativas em seu parênquima foram diagnosticados através deste método, o que justificaria o menor número de animais identificados com alterações através de palpação transretal, o que poderia estar relacionado a ocorrência de uma infecção subclínica ou em estágio que ainda não gerou alterações palpáveis no parênquima vesicular destes animais.

As alterações ultrassonográficas encontradas condizem com a descrição proposta por diversos autores (Cavalieri & Van Camp 1997, Hull & Vogel 2008, Cardilli et al. 2014, Oliveira et al. 2018). Na avaliação ultrassonográfica foram observadas alterações em 6/23 (26,08%) dos animais avaliados em abatedouro, o que difere dos dados obtidos por Oliveira 2018 que observou alterações em 73,8% dos indivíduos avaliados e Gonzalez 2019 que observou alterações em 44,1% dos animais. Isso pode ser justificado pelas diferenças de método de criação dos animais, idade e sua origem. A criação em confinamento pode predispor à vesiculite, e animais mais jovens sexualmente maduros e idosos são mais acometidos, conforme Hull & Vogel (2008), Rovay et al. (2008).

Diferentemente de Oliveira (2018), os animais deste estudo eram criados em sistema extensivo e estavam mantidos em propriedades diferentes. É importante destacar que a adenite vesicular é uma enfermidade infecciosa, dessa forma o contato direto entre os animais pode predispor a uma maior disseminação da enfermidade. A origem racial e idade dos animais também pode ter influenciado nesse resultado. Outro aspecto importante é que Oliveira (2018) avaliou

taurinos e animais mais jovens e neste trabalho foram avaliados animais mestiços de zebuíno e maiores de 24 meses.

Na avaliação microbiológica 15/23 (56,5%) apresentaram resultado positivo, o que indica a cultura como um teste eficiente mesmo em casos onde ainda não há alterações na arquitetura da glândula, condizendo com Varner 2016 que propõe a cultura microbiana do líquido seminal como uma técnica eficiente e precoce no diagnóstico da adenite vesicular, o que corrobora com os achados deste trabalho.

Quando comparados os testes observou-se maior frequência de resultados positivos na microbiologia (56,5%), quando comparada à avaliação ultrassonográfica (21,7%), apesar de não haver, até o momento, estudos comparativos destes métodos de avaliação, resultados similares utilizando peças de abatedouro foram obtidos por Vogel 2008 que comparou o exame andrológico (0,85%) versus avaliação de peças de abatedouro (49%).

Foram observadas correlações significativas entre avaliação ultrassonográfica e microbiologia e também entre palpação transretal e microbiologia, porém não foram observadas correlações significativas entre palpação transretal e ultrassonografia. Todos os animais positivos no teste de palpação transretal ou ultrassonografia foram positivos também na microbiologia, porém houve animais com microbiologia positiva, mas sem alterações nos demais testes. Apenas um animal foi positivo em todos os testes, e em três casos na ultrassonografia e microbiologia. A palpação transretal e a ultrassonografia são testes subjetivos frequentemente, utilizados, porém podem não ser conclusivos em casos onde não existem alterações significativas do parênquima glandular, sendo técnicas muitas vezes insuficientes para estabelecimento de diagnóstico conclusivo, diante disto é importante a que testes complementares como a cultura microbiana sejam realizados (Varner 2016, Pozor 2005).

Segundo Oliveira 2018, a ultrassonografia pode ser usada como uma forma precoce e preventiva de diagnóstico, o que difere dos achados deste trabalho. Observou-se que a ultrassonografia foi inconclusiva em casos onde não havia acometimento significativo do parênquima da glândula.

Foram isoladas sete diferentes bactérias neste estudo, *Arcanobacterium spp.* 5,26% (1), *Corynebacterium spp.* 31,57 % (6), *Klebsiella spp.* 5,26% (1), *Staphylococcus aureus* 5,26 (1), *Staphylococcus coagulase negativa* 15,78% (3), *Streptococcus* 26,31% (5), *Proteus spp.* 10,52% (2), condizendo com os agentes isolados em casos de adenite vesicular encontrados na literatura (Cavalieri & Van Camp 1997, Nascimento & Santos 2011, Varner 2016, Nascimento et al. 2016). O agente mais frequentemente identificado foi *Corynebacterium spp* (31,57%) o que difere de Nascimento et al. (2016).

Alguns animais apresentaram cultura positiva em glândula direita e esquerda (bilateralmente), nestes casos foram observadas duas situações, em três dos animais foram isoladas bactérias diferentes entre as glândulas, em dois animais foi isolada a mesma bactéria, esta situação poderia estar associada as diferentes vias de infecção que podem ocasionar a adenite vesicular.

CONCLUSÃO

A adenite vesicular é uma enfermidade de diagnóstico complexo, os exames de palpação retal e ultrassonografia são ferramentas que podem auxiliar no diagnóstico, porém para que seja eficiente é necessário que o parênquima apresente lesões significativas, alterando sua estrutura o que nem sempre ocorre dependendo do nível da infecção. Desse modo, essas técnicas nem sempre se mostram totalmente confiáveis sendo pouco eficientes para um diagnóstico precoce, assim recomenda-se sua associação de testes complementares como a cultura microbiana para um diagnóstico mais conclusivo.

REFERÊNCIAS

- ANVISA. Detecção e Identificação de Bactérias de Importância Médica. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/servicos/medica/microbiologia/mod_5_2004.pdf> Acesso em: 02 de janeiro de 2021
- Bezerra, M. J.G; Santos,A.S.,Cruz,J.A.L.O.,Kung,E.S.,Sá,S.G.,Jabour,S.G.,Brito,M.F,Mota,R.A. 2012.Epididimite ovina por *Actinobacillus seminis* no Estado de Pernambuco. *Pesquisa Veterinária Brasileira*.(32)5:2012
- Cardilli, D. J., Sales, J. N.S., Canola, J. C. 2014. Ultrassonografia do Sistema Reprodutor Masculino de Bovinos. p. 127-140. In: Feliciano, M. A.R., Oliveira, M. E. F.; Russiano, W.R., *Ultrassonografia na Reprodução Animal*,1ª ed. Medvet, São Paulo.
- Cavaliere, J. & VAN CAMP, S.D. 1997.Bovine Seminal Vesiculitis. *Veterinary Clinics Of North America. Food Animal Practice*. (13)2:233-241.
- Gábor,G.,Sasser,R.G.,Kastelic,J.P.,Mézes,M.,Falkay,Gy.,Bozó,S., Csik,J.V., Bárány,I.,Hidas,A., Szász Jr,F. & Boros,G.1998. Computer analysis of video and ultrasonographic images for evaluation of bull testes.*Theriogenology*.(50)2: 23-228
- Gonzalez,S.M,Arantes,D.C.,Meneghetti,S.L.N.,Arruda,T.C.M.A.,Polini,V.R.,Stolf,R.L,Silva,C.B. & AtiqueNetto,H.2019. Ocorrência de alterações das glândulas sexuais acessórias de touros de rodeio através do exame ultrassonográfico.*Revta.Brasileira de Reprodução Animal*(43)4:809-814
- Grunert, E., Birgel, E. H. Vale, W. G. 2005. *Patologia e Clínica da Reprodução dos Animais Mamíferos Domésticos: Ginecologia*. 1ª ed. Varela, Rio de Janeiro, p. 15-18.
- Hull, B. L. & Vogel,S.R.2008. Seminal Vesiculitis. *Veterinary Clinics Of North America: Food Animal Practice*. (24)2: 267-272.
- Quinn,P.J.,Markey,B.K.,Carter,M.E,Donnelly, W.J.,Leonard,F.C. 2005.*Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas*. Artemed, Porto Alegre,p.55-38.
- Nascimento, E. F., Santos, R.L.2011. *Patologia da Reprodução dos Animais Domésticos*.3ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p.109
- Nascimento, E. F.; Santos, R. L., Edwards, J. F. 2016. Sistema Reprodutivo Masculino. p. 1302-1346. In: Santos, R.L., Alessi, A. C., *Patologia Veterinária*. 2ª ed. Roca, Rio de Janeiro.
- POZOR, M.,2005. Diagnostic applications of ultrasonography to stallion's reproductiv tract. *Theriogenology*.(64)5:505-509

Oliveira, R.P.L. Favaro,P.C.,Pereira,G.R,Barca Jr,F.A,Borges,M.H.F,Galdioli,VH.G.,Koetz Jr,C. 2018. Ultrassonografia no auxílio do diagnóstico de vesiculite seminal em touros de corte. Pesquisa Veterinária Brasileira.(38)6:1038-1042.

Rovay, H., Barth, A.D.,Chirino-Trejo, M.,Martínez,M.F. 2008.Update on treatment of vesiculitis in bulls. Theriogenology,(70)6:495-503.

SILVA, Y.F.R.S. 2014. Efeito do tratamento local de vesiculite seminal sobre a qualidade e longevidade do sêmen equino. Dissertação de mestrado. Universidade Estadual Paulista,Botucatu.124p.

VARNER, D.D. 2016.Approaches to breeding soundness examination and interpretations of results. Journal of Equine Veterinary Science. (43):37-44.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Termo de livre consentimento



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

UNIDADE ACADÊMICA DE GARANHUNS
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Convidamos o Sr(a) _____, a participar da Pesquisa intitulada “AVALIAÇÃO ULTRASSONOGRÁFICA NO DIAGNÓSTICO DE ADENITE VESICULAR EM BOVINOS”, sob a responsabilidade da pesquisadora Laís Querino Barboza Freire, a qual pretende determinar a eficiência da ultrassonografia no diagnóstico de adenite vesicular em touros de animais abatidos no abatedouro da cidade de Garanhuns, no estado de Pernambuco e oriundo de cidades circunvizinhas.

Sua participação com seu animal é voluntária e se dará por meio de avaliação ultrassonográfica de touros previamente ao abate e coleta de glândulas vesiculares após o abate.

Se você aceitar participar, os resultados decorrentes do estudo com seus animais estarão contribuindo para desenvolvimento desta pesquisa e melhoria na determinação de um diagnóstico mais eficiente de adenite vesicular.

Se depois de consentir em sua participação o Sr desistir de continuar participando, tem o direito e a liberdade de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, seja antes ou depois da coleta dos dados, independente do motivo e sem prejuízo a sua pessoa.

O Sr(a) _____ não terá despesas e também não receberá remuneração. Os resultados da pesquisa serão analisados e publicados, mas sua identidade e de seus animais não serão divulgadas, sendo guardada em sigilo.

Consentimento Pós-Informação

Eu, _____, fui informado sobre o projeto “AVALIAÇÃO ULTRASSONOGRÁFICA NO DIAGNÓSTICO DE ADENITE VESICULAR EM BOVINOS”, que o pesquisador quer fazer e porque precisa da minha colaboração, e entendi a explicação. Por isso, eu concordo em participar do projeto, sabendo que não vou ganhar nada e que posso sair quando quiser.

Este documento foi emitido em duas vias que serão ambas assinadas por mim e pelo pesquisador, ficando uma via com cada um de nós.

Data: _____

Assinatura do participante
Impressão do dedo polegar

APÊNDICE B – Ficha de Avaliação

Nº _____

FICHA DE AVALIAÇÃO

Data ____/____/____

Animal Nº _____

Idade _____

Raça _____

Escore _____ Peso _____

Circunferência escrotal _____ Tam: D _____ E _____

Alterações em testículo S () N () (Em caso afirmativo descreva a alteração observada)

Alterações Vesiculares - Unilaterais () Bilaterais () Sem Alterações ()

D () E ()

Achados de Palpação

Achados de US

Sugestivo de Adenite vesicular: Sim () Não () Inconclusivo ()

ANEXOS

ANEXO A - Licença CEUA/UFRPE



*Comissão de Ética no
Uso de Animais*

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Determinação de ocorrência da vesiculite seminal em touros e isolamento de agente etiológico.", protocolada sob o CEUA nº 5495230620 (00 000000), sob a responsabilidade de **Gustavo Ferrer Carneiro** e equipe; **Lais Querino Barboza Freire**; **UELITON ASSIS DE LIMA**; **Antonio Brito da Silva Filho**; **Marcelo Mendonça** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal Rural de Pernambuco (CEUA/UFRPE) na reunião de 12/08/2020.

We certify that the proposal "Determination of occurrence of seminal vesiculitis in bulls and isolation of aetiological agent.", utilizing 100 Bovines (100 males), protocol number CEUA 5495230620 (00 000000), under the responsibility of **Gustavo Ferrer Carneiro** and team; **Lais Querino Barboza Freire**; **UELITON ASSIS DE LIMA**; **Antonio Brito da Silva Filho**; **Marcelo Mendonça** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Rural Federal University of Pernambuco (CEUA/UFRPE) in the meeting of 08/12/2020.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa (Acadêmica)**

Vigência da Proposta: de 10/2020 a 10/2022

Área: **Medicina Veterinária**

Origem: **Não aplicável biotério**

Espécie: **Bovinos**

sexo: **Machos**

idade: **1 a 3 anos**

N: **100**

Linhagem: **Mestiços de zebuínos**

Peso: **100 a 350 kg**

Local do experimento: **Abatedouro da Cidade de Garanhuns - PE**

Recife, 04 de março de 2021

Prof. Dr. Francisco de Assis Leite de Souza
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof. Dr. Carlos Fernando Rodrigues Guaraná
Vice-Coodenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal Rural de Pernambuco

ANEXO B Instruções aos Autores (Revista Pesquisa Veterinária)

Normas complementares empregadas nos Artigo 1 e 2

Normas complementares empregadas no Artigo 1. Disponível na página
<<http://www.pvb.com.br/portal/normas>>

Prezado Autor, para encurtar o máximo possível o tempo de avaliação de seu artigo, proceda seguindo os passos de submissão, conforme abaixo:

Escopo

Artigos para "Pesquisa Veterinária Brasileira" (PVB), uma Revista Brasileira de Pesquisa Veterinária, são submetidos em Word online através do ScholarOne, link <https://mc04.manuscriptcentral.com/pvb-scielo>

Os artigos serão publicados apenas em inglês. Os autores podem submeter seus artigos em inglês ou português (por favor, ver Serviços de tradução), seguindo o modelo da revista - disponível nesse [link](#) - e os últimos fascículos publicados.

Para comprovar a qualidade do inglês, um certificado da língua inglesa emitido por instituição credenciada pela Pesq. Vet. Bras. (veja a lista em Serviços de tradução) pode ser feito.

Todos os autores devem se registrar no ORCID (Open Researcher and Contributor ID - <https://orcid.org/register>) e vinculá-lo ao seu perfil ScholarOne. O link pode ser feito editando o perfil do usuário no ScholarOne na opção Associate your existing ORCID iD. Os identificadores ORCID contribuem para a identidade singular dos autores e os processos de interoperação e bibliométricos. Usando o ORCID, os pesquisadores são fácil e corretamente conectados com seus resultados de pesquisa, publicações e afiliações.

A PVB publica Artigos Originais, Revisões Críticas da Literatura (essas últimas, por convite do Editor-Chefe) e Tópicos de Interesse Geral; nenhum tipo comunicação curta, nota ou relatos de caso são aceitos.

Os Artigos Originais devem conter resultados de pesquisas ainda não publicadas e não submetidas a outras revistas.

As Revisões da Literatura devem ser críticas e consistir em assuntos da linha de pesquisa do Autor.

Os Temas de Interesse Geral devem ser de grande importância e baseados na larga experiência dos autores.

As opiniões e conceitos emitidos são da responsabilidade dos autores. O Conselho Editorial da revista, auxiliado pela revisão pelos pares, pode sugerir ou solicitar modificações no texto.

Os direitos do autor dos artigos aceitos são preservados.

Organização e elaboração do manuscrito

1. Organizar o artigo em TITLE, ABSTRACT, RESUMO, INTRODUCTION, MATERIAL AND METHODS, RESULTS, DISCUSSION, CONCLUSION(S) (os três últimos preferencialmente em capítulos separados), Acknowledgements, Conflict of interest statement, e REFERENCES
 - a. O TITLE deve ser conciso e indicar o conteúdo do artigo; informe detalhes de identificação científica nos MATERIAL AND METHODS.

- b. Os nomes de autores com vários nomes e sobrenomes **devem ser abreviados**, por exemplo, simplificar Claudio Severo Lombardo de Barros para Claudio S.L. Barros ou Barros C.S.L. O Autor para correspondência deve ser aquele que garanta o contato com o Conselho Editorial da PVB. Eleve mais uma vez os asteriscos para a chamada às notas de rodapé, para que pareçam maiores.
 - c. O cabeçalho do **ABSTRACT** deve conter os nomes abreviados e invertidos dos autores, o ano, o título e o endereço postal do laboratório ou instituição onde foi realizada a parte principal da pesquisa (compare sempre os autores do artigo e sua listagem no cabeçalho do **ABSTRACT** para evitar discrepâncias).
 - d. A nota de rodapé da primeira página deve conter o endereço profissional completo de cada autor (no idioma do país do autor onde a correspondência deve ser enviada, português, espanhol, inglês, etc.), bem como o e-mail sublinhado do Autor para correspondência.
 - e. O **ABSTRACT** deve ser uma versão explicada em português do **ABSTRACT**, seguido de “**INDEX TERMS**”, que devem incluir os termos do título, pois não são apenas “Termos Adicionais de Indexação.”
 - f. O **RESUMO** deve conter (1) o título [entre colchetes e em negrito] (2) o que foi investigado, indicando (2) os materiais e métodos utilizados, (3) os resultados mais importantes, e (4) a conclusão, seguida por “**TERMOS DE INDEXAÇÃO**” (que também incluem palavras do título, pois não são apenas “Termos Adicionais de Indexação.”)
 - g. A **INTRODUCTION** deve ser curta, com citação da literatura específica, seguida do objetivo da trabalho.
 - h. Em **MATERIAL AND METHODS** forneça todos os dados necessários para repetir o estudo.
 - i. Em **RESULTS** os dados obtidos são apresentados de forma concisa.
 - j. Em **DISCUSSION**, confronte seus resultados com os da literatura. Evite mencionar o desenvolvimento de pesquisas ou planejamentos futuros para evitar o comprometimento da revista em publicar os resultados de trabalhos ainda não realizados.
 - k. Baseie suas conclusões (**CONCLUSIONS**) apenas nos resultados.
 - l. Não mencione Agradecimentos (**Acknowledgements**) no texto ou notas de rodapé, mas após as **CONCLUSIONS**.
 - m. Declare qualquer conflito de interesses ou “nenhum” se for o caso.
 - n. Em **REFERENCES** (referências) devem incluir todas as citações consultadas e apresentadas cronologicamente no texto. Escreva a lista de referências em ordem alfabética e cronológica, começando pelo sobrenome do primeiro autor, seguido de todos os demais autores da respectiva referência, em caixa alta e caixa baixa. Cada autor deve ser separado apenas por uma vírgula, seguida pelo ano, título e os dados da publicação (por extenso, em caso de dúvida sobre abreviatura), conforme www.pvb.com.br.
2. **O estilo da revista deve ser seguido:**
- a. Fonte Cambria em pitch 10, espaço simples entre as linhas; página formato A4, com margens de 2cm (superior, inferior, esquerda e direita), texto justificado em uma coluna. Coloque as legendas das Figuras abaixo da lista de referências; não repita as legendas abaixo das imagens das Figuras. Envie figuras e tabelas separadas do texto principal.
 - b. **ABSTRACT** e **RESUMO** são escritos em apenas um parágrafo e não devem conter referências.
 - c. Os manuscritos devem ser concisos e, sempre que possível, escritos no pretérito.
 - d. Escreva os nomes científicos completos (p.ex. *Palicourea marcgravii*), no início de cada capítulo (**TÍTULO, ABSTRACT, RESUMO, INTRODUÇÃO**, etc.), quando aparecem pela primeira vez, seguido da abreviatura do gênero (p.ex. *P. marcgravii*).
 - e. Nos títulos das Tabelas e Legendas das Figuras, escreva os nomes científicos por extenso.
 - f. No texto, chamadas para notas de rodapé são feitas em algarismos arábicos, em ordem crescente ao longo de todo o manuscrito, sem o uso de “Inserir nota final” do Word. Nota: Não use espaços entre os números e suas unidades para evitar separá-los em duas linhas (p.ex.: 100ppm, 10mm, 50cm, 18x10cm, P<0,05. A abreviatura para número é “n°” e não “nº” ; para grau Celsius é “°C” e não “ºC”).
 - g. **Tabelas** e **Figuras** devem ser citadas no texto com seus respectivos números em ordem crescente.
 - h. Abreviaturas de instituições, quando apresentadas pela primeira vez, devem ser colocadas entre parênteses após o nome completo da instituição.
 - i. As citações da literatura no texto são feitas por “autor e ano” (p.ex. Caldas 2005). Cite artigos com dois autores pelos dois nomes (p.ex. Pedrosa & Pimentel 2013). Cite no texto artigos com mais de dois autores pelo primeiro nome do autor seguido de “et al.” e o ano (p.ex. Brito et al. 2015). Se a citação de dois artigos for idêntica, faça a distinção acrescentando letras minúsculas após o ano de publicação (p.ex. Barros 2017a, 2017b). A ordem de citação no texto deve ser cronológica (p.ex. Barbosa et al. 2003, Armien et al. 2004).

- j. **Consulte o texto completo de todos os artigos citados;** se não for possível ler todo um determinado artigo, cite a referência original no texto do manuscrito como, p.ex., Bancroft (1921), e, então, na Lista de Referências, cite como Bancroft 1921. título. ... Nome do Periódico (Apud Suvarna & Layton 2013). Além disso, inclua, na íntegra, esta referência consultada (Suvarna & Layton 2013) na Lista de Referências.
- k. O uso de "comunicação pessoal" e "dados não publicados deve ser excepcional e citado no texto como Autor e Ano (Barbosa 2016), e na Lista de Referências como p Barbosa 2016. Personal communication (Universidade Federal do Pará, campus Castanhal, Brazil).
- l. As **Legendas das Figuras**(p.ex. "Fig.3.") deve ser suficientemente informativo para a compreensão (porque as Figuras são independentes do texto).
- m. Os **títulos das tabelas** devem ser escritos em **negrito**, e o cabeçalho (títulos das colunas) deve ser claro (não negrito), escrito em letras maiúsculas e minúsculas, e separados por duas linhas horizontais longas. Não há linhas verticais nem fundo cinza; excepcionalmente podem existir linhas horizontais. As notas de rodapé devem ser em letras minúsculas ou outros sinais, mas não em números arábicos. As tabelas devem ser submetidas em Word (não como imagens) para permitir correções de acordo com o estilo da revista.
- n. Dados complexos devem ser enviados como gráficos (mas referidos como Figuras) em 2D sem fundo cinza e linhas horizontais. Escreva gráficos, incluindo texto, em Cambria em 10 pitch.

3. Apresentação das Figuras

- a. **Formato e dimensão:** As imagens devem estar em formato TIF, canal RGB, comprimento de 85 mm e resolução de 300 dpi (pixel/polegada) para figuras coloridas e 600 dpi (pixel/polegada) para figuras em preto e branco (gráficos e mapas).
- b. **Numeração:** As figuras devem ser nomeadas separadamente e identificadas apenas por números na ordem em que são citadas no texto (Fig. 1, Fig. 2, Fig. 3, etc.). Não use letras, como Fig. 1A, 1B, 1C, etc., para identificar as figuras.
- c. **Identificação de estruturas:** Caso seja necessário destacar estruturas específicas dentro da imagem, utilizar fonte "Cambria 8 pontos", preto ou branco, ou setas pretas ou brancas dependendo do fundo da figura.
- d. **Micrografias:** as barras de escala não são obrigatórias.
- e. **Legendas:** Cada figura deve ter uma legenda autoexplicativa. Deve conter o que está na imagem, seguido de informações adicionais (Exemplo de formato da legenda de figura: Fig.1. Descrição da imagem. Diagnóstico, órgão ou tecido, espécie animal, número do caso. Método histoquímico (HE, PAS, etc.) ou imunohistoquímico (vimentina, etc.). Ao descrever aspectos da imuno-histoquímica, use o termo "marcação imunológica" em vez de "coloração" ou "positivo". Indique onde a "imunolmarcação" ocorreu (nuclear, citoplasmática ou membranosa) e em que extensão. As legendas das figuras devem aparecer no manuscrito principal, após referências.
4. **Todas as referências citadas no texto devem ser incluídas na lista de referências. Antes de enviar o artigo, as discrepâncias devem ser corrigidas pelo Autor. O sistema ScholarOne bloqueia automaticamente se tais disparidades existirem.Exemplos de Referências**

a. Artigos publicados em periódicos:

- Martins K.P.F., Fonseca T.R.S., Silva E.S., Munhoz T.C.P., Dias G.H.S., Galiza G.J.N., Oliveira L.G.S. & Boabaid F.M. 2018. Bócio em bovinos. *Pesq. Vet. Bras.* 38(6):1030-1037.
- Rondelli L.A.S., Silva G.S., Bezerra K.S., Rondelli A.L.H., Lima S.R., Furlan F.H., Pescador C.A. & Colodel E.M. 2017. Doenças de bovinos no Estado de Mato Grosso diagnosticadas no Laboratório de Patologia Veterinária da UFMT (2005-2014). *Pesq. Vet. Bras.* 37(5):432-440.
- Hooiveld M., Smit L.A., Wouters I.M., Van Dijk C.E., Spreeuwenberg P., Heederik D.J. & Yzermans C.J. 2016. Doctor-diagnosed health problems in a region with a high density of concentrated animal feeding operations: a cross-sectional study. *Environ. Health* 17:15-24.
- (**Notem:** Os iniciais dos autores devem ser colocados sem espaço. O sinal "&" é usado para separar o penúltimo do último autor. As primeiras letras das palavras do título de artigos publicados em periódicos científicos devem ser de preferência minúsculas. A palavra "Revista" deve ser abreviada como "Revta" em diferença a "Rev.", do inglês "Review". Deve-se indicar o número do respectivo volume do periódico e, se possível, também do fascículo. Somente abreviações tem um ponto, exceto as que terminam com a última letra da palavra em extenso. O traço entre as páginas é curto (-) e não comprido. Não devem ser usados "pontovírgulas" (;) em lugar de vírgulas.

b. Livros:

- Tokarnia C.H., Brito M.F., Barbosa J.D., Peixoto P.V. & Döbereiner J. 2012. Plantas Tóxicas do Brasil para Animais de Produção. 2ª ed. Helianthus, Rio de Janeiro, p.305-348.
- Marsh P. & Martin M. 1992. Oral Microbiology. 3rd ed. Chapman and Hall, London, p.167-196.

- (Notem: A primeira letra de termos do título de livros deve ser maiúscula. Devem ser mencionadas as páginas que foram consultadas, em vez do total de páginas do livro.)
- c. Capítulos de livros:
 - Barros C.S.L. 2007. Doenças víricas: leucose bovina, p.159-169. In: Riet-Correa F., Schild A.L., Lemos R.A.A. & Borges J.R.J. (Eds), Doenças de Ruminantes e Equídeos. Vol.1. 3ª ed. Pallotti, Santa Maria.
 - Tokarnia C.H., Brito M.F., Barbosa J.D., Peixoto P.V. & Döbereiner J. 2012. Plantas que afetam o funcionamento do coração, p.27-94. In: Ibid. (Eds), Plantas Tóxicas do Brasil para Animais de Produção. 2ª ed. Helianthus, Rio de Janeiro.
 - (Notem: As primeiras letras das palavras do título de capítulos de livros são minúsculas, mas as de livros são maiúsculas.)
- d. Dissertações e Teses:
 - Rech R.R. 2007. Alterações no encéfalo de bovinos submetidos à vigilância das encefalopatias espongiiformes transmissíveis. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria. 228p.
 - (Notem: (1) Deve-se evitar citações de Dissertações ou Teses; deve-se preferir citar artigos baseados nas mesmas e publicados em periódicos científicos que são de mais fácil acesso. (2) Não deve-se tentar de publicar o texto de Dissertação ou Tese praticamente na íntegra sem escrever um artigo conciso de seus resultados.)
- e. Resumos publicados em eventos:
 - Mendonça F.S., Almeida V.M., Albuquerque R.F., Chaves H.A.S., Silva Filho G.B., Braga T.C., Lemos B.O. & Riet Correa F. 2016. Paralisia laríngea associada à deficiência de cobre em caprinos no semiárido de Pernambuco (IX Endivet, Salvador, BA). Pesq. Vet. Bras. 36(Supl.2):50-51. (Resumo)
 - Pierezan F., Lemos R.A.A., Rech R.R., Rissi D.R., Kommers G.D., Cortada V.C.L.M., Mori A.E. & Barros C.S.L. 2007. Raiva em equinos. Anais XIII Encontro Nacional de Patologia Veterinária, Campo Grande, MS, p.145-146. (Resumo)
 - (Notem: Evitar na consulta o uso de Resumos ao invés de artigos na íntegra!)