

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL  
CURSO DE MESTRADO

ANESTESIA EPIDURAL PARA ELETROEJACULAÇÃO EM  
TOUROS

Ronaldo Cesar Pagliosa

CAMPO GRANDE - MS  
2013

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL  
CURSO DE MESTRADO**

**ANESTESIA EPIDURAL PARA ELETROEJACULAÇÃO EM TOUROS**

**Peridural anesthesia for electroejaculation in bulls**

**Ronaldo Cesar Pagliosa**

**Orientador: Prof. Dr. Deiler Sampaio Costa  
Coorientador: Prof. Dr. Rafael De Rossi**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Mato grosso do Sul, como requisito à obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Área de concentração: Produção Animal

CAMPO GRANDE - MS  
2013

## Resumo

PAGLIOSA, R. C. Anestesia epidural para eletroejaculação em touros. 2013. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2013.

Oito touros da raça Nelore com 30 meses de idade receberam solução fisiológica 0,9% (SS), lidocaína 2% (LD), xilazina 2% (XY) ou xilazina adicionado de hialuronidase (XYHY) por via epidural (Co1-CO2), com o objetivo de medir a dor, estresse e qualidade seminal associada à eletroejaculação. A frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR), pressão arterial de média (PAM), analgesia, características comportamentais e bloqueio motor foram determinados antes dos tratamentos e em intervalos pré-determinados. Uma escala subjetiva foi utilizada para avaliar a dor e o estresse durante a eletroejaculação. O início da ação anestésica foi mais rápida com o tratamento LD ( $3 \pm 1,2$  minutos) quando comparado aos tratamentos XY ou XYHY ( $8,9 \pm 1,5$  e  $5,5 \pm 2,6$  minutos, respectivamente,  $P < 0,05$ ). A comparação entre tratamentos mostrou uma redução significativa ( $P < 0,05$ ) no tempo de início de anestesia para o tratamento XYHY em relação ao tratamento XY. Com relação às características comportamentais, os tratamentos XYHY e XY demonstraram um menor desconforto que o tratamento LD, entretanto não foi diferente estatisticamente. As variações na FC, FR e PAM estavam dentro dos limites aceitáveis. A exposição peniana e emissão de sêmen ocorreram em todos os animais submetidos ao experimento, nos quatro tratamentos analisados. Não houve diferença significativa ( $P > 0,05$ ) para as características seminais entre o grupo controle (SS) e os tratamentos LD, XY, OU XYHY. A associação de xilazina e hialuronidase parece ser mais eficaz para reduzir a dor e o estresse durante a EEJ para coleta de sêmen do que XY ou LD. Outros estudos se fazem necessários para determinar se XYHY é uma alternativa viável para facilitar a emissão de sêmen pelo método de EEJ em touros da raça Nelore, que não estão habituados a esse manejo.

Palavras-chave: Eletroejaculação; analgesia epidural; comportamento; lidocaína; xilazina; touros

## Abstract

PAGLIOSA, R. C. Peridural anesthesia for electroejaculation in bulls. 2013. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2013.

Saline solution (SS), 2% lidocaine (LD), 2% xylazine (XY) alone, or XY and hyaluronidase (XYHY) were injected into the first intercoccygeal (Co1-Co2) epidural space in eight 30-month-old Nellore bulls with the aim of measuring pain and stress during electroejaculation (EEJ) and evaluating the quality of the semen samples obtained. Heart rate, respiratory rate, mean arterial pressure, analgesia, animal behavior, and motor blockade were evaluated before treatment and at predetermined intervals during and after treatment. Pain and stress were scored subjectively, and semen quality was evaluated. The onset of anesthetic action was significantly faster with LD ( $3 \pm 1.2$  min) than with XY or XYHY ( $8.9 \pm 1.5$  and  $5.5 \pm 2.6$  min, respectively;  $P < 0.05$ ), and the onset of anesthesia with XYHY was significantly faster than that with XY alone ( $P < 0.05$ ). Treatment with XY or XYHY resulted in less discomfort than treatment with LD, as indicated by animal behavior, although the differences were not statistically significant. Changes in heart rate, respiratory rate, and arterial pressure were within acceptable limits. Penile protrusion and semen emission occurred in all animals during all four treatments. There was no significant difference ( $P > 0.05$ ) in semen quality between the control group (SS) and the LD, XY, or XYHY group. Our results suggest that XYHY reduced pain and stress during EEJ more effectively than did XY or LD. Further experiments are necessary to determine whether EEJ with XYHY is feasible for obtaining semen from Nellore bulls unaccustomed to being handled or restrained.

*Keywords:* Analgesia peridural, behavior, bulls, electroejaculation, lidocaine, xylazine

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>2</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>6</b>
<b>ARTIGO -.....</b>	<b>10</b>
Abstract.....	11
Resumo.....	11
Introdução.....	12
Material e métodos.....	12
Resultados.....	13
Discussão e conclusão .....	14
Referências.....	16
Legendas das figuras.....	17
Quadro 1.....	18
Figura 1.....	19

## INTRODUÇÃO

Entre as várias técnicas utilizadas para a coleta de sêmen de animais, a eletroejaculação (EEJ) continua a ser o método mais comumente usado em touros (para realização de exame andrológico, por exemplo) e é particularmente útil em animais que não estão adaptados a esse tipo de procedimento. No entanto, embora EEJ seja muito eficaz em induzir a emissão de sêmen, é considerado um procedimento doloroso e estressante para os animais e foi proibido em vários países europeus (Mosure et al 1998; Palmer 2005), devido a preocupações sobre bem-estar animal (definido em termos de "cinco liberdades") (Mench 1998). Os estudos foram conduzidos com o objetivo de mensurar e diminuir a dor associada com este procedimento necessário (Mosure et al. 1998; Falk et al. 2001; Etson et al. 2004; Palmer 2005).

Em homens com sensação normal na região pélvica, a anestesia geral ou a anestesia epidural são usadas antes da EEJ (Ohl 1993) e o uso de anestesia epidural caudal em animais para reduzir a dor e estresse associados à EEJ tem sido estudado. A frequência cardíaca (FC) e as concentrações de progesterona e cortisol sérico tendem a ser menores em touros que recebem anestesia epidural caudal, no entanto, a anestesia não reduz significativamente a resposta ao estresse da EEJ (Mosure et al. 1998; Falk et al. 2001). A lidocaína (LD) é um anestésico local utilizado rotineiramente para a anestesia epidural caudal em bovinos em diversos procedimentos reprodutivos (Mosure et al.1998; Falk et al. 2001; Etson et al. 2004). Outros fármacos, tais como xilazina (XY) (Mosure et al. 1998) e cetamina (DeRossi et al. 2010) também possuem esta finalidade. A anestesia epidural caudal com XY pode reduzir a dor causada por espasmo da musculatura lisa retal ou pela estimulação da inervação intrapélvica (Mosure et al. 1998). Contudo, a XY possui a desvantagem de apresentar um retardo no início da analgesia (Caron & LeBlanc 1989; Caulkett et al. 1993). A Hialuronidase (HY) pode acelerar o início do bloqueio anestésico, aumentando a propagação de anestesia local (Watson 1993; DeRossi et al. 2011).

## EXAME ANDROLÓGICO

A fertilidade do macho em programas de reprodução é de fundamental importância, uma vez que pode se acasalar com um número grande de fêmeas, tanto nos sistemas de monta natural como na inseminação artificial. Para evitar a ocorrência de problemas de subfertilidade ou infertilidade nos machos, que por sua vez possam

comprometer os índices de fertilidade do rebanho, a realização de exames andrológicos se faz imprescindível na seleção dos reprodutores.

O exame andrológico completo fundamenta-se na avaliação de todos os fatores que contribuem para a função reprodutiva normal do macho, sendo essencial para avaliação do potencial reprodutivo de touros jovens e da aptidão reprodutiva de touros adultos. Este procedimento pode ser dividido em: exame clínico o qual é constituído pela anamnese e histórico clínico; exame físico compreendido pela avaliação da normalidade dos sistemas respiratório, circulatório, nervoso, digestivo, locomotor e reprodutor; espermiograma que consiste em coleta e análise do sêmen quanto à motilidade, vigor, turbilhonamento e morfologia das células espermáticas (Gonçalves et al. 2008).

## **MÉTODOS DE COLETA DE SÊMEN**

A coleta de sêmen em bovinos pode ser realizada por diferentes técnicas, dentre elas:

### **VAGINA ARTIFICIAL (VA)**

A vagina artificial consiste basicamente em um cilindro rijo com válvula, mucosa de borracha, tubo flexível e tubo coletor recoberto por uma capa térmica. Através da válvula do tubo coloca-se a água a temperatura de 39-41°C e regula-se a pressão. Antes da coleta, o prepúcio deve ser higienizado e a vagina artificial é mantida por um operador treinado, que se coloca ao lado da garupa da fêmea ou do manequim, desviando o pênis para dentro do aparelho no momento da monta. Após a coleta, o ejaculado deve ser mantido em banho-maria a 25 a 30°C (Salisbury et al. 1978).

A vagina artificial foi usada para coleta de sêmen anteriormente ao eletroejaculador. Esse método permite a avaliação da libido e da habilidade de monta do animal, obtenção de um ejaculado com maior densidade e concentração espermática, além de apresentar menores riscos de contaminação ambiental. Estas particularidades representam uma vantagem em relação à coleta de sêmen por outros métodos. O principal inconveniente desta técnica é a necessidade dos touros doadores de sêmen serem treinados a montar (Salisbury et al. 1978).

## MASSAGEM TRANSRETAL (MR)

A coleta de sêmen pela técnica de massagem transretal consiste na massagem sucessiva, por via retal, das glândulas vesiculares e das ampolas. O tempo necessário de massagem varia de animal para animal, podendo ser de alguns segundos até mais de dez minutos, sendo que a primeira fração obtida é secreção das glândulas vesiculares, seguida por uma fração rica em espermatozóides.

Utilizando a técnica de coleta de sêmen por massagem transretal (MR), realizou-se um experimento em dezoito touros, onde de cem tentativas de coletar sêmen por MR, o sucesso foi obtido oitenta e uma vezes em quinze touros (Miller & Evans 1934). Em outro experimento, vinte e quatro touros foram submetidos a coleta de sêmen pelo método de MR por dois minutos, comparado ao método de coleta de sêmen por eletroejaculação (EEJ). O sêmen foi obtido em apenas uma das noventa e seis tentativas por MR, em comparação com noventa e três de noventa e seis tentativas para EEJ (Palmer et al. 2004).

A técnica de coleta de sêmen por MR tem mostrado ser mais eficaz em touros mais velhos e em animais com temperamentos mais dóceis (Palmer et al. 2005).

## ELETROEJACULAÇÃO (EEJ)

O método da eletroejaculação foi primeiramente reportado em 1936 e induz a ejaculação por meio da estimulação elétrica na região da quarta vértebra lombar (Marden 1954).

O eletroejaculador é um aparelho composto por uma sonda retal acoplada a três eletrodos que emitem estímulos elétricos com intensidade de corrente regulável entre 0 e 1.000mA. A técnica da eletroejaculação consiste basicamente no exame transretal e relaxamento do esfíncter anal do touro, seguido do posicionamento da sonda retal. Posteriormente, a estimulação elétrica é aplicada cuidadosamente observando-se a reação do animal. Esta observação é importante para evitar que estímulos elétricos desnecessários causem contrações dos membros pélvicos e dorso do animal, podendo ocasionalmente resultar em contusões e rigidez que permanece por vários dias (Stafford 1995).

A estimulação elétrica é realizada aplicando-se estimulações de ondas rápidas de 200mA, com duração de dois a três segundos em intervalos de 0,5 segundos. A intensidade e o tempo de estimulação são aumentados progressivamente até a ejaculação. Uma vez que o animal libere o pré-ejaculado, aplicam-se estímulos de onda



longa, sendo mais intensos (acima de 300mA) e de duração mais prolongada (três a cinco segundos). O método de EEJ é bastante utilizado para avaliação de touros a campo, em animais não condicionados a vagina artificial ou ainda impossibilitados de efetuar a monta. Contudo, esse método não permite a investigação de animais com distúrbio de libido. (REFERENCIAR)

## **ESTRESSE**

O estresse é definido como uma resposta biológica do animal a fatores que desorganizam ou ameaçam a homeostasia. Um estímulo estressante é um fator físico, químico ou emocional ao qual o animal fracassa em realizar uma adaptação satisfatória, evocando respostas caracterizadas por ativação do sistema nervoso simpático, secreção de glicocorticóides, hipermetabolismo, retenção de sódio e água e alteração do metabolismo de carboidratos e proteínas (McDonald 1989).

Até mesmo sem estímulo doloroso, fatores ambientais podem produzir um estado de ansiedade ou medo que sensibiliza e amplifica a resposta de estresse à um estímulo doloroso. Quando o estresse é exagerado ou quando se permite que ele continue por um período prolongado, produz-se o distresse, que está presente quando o prejuízo biológico causado pelo estresse afeta negativamente as funções biológicas críticas ao bem-estar animal, ocasionando dor, sofrimento ou indisposição (Clark et al. 1997).

A resposta de estresse ocorre quando as informações sensoriais visuais, auditivas e somatossensoriais ativam o eixo hipotálamo-pituitária-adrenal. O hipotálamo é responsável pela secreção de hormônio liberador de corticotrofina (CRF), que é então transportada para hipófise anterior, onde induz a secreção de hormônio adrenocorticotrópico (ACTH). Este hormônio por sua vez estimulará o córtex adrenal para secretar cortisol. É esse conjunto de reações que leva a alterações fisiológicas e comportamentais observadas em animais sob estresse (Guyton & Hall 2006)

A ativação sensorial do hipotálamo resulta em aumentos graduais dos estímulos do sistema nervoso central simpático, resultando em elevações na frequência cardíaca e pressão arterial, produção suor, piloereção e dilatação pupilar. A secreção de cortisol pelo córtex adrenal contribui para o aumento dos efeitos centrais. O estresse induz no animal uma resposta de forma a prepará-lo para situações de emergência sendo ela um padrão adaptativo de alterações comportamentais, neurais, endócrinas, imunes,

hematológicas e metabólicas direcionadas a restauração da homeostasia (Gaynor & Muir 2009).

### FREQÜÊNCIA CARDÍACA (FC)

A frequência cardíaca é determinada pelo número de batimentos cardíacos por minuto. Em bovinos está fisiologicamente compreendida entre sessenta e noventa pulsos por minuto (Dirksen ANO).

A ativação do sistema nervoso simpático e liberação de catecolaminas são responsáveis pelo aumento da frequência cardíaca. Esse aumento pode ser considerado um indicativo de estresse em animais (Kenny & Tarrant 1987).

Em vários trabalhos onde touros foram submetidos à eletroejaculação, houve aumento da frequência cardíaca (Mosure 1998, Falk et al. 2001, Etson et al. 2004, Palmer 2005, Whitlock et al. 2012).

### FREQÜÊNCIA RESPIRATÓRIA (FR)

A frequência respiratória corresponde ao número de movimentos respiratórios por minuto. Em bovinos, os valores fisiológicos estão entre vinte e cinco e trinta e cinco movimentos por minuto (Dirksen Ano)

A análise da frequência respiratória é importante para avaliação da saúde clínica do animal. É uma variável que se altera rapidamente de acordo com as respostas do organismo a mudanças climáticas, metabólicas e ao estresse. A taquipnéia, caracterizada pelo aumento da frequência respiratória, foi observada em animais submetidos a eletroejaculação, sendo considerado um indicativo de estresse animal (Furman 1975; Marques Filho 2009).

### CORTISOL

O cortisol é um hormônio sintetizado a partir do colesterol e secretado pela zona fasciculada da glândula adrenal. Dentre as suas funções estão a capacidade de estimular a gliconeogênese, reduzir a utilização de glicose, aumentar a proteólise e a lipólise e gerar ações anti-inflamatórias (Eiler 2006).

A concentração de cortisol sérico é um indicador da severidade do estresse na maioria das espécies. Praticamente qualquer tipo de estresse, provoca um aumento imediato na secreção de ACTH pela hipófise, seguido minutos depois por um grande aumento na secreção adrenocortical de cortisol. Em um experimento com ratos, a

concentração plasmática de cortisol aumentou seis vezes dentro de quatro a vinte minutos após a fratura dos ossos de ambas as pernas. Quando a concentração de cortisol se encontra muito elevada, os processos de feedback automaticamente reduzem o ACTH para um nível normal de controle (Guyton & Hall 2006).

A mensuração dos níveis de cortisol é um bom indicativo de estresse animal, podendo ser realizada pela análise de amostras de sangue ou de saliva. Os métodos mais utilizados para essas mensurações são radioimunoensaio (RIA) e o ensaio imunoenzimático (EIA) (Berndtson & Igboeli 1988).

## **BEM ESTAR**

O bem estar animal é baseado no princípio das cinco liberdades, sendo elas: liberdade nutricional em que os animais devem estar livres de fome, sede e desnutrição; liberdade sanitária na qual os animais devem estar isentos de dor, doenças e ferimentos; liberdade comportamental na qual os animais devem ter liberdade suficiente para expressar o comportamento natural de sua espécie; liberdade psicológica em que os animais devem estar livres de sensações de medo e de ansiedade e liberdade ambiental onde os animais devem estar com liberdade de movimento, e em instalações adequadas à sua espécie (Mench 1998).

O conceito de bem estar é definido como sendo o estado de um indivíduo em relação às suas tentativas de se adaptar ao seu ambiente e está intimamente relacionado com a sua saúde (Broom 1986).

Ao expor um animal a fatores estressantes, interfere-se no bem estar do mesmo, desestabilizando assim o estado normal do organismo o que pode levar a um aumento da susceptibilidade à infecções (Radostits 2000).

A avaliação do bem estar baseia-se no emprego do conceito das cinco liberdades e na análise dos parâmetros comportamentais e fisiológicos do animal. Em animais submetidos à coleta de sêmen por eletroejaculação, os principais indicadores fisiológicos de estresse são níveis plasmáticos de cortisol, prolactina e progesterona, e parâmetros como temperatura corporal, frequência cardíaca e frequência respiratória (Dobson & Smith 2000, Dobson et al. 2001).

Os principais indicadores comportamentais de estresse em bovinos são: número de cabeçadas, de atitudes de deitar e cheirar, de abaixamento de cabeça, de defecações, de micções, de tentativas de monta, de vocalizações, de lambidas, de ruminação, de

tentativas de fugas, de lutas e exposição peniana (Dobson & Smith 2000, Dobson et al. 2001, Falk et al. 2001, Palmer 2005).

## **ANESTESIA EPIDURAL**

A anestesia epidural é considerada um bloqueio anestésico espinhal regional, induzido por diferentes grupos de fármacos anestésicos ou analgésicos depositados ao redor da medula espinhal. Consiste basicamente na injeção dos fármacos no espaço epidural, compreendido entre as camadas da dura mater. O acesso a este espaço se dá pela introdução de uma agulha hipodérmica (40x12) ou por uma agulha epidural de Tuohy (16G ou 18G) ou pela introdução de um catéter epidural (16G ou 18G), quando se deseja uma anestesia mais alta ou quando se faz uso de tratamentos epidurais prolongados (Lumb & Jones 2007).

A confirmação do espaço epidural é feita pelo teste da gota (*hanging drop*), que consiste em colocar uma gota de solução salina ou anestésico no canhão da agulha e continuar a inserção da agulha até a sucção da gota. Outras possibilidades são a utilização de uma seringa de baixa resistência acoplada à agulha epidural e a auscultação da pressão através da utilização de um aparelho acústico. Estes eventos ocorrem porque o espaço epidural possui pressão negativa (Lechner et al. 2002, Iff et al. 2011).

## **Fármacos utilizados por via epidural em procedimentos de coleta de sêmen**

Em procedimentos de coleta de sêmen, algumas alternativas têm sido estudadas na tentativa de promover o bem estar animal e melhorar a qualidade do sêmen coletado. Usando tratamento com ocitocina antes da coleta de sêmen, obteve-se aumento do número de espermatozóides no ejaculado de touros coletados pelos métodos de eletroejaculação ou pelo método de vagina artificial (Milovanov et al. 1962, Berndtson & Igboeli 1988). Em outro experimento, a ocitocina diminuiu o tempo de emissão de sêmen em touros submetidos à coleta de sêmen por eletroejaculação, quando comparado ao grupo controle tratado com solução salina. Nesse mesmo experimento, com a administração de cloprostenol antes da coleta de sêmen por eletroejaculação, não foram observadas diferenças significativas sobre o tempo de emissão de sêmen, sobre produção de espermatozóide no ejaculado ou sobre o número de estímulos elétricos necessários para coleta de sêmen (Palmer et al. 2004)

Na tentativa de diminuir o estresse causado pela eletroejaculação em touros, a anestesia epidural com lidocaína 2% tem sido largamente estudada, demonstrando não ter efeitos adversos sobre a exposição peniana e emissão de sêmen, sobre a concentração sérica de cortisol e concentração sérica de progesterona. Além disso, na análise da frequência cardíaca observou-se uma tendência a ser menor em touros submetidos a anestesia epidural de lidocaína antes da EEJ, quando comparado ao grupo controle que não foram anestesiados antes da EEJ. Em todos os estudos, a redução da dor nos animais anestesiados com lidocaína não foi significativa (Mosure et al. 1998, Falk et al. 2001, Etson et al. 2004).

Utilizando xilazina (0,07mg/kg) intravenosa e por via epidural antes da coleta de sêmen em touros por eletroejaculação, foi observada diminuição na frequência cardíaca e no esforço muscular dos animais, porém a ocorrência de ataxia limitou a aplicação prática do uso de xilazina para coleta de sêmen (Mosure et al. 1998).

## **FÁRMACOS**

### **LIDOCAÍNA**

Produz além de um bloqueio sensitivo, bloqueios motor e simpático. A lidocaína é pertencente ao grupo dos anestésicos locais e atua inibindo a geração e a condução dos impulsos nervosos por meio do bloqueio de canais de sódio na membrana nervosa (Lumb & Jones 2007).

É um dos anestésicos locais mais utilizados em medicina veterinária principalmente por estar associado com um rápido início de ação e efeito de curta duração (60 a 120 minutos), além de ser de baixo custo e de fácil obtenção (Aanta et al. 1995).

### **XILAZINA**

A xilazina pertence ao grupo dos  $\alpha_2$ -agonistas, um grupo de fármacos sedativo-analgésicos que exercem seus efeitos clínicos pela interação com receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos do sistema nervoso central. Os  $\alpha_2$ -adrenoreceptores estão acoplados a proteínas de ligação (proteína G) que atuam na transdução de sinal nervoso. A ligação de um ligante específico (hormônio endógeno, neurotransmissor ou droga exógena), induz uma mudança conformacional no  $\alpha_2$ -adrenoreceptor, a qual leva à ativação de proteínas G específicas. Essas proteínas G modulam então a síntese ou disponibilidade de moléculas mensageiras secundárias intracelulares ou alteram diretamente a atividade

de canais iônicos transmembrana, produzindo o efeito sedativo-analgésico do fármaco (Aanta et al. 1995).

## HIALURONIDASE

A hialuronidase é uma enzima mucolítica que se acredita melhorar a difusão de anestésicos para o sítio de ligação. O mecanismo de ação da hialuronidase se dá através da hidrólise do ácido hialurônico, um componente do tecido conjuntivo, diminuindo temporariamente a viscosidade do cimento celular e promovendo assim a difusão de fluidos injetados, facilitando a absorção (Kallio et al. 2000).

## OBJETIVO

O objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia da epidural caudal com solução salina, lidocaína e xilazina com ou sem hialuronidase para redução da dor ou estresse causado pela EEJ, utilizando a frequência cardíaca, frequência respiratória e a pressão arterial média como medidas objetivas de dor e a mensuração do estresse através de uma escala subjetiva de respostas comportamentais dos animais. Assim como avaliar se os tratamentos induzem certo grau de bloqueio motor em touros e se interferem na exposição peniana, emissão de sêmen e qualidade espermática.

## REFERÊNCIAS

- Aanta R.; Marjamaki, A.; Scheinin, M. Molecular pharmacology of  $\alpha 2$  – adreceptor subtypes. **Ann Med**, 1995; 27; 439-449.
- Berndtson W, Igboeli G. Spermatogenesis, sperm output and seminal quality of Holstein bulls electroejaculated after administration of oxytocin. **J Reprod Fert** 1988; 82:467–75.
- Broom, D.M. Indicators of poor welfare. **British Veterinary Journal, London**, v.142, p.524-526, 1986.
- Caulkett, N., Cribb, P.H., Duke, T. 1993. Xylazine epidural analgesia for cesarean section in cattle. **Can. Vet. J.** 34, 674–676.

Clark, J.D; Rager, D.R; Calpin, J.P. Animal Well-being. II. Stress and distress. **Lab. Anim. Sci.** 47 (6): 571-585, 1997.

Caron, J.P., LeBlanc, P.H., 1989. Caudal epidural analgesia in cattle using xylazine. **Can. J. Vet. Res.** 53, 486–489

DeRossi, R., Zanenga, N.F., Alves, O.D., Carneiro, R.P.B., Ossuna, M.R., Jorge, T.P., 2010. Effects of caudal epidural ketamine and/or lidocaine on heifers during reproductive procedures: A preliminary study. **Vet. J.** 185, 344–346.

DeRossi, R., de Barros, A.L.C., Silva-Neto, A.B., Pompermeyer, C.T., Frazílio, F.O., 2011. Hyaluronidase shortens levobupivacaine lumbosacral epidural anaesthesia in dogs. **J. Small Anim. Pract.** 52, 195–199.

**Dirksen**

**Dobson & Smith 2000**

**Dobson et al. 2001.**

Etson C.J,Waldner C.L, Barth A.D. Evaluation of a segmented rectal probe and caudal epidural anesthesia for electroejaculation of bulls. **Can Vet J** 2004;45:235–40.

Falk, J.A; Cheryl L. Waldner,C.L; Cotter,B.S;Gudmundson,J;Barth,D.A. Effects of epidural lidocaine anesthesia on bulls during electroejaculation. **Can Vet J** 2001; 42:116-120.

**Furman 1975**

Gaynor, J.S. & Muir III, W.W. **Manual de controle da dor em medicina veterinária.** 2Eds, p.42-57,2009.

Gonçalves, D.B.P.; Figueiredo, R.J.; Freitas, F.J.V. **Biotécnicas aplicada à reprodução animal.** (2º edição)

Guyton,C. & Hall, J.E. **Tratado de fisiologia médica.** (11Eds) cap.77 p. 944-960, 2006.

**Iff 2011**

Kallio, H.; Paloheimo, M.; Mananuksela, E.L. Hyaluronidase as an adjuvant in bupvacaine-lidocaine mixture for retrobulbar/peribulbar block. **Anesthesia and analgesia**, v.91, p. 934-937, 2000.

Kenny, F.J; Tarrant, P.V. The reaction of bulls to short-haul road transport. **Applied animal behavior science**, v.17, p. 209-217, 1987.

Lechner 2002

Lumb & jones 2007

Marden WGR. New advances in the electroejaculation of the bull. **J Dairy Sci** 1954;37:556–61.

Marques filho 2009

McDonald, L.E. Veterinary endocrinology and reproduction. In: REMEIRS, T. (Eds) The pituitary gland. 1989 c, p. 17-34.

Mench, J.A., 1998. Farm animal welfare, in: Bekoff, M. (Ed.), *Encyclopedia of Animal Rights and Animal Welfare*. Greenwood Press, Westport, CT, pp. 170–171

Miller FW, Evans EI. Technique for obtaining spermatozoa for physiological dairy studies and artificial insemination. **J Agric Res** 1934;48:941–7.

Milovanov V, Bereznev A, Gorohov L. The effect of oxytocin on the reproductive system of male livestock. **Anim Breed Abstr** 1962; 32:101

Mosure,W.I; Meyer, A.R; Gudmundson, J; Barth, D.A. Evaluation of possible methods to reduce pain associated with electroejaculation in bulls. **Can Vet J** 1998; 39: 504-506.

Ohl, D.A., 1993. Electroejaculation. *Urol. Clin. N. Am.* 20, 181–188.

Palmer CW, Amundson SD, Brito LFC, Waldner CL, Barth AD. Use of oxytocin and cloprostenol to facilitate semen collection by electroejaculation or transrectal massage in bulls. **Anim Reprod Sci.** 2004;80:213–23.



Palmer, W.C. Welfare aspects of theriogenology: Investigating alternatives to electroejaculation of bulls. **Theriogenology** 64 (2005) 469–479.

Palmer CW, Brito LFC, Arteaga AA, Soöderquist L, Persson Y, Barth D. Comparison of electroejaculation and transrectal massage for semen collection in range and yearling feedlot beef bulls. **Anim Reprod Sci** 2005;87:25–31.

#### Radostits 2000

Salisbury GW, VanDemark NL, Lodge JR. Physiology of reproduction and artificial insemination of cattle. WH Freeman and Company; 1978.

Stafford KJ. Electroejaculation: a welfare issue? *Surveillance* 1995; 22:15–7.

Watson, D., 1993. Hyaluronidase. *Br. J. Anaesth.* 71, 422–425.

Whitlock, B.K., Coffman, E.A., Coetzee, J.F., Daniel, J.A., 2012. Electroejaculation increased vocalization and plasma concentrations of cortisol and progesterone, but not substance P, in beef bulls. *Theriogenology* 78, 737–746.

**ARTIGO****Avaliação dos efeitos analgésicos e comportamentais da epidural com lidocaína, xilazina e xilazina com hialuronidase durante a eletroejaculação em touros**

Ronaldo C. Pagliosa, Rafael De Rossi, Deiler S. Costa, Fábio J. C. Faria

**Avaliação dos efeitos analgésicos e comportamentais da epidural com lidocaína, xilazina e xilazina com hialuronidase durante a eletroejaculação em touros**

Ronaldo C. Pagliosa<sup>a</sup>, Rafael DeRossi<sup>b,\*</sup>, Deiler S. Costa<sup>a</sup>, Fabio J.C. Faria<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Departamento de Medicina Veterinária, Reprodução, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, Brasil

<sup>b</sup>Departamento de Medicina Veterinária, Cirurgia e Anestesiologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, Brasil, Caixa Postal 549, Campo Grande, CEP 79070-900, MS, Brasil.

\*Autor correspondente. Tel./fax: +55 67 3345 3600

E-mail: [rafael.rossi@ufms.br](mailto:rafael.rossi@ufms.br)

**ABSTRACT.** Saline solution (SS), 2% lidocaine (LD), 2% xylazine (XY) alone, or XY and hyaluronidase (XYHY) were injected into the first intercoccygeal (Co1-Co2) epidural space in eight 30-month-old Nellore bulls with the aim of measuring pain and stress during electroejaculation (EEJ) and evaluating the quality of the semen samples obtained. Heart rate, respiratory rate, mean arterial pressure, analgesia, animal behavior, and motor blockade were evaluated before treatment and at predetermined intervals during and after treatment. Pain and stress were scored subjectively, and semen quality was evaluated. The onset of anesthetic action was significantly faster with LD ( $3 \pm 1.2$  min) than with XY or XYHY ( $8.9 \pm 1.5$  and  $5.5 \pm 2.6$  min, respectively;  $P < 0.05$ ), and the onset of anesthesia with XYHY was significantly faster than that with XY alone ( $P < 0.05$ ). Treatment with XY or XYHY resulted in less discomfort than treatment with LD, as indicated by animal behavior, although the differences were not statistically significant. Changes in heart rate, respiratory rate, and arterial pressure were within acceptable limits. Penile protrusion and semen emission occurred in all animals during all four treatments. There was no significant difference ( $P >$

0.05) in semen quality between the control group (SS) and the LD, XY, or XYHY group. Our results suggest that XYHY reduced pain and stress during EEJ more effectively than did XY or LD. Further experiments are necessary to determine whether EEJ with XYHY is feasible for obtaining semen from Nellore bulls unaccustomed to being handled or restrained.

*Keywords:* Analgesia peridural, behavior, bulls, electroejaculation, lidocaine, xylazine

**RESUMO.-** Oito touros Nelores de 30 Meses de idade receberam solução fisiológica 0,9% (SS), lidocaína 2% (LD), xilazina 2% (XY) ou xilazina adicionado de hialuronidase (XYHY) por via epidural (Co1-CO2), com o objetivo de medir a dor, estresse e qualidade seminal associada à eletroejaculação. A Frequência Cardíaca (FC), Frequência Respiratória (FR), pressão arterial de média (PAM), analgesia, características comportamentais e bloqueio motor foram determinadas antes dos tratamentos e em intervalos pré-determinados. Uma escala subjetiva foi utilizada para avaliar a dor e o estresse durante a eletroejaculação. O Início da ação anestésica foi mais rápida com o tratamento LD ( $3 \pm 1,2$  Minutos) quando comparado aos tratamentos XY ou XYHY ( $8,9 \pm 1,5$  e  $5,5 \pm 2,6$  minutos, respectivamente,  $P < 0,05$ ). A comparação entre tratamentos mostrou uma redução significativa ( $P < 0,05$ ) no tempo de início de anestesia para o tratamento XYHY em relação ao tratamento XY. Com relação às características comportamentais, os tratamentos XYHY e XY demonstraram um menor desconforto que o tratamento LD, entretanto não foi diferente estatisticamente. As variações na FC, FR e PAM estavam dentro dos limites aceitáveis. A protrusão peniana e emissão de sêmen ocorreram em todos os animais submetidos ao experimento, nos quatro tratamentos analisados. Não houve diferença significativa ( $P > 0,05$ ) para as características seminais entre o grupo controle (SS) e os tratamentos LD, XY, OU XYHY. Em nosso trabalho, XYHY parece ser mais eficaz para reduzir a dor e o estresse durante a EEJ para coleta de sêmen do que XY ou LD. Outros estudos se fazem necessários para determinar se XYHY é uma alternativa viável para facilitar a emissão de sêmen pelo método de EEJ em touros da Raça Nelore, que não estão acostumados a esse manejo.

*Palavras-chave:* analgesia epidural, comportamento, touros, eletroejaculação, lidocaína, xilazina.

## INTRODUÇÃO

Entre as várias técnicas utilizadas para a coleta de sêmen de animais, a eletroejaculação (EEJ) continua a ser o método mais comumente usado em touros (para realização de exame andrológico, por exemplo) e é particularmente útil em animais que não estão acostumados a esse tipo de procedimento. No entanto, embora EEJ seja muito eficaz em induzir a emissão de sêmen, é considerado um procedimento doloroso e estressante para os animais e foi proibido em vários países europeus (Mosure et al, 1998; Palmer, 2005), devido a preocupações sobre bem-estar animal (definido em termos de "cinco liberdades") (Mench, 1998). Os estudos foram conduzidos com o objetivo de mensurar e diminuir a dor associada com este procedimento necessário (Mosure et al., 1998; Falk et al., 2001; Etson et al., 2004; Palmer, 2005).

Em homens com sensação normal na região pélvica, a anestesia geral ou a anestesia epidural são usadas antes da EEJ (Ohl, 1993) e o uso de anestesia epidural caudal em animais para reduzir a dor e estresse associados à EEJ tem sido estudado. Concentrações de progesterona e cortisol sérico e frequência cardíaca (FC) tendem a ser menores em touros que recebem anestesia epidural caudal, no entanto, a anestesia não reduz significativamente a resposta ao estresse da EEJ (Mosure et al.,1998; Falk et al.,2001). A lidocaína (LD) é um anestésico local que é utilizada rotineiramente para a anestesia epidural caudal em bovinos em variáveis procedimentos reprodutivos (Mosure et al., 1998; Falk et al., 2001; Etson et al., 2004) . Outros fármacos, tais como xilazina (XY) (Mosure et al., 1998) e cetamina (DeRossi et al., 2010) são também utilizados com esta finalidade. A anestesia epidural caudal com XY pode reduzir a dor causada por espasmo da musculatura lisa retal ou pela estimulação da inervação intrapélvica (Mosure et al., 1998). Contudo, a XY possui a desvantagem de apresentar um retardo no início da analgesia (Caron e LeBlanc.,1989; Caulkett et al., 1993). A Hialuronidase (HY) pode acelerar o início do bloqueio anestésico, aumentando a propagação de anestesia local (Watson, 1993; DeRossi et al., 2011).

O objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia da anestesia epidural caudal com LD, XY isolada, e XY associada com HY (XYHY) para reduzir a dor e o estresse devido a EEJ. Solução salina fisiológica por via epidural caudal (SS) foi usado como controle. HR, frequência respiratória (FR) e pressão arterial média (PAM) foram utilizadas como medidas objetivas de dor e o estresse foi avaliado por meio de uma escala subjetiva de respostas comportamentais. A intensidade do bloqueio motor foi determinada, e os efeitos dos fármacos sobre a exposição do pênis, a emissão de sêmen, e a qualidade do sêmen foram avaliadas.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O protocolo experimental e cuidados animais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Uso de Animais da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (aprovação no. 473/2012). Os experimentos foram realizados em oito touros Nelore de 30 meses de idade, (*Bos taurus indicus*; 405-448 kg, com média de 425 kg) que nunca haviam sido submetidos à coleta de sêmen. Os touros foram criados extensivamente e habituados ao manejo do curral sendo colocados no brete por 30 minutos por dia durante uma semana, ofertando-lhes comida para que se mantivessem calmos e familiarizados com os avaliadores. Os animais podiam movimentar-se para frente ou para trás ou deitar-se dentro do brete. Durante o período experimental, os animais foram mantidos em piquetes de pastagens de *Brachiaria spp.*, e água *ad libitum*. A temperatura ambiente foi aproximadamente de 25°C durante o experimento. Vinte e quatro horas antes de cada experimento EEJ, os touros foram trazidos para o curral para realização do exame clínico para confirmar que os animais estavam saudáveis. Antes do início do experimento e entre os experimentos, cada animal foi submetido a coletas de sêmen em dias alternados (cinco coletas por animal) para que houvesse o esgotamento das reservas de espermatozóides extragonadais. Cada touro recebeu os quatro tratamentos seguintes, em ordem aleatória, com intervalos mínimos de sete dias entre os tratamentos: SS 0,9% (Ecoflax Além disso, B. Braun, Brasil); LD 2% sem adrenalina na dose de 0,2 mg / kg (Hypocaína 2%, Hypofarma, Instituto de hipotermia e Farmácia Ltda, Brasil); XY 2% a uma dose de 0,05 mg / kg (2% Xilazin, Syntec, Brasil), e 2% XY a uma dose de 0,05 mg / kg e 400 UI de HY (Hyalozima, Aspen Farmacêutica S / A, Brasil). Todas as drogas foram diluídas em SS 0,9% para um volume final de 7 ml. Antes da administração do medicamento, a área da pele em relação ao primeiro espaço intercoccígeo foi identificada e preparada assepticamente com iodopovidona e infiltrado com LD 2%. As drogas foram administradas a uma taxa de 0,5 mL / s através de uma agulha epidural de Tuohy (16 G; Perican, Braun B), colocada no espaço entre a primeira e segunda vértebra coccígeas. O correto posicionamento da agulha no espaço epidural foi confirmado pela técnica da gota e pela ausência de resistência ao injetar os fármacos. Após a administração dos medicamentos, a agulha foi lavada com 0,5 mL de SS. Dez minutos após a administração dos fármacos, a EEJ e coleta de sêmen foram realizadas como descrito abaixo. Em um estudo piloto realizado anteriormente, foi estabelecido que a administração de estímulos dolorosos consistisse em picadas de agulha superficiais e profundas nas regiões da cauda, na região cranial dos membros posteriores e região perineal e foram eficazes para confirmar a completa analgesia.

Picadas de agulha foram realizadas após a administração dos medicamentos [10 minutos] e imediatamente antes da EEJ.

Após o exame transretal das glândulas acessórias por 30s, os touros foram devidamente contidos para a EEJ. Todos os animais foram submetidos a EEJ convencional, que consiste na inserção de uma sonda retal convencional, com diâmetro de 75 mm, composta por três eletrodos inseridos ventralmente que emitem estímulos elétricos a partir de um aparelho eletroejaculador (Duboi, Campo Grande, Brasil). Após a introdução da sonda, uma sequência padronizada de pulsos elétricos (60 Hz) foi administrada: 30 ondas curtas entre 100 e 300 mA (duração de 2-3 s; intervalos de 0,5 s), seguido por duas ondas longas de até 500 mA (3-5 s de duração). A emissão de sêmen (3 mL) foi recolhido em tubos Falcon, e o tempo de gotejamento (plasma seminal), tempo de emissão de sêmen (porção com espermatozóides), e o tempo para o fim de EEJ (até atingir 3 ml de ejaculado) foram anotados. O Turbilhonamento, a motilidade, vigor e morfologia espermática das amostras de sêmen coletadas foram avaliadas. A analgesia, ataxia e o comportamento foram avaliados antes da administração dos fármacos (valor basal) e aos 2, 10, 15, 20 e 30 min após a administração dos fármacos, os critérios de pontuação para estes parâmetros são apresentados na Tabela 1. O tempo de início, duração, e intensidade da analgesia foram registrados. A analgesia completa devido à anestesia epidural (LD, XY, ou XYHY) foi confirmada por testes com picadas de agulha nas regiões predeterminadas citadas acima. A protrusão peniana foi avaliada durante a emissão sêmen de acordo com a seguinte escala: 0, sem exposição peniana, 1, 25% de protrusão, 2, 50% de protrusão, 3, 75% de exposição, e 4, com 100% exposição.

A frequência cardíaca (batimentos / min), pressão arterial média e frequência respiratória (movimentos respiratórios / min), foram medidos em cinco momentos: T<sub>0</sub>, basal; T<sub>epi</sub>, pós- injeção epidural; T<sub>eej</sub>, pós-EEJ; 20 min após EEJ, e 30 min após EEJ. A pressão arterial foi medida com um monitor cardíaco (EMAI RX-300, Transmai, Hospital Medical Equipment, São Paulo, Brasil), através de um dispositivo de medição não-invasiva com o manguito posicionado no terço proximal da cauda, para medir a pressão em artéria coccigiana (Tabela 2). Salivação e frequência urinária também foram observadas.

Os dados foram analisados com o pacote estatístico BioEstat (ver. 5.0). As variáveis foram submetidas a um teste paramétrico (ANOVA) ou um teste não paramétrico (teste de Kruskal-Wallis), dependendo a sua classificação. Foi considerado *P* value de 5% para indicar a significância estatística.

## RESULTADOS

Tomamos cuidado para que todos os touros recebessem a mesma estimulação elétrica durante todos os procedimentos de EEJ. Em todos os touros, a agulha Tuohy foi colocada sem dificuldade, e a EEJ foi realizada sem complicações. O teste de analgesia com picadas de agulha demonstrou o aparecimento e a eficácia do bloqueio regional anestésico. O início da ação do anestésico foi significativamente mais rápido com LD ( $3 \pm 1,2$  minutos) do que com XY ou XYHY ( $8,9 \pm 1,5$  e  $5,5 \pm 2,6$  minutos, respectivamente,  $P < 0,05$ ). O tempo de início da anestesia com XYHY foi significativamente menor do que com XY ( $P < 0,05$ ). Considerou-se a anestesia satisfatória quando uma pontuação de analgesia, 2 ou 3, foi obtida (ou seja, quando os touros não responderam às picadas de agulha). O tratamento SS não alterou significativamente a pontuação da anestesia local em resposta a picadas de agulha nas áreas observadas em relação ao escore basal ou entre os tratamentos. Todos os animais do LD, XY, e os grupos XYHY exibiram reações leves (escore 1) durante a EEJ (10-15 min). Em contraste, os touros no grupo SS demonstrou reações graves (escore 3) para um mesmo tempo. Apesar de certo grau de desconforto que não foi estatisticamente significativo, os animais do XY e grupos XYHY permaneceram menos incomodados durante a EEJ do que os touros na SS e grupos LD. A perda completa do tônus muscular caudal e da perda de reflexo anal ocorreu nos grupos LD, XY e XYHY, mas nenhum dos animais mostrou ataxia devido à anestesia epidural. Não houve tentativas de deitar dos touros durante qualquer um dos tratamentos. No entanto, dois touros no grupo XY e um touro no grupo XYHY permaneceram temporariamente deitados após saírem do brete. Três touros no grupo XY e dois touros do grupo XYHY salivaram moderadamente; nenhum dos touros em qualquer um dos grupos demonstrou aumento na frequência de micção durante o período observado.

Os efeitos dos tratamentos sobre FC, FR e PAM são apresentados na Tabela 2. A administração epidural caudal de SS e LD não induziram alterações ( $P > 0,05$ ) na FR em qualquer momento durante o período de observação. Os tratamentos XY e XYHY não induziram diferença significativa para FC quando comparadas com os valores basais, no entanto, aos 20 e 30 min, as FCs nos grupos XY e XYHY foram significativamente menores do que as FCs do grupo controle nos mesmos tempos de mensuração. Nenhum dos tratamentos induziu alterações significativas da PAM durante o período de observação. Nos grupos SS e LD, não houve diferenças significativas na FR em relação aos valores basais. Em contraste, nos grupos XY e XYHY, as FRs aos 20 e 30 min foram significativamente menores ( $P < 0,05$ ) do que as FRS basais.



O sêmen foi coletado de todos os touros durante a EEJ com sonda convencional com todos os quatro tratamentos epidurais. A protrusão do pênis e emissão de sêmen ocorreu em todos os animais. A exposição peniana mais frequente foi de 25% para todos os tratamentos ( $P > 0,05$ ). O tempo de gotejamento, tempo de emissão de sêmen, o tempo para o fim de EEJ, e as características seminais (motilidade, vigor, turbilhonamento, e morfologias espermáticas) estão apresentados na Tabela 3. Não houve diferença significativa para o tempo de emissão de sêmen ou para as características seminais entre o grupo controle (SS) e os grupos LD, XY e XYHY.

## DISCUSSÃO

Neste estudo, avaliou-se o início e a eficácia da analgesia para LD, XY, e XYHY administrados por via peridural em touros para determinar se esses fármacos diminuiriam o estresse ou dor associados à EEJ. Partimos do pressuposto de que XY administrado epidural teria efeitos analgésicos e sedativos após absorção sistêmica do espaço epidural. É conhecido que a administração epidural de XY produz um início de analgesia tardio (LeBlanc e Caron, 1989; Caulkett et al., 1993). Em cães, o tempo de início da anestesia epidural com HY combinada com a levobupivacaína é significativamente menor do que a epidural com levobupivacaína isolada (DeRossi et al., 2011). Em nosso estudo, a epidural com XY combinado com HY produziu um início de analgesia rápido, e uma clara melhoria no bem-estar animal foi observada.

Vários métodos alternativos para reduzir a dor e o estresse durante a EEJ estão sendo exploradas por razões humanitárias (Mosure et al, 1998;. Palmer, 2005). O estresse está diretamente relacionado com as respostas fisiológicas (neural e endócrina) e comportamentais que tendem a restabelecer a homeostase (Sapolsky, 2004) e a dor se manifesta por uma reação rápida, com relutância evidente e potencial dano tecidual, resultando em alterações fisiológica, neuroendócrina e comportamentais que indicam uma resposta ao estresse (Coetzee et al., 2008). Animais saudáveis demonstraram dor ou estresse em resposta à EEJ, especialmente quando níveis elevados de estimulação elétrica são utilizados (Mosure et al., 1998). A EEJ sem anestesia tem sido criticada e banida em vários países europeus, bem como a importação de sêmen coletado por EEJ foi proibida pela União Europeia há vários anos na década de 1990 (Mosure et al, 1998;. Palmer, 2005). O método mais antigo para a obtenção de sêmen de touros é o uso da vagina artificial ou de uma vagina artificial interno (Barth et al., 2004). As vantagens deste último método incluem a eliminação de incubadoras, cortinas e do intenso envolvimento humano no processo de coleta de sêmen. No entanto, a vagina artificial interna

não é tão eficaz como EEJ para a coleta de sêmen de touros (Barth et al., 2004). Muitos médicos veterinários usam a técnica de massagem transretal para a coleta de sêmen de touros, sendo considerado uma alternativa viável para EEJ em touros dóceis (Palmer et al, 2005). Em um estudo com touros adultos, o índice de exposição do pênis foi menor durante a massagem transrectal (54,4% e 15,4%, respectivamente) do que durante EEJ (91,5% e 89,7%, respectivamente). A exposição peniana insuficiente pode diminuir a qualidade do sêmen por estar exposto ao ambiente hostil do prepúcio (Palmer et al., 2005). Fármacos tais como a oxitocina, a prostaglandina F<sub>2α</sub> e cloprostenol são por vezes utilizados como adjuvantes durante a massagem transrectal (Palmer et al., 2004) e EEJ (Berndtson e Igboeli, 1988) para melhorar a qualidade das amostras obtidas avaliação. Todos os métodos acima descritos oferecem vantagens e desvantagens para a coleta de sêmen tanto em touros adultos como em touros jovens.

Touros de origem européia (*Bos taurus taurus*) são menos sensíveis à manipulação que touros de origem asiática (*Bos taurus indicus*), por indicativos de alterações comportamentais (vocalização, lutando, ou tentativas de deitar) ou por reação a estímulos dolorosos (punção venosa, injeção intramuscular) e esta diferença torna difícil interpretar o grau de dor ou estresse em touros europeus submetidos a EEJ. Vários estudos têm indicado que a EEJ induz alterações fisiológicas, neuroendócrinas e comportamentais que podem indicar uma resposta ao estresse associado com a dor (Falk et al, 2001;. Etson et al, 2004;. Palmer, 2005). Os níveis sanguíneos de cortisol e progesterona são considerados indicadores objetivos de dor em ruminantes (Welsh e Johnson, 1981; Robertson, 1994; Cooper et al., 1995; Falk et al., 2001). No entanto, os testes para medir essas concentrações são onerosos e se tornam inviáveis sob as condições de campo frequentemente encontrados por médicos veterinários. Além disso, os procedimentos veterinários simples tais como, palpação retal e injeções intramusculares são suficientes para aumentar os níveis de cortisol sérico de bovinos (Alam e Dobson, 1986). Em outro estudo realizado com bovinos, foi observado maiores vocalizações e um aumento dos níveis de cortisol e progesterona séricos após EEJ em touros, no entanto, não foi observado aumento na concentração de substância P no sangue, que é considerado um indicador preciso de dor associada com EEJ. Com base na falta de alteração na concentração da substância P após EEJ, sugere-se que a EEJ pode não ser um procedimento doloroso (Whitlock et al., 2012). Os aumentos nas concentrações hormonais (cortisol e progesterona) descritas em estudos anteriores podem não estar diretamente relacionados à dor ou estresse, pois um aumento na concentração de cortisol plasmático

também foi observado em touros durante as atividades de monta, semelhante ao aumento observado durante EEJ em touros (Welsh e Johnson, 1981; Borg et al., 1991).

As FC, FR, e PAM são parâmetros fisiológicos relacionados com a dor. Em um estudo realizado com touros adultos (Horned Hereford, Simental, South Devon) nenhuma alteração na FC foi observada após a EEJ com vários tratamentos, incluindo epidural com LD e XY, e estes resultados podem indicar que a dor devido a EEJ em touros não é grave (Mosure et al., 1998). Para as dosagens dos fármacos utilizados em nosso estudo, não houve alterações significativas na FR ou na PAM durante qualquer um dos tratamentos, apesar da FC tender a ser mais elevada nos grupos SS e LD do que nos grupos XY e XYHY. A administração epidural de XY em bovinos induz uma hipoventilação com o aumento da PaCO<sub>2</sub> e diminuição da PaO<sub>2</sub> (Caulkett et al., 1993). Nós não analisamos os gases sanguíneos em nosso estudo, mas ambos os tratamentos contendo XY resultou em uma diminuição na FR após a administração epidural e a EEJ. Nós acreditamos que a atitude de deitar dos animais após eles deixarem o brete deveu-se não a ataxia dos membros posteriores, e sim ao efeito da sedação induzida pela absorção sistêmica da XY a partir do espaço epidural. Um estudo em seres humanos, envolvendo a clonidina, um agonista de receptores alfa -2, administrado por via epidural e intramuscular demonstram que o aparecimento de analgesia e os efeitos adversos do fármaco coincidiram com o pico de concentração plasmática (Bonnet et al., 1990). Diferentemente dos anestésicos locais, os alfa-2 agonistas adrenérgicos produzem analgesia com déficits de propriocepção mínimos ou bloqueio de nervos motores (Skarda e Tranquilli, 2007). Portanto, pode haver uma relação entre as reduções na FC e FR e a sedação causada pela absorção de XY. Outro efeito adverso da epidural com XY observada neste estudo foi a presença de salivacção moderada em alguns animais. Esses fatos sugerem, mas não nos permitem concluir, que a epidural com XY pode ser melhor para reduzir a dor ou estresse durante a EEJ em touros do que SS e LD. Em seres humanos, a anestesia epidural lombossacral é utilizado para evitar a dor durante a EEJ (Ohl, 1993), mas a anestesia epidural caudal (Co1 - CO<sub>2</sub>) utilizada em grandes animais pode não envolver todas as fibras nervosas afetadas pelo procedimento de EEJ.

A administração epidural de SS, LD, XY, ou XYHY não teve efeitos adversos sobre a protrusão do pênis e não interferiu na emissão de sêmen durante a EEJ. Todos os touros em tratamentos apresentaram protrusão peniana, com 25% sendo a medida mais freqüente de protrusão. O tempo e o número de pulsos elétricos necessários para a emissão de uma amostra de sêmen de 3 ml foram semelhantes em todos os tratamentos, e nenhum dos tratamentos influenciou nas características seminais. Em um estudo anterior (Mosure et al., 1998),

resultados semelhantes foram obtidos com epidural de LD e XY após a EEJ, em relação a protrusão do pênis e emissão de sêmen de touros, no entanto, no mesmo estudo, a massagem transretal só causou protrusão peniana apenas parcial em todos os touros e não causar emissão de sêmen em nenhum dos touros. A massagem transretal antes da EEJ é utilizada para estimular a emissão de sêmen, mas esta prática não é comumente usada em touros que não estão acostumados a ser manipulados ou contidos. Em um estudo em touros dóceis após a administração intramuscular de ocitocina e cloprostenol, a EEJ parecia ser mais bem sucedida do que a massagem da próstata, e as taxas de protrusão peniana foram semelhantes entre os dois métodos (Palmer et al., 2004).

O desenvolvimento deste estudo apresentou algumas limitações. Nós não utilizamos um tratamento controle que envolve a inserção de uma sonda retal, sem estimulação elétrica. Contudo, outros estudos em touros têm indicado que este tratamento controle tem efeitos mínimos (Welsh e Johnson, 1981; Whitlock et al, 2012). Outro fator limitante foi que nós não coletamos amostras de sangue para determinação da concentração hormonal em intervalos pré-determinados (cortisol, progesterona), de modo que não foi possível precisar se a anestesia epidural com LD, XY, e XYHY alterou os níveis plasmáticos destes hormônios após a EEJ em touros. As concentrações de cortisol e progesterona foram relatadas como sendo significativamente elevada após a EEJ em touros, com ou sem anestesia epidural caudal (Falk et al., 2001). Vários procedimentos de rotina em bovinos, tanto invasivos como não-invasivos, tais como a palpação retal, injeções intramusculares, punção venosa e as atividades de monta, resultaram em aumento da concentração de cortisol plasmático, similar ao observado durante a EEJ em touros (Welsh e Johnson, 1981; Alam e Dobson, 1986; Borg et al, 1991).

## CONCLUSÃO

Com base em nossos resultados, não podemos dizer com certeza que os métodos estudados eliminam a dor ou estresse durante a EEJ em touros. No entanto, com base na analgesia; FC, FR e PAM terem permanecido dentro dos limites aceitáveis e características comportamentais (pouco vocalização, ausência de tentativas de deitar-se e pouca relutância), podemos sugerir que a anestesia epidural caudal com XY e XYHY pode ser mais eficaz do que com LD. Os fármacos utilizados não interferiram na emissão de sêmen, protrusão peniana, ou qualidade espermática. Outros estudos serão necessários para determinar se a EEJ com XYHY é viável para coleta de sêmen em touros da raça Nelore que não estão acostumados a ser manejados.

## REFERÊNCIAS

- Alam, M.G.S., Dobson, H., 1986. Effect of various veterinary procedures on plasma concentrations of cortisol, luteinizing hormone and prostaglandin F<sub>2</sub>-alpha metabolite in the cow. *Vet. Rec.* 118, 7–10.
- Barth, A.D., Arteaga, A.A., Brito, L.F.C., Palmer, C.W., 2004. Use of internal artificial vaginas for breeding soundness evaluation in range bulls: an alternative for electroejaculation allowing observation of sex drive and mating ability. *Anim. Reprod. Sci.* 84, 315–325.
- Berndtson, W., Igboeli, G., 1988. Spermatogenesis, sperm output and seminal quality of Holstein bulls electroejaculated after administration of oxytocin. *J. Reprod. Fert.* 82, 467–475.
- Bonnet, F., Boico, O., Rostaing, S., Loriferne, J.F., Saada, M., 1990. Clonidine-induced analgesia in postoperative patients: epidural versus intramuscular administration. *Anesthesiology* 72, 423–427.
- Borg, K.E., Esbenshade, K.L., Johnson, B.H., 1991. Cortisol, growth hormone, and testosterone concentrations during mating behavior in the bull and boar. *J. Anim. Sci.* 69, 3230–3240.
- Caron, J.P., LeBlanc, P.H., 1989. Caudal epidural analgesia in cattle using xylazine. *Can. J. Vet. Res.* 53, 486–489.
- Caulkett, N., Cribb, P.H., Duke, T., 1993. Xylazine epidural analgesia for cesarean section in cattle. *Can. Vet. J.* 34, 674–676.
- Coetzee, J.F., Lubbers, B.V., Toerber, S.E., Gehring, R., Thomson, D.U., White, B.J., et al., 2008. Plasma concentrations of substance P and cortisol in beef calves after castration or simulated castration. *Am. J. Vet. Res.* 69, 751–762.
- Cooper, C, Evans, A.C.O., Cook, S., Rawlings, N.C., 1995. Cortisol, progesterone and beta-endorphin response to stress in calves. *Can. J. Anim. Sci.* 95, 197–201.
- DeRossi, R., Zanenga, N.F., Alves, O.D., Carneiro, R.P.B., Ossuna, M.R., Jorge, T.P., 2010. Effects of caudal epidural ketamine and/or lidocaine on heifers during reproductive procedures: A preliminary study. *Vet. J.* 185, 344–346.
- DeRossi, R., de Barros, A.L.C., Silva-Neto, A.B., Pompermeyer, C.T., Frazílio, F.O., 2011. Hyaluronidase shortens levobupivacaine lumbosacral epidural anaesthesia in dogs. *J. Small Anim. Pract.* 52, 195–199.

- Etson, C.J., Waldner, C.L., Barth, A.D., 2004. Evaluation of a segmented rectal probe and caudal epidural anesthesia for electroejaculation of bulls. *Can. Vet. J.* 45, 235–240.
- Falk, A.J., Waldner, C.L., Cotter, B.S., Gudmundson, J., Barth, A.D., 2001. Effects of epidural lidocaine anesthesia on bulls during electroejaculation. *Can. Vet. J.* 42, 116–120.
- Mench, J.A., 1998. Farm animal welfare, in: Bekoff, M. (Ed.), *Encyclopedia of Animal Rights and Animal Welfare*. Greenwood Press, Westport, CT, pp. 170–171
- Mosure, W.L., Meyer, R.A., Gudmundson, J., Barth, A.D., 1998. Evaluation of possible methods to reduce pain associated with electroejaculation in bulls. *Can. Vet. J.* 39, 504–506.
- Ohl, D.A., 1993. Electroejaculation. *Urol. Clin. N. Am.* 20, 181–188.
- Palmer, C.W., 2005. Welfare aspects of theriogenology: investigating alternatives to electroejaculation of bulls. *Theriogenology* 64, 469–479.
- Palmer, C.W., Amundson, S.D., Brito, L.F.C., Waldner, C.L., Barth, A.D., 2004. Use of oxytocin and cloprostenol to facilitate semen collection by electroejaculation or transrectal massage in bulls. *Anim. Reprod. Sci.* 80, 213–223.
- Palmer, C.W., Brito, L.F.C., Arteaga, A.A., Söderquist, L., Persson, Y., Barth, A. D., 2005. Comparison of electroejaculation and transrectal massage for semen collection in range and yearling feedlot beef bulls. *Anim. Reprod. Sci.* 87, 25–31.
- Robertson, I.S., 1994. Effect of different methods of castration on behavior and plasma cortisol in calves of three ages. *Res. Vet. Anim. Sci.* 56, 8–17.
- Sapolsky, R.M., 2004. Social status and health in humans and other animals. *Annu. Rev. Anthropol.* 33, 393–418.
- Skarda, R.T., Tranquilli, W.J., 2007. Local and regional anesthetic and analgesic techniques: ruminants and swine, in: Tranquilli, W.J., Thurmon, J.C., Grimm, K.A. (Eds.), *Lumb & Jones' Veterinary Anesthesia and Analgesia*, 4th ed. Blackwell Publishing, Ames, IA, pp. 643–680.
- Watson, D., 1993. Hyaluronidase. *Br. J. Anaesth.* 71, 422–425.
- Welsh, T.H., Jr., Johnson, B.H., 1981. Stress-induced alterations in secretion of corticosteroids, progesterone, luteinizing hormone, and testosterone in bulls. *Endocrinology* 109, 185–190.
- Whitlock, B.K., Coffman, E.A., Coetzee, J.F., Daniel, J.A., 2012. Electroejaculation increased vocalization and plasma concentrations of cortisol and progesterone, but not substance P, in beef bulls. *Theriogenology* 78, 737–746.

