



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

TIAGO TORRECILLAS STURION

**AVALIAÇÃO ULTRASSONOGRÁFICA DA INVOLUÇÃO DAS
ESTRUTURAS UMBILICAIS EXTRA E INTRACAVITÁRIAS
EM BEZERROS SADIOS DA RAÇA NELORE CONCEBIDOS
NATURALMENTE E PRODUTOS DE FERTILIZAÇÃO *IN*
*VITRO***

TIAGO TORRECILLAS STURION

**AVALIAÇÃO ULTRASSONOGRÁFICA DA INVOLUÇÃO DAS
ESTRUTURAS UMBILICAIS EXTRA E INTRACAVITÁRIAS
EM BEZERROS SADIOS DA RAÇA NELORE CONCEBIDOS
NATURALMENTE E PRODUTOS DE FERTILIZAÇÃO *IN*
*VITRO***

Dissertação a ser apresentada junto ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial para à obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Júlio Augusto Naylor Lisbôa.

Londrina
2011

Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da
Universidade Estadual de Londrina.

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

S935a Sturion, Tiago Torrecillas.
Avaliação ultrassonográfica da involução das estruturas umbilicais extra e intracavitárias em bezerros saudáveis da raça Nelore concebidos naturalmente e produtos de fertilização *in vitro* / Tiago Torrecillas Sturion. - Londrina, 2011.
78 f.: il.

Orientador: Júlio Augusto Naylor Lisboa.
Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, 2011.
Inclui bibliografia.

1. Bezerro - Cordão umbilical - Teses. 2. Bezerro - Doenças - Diagnóstico por imagem - Teses. 3. Bezerro - Abdome - Ultra-sonografia - Teses. 4. Bezerro - Fertilização *in vitro* - Teses. 5. Sanidade animal - Teses. I. Lisboa, Júlio Augusto Naylor. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. III. Título.

CDU 619:636.2

TIAGO TORRECILLAS STURION

**AVALIAÇÃO ULTRASSONOGRÁFICA DA INVOLUÇÃO DAS
ESTRUTURAS UMBILICAIS EXTRA E INTRACAVITÁRIAS EM
BEZERROS SADIOS DA RAÇA NELORE CONCEBIDOS
NATURALMENTE E PRODUTOS DE FERTILIZAÇÃO *IN VITRO***

Dissertação a ser apresentada junto ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial para à obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Júlio Augusto Naylor Lisbôa
UEL – Londrina - PR

Prof. Dr. Augusto José Savioli de Almeida
Sampaio
UEL – Londrina - PR

Prof. Dr. Marcelo Marcondes Seneda
UEL – Londrina - PR

Londrina, 01 de abril de 2011.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Júlio Augusto Naylor Lisbôa, pela constante orientação, compreensão, por tanto me ensinar em tão pouco tempo e por confiar na realização deste projeto.

À Profa. Dra. Karina Keller Marques da Costa Flaiban pela grande colaboração e ajuda incansável e aos professores e amigos do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal da UEL pelos conhecimentos e ajuda durante este período.

Aos residentes e funcionários do Laboratório de Patologia Clínica Veterinária da UEL, pela grande ajuda e amizade durante a execução deste projeto.

Às Faculdades Integradas de Ourinhos por terem permitido a realização deste projeto, sem esta nada seria possível. Aos funcionários, técnicos do Hospital Veterinário e aos alunos e professores do Curso de Medicina Veterinária Roque Quagliato pela ajuda, carinho durante todos estes anos de docência e compreensão na realização deste projeto.

Ao Dr. Roque Quagliato pela ajuda na realização deste projeto.

Ao Deputado Federal Abelardo Lupion pela abertura de sua fazenda para realização deste projeto e ao Dr. Luiz Carmelo Comegno Júnior pela ajuda na realização deste projeto.

Aos meus pais Domingos e Vera pelo carinho, amor, e pelo apoio emocional e paciência durante todas as fases deste projeto.

Aos meus irmãos Marco Aurélio e André Luiz pelo apoio, carinho, amizade durante todos os momentos.

À minha namorada Ana Clara Alves pelo carinho e amor incondicional, pelo apoio, ajuda e compreensão em todos os momentos.

Aos colegas do Centro de Diagnóstico e Apoio Veterinário (CEDIVET), Ricardo, Rodrigo, Rodi e Gustavo pela amizade e carinho.

A Deus pelas bênçãos, saúde, fé e perseverança que tem me dado

STURION, Tiago Torrecillas. **Avaliação ultrassonográfica da involução das estruturas umbilicais extra e intracavitárias em bezerros sadios da raça Nelore concebidos naturalmente e produtos de fertilização *in vitro***. 2011. 78 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2011.

RESUMO

Esse trabalho foi desenvolvido com o objetivo de caracterizar a involução das estruturas umbilicais em bezerros sadios da raça Nelore ao longo dos primeiros 35 dias de vida, e de comparar esse processo em bezerros concebidos por métodos naturais ou por fertilização *in vitro* (FIV). Quarenta bezerros foram distribuídos em dois grupos (n=20) de acordo com o método de concepção (natural ou FIV) e cada grupo foi composto por dez machos e dez fêmeas. A ultrassonografia (transdutor microconvexo de 7,5 MHz) foi empregada para examinar o conjunto das estruturas remanescentes do cordão umbilical que compõem o umbigo externo e as estruturas abdominais (veia umbilical, artéria umbilical esquerda e ducto alantóide), mensurando-se os seus diâmetros em locais definidos. Os exames foram realizados entre 24 e 36 horas de vida e aos 7, 14, 21, 28 e 35 dias de idade. Testaram-se os efeitos do sexo, da idade e do método de concepção por meio da análise de variâncias de medidas repetidas. O exame ultrassonográfico provou-se adequado para a avaliação das estruturas umbilicais extra e intracavitárias permitindo a caracterização do processo fisiológico de involução das mesmas. No umbigo externo as veias umbilicais foram observadas como imagem individualizada até os 14 dias de vida e um conjunto de estruturas em processo de atrofia era visualizado após essa idade. No abdômen, a veia e a artéria umbilicais foram visualizadas até os 35 dias de idade e o ducto alantóide somente durante a primeira semana de vida. Essas estruturas apresentaram-se com parede hiperecótica regular e contínua e lúmen homoganeamente anecótico. O diâmetro de todas as estruturas umbilicais estudadas se reduziu continuamente ao longo do primeiro mês de vida ($p < 0,05$), sem efeito do sexo ($p > 0,05$). Comparados aos bezerros concebidos por métodos naturais, os produtos de FIV nasceram com os vasos umbilicais e o ducto alantóide um pouco mais calibrosos (diâmetros 1 a 3 mm maiores). Distintamente dos valores mais elevados estabelecidos em estudos prévios para os bezerros de raças européias, pode-se admitir, por fim, que nos bezerros recém-nascidos sadios da raça Nelore a espessura das estruturas que compõem o umbigo externo não deve ultrapassar 2 cm, o diâmetro da veia e da artéria umbilicais pode chegar a 1 cm e o do ducto alantóide é próximo a 0,5 cm.

Palavras-chaves: Umbigo. Veia umbilical. Artéria umbilical. Úraco. Bezerros neonates. Zebuínos. Ultrassom.

STURION, Tiago Torrecillas. **Ultrasound evaluation of extra- and intraabdominal umbilical structures involution in healthy Nelore calves products of natural conception or *in vitro* fertilization.** 2011. 78 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) -Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2011.

ABSTRACT

This study was carried out to characterize the involution of the umbilical structures in healthy Nelore calves during their first 35 days of life, and to compare this process in calves conceived by natural methods or by *in vitro* fertilization (IVF). Forty calves were allocated in two groups (n = 20) according to its conception method (natural or IVF) and each group consisted of ten male and ten female calves. The ultrasound (7.5 MHz micro convex transducer) was used to examine all the remaining structures of the umbilical cord that make the external navel and the abdominal structures (umbilical vein, left umbilical artery and allantoic duct), and their diameters were measured in distinct locations. The examinations were performed between 24 and 36 hours of life and at 7, 14, 21, 28 and 35 days of age. The effects of sex, age and the conception method were tested by repeated measures ANOVA. The ultrasound examination has proved to be adequated for the evaluation of extra- and intra-cavity umbilical structures which has allowed the characterization of its involutive physiological process. The navel veins were observed in the external umbilical as individual images up to 14 days of life and a set of structures in the process of atrophy were seen after this age. In the abdomen, the artery and the umbilical vein could be examined up to 35 days of age, and the allantoic duct only during the first week of life. These structures showed a regular and consistent hyperechoic wall and a homogeneous anechoic lumen. The diameter of all the umbilical structures studied was reduced throughout the first month of life ($p < 0.05$) without any sex effect ($p > 0.05$). Compared to calves conceived by natural methods, the IVF ones were born with umbilical vessels and their allantoic duct slightly wider (diameter 1-3 mm larger), but such difference has probably no biological significance. Distinctly from the highest values established previously for taurine calves, we can disclose that in healthy newborn Nelore calves the thickness of the structures which make the external navel should not exceed 2 cm, the diameter of the umbilical vein and artery can reach 1 cm and the diameter of the allantoic duct is close to 0.5 cm.

Keywords: Navel. Umbilical vein. Umbilical artery. Urachus. Newborn calves. ZEBU. Ultrasound.

LISTA DE ABREVEATURAS E SIGLAS

AOS	<i>Abnormal Offspring Syndrome</i>
FIV	Fertilização <i>in vitro</i>
IVF	<i>In Vitro</i> Fertilization
PIVE	Produção <i>in vitro</i> de Embriões
TNCS	Transferência Nuclear de Celulas Somáticas

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Desenho semi-esquemático da circulação fetal no bezerro. 1: timo; 2: tronco pulmonar; 3: arco aórtico; 4: ducto arterioso; 5: artéria pulmonar; 6: forame oval; 7: parede do ventrículo esquerdo; 8: veia cava caudal; 9: ducto venoso; 10: junção de ramos umbilicais e portais no fígado; 11: veia umbilical; 12: coto da veia porta; 13: artéria umbilical esquerda; 14: vesícula biliar; 15: cólon descendente 15
- Figura 1** – Locais onde foram realizadas as mensurações de espessura do conjunto das estruturas que compõem o umbigo externo (u; medidas 1 e 2) e do diâmetro na veia umbilical (v; medidas 3 a 6), na artéria umbilical esquerda (a; medidas 7 a 9) e no ducto alantóide (da; medidas 10 a 13). Órgãos para referência: fígado (F) e bexiga (B)38
- Figura 2** – Corte transversal, próximo ao anel umbilical, das estruturas remanescentes do cordão umbilical que compõem o umbigo externo; demonstrando as duas veias umbilicais com lúmen anecóico em um bezerro com um dia de vida (A); e o conjunto das estruturas atrofiadas caracterizado pelo formato circular hipoeecóico homogêneo circundado por uma área anecóica em um bezerro com 28 dias de vida (B). Transdutor microconvexo de 7,5 MHz52
- Figura 3** – Cortes longitudinais da veia umbilical. Próximo ao anel umbilical em um bezerro com 21 dias de vida demonstrando as paredes hipoeecóicas e o lúmen anecóico estreitado (A). Entre o anel umbilical e o fígado em um bezerro com um dia de vida; pode-se observar toda a extensão da veia com paredes hipereecóicas e lúmen anecóico (B). Na chegada ao fígado em um bezerro com sete dias de vida; pode-se observar o parênquima hepático em situação cranial (C). Dentro do parênquima hepático antes da sua bifurcação em um bezerro com 21 dias de vida (D). Transdutor microconvexo de 7,5 MHz53

Figura 4 – Cortes longitudinais da artéria umbilical esquerda. Próximo ao anel umbilical em um bezerro com um dia de vida; podem-se observar as paredes hiperecóticas e o lúmen anecótico e a presença da artéria umbilical direita na situação mais próxima ao anel umbilical (A). Próximo ao anel umbilical em um bezerro com 14 dias de vida (B). Cranialmente ao pólo cranial da bexiga (bx) em um bezerro com 14 dias de vida; observa-se a bexiga em situação caudal e a artéria umbilical direita em situação ventral (C). Lateralmente à bexiga em um bezerro com sete dias de vida; observa-se a bexiga em situação ventral e conteúdo hipoecogênico na luz do vaso, sem formato ou tamanho definido (D). Transdutor microconvexo de 7,5 MHz54

Figura 5 – Cortes longitudinais do ducto alantóide. No pólo cranial da bexiga em um bezerro com um dia de vida; notam-se paredes hiperecóticas com lúmen anecótico como uma estrutura que se continua do pólo cranial da bexiga, de formato cônico (A). Um centímetro cranialmente à bexiga em um bezerro com um dia de vida; nota-se a luz estreita da estrutura (B). Em ambas as imagens a bexiga (bx) se apresenta em situação caudal e a artéria umbilical esquerda aparece dorsalmente. Transdutor microconvexo de 7,5 MHz55

LISTA DE QUADROS

- Quadro 1** – Espessura ($\bar{x} \pm s$) do conjunto das estruturas remanescentes do cordão umbilical que compõem o umbigo externo mensurado por métodos diferentes em bezerros sadios da raça Nelore concebidos naturalmente (Nat) ou por produção *in vitro* de embriões (PIVE), entre o nascimento e 35 dias de vida.....51
- Quadro 2** – Diâmetro ($\bar{x} \pm s$) das estruturas umbilicais abdominais mensurado por ultrassonografia em bezerros sadios da raça Nelore concebidos naturalmente (Nat) ou por produção *in vitro* de embriões (PIVE), entre o nascimento e 35 dias de vida.....51

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 ANATOMIA E FISILOGIA DA CIRCULAÇÃO FETAL E ESTRUTURAS UMBILICAIS.....	14
2.2 AFECÇÕES UMBILICAIS	17
2.3 PRODUÇÃO <i>IN VITRO</i> DE EMBRIÕES NO BRASIL E NO MUNDO.....	20
2.3 CARACTERÍSTICAS DOS PRODUTOS DE FIV E AFECÇÕES UMBILICAIS	22
2.5 ULTRASSONOGRAFIA DO UMBIGO E DAS ESTRUTURAS UMBILICAIS	25
3 OBJETIVOS	29
3.1 OBJETIVO GERAL	29
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	29
4 ARTIGO PARA PUBLICAÇÃO - AVALIAÇÃO ULTRASSONOGRÁFICA DA INVOLUÇÃO DAS ESTRUTURAS UMBILICAIS EXTRA E INTRACAVITÁRIAS EM BEZERROS SADIOS DA RAÇA NELORE CONCEBIDOS NATURALMENTE E PRODUTOS DE FERTILIZAÇÃO <i>in vitro</i>	30
3 CONCLUSÕES	60
4 REFERÊNCIAS	61
APÊNDICE	65
Apêndice A – Comitê de Ética em Experimentação Animal	66
ANEXOS	67
Anexo A – Normas para publicação na Pesquisa Veterinária Brasileira.....	68
Anexo B – Representação gráfica das estruturas umbilicais de acordo com a idade.....	71

1 INTRODUÇÃO

As doenças umbilicais são causas importantes de transtorno da saúde dos bezerros neonatos e podem contribuir significativamente para a mortalidade neonatal. A infecção bacteriana provoca inflamação das estruturas umbilicais e esse processo pode se restringir aos remanescentes do cordão umbilical que compõem o umbigo externo (onfalite) ou envolver a veia umbilical (onfaloflebite), as artérias umbilicais (onfaloarterite) e/ou o ducto alantóide, anteriormente denominado úracó (uraquite). Complicações como peritonite, cistite e hepatite podem ocorrer por contiguidade, assim como, artrite e pneumonia podem se instalar após bacteremia (ADAMS; FESSLER, 1987; GEISHAUSER; GRUNDER, 1992; HATHAWAY et al., 1993; KASARI; WIKSE, 1994; FIGUEIRÊDO, 1999; RADOSTITIS et al., 2002; DIRKSEN; GRÜNDER, STÖBER, 2005).

O diagnóstico dessas enfermidades é facilitado quando o processo se restringe ao umbigo externo. Os métodos semiológicos rotineiros, como a inspeção e a palpação, são geralmente suficientes para esse fim. No caso do envolvimento das estruturas abdominais, a palpação profunda do abdômen é empregada com sucesso relativo, palpando-se do umbigo em direção ao fígado (sentido cranial) para o exame da veia e em direção à bexiga (sentido caudal) para o exame das artérias e do ducto alantóide. Pode-se perceber essas estruturas bem definidas à palpação, com consistência firme e provavelmente com a presença de dor (TRENT; SMITH, 1984; GEISHAUSER; GRUNDER, 1992; GARCIA; LIBERA; BARROS FILHOS, 1996). A palpação abdominal profunda é um método que nem sempre alcança o seu objetivo, e ainda que se identifiquem anormalidades da veia, artérias e/ou ducto alantóide, comumente não é possível conhecer a extensão completa do processo (LISCHER; STEINER, 1994; FIGUEIRÊDO, 1999; RADOSTITIS et al., 2002; DIRKSEN; GRÜNDER; STÖBER, 2005). O diagnóstico por imagem tem, portanto, grande importância para a identificação dos processos inflamatórios instalados nas estruturas umbilicais abdominais.

Os exames radiográficos simples e contrastados foram muito utilizados no passado (BOUCKAERT; DE MOOR, 1965; DIEFENDERFER; BRIGHTLING, 1983). Por sua praticidade e aplicabilidade no campo, a ultrassonografia deve ser considerada, atualmente, o método de diagnóstico mais valioso nos casos das afecções das estruturas umbilicais abdominais (BAXTER,

1989; LISCHER; STEINER, 1994; EDWARDS III; FUBINI, 1995; STALLER et al., 1995; O'BRIEN; FORREST, 1996). Nos vários graus de anormalidade presentes podem ser visualizadas imagens com diferentes características já bem descritas, sendo digno de nota o espessamento das paredes da veia, artéria ou úraco acometidos e a presença de conteúdo no seu interior, frequentemente pús, provocando dilatação do vaso ou do úraco (BAXTER, 1989; LISCHER; STEINER, 1994; EDWARDS III; FUBINI, 1995; STALLER et al., 1995; O'BRIEN; FORREST, 1996). É importante levar em consideração que nos estágios iniciais da doença a imagem pode não diferir muito daquela própria da condição fisiológica.

O conhecimento da imagem que caracteriza essas estruturas em bezerros saudáveis, incluindo o diâmetro dos vasos e do ducto alantóide ao nascimento e a sua redução com o avançar da idade, relacionada com o processo natural de involução das mesmas, tem, portanto, grande importância prática. Há somente dois estudos que acompanharam a involução fisiológica das estruturas umbilicais abdominais em bezerros, empregando-se a ultrassonografia. Em ambos estudaram-se bezerros taurinos da raça Holandesa (WATSON et al., 1994) ou de outras raças européias (LISCHER; STEINER, 1994). Não há nenhuma informação a esse respeito em bezerros de raças zebuínas.

No Brasil, muito mais do que em outros países, nasce anualmente um grande número de bezerros concebidos por métodos não naturais, ou seja, clonagem e fertilização *in vitro* (FIV). Essa última biotécnica da reprodução é amplamente empregada em bovinos da raça Nelore, como uma alternativa rápida e eficiente de multiplicação das características genéticas mais desejáveis (VIANA; CAMARGO, 2007; VARAGO et al., 2008, PONTES et al., 2009). Apesar do grande número de bezerros produtos de FIV nascidos no país, há muito poucas investigações que procuraram estudar características fisiológicas ou patológicas desses indivíduos.

É bem conhecido que os indivíduos produtos de métodos artificiais de concepção podem experimentar alterações no seu desenvolvimento na vida fetal, em parte, porque a placenta também apresenta anormalidades. Essas alterações são extremas no caso dos bezerros clonados (GARRY et al., 1996; BATCHELDER et al., 2007; MEIRELLES et al., 2010) e de menor magnitude nos bezerros produtos de FIV (HASLER et al., 1995; BERTOLINE; ANDERSON, 2002; JACOBSEN et al., 2003). Nesses é bem descrita a condição denominada síndrome do bezerro gigante

(*Large Offspring Syndrome*), caracterizada pelo nascimento de bezerros com tamanho e peso maiores do que a média da raça, elevada incidência de distocia e tempo de gestação prolongado (YOUNG et al., 1998; FARIN; PIEDRAHITA, FARIN, 2006; FARIN; FARMER; FARIN, 2010). Esses bezerros podem apresentar graus variados de desequilíbrios metabólicos, imaturidade pulmonar e intestinal, o que concorre para a dificuldade de adaptação à vida extrauterina (GARRY et al., 1996; BATCHELDER et al., 2007; MEIRELLES et al., 2010).

Rodrigues et al. (2007, 2010b) relataram que bezerros Nelore produtos de FIV possuem maior prevalência de doenças umbilicais, e que isso pode estar relacionado à falha na transferência de imunidade passiva e à maior incidência de úraco persistente. Ainda que não haja estudo sistematizado, é uma observação relativamente comum na rotina prática que esses animais nascem com peso maior e com vasos umbilicais mais calibrosos. Em virtude da importância dos aspectos mencionados e da inexistência de informações em bezerros zebuínos, estudos mais aprofundados sobre o assunto são necessários.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 ANATOMIA E FISIOLOGIA DA CIRCULAÇÃO FETAL E AS ESTRUTURAS UMBILICAIS

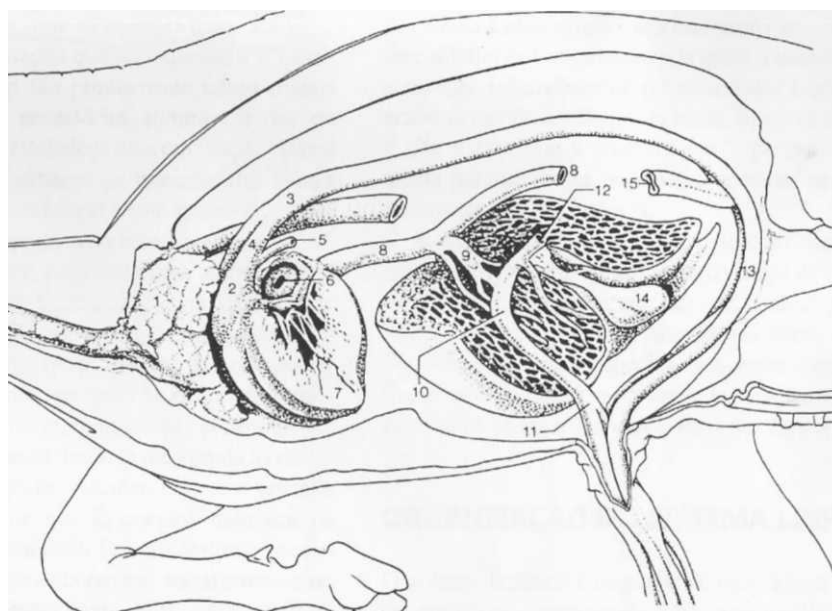
A placenta cotiledonária é característica nos ruminantes, e se apresenta com vários cotilédones que são regiões circulares, bem definidas e agrupadas por todo o córion. Esse último faz contato com áreas aglandulares predeterminadas do endométrio, conhecidas como carúnculas. A união da carúncula materna e o cotilédone fetal é conhecida como placentôneos, onde se realizam as trocas gasosas e de nutrientes materno-fetais (PRESTES; LANDIM-ALVARENGA, 2006). As carúnculas são constituídas por proliferação subepiteliais de tecido conjuntivo, estando presente em animais não gestantes, sendo que na vaca existem aproximadamente de 80 a 120 carúnculas (NODEN; LAHUNTA, 2001a).

Segundo Robinson (2004), o principal fator que irá determinar as trocas gasosas é a organização dos vasos sanguíneos fetais e maternos dentro das pequenas vilosidades interdigitantes nos placentôneos. Assim, as trocas são realizadas na forma de fluxo contracorrente, permitindo um maior equilíbrio das tensões gasosas venosas fetais e maternas.

Na vida fetal, após a formação e maturação da placenta, essa realizará a função de outros órgãos como os rins, os pulmões e o trato gastrointestinal. O sangue oxigenado, rico em nutrientes e sem catabólitos, os quais são removidos pela placenta, é conduzido ao feto por duas grandes veias umbilicais contidas no cordão umbilical. Próximo ao umbigo as duas veias se fundem em uma única estrutura. A veia umbilical intra-abdominal única irá penetrar no fígado pela fissura umbilical (Figura 1) e, após isto, irá se ramificar em dois ramos colaterais: um à esquerda (metade umbilical) que vasculariza a porção esquerda do fígado e é mais rico em oxigênio; e o outro à direita o qual vasculariza a porção direita do fígado (metade portal), possui uma tensão menor de oxigênio e faz a conexão com a veia porta. Após a junção dos ramos umbilicais e portais irá se formar um prolongamento direito do tronco umbilical, que é o ducto venoso. Este penetra através do parênquima hepático, desviando a circulação hepática e se une à veia cava caudal, ficando responsável por levar o sangue com teor de oxigênio menor do que o que entrou pela veia umbilical até o coração. O sangue será bombeado para o arco aórtico e, posteriormente, para a aorta. A artéria aorta termina se bifurcando em

artérias ilíacas. Uma ramificação de cada artéria ilíaca interna originará cada uma das duas artérias umbilicais, as quais passam pela região ventral lateral da bexiga, e irão sair do feto pelo umbigo levando o sangue com pouco oxigênio para a placenta (DYCE; SACK; WENSING, 2004).

Figura 1 – Desenho semi-esquemático da circulação fetal no bezerro. 1: timo; 2: tronco pulmonar; 3: arco aórtico; 4: ducto arterioso; 5: artéria pulmonar; 6: forame oval; 7: parede do ventrículo esquerdo; 8: veia cava caudal; 9: ducto venoso; 10: junção de ramos umbilicais e portais no fígado; 11: veia umbilical; 12: coto da veia porta; 13: artéria umbilical esquerda; 14: vesícula biliar; 15: cólon descendente



Fonte: Dyce, Sack e Wensing (2004).

O ducto alantóide compõe, junto com as artérias e a veia, o conjunto completo de estruturas umbilicais. Na cavidade abdominal do feto, o ducto alantóide aparece como um prolongamento da bexiga fetal e a sua continuação no cordão umbilical permite a comunicação entre a bexiga e a cavidade alantóide. A urina produzida pelo feto é conduzida, portanto, diretamente para a cavidade alantóide (NODEN; LAHUNTA, 2001b).

O funículo umbilical (cordão umbilical) pode possuir valores entre 3 a 43 centímetros de comprimento em bezerros zebuínos com dois a sete meses de idade fetal, podendo ser maior ao nascimento. É formado por duas veias umbilicais que ocupam a posição periférica, duas artérias que se dispõem na posição central e

o ducto alantóide que ocupa a região mediana. Estas estruturas estão entremeadas pela gelatina de Wharton e o epitélio amniótico envolve o conjunto destas estruturas (RIBEIRO; MIGLINO; DIDIO, 1997).

As artérias e as veias umbilicais possuem paredes constituídas por uma túnica interna ou íntima (com pregueamento mais característico na veia que na artéria), uma túnica média (com musculatura bastante desenvolvida) e a túnica externa ou adventícia (RIBEIRO; MIGLINO; DIDIO, 1997).

Durante o parto, o músculo liso que circunda o cordão umbilical se contrai em resposta ao estiramento que ocorre durante a expulsão do feto. No parto normal, o cordão umbilical é rompido por alongamento e estiramento, permanecendo com comprimento de 6 a 10 cm remanescente exteriorizado (BAXTER, 1989). Em bovinos não existe um ponto extra abdominal exato de ruptura do cordão umbilical, sendo assim o tamanho do cordão remanescente pode variar nas raças (FIGUEIREDO, 1999).

No nascimento o fluxo sanguíneo umbilical é interrompido devido à constricção dos vasos umbilicais, ocorrendo também à perda da circulação placentária de baixa resistência. Com isto irá aumentar a resistência vascular sistêmica, que resultará no aumento da pressão na artéria aorta, no ventrículo esquerdo e no átrio esquerdo. Com estas alterações, a pressão aórtica excederá a pressão arterial pulmonar e a pressão atrial esquerda excederá também a pressão arterial direita. Assim, o fluxo sanguíneo que passava pelo canal arterial e pelo forame oval irá se inverter e isso promoverá o fechamento destas duas estruturas. O coração irá possuir as características de um animal adulto (ROBINSON, 2004).

Quando ocorre a ruptura do cordão umbilical do bezerro, na passagem pela pelve materna, inicia-se uma série de eventos que determinam a involução das estruturas umbilicais. As veias umbilicais irão retrair em direção ao umbigo e irão selar o anel umbilical. A presença de sangue dentro destas neste período irá favorecer o processo de aderência das paredes. Logo após, ocorrerá a contração do anel umbilical e a proliferação de tecido conjuntivo e, com isso, o fechamento completo do umbigo. Depois da sua involução completa a veia umbilical intracavitária dará origem ao ligamento redondo que liga o fígado à parede abdominal ventral. No período de expulsão do feto o úraco e as artérias umbilicais irão se romper fora da cavidade abdominal e se retraem para dentro da mesma. As duas artérias umbilicais completamente involuídas darão origem aos ligamentos

redondos da bexiga. O ducto alantóide atrofiado dará origem ao ligamento central da bexiga (NUSS, 2007).

Após o parto, com a ruptura do cordão umbilical e a retração das estruturas para a cavidade abdominal, um certo comprimento do cordão permanece exposto. A aplicação de produtos com propriedade de provocarem o ressecamento da bainha amniótica que circunda o cordão deve ser realizada ente 8 a 10 horas de vida, para acelerar o processo de mumificação das estruturas e evitar a proliferação bacteriana. A queda do cordão remanescente ressecado ocorre em até dez dias após o nascimento (FIGUEIRÊDO, 1999).

A aplicação de agentes dessecantes e desinfetantes com poder residual, como a tintura de iodo é recomendada. As soluções mais concentradas de iodo (acima de 7%) são mais eficazes do que os produtos com concentração a 2% ou a iodo-povidona (RADOSTITIS et al., 2002).

A recomendação para com o cordão umbilical remanescente é descrita por Figueirêdo, (1999). Após o bezerro ter realizado a primeira mamada de colostro e permanecendo em estação, o cordão umbilical deve ser seccionado dois centímetros abaixo do término da pele. Deve-se mergulhar (imersão) todo o cordão remanescente em tintura de iodo com o auxílio de um frasco de boca larga, realizando-se movimentos de vai e vem durante um minuto. Sugere-se ainda que o processo de imersão de região seccionada deve ser realizado duas vezes ao dia até o terceiro dia de vida e diariamente até o oitavo dia de vida.

2.2 AFECÇÕES UMBILICAIS

As afecções do umbigo, e em particular as inflamações por infecção bacteriana, representam causa importante de doença nos bezerros neonatos. O manejo intensificado, o ambiente contaminado, as falhas na higiene do umbigo e falhas na transferência de imunidade passiva são os fatores mais prováveis de risco de infecção das estruturas remanescentes umbilicais (ADAMS; FESSLER, 1987).

Entre os principais problemas da pecuária de corte e de leite em todo o mundo estão os prejuízos causados pela mortalidade neonatal dos bovinos. A mortalidade de bezerros é a segunda principal causa de perda econômica na bovinocultura de corte nos Estados Unidos da América, superada apenas pelas falhas do manejo reprodutivo (KASARI; WIKSE, 1994).

O exame da região umbilical deve levar em consideração não somente as estruturas que constituem o umbigo, mas também a possibilidade do envolvimento piogênico de outros órgãos, como o fígado e as articulações. A inspeção e a palpação são os métodos semiológicos de eleição para a região umbilical. Por meio da inspeção observa-se o tamanho, o formato, a coloração da pele, a presença de fístulas e a existência de miíases. Na palpação avaliam-se as estruturas externas atentando-se para a presença de dor, de orifício herniário, de aumento da temperatura local, e de alterações na consistência. As estruturas internas abdominais devem ser examinadas por meio da palpação profunda da cavidade abdominal em sentido cranial (veia umbilical) e caudal (úraco e artérias) (GARCIA; LIBERA; BARROS FILHOS, 1996).

O diagnóstico das afecções umbilicais se baseia no histórico, e nos resultados dos exames físico (inspeção e palpação) e hematológico (TRENT; SMITH, 1984; GEISHAUSER; GRUNDER, 1992). As onfalites são facilmente diagnosticadas pelos métodos semiológicos rotineiros, mas os processos que afetam as estruturas umbilicais intracavitárias requerem métodos diagnósticos mais específicos. Radiografias abdominais, fistulografia e urografia excretora são exemplos de métodos complementares de diagnóstico (BOUCKAERT; DE MOOR, 1965, DIEFENDERFER; BRIGHTLING, 1983). Por sua praticidade e aplicação no campo, o exame ultrassonográfico deve ser considerado atualmente o método mais valioso para revelar os problemas nas estruturas umbilicais intrabdominais (BAXTER, 1989; LISCHER; STEINER, 1994; ED WARS III; FUBINI, 1995; STALLER, et al., 1995; O'BRIEN; FORREST, 1996).

Em 51 bezerros que se apresentavam com aumento de volume na região umbilical, a presença de afecções nas estruturas umbilicais intrabdominais foi diagnosticada pela ultrassonografia. A palpação abdominal profunda na região cranial e caudal ao umbigo foi capaz de revelar a presença de aumento de volume destas estruturas em 43 casos (84%) (LISCHER; STEINER, 1994).

Conforme descrito por Figueirêdo (1999) as infecções bacterianas são as afecções mais comuns do umbigo. Geralmente esses processos tratam-se de uma infecção e inflamação pós-natal envolvendo um ou mais componentes do cordão umbilical. De acordo com as estruturas envolvidas, os processos classificam-se da seguinte forma: onfalite (inflamação dos tecidos subcutâneos umbilicais fora do anel umbilical, apresentando frequentemente abscesso), onfaloflebite (infecção

ascendente com inflamação da veia umbilical), onfaloarterite (infecção ascendente com inflamação das artérias umbilicais), uraquites ou uracocistites (inflamação do ducto alantóide com ou sem infecção da bexiga) e onfalovasculite múltipla (infecção de todas as estruturas umbilicais simultaneamente) (DIRKSEN; GRÜNDER; STÖBER, 2005).

Os bezerros com afecções umbilicais podem apresentar diversos sintomas. A maior parte dos animais possui aumento de volume no umbigo e pode apresentar cifose, anorexia, hipertermia, mau desenvolvimento, e sinais de outras enfermidades tais como pulmonares e articulares. Na palpação do umbigo com inflamação aguda, este apresenta-se quente, doloroso à pressão com consistência firme ou flutuante. Em casos mais avançados os animais podem apresentar fístula umbilical com a drenagem de pús. Tenesmo e polaquiúria, assim como alterações nas características da urina, podem se apresentar nos casos de uraquite e uracocistite (DIRKSEN; GRÜNDER; STÖBER, 2005).

De acordo com o tempo de evolução e a fase do processo inflamatório, as onfalites podem ser divididas em flegmonosas (ou agudas) e apostematosas (ou crônicas encapsuladas) (GEISHAUSER; GRUNDER, 1992; FIGUEIREDO, 1999). A onfalite aguda é mais comum em bezerros com menos de três semanas de vida e a crônica se apresenta mais frequentemente em bezerros acima dos 21 dias de idade (GEISHAUSER; GRUNDER, 1992).

A onfaloflebite é a inflamação das veias umbilicais que pode acometer apenas as porções distais ou estender-se do umbigo até o fígado. Ocorre o surgimento de abscesso ao longo da veia umbilical que se dissemina para o fígado, causando o desenvolvimento de abscessos multifocais ou grandes que podem ocupar até a metade do órgão (RADOSTITIS et al., 2002).

Nas onfaloarterites os abscessos podem estar presentes desde o umbigo até as artérias ilíacas internas, ocorrendo em uma ou nas duas artérias (RADOSTITIS et al., 2002). É uma doença mais freqüente em bezerros com menos de 21 dias de vida, com evolução aguda, e podem ocorrer outras doenças associadas, tais como, enterite, pneumonia e peritonite (GEISHAUSER; GRUNDER, 1992).

As uraquites são processos inflamatórios que se localizam no ducto alantóide, mas podem se estender para a bexiga. Acometem bezerros com até seis meses de vida (GEISHAUSER; GRUNDER, 1992).

Em seu estudo retrospectivo Geishauser e Grunder (1992) examinaram, no intervalo de três anos, 619 bezerros e 104 possuíam afecções umbilicais. Destes aproximadamente a metade apresentou infecções das estruturas extrabdominais (47,2%), sendo a onfalite apostematosa ou crônica a afecção mais frequente (31,8% dos casos) e a onfalite aguda ou flegmosa menos frequente (16,4% dos casos). Nas infecções das estruturas abdominais, a onfaloflebite foi diagnosticada em 23,1% dos animais, a uraquite em 15,4% e a onfaloarterite foi a afecção menos prevalente (4,8% dos casos). Os casos de processos inflamatórios com envolvimento de mais do que uma estrutura foram incomuns, encontrando-se a onfalouracoarterite em 5,7% dos casos e a onfaloarterioflebite em 3,8% dos bezerros.

Hathaway et al., (1993) avaliaram 147 bezerros abatidos que tiveram a carcaça condenada porque apresentavam afecções umbilicais. As onfalites estavam presentes em somente 29,9% dos casos, e os processos mais internos foram mais frequentes. Outras complicações como a peritonite (24 bezerros) e o envolvimento do fígado (42 bezerros) foram apontadas. A associação com outras doenças como a enterite e a nefrite ocorreu em 10,9% dos casos.

A uraquite foi a doença das estruturas umbilicais mais prevalente (40,4% dos casos) em um levantamento realizado por Figueirêdo (1999) em um total de 42 bezerros. As seguintes prevalências foram apontadas para as demais doenças: onfalites em quatro animais (9,52%), onfaloflebites em 14 (33,3%), onfaloarterites em dois (4,7%), onfalouracoflebites (9,52%) em quatro bezerros e panvasculite umbilical em um caso (2,4%).

2.3 PRODUÇÕES *IN VITRO* DE EMBIÕES NO BRASIL E NO MUNDO

Conforme ANUALPEC (2010), no ano de 2009 o rebanho de gado bovino mundial contava com 969.773.000 cabeças, sendo que o Brasil possuía o maior rebanho do mundo, com 174.321.000 cabeças. Deste total, 80% eram bovinos da raça Nelore e seus cruzamentos. No mesmo ano, 46.523.040 bezerros nasceram no país, e projetou-se um total de 48.070.057 nascimentos de bezerros para o ano de 2010 no Brasil.

No ano de 2009, 5.205.958 doses de sêmen de touros de raças de corte foram comercializadas no país, sendo que 48,73% do total de doses de sêmen provinham de touros da raça Nelore (ANUALPEC, 2010).

A produção *in vitro* de embriões (PIVE) é uma biotécnica de reprodução assistida, que permite o desenvolvimento e realização de outras biotécnicas como a clonagem por transferência nuclear e a transgenia. A utilização desta técnica em escala comercial só foi possível após aperfeiçoamento dos meios de cultivo *in vitro* e o desenvolvimento da aspiração folicular *in vivo* (FIGUEIREDO; GONÇALVES; VISINTIN, 2008).

Segundo Varago et al., (2008), para a produção de embriões *in vitro* são necessárias três etapas a serem desenvolvidas em laboratório: a maturação e a fecundação dos oócitos *in vitro* e o cultivo embrionário *in vitro* até os estágios de mórula e blastocisto. Nesses estágios os embriões podem ser transferidos ou criopreservados.

Conforme dados de Viana e Camargo (2007), entre os anos de 2000 e 2006 a produção de embriões bovinos *in vivo* e *in vitro* no Brasil exibiu uma tendência numérica contrária ao cenário mundial, porque em alguns países e regiões que possuíam grande produção houve uma retração ou estagnação, por motivos como: limitação da técnica em raças taurinas, pouco interesse pelo aumento do rebanho e problemas sanitários como surtos de Febre Aftosa e de Encefalopatia Espongiforme Bovina. No ano de 2005, o Brasil foi responsável por aproximadamente 25% da produção total de embriões no mundo e por 50% da produção de embriões pelo método de PIVE. Comparativamente, os países europeus e os Estados Unidos da America contribuíram com apenas 2,18% e 0,5%, respectivamente. A produção mundial de embriões concebidos por PIVE foi de 266.021 unidades e o Brasil produziu 128.914 (48,46%). Neste mesmo ano, 97.304 embriões produzidos por PIVE eram da raça Nelore (ABCZ, 2005), o que representava 75,48% do total de embriões produzidos no Brasil e 36,57% do total de embriões produzidos no mundo.

Em todo o território brasileiro, no ano de 2010, 276.097 embriões de raças zebuínas foram produzidos no Brasil pela técnica de PIVE (93% do total) e pela técnica de transferência de embriões *in vivo* (7% do total). Destes, 180.669 (65,4%) embriões pertenciam à raça Nelore. Nessa raça, a grande maioria dos embriões foi produzida pela técnica de PIVE (167.785 que representam 92,8% do

total) e quase todos os embriões produzidos (95,9%) foram transferidos para receptoras (ABCZ, 2010).

O Brasil é hoje o segundo país no mundo que mais realiza a transferência de embriões convencional (por superovulação), sendo o primeiro país na produção de embriões pela técnica de PIVE (THIBIER, 2006). Existem duas razões para a popularização dessa última técnica no território brasileiro. A primeira se deve ao valor comercial dos bovinos da raça Nelore (*Bos taurus indicus*), e ao fato de ser esta a raça mais popular de gado no país. A segunda razão é determinada pelo aumento do interesse de outros países tropicais em adquirirem a genética brasileira do Nelore (NASSER et al., 2008). Notadamente, a possibilidade de colher um maior número de oócitos nas fêmeas da raça Nelore é o principal motivo para que a técnica de PIVE venha sendo tão difundida no país (PONTES et al., 2009). É grande o número atual de laboratórios privados que desenvolvem essa técnica no Brasil.

O objetivo da técnica de PIVE não é o de substituir a de transferência de embriões mas sim permitir a produção de embriões originários de fêmeas com infertilidade adquirida, que não respondem à superovulação, de animais doentes e ou recém-mortos. Sobre as considerações técnicas da PIVE, esta permite a maior exploração zootécnica de fêmeas com genética superior em menor tempo, sendo possível que as aspirações foliculares sejam realizadas a cada 15 dias ou mensalmente. Sempre que a taxa de fertilidade for igual ou maior do que 40%, a técnica de FIV produzirá um número maior de bezerros por doadora do que a transferência de embriões convencional (VARAGO et al., 2008).

2.4 CARACTERÍSTICAS DOS BEZERROS CONCEBIDOS POR MÉTODOS ARTIFICIAIS

A clonagem por transferência nuclear da célula somática (SCNT ou TNCS) é baseada na substituição da cromatina de um óvulo maduro pelo núcleo de uma célula retirada do bovino a ser clonado (FIGUEIREDO; GONÇALVES; VISINTIN, 2008). Os bezerros clonados quando comparados aos não clonados apresentam diversas particularidades que podem dificultar a sua adaptação à vida extra-uterina ou comprometer a sua saúde mais tardiamente. Podem-se destacar o peso maior ao nascimento, o tempo de gestação prolongado sendo necessária a indução do parto e a realização de cesareana, as alterações placentárias tais como

edema grave, vasos aumentados de tamanho e menor quantidade de placentôneos, uma séria de alterações do sistema circulatório, instabilidades metabólicas e imaturidade pulmonar e intestinal. Requerem cuidados intensivos durante as primeiras semanas de vida. Particularmente nascem com os vasos umbilicais mais calibrosos, e apresentam elevada incidência de úraco patente, e maior susceptibilidade às doenças umbilicais (GARRY et al., 1996; BATCHELDER et al., 2007; MEIRELLES et al., 2010).

Ainda que não se compare à situação extrema dos bezerros clonados, a técnica de PIVE também pode resultar em perdas embrionárias, em morte fetal com abortamento, assim como em uma variedade de defeitos no feto e na placenta (HASLER et al., 1995; BERTOLINE; ANDERSON, 2002) culminando com o nascimento de bezerros de tamanho grande (JACOBSEN et al., 2003). A síndrome do bezerro gigante ou *Large Offspring Syndrome* é um termo utilizado para descrever a associação dos defeitos de desenvolvimento do feto e da placenta, resultando em bezerros nascidos com maior tamanho e peso (FARIN; PIEDRAHITA; FARIN, 2006; FARIN; FARMER; FARIN, 2010).

A exposição dos embriões bovinos a diversos meios incomuns para a promoção do estágio embrionário de blastocisto em laboratório pode resultar no desenvolvimento do gigantismo em graus variados, assim como provocar diversos defeitos em órgãos. Quatro diferentes situações foram incriminadas com a ocorrência desse problema: a cultura de embriões *in vitro* (efeito indesejável de componentes dos meios aos quais o embrião foi exposto), a transferência do embrião para o útero da receptora em estágio não sincronizado (mais avançado), a técnica de transferência nuclear (clonagem) e as receptoras recebendo dietas com elevados teores de proteína durante a gestação o que provoca aumento da concentração plasmática de ureia (YOUNG et al., 1998).

Farin, Piedrahita e Farin (2006) sugeriram que o termo *Large Offspring Syndrome* deva ser trocado por *Abnormal Offspring Syndrome* (AOS), porque este descreve com maior precisão as condições anormais de desenvolvimento observadas nas técnicas de PIVE e SCNT para bovinos e outras espécies. Ainda propõem um sistema de classificação que deverá facilitar os esforços nas investigações sobre os mecanismos dos vários fenótipos observados na AOS. Esta classificação é dividida em quatro tipos. O tipo 1 está relacionado com o desenvolvimento anormal e a morte precoce do embrião, antes de ocorrer a

organogênese aproximadamente aos 42 dias de gestação. O tipo 2 refere-se ao desenvolvimento anormal das membranas placentárias e do feto ocorrendo a morte fetal ou abortamento, entre 42 e 280 dias de gestação. O tipo 3 ocorre ao término da gestação com o desenvolvimento de anormalidades graves no feto e/ou na placenta, o parto pode ser eutócico ou distócico, os bezerros irão apresentar diversas alterações clínicas, hematológicas e nos parâmetros bioquímicos, e a morte ocorre durante o parto ou o período perinatal. O tipo 4 ocorre ao término da gestação com o desenvolvimento de anormalidades moderadas no feto e/ou na placenta. Entretanto, a unidade feto-placenta irá compensar e adaptar os distúrbios fisiológicos que se apresentam, o parto pode ser eutócico ou distócico, e os bezerros poderão ter tamanho e peso maiores ou normais para a sua raça. Estes recém-nascidos podem ainda apresentar anormalidades clínicas, hematológicas e bioquímicas, mas mais provavelmente se adaptam com sucesso à vida extrauterina.

A relação entre o método de concepção e a ocorrência das doenças umbilicais é bem documentada nos bezerros clonados, mas é muito pouco estudada nos bezerros produtos de PIVE. Nos bezerros clonados a incidência de persistência do ducto alantóide é elevada, os vasos umbilicais apresentam-se muito calibrosos e se atrofiam com lentidão. Por consequência, a prevalência de doenças das estruturas umbilicais é alta tanto em bezerros taurinos (GARRY et al., 1996; BATCHELDER et al., 2007) quanto em zebuínos (MEIRRELLES et al., 2010).

Rodrigues et al. (2007; 2010b) estudaram a correlação entre o método de concepção e a ocorrência de doenças das estruturas umbilicais em um número não muito grande de bezerros ($n = 44$), sendo 31 bezerros da raça Nelore e produtos de PIVE. A persistência de ducto alantóide foi o problema mais freqüente ($n=22$) nesses indivíduos. Os autores levantaram a hipótese preliminar de que as afecções umbilicais podem ser mais prevalentes em bezerros frutos de PIVE, e de que isso poderia estar relacionado com falha na transferência de imunidade passiva (RODRIGUES et al. 2007), o que não foi comprovado posteriormente (RODRIGUES et al., 2010a). A observação, na rotina prática, de que os bezerros produtos de PIVE podem nascer com vasos umbilicais mais calibrosos é relevante e precisa ser melhor estudada.

2.5 ULTRASSONOGRRAFIA DO UMBIGO E DAS ESTRUTURAS UMBILICAIS

Antes do desenvolvimento dos aparelhos de ultrassonografia que geram imagens em duas dimensões (modo B ou modo bidimensional), o diagnóstico das alterações envolvendo as estruturas umbilicais remanescentes internas em bezerros era realizado por meio de palpação abdominal profunda, exame radiográfico simples e contrastado, laparotomia exploratória com ressecção cirúrgica das estruturas acometidas e por exame necroscópico (BOUCKAERT; DE MOOR, 1965; DIEFENDERFER; BRIGHTLING, 1983; BAXTER 1989). Mais recentemente, a ultrassonografia vem se provando um método valioso para a avaliação das estruturas remanescentes do umbigo em bezerros sadios (WATSON, et al., 1994; LISCHER; STEINER, 1993) e para a identificação das diferentes doenças que ocorrem nestas estruturas (LISCHER; STEINER, 1994; STALLER, et al., 1995; EDWARDS III; FUBINI, 1995; O'BRIEN; FORREST, 1996).

Em estudo realizado por Lischer e Steiner (1993) avaliando a involução das estruturas umbilicais intrabdominais em 20 bezerros saudáveis de raças taurinas variadas, até os 22 dias de vida, observou-se que todas as estruturas regrediram de tamanho com o avançar da idade, e, por isso, a mensuração das estruturas não foi possível em todos os animais a partir dos 11 dias de vida. A veia umbilical apresentou-se mais calibrosa na região próxima ao anel umbilical e mais delgada em direção fígado, com paredes hiperecóticas e lúmen anecótico, sendo esta característica visualizada em todas as mensurações. A veia umbilical, no primeiro dia de vida, possuía diâmetros de $11,0 \pm 3,4$ mm (n=20) e $7,0 \pm 2,3$ mm (n=20) no anel umbilical e dentro do parenquima hepático, respectivamente. Aos 22 dias de vida os diâmetros haviam se reduzido para $5,0 \pm 1,2$ mm (n=10) e $6,0 \pm 2,1$ mm (n=2). Ao contrário da veia umbilical as artérias possuíam diâmetro menor próximo ao anel umbilical e maior lateralmente à bexiga, sendo $23,4 \pm 5,3$ mm (n=31) e $16,9 \pm 5,0$ mm (n=24), respectivamente, no primeiro dia de vida e $13,7 \pm 6,7$ mm (n=28) e $13,6 \pm 3,5$ mm (n=21) respectivamente, aos 22 dias de vida. O ducto alantóide raramente foi visualizado e sua mensuração não foi possível nos bezerros estudados. Examinado nos bezerros recém-nascidos submetidos à eutanásia após a dissecação das estruturas circunvizinhas, o ducto alantóide possuía diâmetro de cinco milímetros, com característica ultrassonográfica de paredes cilíndricas, finas e hiperecóticas e com o lúmen não definido.

Em estudo realizado por Watson et al. (1994) acompanhando a involução das estruturas remanescentes do umbigo em 15 bezerros saudáveis da raça Holandesa até os 21 de vida, observou-se igualmente que todas as estruturas mensuradas diminuíram de diâmetro durante o decorrer do experimento. O umbigo externo foi mensurado próximo ao anel umbilical possuindo valor de $24,67 \pm 3,57$ mm no primeiro dia de vida e $14,44 \pm 3,78$ mm aos 21 dias de idade. A veia umbilical dentro do umbigo externo pôde ser mensurada até 14 dia de vida. O diâmetro da veia umbilical no interior do abdômen se reduziu de $11,2 \pm 3,6$ mm no primeiro dia de vida para $1,2 \pm 2,4$ mm na terceira semana após o nascimento. A artéria umbilical diminuiu de calibre, da mesma forma, com o avançar da idade ($10,3 \pm 1,8$ mm um dia após o nascimento e $6,8 \pm 1,0$ mm na terceira semana de idade). Em nenhum dos bezerros o ducto alntóide foi identificado. Neste estudo os autores concluíram que a mensuração pode ser usada como referência para o diagnóstico de anormalidades das estruturas umbilicais remanescentes.

A veia umbilical geralmente possui lúmen anecogênico com uma parede distinta, sendo o diâmetro maior próximo ao umbigo e diminuindo em direção ao fígado. Pode ser identificada no parênquima hepático próximo à veia porta nos primeiros dias de vida. Após as duas semanas de vida esta se apresenta pequena e hipoecogênica, sendo difícil de ser encontrada no parênquima hepático. No decorrer de três semanas de vida só pode ser visualizada na base do umbigo. Geralmente a veia umbilical, entre o umbigo e o fígado, apresenta-se com diâmetro menor do que 10 mm (STREETER; STEP, 2007).

As artérias umbilicais se retraem do umbigo imediatamente após o nascimento e podem ser visualizadas pela ultrassonografia lateralmente à bexiga. Podem ter uma distância variável cranialmente ao ápice da bexiga. Normalmente as artérias umbilicais são pequenas e mais dificilmente visualizadas do que a veia umbilical. A sua parede é mais espessa e, usualmente, as artérias são hipoecogênicas. Comparadas com os tecidos circunjacentes, seu lúmen possui ecogenicidade variável, mas geralmente é maior do que a veia umbilical. São de difícil visualização após uma semana de vida (STREETER; STEP, 2007).

Em estudo realizado por O'Brien e Forrest (1995), avaliando a sensibilidade e especificidade da ultrassonografia em um total de 50 bezerros com suspeita de afecções das estruturas umbilicais extra e intra abdominais, esses índices se apresentaram como 83% e 89% respectivamente, para a diferenciação de

animais doentes dos saudáveis, sendo um método pouco sensível para o diagnóstico de alteração da veia umbilical. Os autores descrevem que critérios subjetivos são úteis para o diagnóstico, como a presença de gás e/ou fluidos ecogênicos no lúmen, aumento de volume e parede hipoecóicas nos vasos umbilicais e no úraco. As artérias umbilicais são de difícil avaliação, principalmente quando a bexiga se encontra vazia. Sendo assim, as doenças relacionadas com as artérias umbilicais não foram identificadas no exame pré-operatório com a utilização da ultrassonografia. Isto ocorreu devido à dificuldade em se observar estas estruturas em um plano dorsal, sendo que para facilitar a visualização da mesma o decúbito lateral se fez necessário.

Em estudo avaliando a concordância da ultrassonografia com os achados físicos em bezerros portadores de doenças das estruturas umbilicais, o diagnóstico ultrassonográfico foi preciso em 13 dos 14 (94%) animais com anormalidades do úraco, em 9 de 10 (90%) animais com alterações na veia umbilical e em 12 de 13 (92%) animais com alterações nas artérias umbilicais. Comparando o exame ultrassonográfico com os achados cirúrgicos e *post-mortem*, o primeiro se provou como um método excelente para o diagnóstico de todas as alterações das estruturas umbilicais, sendo que as aderências não foram detectadas por ultrassonografia (STALLER et al., 1995).

Lischer e Steiner (1994) descreveram uma série de alterações no padrão das imagens ultrassonográficas que caracterizam cada uma das enfermidades umbilicais. Na onfalite é importante observar o diâmetro (maior que 3 cm nos animais até três semanas e maior que 2 cm após esta idade), a presença de conteúdo anecóico com partículas hiperecóicas dispersas caracterizando a coleção purulenta mais fluida, sendo que o pús cremoso aparece como homogeneamente hipoecóico com imagem hiperecóica nas áreas que o circulam. A cápsula do abscesso possui de 0,5 a 3 cm de espessura possuindo característica hipoecóica e existe uma área anecóica entre a cápsula e o conteúdo com aproximadamente 0,5 cm de espessura. Nas doenças do úraco é possível observar o diâmetro maior que um centímetro com presença de lúmen hiperecóico nos animais com uraquite com envolvimento da bexiga ou não. A onfaloarterite foi diagnosticada nos animais que apresentaram diâmetro maior do que 1,5 cm na posição lateral à bexiga. As onfaloflebites foram diagnosticadas em animais com idade superior a 21 dias de vida

com diâmetro da veia umbilical maior do que 2,5 cm e o lúmen não era completamente anecóico.

Não foram encontrados estudos publicados sobre a avaliação ultrassonográfica das estruturas umbilicais em bezerros de raças zebuínas, quer sejam saudáveis, quer doentes. É incerto que os diâmetros apontados para a veia e para a artéria umbilicais em bezerros sadios de raças européias, possam ser admitidos como referência também para os de raças indianas. A caracterização do processo fisiológico de involução das estruturas umbilicais e a validação do exame ultrassonográfico para avaliação das mesmas são temas que merecem ser objeto de estudo nos bezerros zebuínos, notadamente os da raça Nelore, em virtude da expressão numérica da sua população e da importância econômica que essa raça possui no país.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar, pelo método ultrassonográfico, a involução das estruturas umbilicais internas e externas de bezerros neonatos da raça Nelore sadios, frutos de dois métodos diferentes de concepção.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar a eficiência da ultrassonografia para o exame das estruturas umbilicais nos bezerros zebuínos e apontar as dificuldades técnicas relacionadas com a sua execução.

Acompanhar a involução fisiológica das estruturas umbilicais, estabelecendo valores de referência para a espessura do conjunto das estruturas que compõem o umbigo externo, e para os diâmetros da veia umbilical, da artéria umbilical e do ducto alantóide na cavidade abdominal de bezerros Nelore nas primeiras semanas de vida.

Estabelecer comparações entre machos e fêmeas e entre os bezerros produtos de fertilização natural e *in vitro*.

4 ARTIGO PARA PUBLICAÇÃO

AVALIAÇÃO ULTRASSONOGRÁFICA DA INVOLUÇÃO DAS ESTRUTURAS UMBILICAIS EXTRA E INTRACAVITÁRIAS EM BEZERROS SADIOS DA RAÇA NELORE CONCEBIDOS NATURALMENTE E PRODUTOS DE FERTILIZAÇÃO *IN VITRO*¹

Ultrasound evaluation of extra- and intra-abdominal umbilical structures involution in healthy Nelore calves products of natural conception or *in vitro* fertilization

Abstract: This study was carried out to characterize the involution of the umbilical structures in healthy Nelore calves during their first 35 days of life, and to compare this process in calves conceived by natural methods or by *in vitro* fertilization (IVF). Forty calves were allocated in two groups (n = 20) according to its conception method (natural or IVF) and each group consisted of ten male and ten female calves. The ultrasound (7.5 MHz micro convex transducer) was used to examine all the remaining structures of the umbilical cord that make the external navel and the abdominal structures (umbilical vein, left umbilical artery and allantoic duct), and their diameters were measured in distinct locations. The examinations were performed between 24 and 36 hours of life and at 7, 14, 21, 28 and 35 days of age. The effects of sex, age and the conception method were tested by repeated measures ANOVA. The ultrasound examination has proved to be adequate for the evaluation of extra- and intra-cavity umbilical structures which has allowed the characterization of its involutive physiological process. The navel veins were observed in the external umbilical as individual images up to 14 days of life and a set of structures in the process of atrophy were seen after this age. In the abdomen, the artery and the umbilical vein could be examined up to 35 days of age, and the allantoic duct only during the first week of life. These structures showed a regular and consistent hyperechoic wall and a homogeneous anechoic lumen. The diameter of all the umbilical structures studied was reduced throughout the first month of life ($p < 0.05$) without any sex effect ($p > 0.05$). Compared to calves conceived by natural methods, the IVF ones were born with umbilical vessels and their allantoic duct slightly wider (diameter 1-3 mm larger), but such difference has probably no biological significance. Distinctly from the highest values established previously for taurine calves, we can disclose that in healthy newborn Nelore calves the thickness of the structures which make the external navel should not exceed 2 cm, the diameter of the umbilical vein and artery can reach 1 cm and the diameter of the allantoic duct is close to 0.5 cm.

Keywords: Navel. Umbilical vein. Umbilical artery. Urachus. Newborn calves. Zebu. Ultrasound.

¹ Artigo redigido conforme as normas para publicação da Pesquisa Veterinária Brasileira.

Resumo: Esse trabalho foi desenvolvido com o objetivo de caracterizar a involução das estruturas umbilicais em bezerros sadios da raça Nelore ao longo dos primeiros 35 dias de vida, e de comparar esse processo em bezerros concebidos por métodos naturais ou por fertilização *in vitro* (FIV). Quarenta bezerros foram distribuídos em dois grupos (n=20) de acordo com o método de concepção (natural ou FIV) e cada grupo foi composto por dez machos e dez fêmeas. A ultrassonografia (transdutor microconvexo de 7,5 MHz) foi empregada para examinar o conjunto das estruturas remanescentes do cordão umbilical que compõem o umbigo externo e as estruturas abdominais (veia umbilical, artéria umbilical esquerda e ducto alantóide), mensurandose os seus diâmetros em locais definidos. Os exames foram realizados entre 24 e 36 horas de vida e aos 7, 14, 21, 28 e 35 dias de idade. Testaram-se os efeitos do sexo, da idade e do método de concepção por meio da análise de variâncias de medidas repetidas. O exame ultrassonográfico provou-se adequado para a avaliação das estruturas umbilicais extra e intracavitárias permitindo a caracterização do processo fisiológico de involução das mesmas. No umbigo externo as veias umbilicais foram observadas como imagem individualizada até os 14 dias de vida e um conjunto de estruturas em processo de atrofia era visualizado após essa idade. No abdômen, a veia e a artéria umbilicais foram visualizadas até os 35 dias de idade e o ducto alantóide somente durante a primeira semana de vida. Essas estruturas apresentaram-se com parede hiperecótica regular e contínua e lúmen homogeneamente anecótico. O diâmetro de todas as estruturas umbilicais estudadas se reduziu continuamente ao longo do primeiro mês de vida ($p < 0,05$), sem efeito do sexo ($p > 0,05$). Comparados aos bezerros concebidos por métodos naturais, os produtos de FIV nasceram com os vasos umbilicais e o ducto alantóide um pouco mais calibrosos (diâmetros 1 a 3 mm maiores). Distintamente dos valores mais elevados estabelecidos em estudos prévios para os bezerros de raças européias, pode-se admitir, por fim, que nos bezerros recém-nascidos sadios da raça Nelore a espessura das estruturas que compõem o umbigo externo não deve ultrapassar 2 cm, o diâmetro da veia e da artéria umbilicais pode chegar a 1 cm e o do ducto alantóide é próximo a 0,5 cm.

Palavras-chave: Umbigo. Veia umbilical. Artéria umbilical. Úraco. Bezerros neonatos. Zebuínos. Ultrassom.

INTRODUÇÃO

O cordão umbilical é formado por cinco estruturas principais: duas veias umbilicais, duas artérias umbilicais e o ducto alantóide. As veias se fusionam próximo ao anel umbilical e sua principal função é o transporte do sangue oxigenado da placenta em direção ao fígado do feto (Noden & Lahunta 2001, Dyce et al. 2004, Nuss 2007). As duas artérias umbilicais possuem origem nas ilíacas internas, passam lateralmente à bexiga, uma de cada lado, em direção à placenta e conduzem o sangue fetal não oxigenado (Dyce et al. 2004, Nuss 2007). O ducto alantóide se continua a partir da bexiga do feto e possui a função de conduzir a urina produzida pelo feto até o saco alantóide (Noden & Lahunta, 2001, Nuss 2007). Após

o nascimento, a veia, as artérias e o ducto alantóide não possuem função e se atrofiam. Essas estruturas podem ser a sede de doenças nos bezerros neonatos.

As afecções umbilicais podem ser agrupadas, de acordo com a sua causa, em: não infecciosas, como as hérnias umbilicais e o úraco patente ou persistente; e infecciosas que, conforme a sua localização, são reagrupadas em extra e intracavitárias. Os processos extrabdominais são denominados onfalites, e os intrabdominais recebem as seguintes denominações de acordo com a estrutura acometida: onfaloflebite, onfaloarterite, onfalouraquite e suas combinações (Figueirêdo 1999).

O diagnóstico das afecções umbilicais se baseia no histórico, e nos resultados dos exames físico (inspeção e palpação) e hematológico (Trent & Smith 1984, Geishauser & Grunder 1992). As onfalites são, de forma geral, facilmente diagnosticadas pelos métodos semiológicos rotineiros, mas os processos que afetam as estruturas umbilicais intracavitárias requerem métodos diagnósticos mais específicos. Radiografias abdominais, fistulografia e urografia excretora são exemplos de métodos complementares de diagnóstico (Bouckaert & de Moor 1965, Diefenderfer & Brightling 1983). Por sua praticidade e aplicação no campo, o exame ultrassonográfico deve ser considerado atualmente o método mais valioso para revelar os problemas nas estruturas umbilicais intrabdominais (Baxter et al. 1989, Lischer & Steiner 1994, Edwards III & Fubini 1995, Staller et al. 1995, O'Brien & Forrest 1996).

A ultrassonografia foi utilizada para avaliar a involução ou atrofia das estruturas umbilicais abdominais ao longo das primeiras semanas de vida em bezerros sadios (Lischer & Steiner 1993, Watson et al. 1994). As mensurações dos diâmetros da veia e da artéria umbilicais foram estabelecidas em diferentes idades, caracterizando o processo natural de atrofia e os valores obtidos possuem grande importância porque são utilizados como referência para a interpretação e o diagnóstico de anormalidades nessas estruturas. Em ambos os estudos examinaram-se bezerros de raças taurinas. Até o momento, são desconhecidos esses valores de referência em bezerros zebuínos.

Rodrigues et al. (2007, 2010) apontaram maior ocorrência de enfermidades umbilicais em bezerros Nelore concebidos artificialmente, pela técnica de produção *in vitro* de embriões (PIVE), mas a causa para isso ainda não está devidamente esclarecida. Como evidenciado na rotina prática, esses bezerros

podem nascer com os vasos umbilicais mais calibrosos, os quais se atrofiam mais lentamente. No caso dos bezerros clonados já está bem caracterizado que nascem com tamanho e peso maiores, com vasos umbilicais de maior diâmetro e apresentam maior chance de desenvolverem doenças umbilicais (Garry et al. 1996, Batchelder et al. 2007, Meirelles et al. 2010). A ocorrência da síndrome do bezerro grande (*Large Offspring Syndrome*) é comumente descrita em animais frutos de processos artificiais de fertilização e não somente nos bezerros clonados (Behboodi et al. 1995, Kruij & den Daas 1997, Young et al. 1998, Jacobsen et al. 2000, Bertolini & Anderson 2002, Farin et al. 2006, 2010). A maior susceptibilidade dos bezerros produtos de PIVE à doença umbilical é um assunto que merece ser melhor esclarecido.

O presente estudo foi desenvolvido com o objetivo de avaliar, por ultrassonografia, o processo de involução das estruturas componentes do umbigo externo, da veia umbilical, da artéria umbilical e do ducto alantóide em bezerros saudáveis da raça Nelore entre o nascimento e os 35 dias de vida, e de comparar os animais frutos de concepção natural com os produtos de PIVE.

MATERIAL E MÉTODOS

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética e Experimentação Animal da Universidade Estadual de Londrina, registrado sob o número de protocolo CEEA/UEL 24/2009.

Local do experimento

O experimento foi realizado em uma propriedade rural localizada no município de Santo Antônio da Platina, PR (23°14'37"S de latitude e 50°00'22"W de longitude e altura de 533 metros acima do nível do mar), na qual são criados bovinos da raça Nelore, sendo a produção e venda de matrizes e de reprodutores, a principal exploração. As análises hematológicas foram realizadas no Laboratório Clínico do Hospital Veterinário do Curso de Medicina Veterinária Roque Quagliato das Faculdades Integradas de Ourinhos (FIO).

Animais, grupos experimentais e manejo

Foram incluídos no estudo 40 bezerros saudáveis da raça Nelore, acompanhados do nascimento até os 35 dias de vida. Os bezerros foram agrupados de acordo com o método de concepção do qual eram fruto: concepção natural (fertilização *in vivo* por monta natural ou inseminação artificial) e concepção artificial (produção *in vitro* de embriões - PIVE); totalizando 20 animais por grupo. Cada grupo foi constituído ainda por número igual de bezerros de cada sexo (10 machos e 10 fêmeas).

Os nascimentos ocorreram entre novembro de 2009 e setembro de 2010, independentemente do método de concepção, sem uma distribuição sazonal definida. Os bezerros produzidos de PIVE eram filhos de nove touros distintos e de 12 vacas diferentes das quais se obtiveram oócitos por punção ovariana guiada por ultrassonografia. Os embriões obtidos por fertilização *in vitro* foram transferidos, a fresco, para as fêmeas receptoras previamente sincronizadas. As receptoras eram fêmeas V2 sangue Nelore, frutos de cruzamentos com as raças Pardo Suíça, Simental ou Red Angus. Dentre as receptoras sete eram novilhas e as demais já haviam parido uma (n=4), duas (n=6) ou três vezes (n=3). Os bezerros concebidos por métodos naturais (10 produtos de monta natural e 10 produtos de inseminação artificial) eram filhos de 11 touros diferentes. Dentre as mães duas eram novilhas e as demais já haviam parido uma (n=8), duas (n=4), três (n=5) ou quatro vezes (n=1). Não foram incluídos gêmeos nesse estudo.

Os partos aconteciam em piquetes próprios para a observação mais intensiva da parturiente e não houve indução do parto em nenhuma das fêmeas do estudo. Após o parto os bezerros permaneciam em contato direto com as suas mães e realizavam a mamada natural do colostro. Todos os animais eram mantidos em regime de manejo extensivo em pastagens de *Brachiaria brizantha* ou de grama Estrela roxa (*Cynodon nlemfuensis*) com oferta permanente de água e de sal mineralizado comercial (Guabiphos 90 Cria®; Guabi Ltda; Campinas, SP) à vontade. Os bezerros e suas mães permaneceram sob vigilância regular (de três a quatro vezes por dia) durante todo o período de duração do experimento.

Para todos os bezerros nascidos na propriedade o mesmo manejo era adotado, independente do método de concepção. Após a primeira mamada do colostro ou, no máximo, até 8 horas de vida, realizava-se a antissepsia do umbigo

com produto comercial contendo diclorvós, ácido pícrico, iodofórmio e fenol (Umbicura®; Pecuarista d'oeste de Araçatuba Ltda.; Araçatuba, SP), aplicando-o externamente e internamente no cordão umbilical remanescente exposto, uma única vez. Um mililitro de ivermectina 1% (Ivomec Injetavel®, Merial Ltda., Campinas, SP) era aplicado em dose única, por via subcutânea. Nenhum bezerro foi vacinado até os 35 dias de vida.

Exame clínico

Os bezerros foram examinados em seis idades: entre 24 e 36 horas após o nascimento e aos sete, 14, 21, 28 e 35 dias de vida. Na anamnese eram registradas, em fichas individuais, as informações de cada bezerro desde o nascimento até a sua quinta semana de vida. Dentre as informações obtidas estavam hora de nascimento, peso ao nascimento, hora da primeira mamada, tipo de parto, dia da concepção, identificação da mãe (progenitora e/ou receptora) e do touro. Todas as ocorrências de alteração da saúde e tratamentos eram registradas.

Com utilização de fita métrica, foram mensurados, na primeira avaliação (24 a 36 horas de vida), os dados biométricos de altura da cernelha, circunferência torácica (posicionando a fita métrica imediatamente caudal ao olécrano) e comprimento da coluna vertebral (do ponto cranial do atlas até a primeira vértebra coccígea). Para realização desses procedimentos os bezerros eram contidos manualmente em estação.

O exame físico dos bezerros consistiu em avaliação das estruturas umbilicais extracavitárias por inspeção e por palpação, avaliando-se, subjetivamente, tamanho e consistência. As estruturas, em conjunto, foram mensuradas com auxílio de um paquímetro posicionado em dois locais distintos: dois centímetros acima da cicatriz umbilical e na posição mais elevada, imediatamente próximo ao anel umbilical na parede abdominal. Para a realização desses procedimentos e de todos os demais subsequentes os bezerros permaneceram contidos manualmente em decúbito lateral direito. Empregou-se o paquímetro convencional metálico com dupla haste de correr, sem mola.

As estruturas umbilicais intracavitárias eram avaliadas por palpação profunda abdominal empregando-se as duas mãos para a compressão necessária. A palpação da cavidade abdominal se iniciava a partir do anel umbilical em sentido

cranial e dorsal em direção ao fígado, para avaliação da veia umbilical, e em sentido caudal em direção à bexiga, para avaliação das artérias umbilicais e do ducto alantóide. O exame permitia avaliar a espessura e a consistência dessas estruturas, caracterizando a situação fisiológica (consistência macia, indolor e, geralmente, dificuldade para identificar as estruturas individualizadas) ou a presença de processos patológicos (aumento de volume e alteração da consistência facilitando a indentificação das estruturas afetadas e presença de dor), conforme critérios já descritos (Geishauser & Grunder 1992, Figueirêdo 1999).

Exame ultrassonográfico

No exame ultrassonográfico de cada animal e em cada idade eram identificadas e mensuradas as seguintes estruturas: veia umbilical, artéria umbilical esquerda e ducto alantóide (localizados internamente na cavidade abdominal) e estruturas remanescentes do cordão umbilical (localização extracavitária).

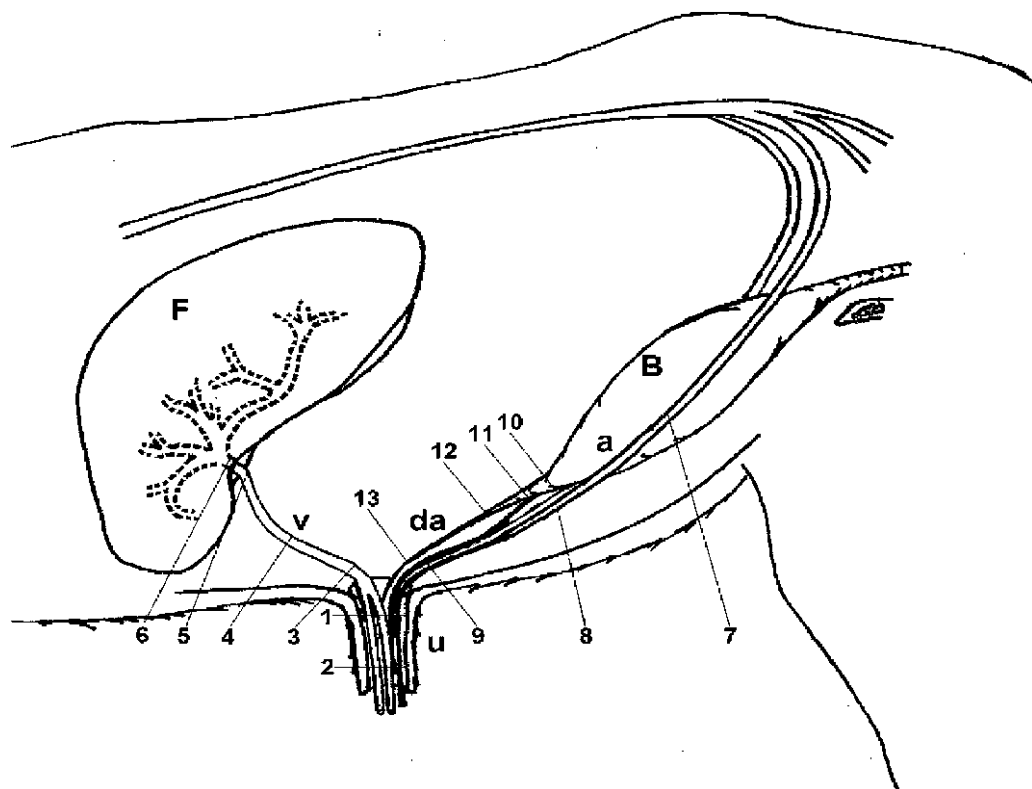
Devido ao alto valor comercial dos bezerros estudados e por motivos estéticos não foi possível realizar a tricotomia. Como alternativa para minimizar a interferência dos pêlos e garantir a qualidade da imagem, foram adotados os seguintes procedimentos: na parede abdominal direita aplicou-se álcool etílico 50° GL, e aguardaram-se 10 minutos para ocorrer a penetração do mesmo. Decorrido este tempo, e com pêlos e pele ainda úmidos, o meio de contato para transmissão ultrassônica (diluído uma parte de gel para uma parte de água) era aplicado na mesma região com a finalidade de aumentar o acoplamento acústico do transdutor. O equipamento utilizado foi o aparelho de ultrassonografia veterinário da marca Pie Medical, modelo Águila Pro, com transdutor bifrequencial micro convexo 5,0/7,5 MHz. A frequência de 7,5 MHz em modo B foi a empregada em todas as avaliações realizadas nesse estudo, independente da estrutura examinada. As imagens produzidas foram guardadas em foto de impressão (sonograma) e em formato digital com dimensão de 100 mm x 100 mm.

As estruturas intrabdominais avaliadas (artéria umbilical esquerda, veia umbilical e ducto alantóide) foram escaneadas em apenas um plano, o longitudinal. A veia umbilical foi acompanhada desde o anel umbilical até o fígado e o seu diâmetro foi medido em quatro locais: a) imediatamente próximo ao anel umbilical; b) em um ponto intermediário entre o anel umbilical e o fígado; c) na

chegada ao fígado e d) no interior do fígado (dentro do parênquima hepático imediatamente antes de ocorrer a sua bifurcação). Ao contrário do sentido adotado para o exame da veia umbilical, e em razão da maior facilidade de reconhecimento da bexiga que é uma janela acústica na região abdominal caudal, a artéria esquerda e o ducto alantóide foram sempre avaliados a partir da bexiga em direção cranial ao anel umbilical. O diâmetro da artéria foi mensurado em três locais: a) lateralmente à bexiga; b) um centímetro à frente do pólo cranial da bexiga; e c) dois centímetros caudais ao anel umbilical. O diâmetro do ducto alantóide foi medido em quatro locais distintos: a) no pólo cranial da bexiga; b) um centímetro à frente do pólo cranial da bexiga; c) cinco centímetros à frente do pólo cranial da bexiga (posição intermediária entre a bexiga e o anel umbilical); e d) dois centímetros caudais ao anel umbilical (Fig. 1).

As estruturas extracavitárias remanescentes do cordão umbilical foram avaliadas em plano transversal e mensuradas, como um conjunto único, nos mesmos dois locais em que se realizou a medição por paquimetria: a) dois centímetros acima da cicatriz umbilical; e b) na posição mais elevada, imediatamente próximo ao anel umbilical na parede abdominal (Fig. 1).

Figura 1 – Locais onde foram realizadas as mensurações de espessura do conjunto das estruturas que compõem o umbigo externo (u; medidas 1 e 2) e do diâmetro na veia umbilical (v; medidas 3 a 6), na artéria umbilical esquerda (a; medidas 7 a 9) e no ducto alantóide (da; medidas 10 a 13). Órgãos para referência: fígado (F) e bexiga (B)



Exames laboratoriais

Amostras de sangue foram colhidas de cada bezerro em cada idade estudada por meio de punção da veia jugular externa com agulha 2,5x0,8 cm e tubo a vácuo contendo EDTA (etilenodiamino-tetra-ácido) a 10% para a realização do hemograma e da dosagem de fibrinogênio plasmático. As amostras eram identificadas individualmente e transportadas em caixa isotérmica contendo gelo reciclável.

Os exames hematológicos foram realizados segundo os métodos tradicionalmente empregados em hematologia (Coles 1986a, 1986b) com a contagem total de hemácias e de leucócitos realizada em câmara de Neubauer, a concentração de hemoglobina determinada pelo método da cianometahemoglobina, o volume globular determinado pelo método do microhematócrito, e as contagens diferenciais dos leucócitos realizadas em esfregaços sanguíneos corados pelo método de coloração panótico rápido (Panótico Rápido LB; Laborclin Ltda., Pinhais,

PR). A concentração plasmática da proteína total (PTP) foi determinada por refratometria e o fibrinogênio plasmático foi dosado empregando-se o método de precipitação pelo calor e a leitura refratométrica (Kaneko 1997).

Critérios de inclusão e de exclusão

Foram admitidos e mantidos no estudo somente os bezerros que se mantiveram saudáveis ao longo dos seus primeiros 35 dias de idade. Até mesmo os seis bezerros (quatro concebidos por PIVE e dois por meio natural) produtos de partos que necessitaram a intervenção, com tração manual com a força de um ou dois homens, apresentaram comportamento compatível com o de recém-nascidos que exibem boa vitalidade, e mamaram o colostro dentro das cinco primeiras horas de vida. Todos os bezerros originalmente admitidos no estudo que manifestaram alteração de saúde identificada, em qualquer das idades estudadas, pelo exame físico e/ou ultrassonográfico, foram excluídos.

Os resultados dos exames hematológicos e das dosagens de fibrinogênio foram utilizados como parâmetros objetivos indicadores de higidez. Os limites fisiológicos admitidos para o volume globular (30 a 45%) e para os leucócitos totais (7.000 a 15.000 /mm³), assim como a relação dinâmica entre os neutrófilos e os linfócitos circulantes ao longo do primeiro mês de vida com a sua inversão a partir dos 14 dias de idade, tiveram como base os valores de referência estabelecidos por Biondo et al. (1998) e Fagliari et al. (1998) em bezerros da raça Nelore. Para a concentração de fibrinogênio plasmático admitiu-se o limite superior fisiológico de 700 mg/dL, independente de faixa etária (Kaneko 1997).

Análise estatística

Para o estudo das variáveis de mensurações das estruturas umbilicais, realizadas por meio de paquimetria e de ultrassonografia, a análise de variâncias de medidas repetidas bifatorial foi empregada inicialmente para testar os efeitos do sexo, da idade e a interação entre esses dois fatores, considerando, em separado, os bezerros frutos de cada um dos dois métodos de concepção (natural e PIVE). Por não haver efeito do sexo, o mesmo método estatístico foi empregado, subsequentemente, para testar os efeitos da idade, do método de concepção e a

interação entre esses dois fatores. Quando a estatística F resultou significativa, empregou-se o teste de Tukey para a comparação entre médias, admitindo-se uma probabilidade de erro de 5%. As variáveis de biometria dos bezerros na primeira idade agrupados de acordo com o método de concepção foram comparadas pelo teste t.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As avaliações do peso ao nascimento de bezerros frutos de diversos métodos de concepção foram objetivo de estudos comparando principalmente os métodos de concepção naturais (monta natural, inseminação artificial e transferência de embriões) e os artificiais (produção de embriões *in vitro* e clones). Em alguns destes estudos foi observado peso ao nascimento superior em animais concebidos por técnicas artificiais (Garry et al. 1996, Kruij & den Daas 1997, Jacobsen et al. 2000, Batchelder et al. 2007, Meirelles et al. 2010).

No presente estudo, os bezerros concebidos naturalmente nasceram com peso e comprimento da coluna vertebral menores ($p < 0,05$) do que os produtos de PIVE ($32,57 \pm 5,01$ kg versus $36,90 \pm 5,71$ kg; e $75,0 \pm 4,95$ cm versus $78,35 \pm 5,19$ cm). A altura da cernelha ($81,0 \pm 4,68$ cm versus $83,45 \pm 5,69$ cm) e o perímetro torácico ($73,35 \pm 3,63$ cm versus $75,45 \pm 3,51$ cm), ao contrário, não diferiram nos bezerros agrupados de acordo com o método de concepção. Esses valores são, de forma geral, compatíveis com os apontados em bezerros da raça Nelore concebidos por métodos naturais (Santos et al. 2005) e por PIVE (Gasparelli et al. 2009).

Considerando os valores individuais, cinco bezerros produtos de PIVE nasceram com peso maior do que 40 kg (sendo 46 kg o peso máximo observado em dois animais) e nenhum bezerro concebido por método natural ultrapassou esse limite (sendo 40 kg o peso máximo observado em três neonatos). O maior peso observado nos produtos de PIVE reforça evidências anteriores em bezerros taurinos de diferentes raças (Hasler et al. 1995, Jacobsen et al. 2000, Numabe et al. 2000, Bertolini & Anderson 2002), mas contradiz outras (Jacobsen et al. 2003, Rérat et al. 2005). Definitivamente, não caracteriza, nos animais estudados, a ocorrência da condição denominada de Síndrome do Recém-nascido Grande (*Large Offspring Syndrome*), a qual é relatada em bezerros concebidos por métodos

artificiais *in vitro* (Young et al. 1998, Farin et al. 2006, 2010). Gasparelli et al. (2009), acompanhando o nascimento de 122 bezerros Nelore produtos de PIVE, chegaram a observar dois bezerros nascidos com peso entre 50 e 59 kg, e três com peso superior a 60 kg.

Durante a avaliação do cordão umbilical remanescente nos bezerros entre 24 e 36 horas de vida, pôde-se observar que essa estrutura se apresentava úmida e flexível na maioria dos produtos de PIVE e menos flexível e mais ressecada na sua extremidade distal nos bezerros concebidos naturalmente. Com sete dias de idade o cordão umbilical remanescente já havia caído em quase todos os bezerros desse grupo (18/20) e a cicatrização da pele era completa aos 14 (4/20) ou 21 (16/20) dias. A maior parte dos produtos de PIVE ainda exibia o cordão ressecado ao final da primeira semana (14/20) e a cicatrização da pele se completou aos 21 (3/20) ou 28 (17/20) dias. De acordo com os resultados de Hides & Hannah (2005), sob condições fisiológicas, a queda do cordão umbilical remanescente mumificado ocorre entre cinco e oito dias de vida em bezerros leiteiros, e pode chegar até 10 dias nos zebuínos (Figueiredo 1999). A cicatrização da pele se completa em três a quatro semanas (Nuss 2007).

Por se tratarem de bezerros saudáveis, durante a palpação do umbigo (estruturas umbilicais extracavitárias recobertas pela pele) nunca se observou presença de dor ou aumento da temperatura local, e as estruturas sempre mantiveram o formato cilíndrico. A consistência se modificou com o avançar da idade sem distinção aparente entre os dois grupos estudados, caracterizando o processo natural de involução e fibrosamento dessas estruturas, conforme descrito por Figueirêdo (1999) e por Nuss (2007). Após o nascimento, as estruturas eram flácidas, com consistência mole, sendo possível distinguir as veias umbilicais como unidades separadas. Aos 14 dias de vida as estruturas eram mais enrijecidas e a partir dos 21 ou 28 dias eram firmes e pouco flexíveis.

A involução do conjunto das estruturas umbilicais extracavitárias com o avançar da idade se caracteriza pela diminuição progressiva do seu calibre e foi avaliada objetivamente por meio de mensurações realizadas com paquimetria e com ultrassonografia (Quadro 1). Os valores médios obtidos por paquimetria foram naturalmente 1 a 2 mm maiores do que os obtidos pela ultrassonografia porque no primeiro método a espessura da pele é inevitavelmente incluída na mensuração. Nos dois grupos experimentais, a espessura do conjunto das estruturas umbilicais se

reduziu gradativamente até os 35 dias de idade e o processo foi mais acelerado nas primeiras quatro semanas de vida. Em todos os momentos avaliados os bezerros de PIVE apresentaram estruturas umbilicais maiores ($p < 0,05$) do que os bezerros de concepção natural. Não se constatou efeito do sexo em qualquer um dos métodos empregados para as mensurações ($p > 0,05$).

Os valores médios obtidos podem ser comparados somente com os observados por Watson et al. (1994), os quais avaliaram as estruturas remanescentes do umbigo externo em bezerros sadios da raça Holandesa entre 24 horas de vida e a terceira semana de idade, e apontaram espessura próximos a 1 cm maior do que os dos bezerros Nelore estudados. Isso pode caracterizar distinções morfológicas entre as raças. Os valores nos bezerros Nelores são mais parecidos com os relatados em potros, ao nascimento e ao final da primeira semana de vida (Madigan 2002).

Dentre as estruturas que compõem o cordão umbilical, somente as veias foram, de fato, passíveis de visualização plena. Assim mesmo, a sua visualização completa somente foi possível até os 14 dias de idade. As veias umbilicais foram observadas nos dois locais definidos para o exame, sendo mais difícil a visualização na posição mais distal (2 cm acima da extremidade do umbigo). Nessa posição as veias não puderam ser visualizadas com detalhe em 12 bezerros recém-nascidos (oito concebidos naturalmente e quatro produtos de PIVE). As veias foram identificadas como duas estruturas contíguas com formato circular ou ovalado, parede hiperecótica e lúmen anecótico (Fig. 2). Em cinco animais produtos de PIVE e em quatro bezerros concebidos por métodos naturais observou-se apenas um lúmen na posição próxima ao anel umbilical. Nesses mesmos animais os dois lúmens foram visualizados na posição mais distal (2 cm acima da extremidade do umbigo). Isso indica que, na maioria dos bezerros, as veias umbilicais se fusionam, originando um vaso único, próximo à sua entrada na cavidade abdominal. Em alguns bezerros, contudo, a fusão acontece em posição mais distal. O ducto alantóide e as artérias foram difícil e raramente identificados, mesmo nos animais recém-nascidos e apenas foi observado o espaço remanescente destas estruturas com característica hipoecogênica, conforme descrito por Watson et al. (1994).

A involução natural das estruturas umbilicais extracavitárias com o avançar da idade tornou a visualização ultrassonográfica mais difícil. A partir dos 14 dias de vida já não se observaram mais os lúmens anecóticos das veias e os vasos

que compõem o cordão umbilical apareceram como uma estrutura única sem lúmen mais ecogênica e com presença de área anecóica ao seu redor (Fig. 2). Essas observações são semelhantes às de Watson et al. (1994) em bezerros da raça Holandesa.

O exame por imagem do cordão umbilical nos dois locais distintos definidos para o estudo (próximo ao anel umbilical e 2 cm acima da extremidade distal do umbigo) foi mais produtivo durante as duas primeiras semanas de vida. Nas semanas subsequentes, a avaliação realizada próximo ao anel umbilical é suficiente, a menos que a palpação prévia do umbigo indique a necessidade de examinar estruturas alteradas em localização mais distal. A paquimetria deve ser considerada útil para avaliação da involução do umbigo, mas não substitui a ultrassonografia que permite a avaliação topográfica das estruturas pertencentes a esta região e maior acurácia diagnóstica.

Com relação às estruturas umbilicais intracavitárias, compreendendo a veia umbilical, as duas artérias umbilicais (direita e esquerda) e o ducto alantóide, a avaliação por palpação abdominal profunda foi sempre realizada antecedendo o exame ultrassonográfico. A identificação da veia umbilical foi possível por palpação em todos os bezerros até os 14 dias de idade. Após essa idade foi impossível palpá-la na maioria dos animais. Quase toda a sua extensão era palpada, desde o umbigo até próximo ao fígado, posição em que as últimas costelas provocavam impedimento físico. Era percebida como uma estrutura de formato cilíndrico, com paredes definidas e de consistência flácida. A repleção do abomaso com conteúdo alimentar pode ser apontada como o fator que provocou a maior dificuldade para o sucesso do exame por palpação.

A partir do umbigo em direção à bexiga, o conjunto composto pelas duas artérias umbilicais e pelo ducto alantóide, posicionado entre as mesmas, foi palpado com sucesso em todos os bezerros somente até os 14 dias de idade, apresentando consistência flácida e formato oval. Era percebido como uma estrutura única, sendo impossível individualizar os seus três componentes. Aos 21 dias de vida essa estrutura já não era palpada na maioria dos bezerros. Em todo o seu trajeto na posição lateralmente à bexiga, as artérias direita e esquerda eram facilmente palpadas até os 21 dias, possuindo consistência um pouco mais rígida e formato cilíndrico. Esse exame era sempre facilitado quando a bexiga estava repleta, mas era possível mesmo com o órgão vazio. A palpação do ducto alantóide como

uma estrutura individualizada, de fato, nunca foi bem sucedida nos bezerros estudados.

Comparado à palpação, o exame ultrassonográfico das estruturas umbilicais abdominais deve ser considerado um método mais valioso para fins diagnósticos. Com exceção do ducto alantóide, a veia e a artéria umbilicais foram facilmente visualizadas em todos os locais definidos para realização do exame, e em todos os bezerros estudados até os 35 dias de idade (Quadro 2). Independente da estrutura e do local avaliados, os efeitos da idade e do método de concepção e a interação entre os dois fatores provaram-se significativos ($p < 0,05$), mas não o efeito do sexo ($p > 0,05$).

A veia umbilical foi escaneada em quatro locais distintos desde a proximidade do anel umbilical até o fígado (logo antes da sua bifurcação dentro do parênquima hepático) e isso é importante, durante e realização do seu exame por imagem, porque os processos patológicos que a acometem não obrigatoriamente estarão presentes em toda a sua extensão. De forma geral e independente do local examinado, o diâmetro da veia se reduziu gradativamente com o avançar da idade (Quadro 2), como resultado do processo natural de involução dessa estrutura que não tem finalidade na vida extrauterina e dará origem ao ligamento redondo do fígado (Habel 1986, Noden & Lahunta 2001).

Os valores médios obtidos para o diâmetro da veia umbilical somente podem ser comparados com os observados por Lischer & Steiner (1993) e por Watson et al. (1994) pois esses são os únicos trabalhos publicados nos quais se realizaram mensurações dos vasos umbilicais em bezerros sadios empregando-se a ultrassonografia. Em comparação aos bezerros Nelore estudados, os de raças taurinas examinados em ambos os estudos anteriores nasceram com a veia umbilical mais calibrosa (com diâmetro 0,5 a 1 cm maior) e essa diferença se manteve até os 14 ou 21 dias. Nos bezerros Holandeses (Watson et al. 1994), os diâmetros obtidos eram parecidos com os do presente trabalho aos 21 dias de vida sugerindo uma involução mais rápida a partir dos 14 dias. Outra característica que indica distinções morfológicas entre as raças é o fato de a veia possuir um lúmen menor próximo ao anel umbilical no bezerro Nelore recém-nascido. Nos bezerros taurinos observou-se exatamente o contrário, o diâmetro não variava ao longo do trajeto até o fígado, mas era muito maior próximo à sua entrada no abdome.

A visualização da veia umbilical com imagem definida foi bem sucedida em todos os bezerros estudados, nas diferentes idades e em todos os quatro locais em que a veia foi escaneada (Fig. 3). A dificuldade para obter uma imagem adequada esteve relacionada com a redução do diâmetro da veia e isso explica a maior dificuldade do exame nos bezerros com 35 dias de idade, particularmente na posição próxima ao anel umbilical. A visualização nas posições entre o anel umbilical e o fígado e próximo ao fígado foi sempre fácil até os 35 dias. O exame da veia na sua posição interna no parênquima hepático era fácil até os 21 dias de idade. Por causa do crescimento dos bezerros, aos 28 e aos 35 dias de idade havia a necessidade de posicionar o transdutor pressionando a parede abdominal por baixo da última costela. Watson et al. (1994) relataram maior dificuldade para obterem imagens da veia umbilical, tendo sido impossível o exame em alguns bezerros a partir de segunda semana de vida. Deve-se considerar que esses autores realizaram a ultrassonografia com os bezerros contidos em estação. É coerente admitir, portanto, que a contenção em decúbito lateral direito seja mais apropriada para a execução do exame.

Qualquer que tenha sido o local definido para o exame, a veia foi sempre identificada com a presença das duas paredes hiperecóticas separadas pelo lúmen homogeneamente anecótico (Fig. 3). A parede apresentava 0,3 a 0,7 mm de espessura ao longo de todo o seu trajeto sem variação, era regular e contínua. A ecogenicidade da parede tendeu a aumentar com o avançar da idade em proporção com a redução da luz do vaso em processo de involução. Não se observou a dificuldade relatada por Lischer & Steiner (1993) relacionada à impossibilidade de distinguir a parede da veia umbilical dentro do parênquima hepático nos bezerros a partir do final da segunda semana de vida. Nos bezerros Nelore estudados, independente da idade, as paredes da veia umbilical eram facilmente identificadas com ecogenicidade maior do que a do tecido hepático (Fig. 3). É coerente admitir que o incremento na qualidade das imagens ultrassonográficas, devido ao aumento da resolução dos aparelhos e à inclusão de novos recursos, ocorrido ao longo do tempo possa explicar a discrepância entre as observações dos estudos.

De maneira semelhante ao que se observou para a veia, a luz da artéria umbilical esquerda se reduziu continuamente ao longo do primeiro mês de vida (Quadro 2), caracterizando o processo fisiológico de atrofia desse vaso, o qual, completamente involuído originará o ligamento lateral da bexiga posteriormente

(Gloshal 1986, Noden & Lahunta 2001). A artéria esquerda foi escaneada inicialmente na sua posição lateralmente à bexiga, local em que é mais facilmente identificada e que serviu de ponto de referência. E a sua imagem foi acompanhada ao longo do seu trajeto até a proximidade do anel umbilical. As mensurações do diâmetro do vaso foram realizadas em três locais: lateral à bexiga, próximo ao pólo cranial da bexiga e 2 cm caudal ao anel umbilical. Durante a realização desses procedimentos, o conjunto composto pelas duas artérias e pelo ducto alantóide em posição centralizada, o qual se estende desde o anel umbilical até a bexiga, foi examinado sistematicamente em todos os bezerros estudados. Dessa forma, embora o diâmetro da artéria umbilical direita não tenha sido mensurado, esse vaso também foi avaliado ao longo do seu trajeto do umbigo até a bexiga.

A artéria apresentou diâmetro parecido com o da veia umbilical, possuía luz menor próximo ao anel umbilical, e era um pouco mais calibrosa na posição lateral à bexiga logo após o nascimento (Quadro 2). Os diâmetros obtidos nos bezerros Nelore são 0,5 a 1,5 cm menores dos que os apontados em bezerros taurinos (Lischer & Steiner 1993, Watson et al. 1994), o que caracteriza diferenças relacionadas à raça. Merece destaque o fato de as artérias terem sido visualizadas com facilidade, em todos os bezerros, na sua posição mais próxima possível ao anel umbilical. Isso contraria o conceito de que com o rompimento do cordão umbilical após o nascimento as artérias se retraem imediatamente para o interior da cavidade abdominal e as suas extremidades se distanciam do anel umbilical (Noden & Lahunta 2001, Nuss 2007).

A imagem com boa definição da artéria umbilical foi obtida em todos os bezerros estudados, nas diferentes idades e em todos os três locais em que a artéria foi escaneada (Fig. 4). A redução do diâmetro aos 35 dias de idade criava dificuldade natural para o exame. Deve-se destacar que o grau de repleção da bexiga com urina apresentou-se como o fator crítico determinante da facilidade para realizar o exame da artéria. Por causa da ausência de contraste adequado, quando a bexiga estava vazia era muito mais difícil identificar a artéria umbilical em sua posição lateral ao órgão. E como esse era o ponto inicial de referência, todo o exame do vaso ficava comprometido. Nesses casos houve a necessidade de retardar o exame e aguardar que certo volume de urina se acumulasse no interior da bexiga. Esse problema foi mais comum no caso de alguns bezerros machos provenientes de PIVE, mais mansos e acostumados com o contato com o homem.

Era comum que urinassem tão logo fosse iniciada a manipulação da região umbilical, contígua ao prepúcio.

À semelhança da veia umbilical, a artéria sempre foi identificada com a presença das duas paredes hiperecóticas regulares e contínuas separadas pelo lúmen homogeneamente anecótico. A parede apresentava espessura de 0,2 a 0,4 mm em toda a sua extensão da bexiga ao anel umbilical, porém era mais espessa (0,8 mm) e ecogênica na sua posição lateral à bexiga. Nessa mesma posição, mas somente nela, foi digna de nota a observação de conteúdo hipoecogênico na luz do vaso, sem formato ou tamanho definido (Fig. 4). Esse achado foi mais comum nos bezerros até 14 dias de idade e não foi relatado nos estudos anteriores (Lischer & Steiner 1993, Watson et al. 1994).

Das três estruturas examinadas, o ducto alantóide apresentou-se como a mais difícil de ser avaliada. Em todos os 40 bezerros estudados só foi possível visualizar o úraco com uma imagem de boa qualidade até os sete dias de vida (Quadro 2). Aos 14 dias de idade a imagem ainda era confiável em 17 bezerros concebidos naturalmente, mas somente em quatro dos produtos de PIVE. Lischer & Steiner (1993) e Watson et al. (1994) não conseguiram realizar mensurações do ducto alantóide em praticamente nenhum dos bezerros taurinos sadios que examinaram, até mesmo nos recém-nascidos. Apesar do ducto alantóide possuir parede mais delgada do que a veia e as artérias, até os sete dias de idade era possível obter uma imagem bem definida porque a ecogenicidade da sua parede se assemelhava à da parede dos vasos. Como ocupa posição intermediária entre as duas artérias umbilicais, direita e esquerda, em toda a sua extensão do pólo cranial da bexiga até o anel umbilical, as imagens da bexiga e das duas artérias serviam de referência obrigatória para a visualização do ducto alantóide. Por causa da redução do seu diâmetro, a partir dos 14 dias de vida a sua visualização ficava impossibilitada.

O seu lúmen era maior no pólo cranial da bexiga e menor próximo ao anel umbilical. Possuía menor diâmetro que a veia e que as artérias desde o nascimento (Quadro 2), e o lúmen se reduziu com o avançar da idade. Essa estrutura completamente atrofiada dá origem ao ligamento central da bexiga (Gloshal 1986, Noden & Lahunta 2001). Era visto como uma estrutura composta por duas paredes lisas, regulares e contínuas, hiperecóticas separadas pelo lúmen

homogeneamente anecóico. As paredes possuíam espessura menor do que as da veia e da artéria (Fig. 5).

O pólo cranial da bexiga, que possui formato cônico no bezerro recém-nascido porque é uma continuação da bexiga com o ducto alantóide, era o ponto de referência mais importante para a identificação e exame visual dessa estrutura umbilical (Fig. 5). O exame era procedido a partir desse ponto acompanhando toda a sua extensão até o anel umbilical. Nos bezerros com 14 dias de idade a extremidade cranial da bexiga já possuía a sua silhueta arredondada perdendo-se, assim, o ponto de referência para visualizar o ducto alantóide. Assim como comentado para a artéria umbilical em sua posição lateral à bexiga, o exame do ducto alantóide ficava muito prejudicado quando a bexiga estava vazia.

Tanto o conjunto das estruturas remanescentes do cordão umbilical, componente do umbigo externo, quanto as três estruturas umbilicais intracavitárias estudadas (veia, artéria e ducto alantóide), apresentaram-se mais calibrosas ($p < 0,05$) nos bezerros produtos de PIVE recém-nascidos do que naqueles concebidos por método natural (Quadros 1 e 2). Essa diferença manteve-se presente durante todo o primeiro mês de vida no caso do umbigo externo; a veia e a artéria mantiveram-se mais calibrosas somente até os 14 dias de vida; e o ducto alantóide possuía maior diâmetro somente ao nascimento. A evidência de que bezerros produtos de PIVE são comumente acometidos por doenças umbilicais, especialmente a persistência do ducto alantóide (Rodrigues et al. 2007, 2010), poderia estar supostamente relacionada ao maior calibre das estruturas umbilicais, condição observada na prática rotineira com esses animais. Deve-se considerar, contudo, que nos produtos de PIVE recém-nascidos estudados, as estruturas abdominais possuíam diâmetro médio somente 1 a 2 mm maior e a involução das mesmas ocorreu de forma semelhante à dos demais bezerros. Mesmo no caso do umbigo externo, a espessura média chegou a ser, no máximo, 3 mm maior somente. As diferenças observadas entre os bezerros produtos de PIVE e os concebidos naturalmente foram, portanto, de magnitude muito reduzida, o que certamente não poderia contribuir para uma maior suscetibilidade às onfalopatias. Dos bezerros inicialmente incluídos no estudo, seis produtos de PIVE e dois frutos de concepção natural foram descartados posteriormente porque desenvolveram doença umbilical: cinco onfalites; duas onfaloarterites e uma onfaloflebite, conforme a classificação de Figueirêdo (1999). Na propriedade onde se realizou o estudo, a prevalência das

doenças umbilicais era reduzida, de forma geral, independente do método de concepção adotado.

Apesar de ser um assunto ainda não completamente esclarecido, algumas causas são apontadas para a ocorrência do nascimento de bezerros de tamanho grandes ou gigantes no caso da PIVE ou dos bezerros clonados. A morfologia diferenciada da placenta pode contribuir para isso (Bertolini & Anderson 2002, Farin et al. 2006, 2010) e suspeita-se do efeito da exposição dos oócitos e dos embriões a componentes de enriquecimento empregados na composição dos meios de cultura utilizados para a manipulação dos mesmos (Behboodi et al. 1995, Young et al. 1998, Jacobsen et al. 2000). As alterações morfológicas do sistema circulatório, aliadas ao gigantismo, são bem caracterizadas nos bezerros clonados, assim como o maior tamanho dos vasos umbilicais e a maior incidência de doenças envolvendo essas estruturas (Garry et al. 1996, Batchelder et al. 2007, Meirelles et al. 2010). Nos produtos de PIVE isso não está bem elucidado. De qualquer forma, observa-se na prática que o nascimento de bezerros grandes concebidos *in vitro* é menos frequente atualmente do que foi em anos passados e isso se deve, provavelmente, ao aprimoramento das técnicas laboratoriais empregadas.

Uma dificuldade técnica importante observada na realização do exame ultrasonográfico, tanto do umbigo externo quanto das estruturas abdominais, estava relacionada à má qualidade da imagem nos bezerros recém-nascidos devido à presença de grande quantidade de artefatos. Isso foi atribuído, supostamente, à presença de líquido amniótico ressecado impregnando os pêlos, os quais se apresentavam aglutinados e endurecidos. Esse tipo de dificuldade já não estava presente no sétimo dia de vida. A aplicação tópica de maior volume de álcool, a remoção do excesso e de sujidades com papel toalha, a nova aplicação de álcool e a aplicação do gel na superfície ainda umedecida pelo álcool foram providências bem sucedidas para melhorar a qualidade da imagem nos recém-nascidos.

É ainda relevante apontar que contrariamente ao que se preconiza como a melhor técnica possível, a tricotomia não foi realizada nos bezerros estudados anteriormente ao exame ultrasonográfico porque, por motivos estéticos, não houve permissão para tal. A solução encontrada para contornar essa dificuldade foi a manutenção da pele e dos pêlos da região abdominal úmidos durante todo o período da execução do exame. O uso de álcool (50° GL) e de gel (1:2) diluídos com água destilada provou-se completamente adequado para o melhor acoplamento

acústico, eliminando a interferência provocada pelos pêlos. Esse procedimento foi bem sucedido independentemente da idade do bezerro. Sempre que necessário realizavam-se aplicações complementares do gel. Sob condições ideais a depilação deve ser realizada para garantir a qualidade superior da imagem. Porém, nas situações em que ela estiver impossibilitada, a alternativa empregada nesse estudo pode dar bons resultados.

Em síntese, o presente trabalho representa contribuição original por apresentar resultados inéditos em bezerros da raça zebuína, podendo-se concluir que a ultrassonografia é um método apropriado para a realização do exame das estruturas umbilicais extracavitárias e abdominais dos bezerros da raça Nelore. Sob condições fisiológicas, a veia e a artéria umbilicais são visualizadas até os 35 dias de idade e o ducto alantóide durante a primeira semana de vida. O diâmetro das estruturas umbilicais se reduz continuamente após o nascimento e nos recém-nascidos o das estruturas que compõem o umbigo externo não deve ultrapassar 2 cm, os da veia e da artéria podem chegar a 1 cm e o do ducto alantóide é próximo a 0,5 cm. Comparados aos bezerros concebidos por métodos naturais, os produtos de fertilização *in vitro* nascem com os vasos umbilicais e o ducto alantóide um pouco mais calibrosos (diâmetros 1 a 3 mm maiores), diferença que provavelmente é insuficiente para causar impactos sobre a saúde dos mesmos.

Quadro 1 – Espessura ($\bar{X} \pm s$) do conjunto das estruturas remanescentes do cordão umbilical que compõem o umbigo externo mensurado por métodos diferentes em bezerros sadios da raça Nelore concebidos naturalmente (Nat) ou por produção *in vitro* de embriões (PIVE), entre o nascimento e 35 dias de vida

Método e local de mensuração		1 dia	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias	35 dias
Ultrassonografia							
2 cm da extremidade distal (mm)	FIV	14,62±3,53 ^{Aa}	13,20±2,77 ^{Ab}	12,20±3,63 ^{Abc}	11,73±3,49 ^{Ac}	10,96±2,47 ^{Ad}	9,87±2,55 ^{Ad}
	Nat	11,51±3,66 ^{Ba}	10,96±4,11 ^{Bab}	8,55±3,53 ^{Bbc}	8,69±2,77 ^{Bcd}	7,93±2,33 ^{Bda}	7,37±1,91 ^{Bb}
próximo ao anel umbilical (mm)	FIV	12,90±2,97 ^{Aa}	12,52±2,64 ^{Ab}	12,29±3,79 ^{Ab}	11,81±3,39 ^{Abc}	11,17±2,47 ^{Abc}	10,54±2,98 ^{Ac}
	Nat	11,78±3,69 ^{Aa}	10,57±4,04 ^{Bab}	8,90±2,63 ^{Bbc}	8,50±2,31 ^{Bcd}	7,87±2,15 ^{Bcd}	7,31±1,33 ^{Bd}
Paquimetria							
2 cm da extremidade distal (mm)	FIV	15,78±3,55 ^{Aa}	14,15±2,58 ^{Ab}	14,15±4,04 ^{Abc}	13,35±3,36 ^{Ac}	12,05±2,28 ^{Ad}	11,05±1,88 ^{Ad}
	Nat	13,10±3,55 ^{Ba}	11,80±3,86 ^{Bb}	9,50±3,33 ^{Bbc}	9,60±2,74 ^{Bcd}	9,00±2,45 ^{Bda}	8,35±2,16 ^{Bb}
próximo ao anel umbilical (mm)	FIV	15,85±3,54 ^{Aa}	14,15±2,37 ^{Ab}	13,95±3,75 ^{Abc}	13,35±3,41 ^{Ac}	12,95±4,36 ^{Ad}	12,05±2,84 ^{Ad}
	Nat	13,30±3,34 ^{Ba}	12,05±4,01 ^{Bb}	10,00±2,71 ^{Bbc}	9,95±2,31 ^{Bcd}	9,45±2,19 ^{Bda}	8,60±1,85 ^{Bb}

^{A, B} letras maiúsculas distintas indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre os métodos de concepção em cada idade e em cada local de mensuração
^{a, b, c} letras minúsculas distintas na mesma linha indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre as idades

Quadro 2 – Diâmetro ($\bar{X} \pm s$) das estruturas umbilicais abdominais mensurado por ultrassonografia em bezerros sadios da raça Nelore concebidos naturalmente (Nat) ou por produção *in vitro* de embriões (PIVE), entre o nascimento e 35 dias de vida

Estrutura e local de mensuração		1 dia	7 dias	14 dias	21 dias	28 dias	35 dias
Veia umbilical (mm)							
próximo ao anel umbilical	FIV	5,64±2,22 ^{Aa}	4,22±1,61 ^{Ab}	3,60±1,34 ^{Ab}	2,76±0,58 ^{Ac}	2,21±0,52 ^{Ac}	1,50±0,65 ^{Ad}
	Nat	3,12±0,99 ^{Ba}	2,48±0,54 ^{Bab}	2,30±0,39 ^{Bb}	2,09±0,46 ^{Bb}	1,74±0,33 ^{Bbc}	1,32±0,25 ^{Bc}
entre o anel umbilical e o fígado	FIV	7,54±1,42 ^{Aa}	5,26±0,93 ^{Ab}	4,50±0,59 ^{Ac}	3,63±0,61 ^{Ad}	2,82±0,70 ^{Ae}	1,88±0,65 ^{Af}
	Nat	5,70±1,34 ^{Ba}	4,45±0,75 ^{Bb}	4,10±0,41 ^{Ab}	3,44±0,53 ^{Ac}	2,85±0,58 ^{Ac}	1,88±0,37 ^{Ad}
na chegada ao fígado	FIV	7,33±1,46 ^{Aa}	5,18±1,16 ^{Ab}	4,51±0,90 ^{Ac}	3,42±0,67 ^{Ad}	2,66±0,50 ^{Ae}	1,90±0,72 ^{Af}
	Nat	6,00±1,11 ^{Ba}	4,41±0,47 ^{Bb}	4,05±0,49 ^{Ab}	3,44±0,56 ^{Ac}	2,85±0,56 ^{Ac}	1,99±0,41 ^{Ad}
dentro do fígado	FIV	8,03±1,42 ^{Aa}	5,51±0,91 ^{Ab}	4,94±0,80 ^{Ab}	3,97±0,72 ^{Ac}	3,11±0,62 ^{Ad}	2,18±0,61 ^{Ae}
	Nat	6,45±1,00 ^{Ba}	5,05±0,69 ^{Ab}	4,35±0,48 ^{Bc}	3,84±0,75 ^{Ac}	3,01±0,63 ^{Ad}	2,16±0,39 ^{Ae}
Artéria umbilical esquerda (mm)							
lateralmente à bexiga	FIV	8,14±1,15 ^{Aa}	5,67±1,31 ^{Ab}	4,84±0,90 ^{Ac}	3,92±0,81 ^{Ad}	2,98±0,65 ^{Ae}	2,03±0,54 ^{Af}
	Nat	6,92±1,49 ^{Ba}	5,47±0,71 ^{Ab}	4,80±0,78 ^{Ab}	3,58±0,76 ^{Ac}	2,58±0,56 ^{Ad}	2,07±0,32 ^{Ad}
no pólo da bexiga	FIV	6,95±1,02 ^{Aa}	5,00±1,09 ^{Ab}	4,21±0,86 ^{Ac}	3,29±0,56 ^{Ad}	2,56±0,66 ^{Ae}	1,74±0,53 ^{Af}
	Nat	5,81±1,08 ^{Ba}	4,63±0,76 ^{Ab}	4,00±0,73 ^{Ac}	3,19±0,76 ^{Ad}	2,26±0,58 ^{Ae}	1,73±0,39 ^{Ae}
2 cm caudais ao anel umbilical	FIV	4,82±1,68 ^{Aa}	4,01±1,48 ^{Ab}	3,21±0,72 ^{Ac}	2,41±0,59 ^{Ad}	1,94±0,59 ^{Ade}	1,33±0,41 ^{Ae}
	Nat	3,56±0,97 ^{Ba}	2,76±0,53 ^{Bb}	2,40±0,48 ^{Bbc}	2,03±0,54 ^{Ac}	1,47±0,38 ^{Ac}	1,32±0,30 ^{Ad}
Ducto Alantóide (mm)							
no pólo cranial da bexiga	FIV	3,99±1,04 ^{Aa}	2,85±1,10 ^{Ab}				
	Nat	3,50±1,01 ^{Aa}	2,45±0,70 ^{Aa}	1,60±0,40			
1 cm cranial ao pólo da bexiga	FIV	3,20±0,83 ^{Aa}	2,36±1,06 ^{Ab}				
	Nat	2,62±0,77 ^{Ba}	1,79±0,52 ^{Bb}	1,30±0,32			
5 cm craniais ao pólo da bexiga	FIV	2,76±0,77 ^{Aa}	1,89±0,80 ^{Ab}				
	Nat	2,17±0,61 ^{Ba}	1,43±0,37 ^{Ab}	1,1±0,33			
2 cm caudais ao anel umbilical	FIV	2,08±0,57 ^{Aa}	1,23±0,43 ^{Ab}				
	Nat	1,67±0,46 ^{Ba}	1,13±0,17 ^{Ab}	0,90±0,19			

^{A, B} letras maiúsculas distintas indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre os métodos de concepção em cada idade e em cada local de mensuração
^{a, b, c} letras minúsculas distintas na mesma linha indicam diferença significativa ($p < 0,05$) entre as idades

Figura 2 – Corte transversal, próximo ao anel umbilical, das estruturas remanescentes do cordão umbilical que compõem o umbigo externo; demonstrando as duas veias umbilicais com lúmen anecóico em um bezerro com um dia de vida (A); e o conjunto das estruturas atrofiadas caracterizado pelo formato circular hipoeecóico homogêneo circundado por uma área anecóica em um bezerro com 28 dias de vida (B). Transdutor microconvexo de 7,5 MHz.

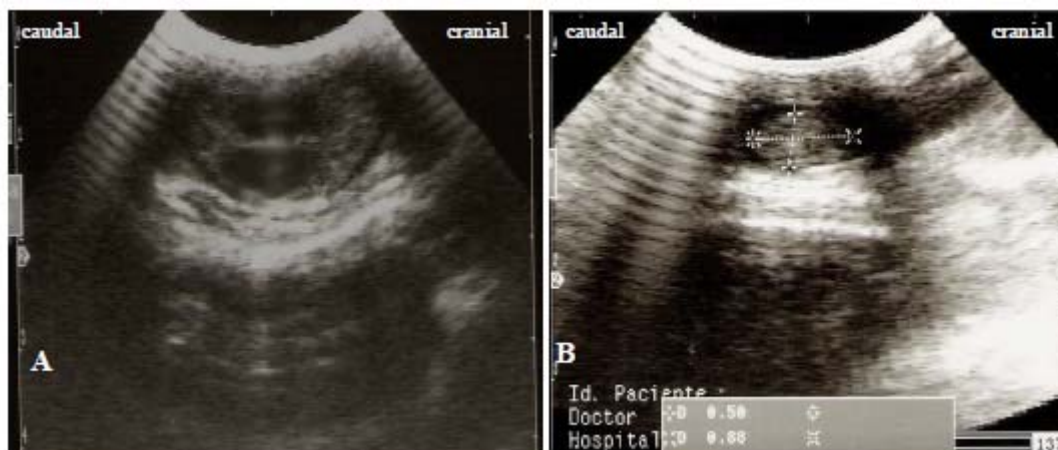


Figura 3 – Cortes longitudinais da veia umbilical. Próximo ao anel umbilical em um bezerro com 21 dias de vida demonstrando as paredes hipoeecóicas e o lúmen anecóico estreitado (A). Entre o anel umbilical e o fígado em um bezerro com um dia de vida; pode-se observar toda a extensão da veia com paredes hipereecóicas e lúmen anecóico (B). Na chegada ao fígado em um bezerro com sete dias de vida; pode-se observar o parênquima hepático em situação cranial (C). Dentro do parênquima hepático antes da sua bifurcação em um bezerro com 21 dias de vida (D). Transdutor microconvexo de 7,5 MHz

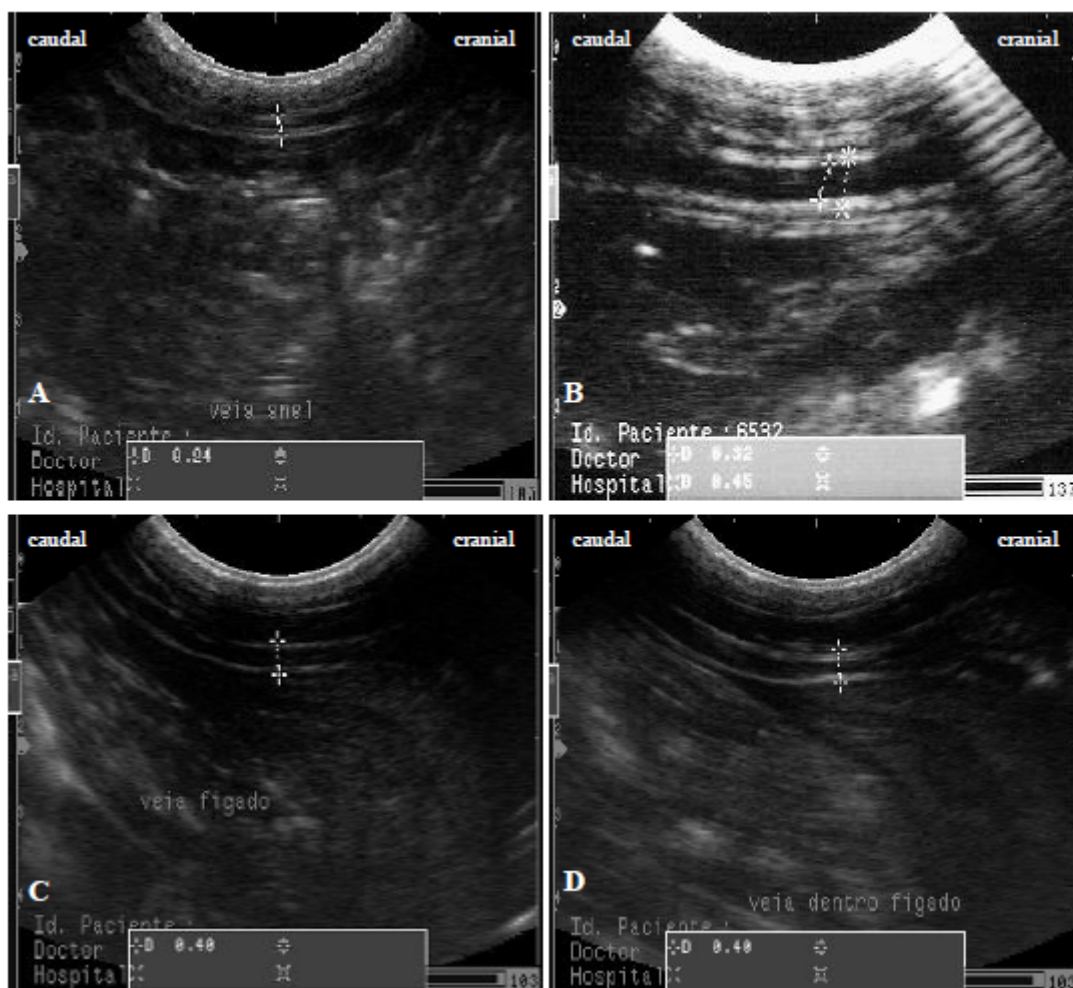


Figura 4 – Cortes longitudinais da artéria umbilical esquerda. Próximo ao anel umbilical em um bezerro com um dia de vida; podem-se observar as paredes hiperecóticas e o lúmen anecóico e a presença da artéria umbilical direita na situação mais próxima ao anel umbilical (A). Próximo ao anel umbilical em um bezerro com 14 dias de vida (B). No pólo cranial da bexiga (bx) em um bezerro com 14 dias de vida; observa-se a bexiga em situação caudal e a artéria umbilical direita em situação ventral (C). Lateralmente à bexiga em um bezerro com sete dias de vida; observa-se a bexiga em situação ventral e conteúdo hipoecogênico na luz do vaso, sem formato ou tamanho definido (D). Transdutor microconvexo de 7,5 MHz

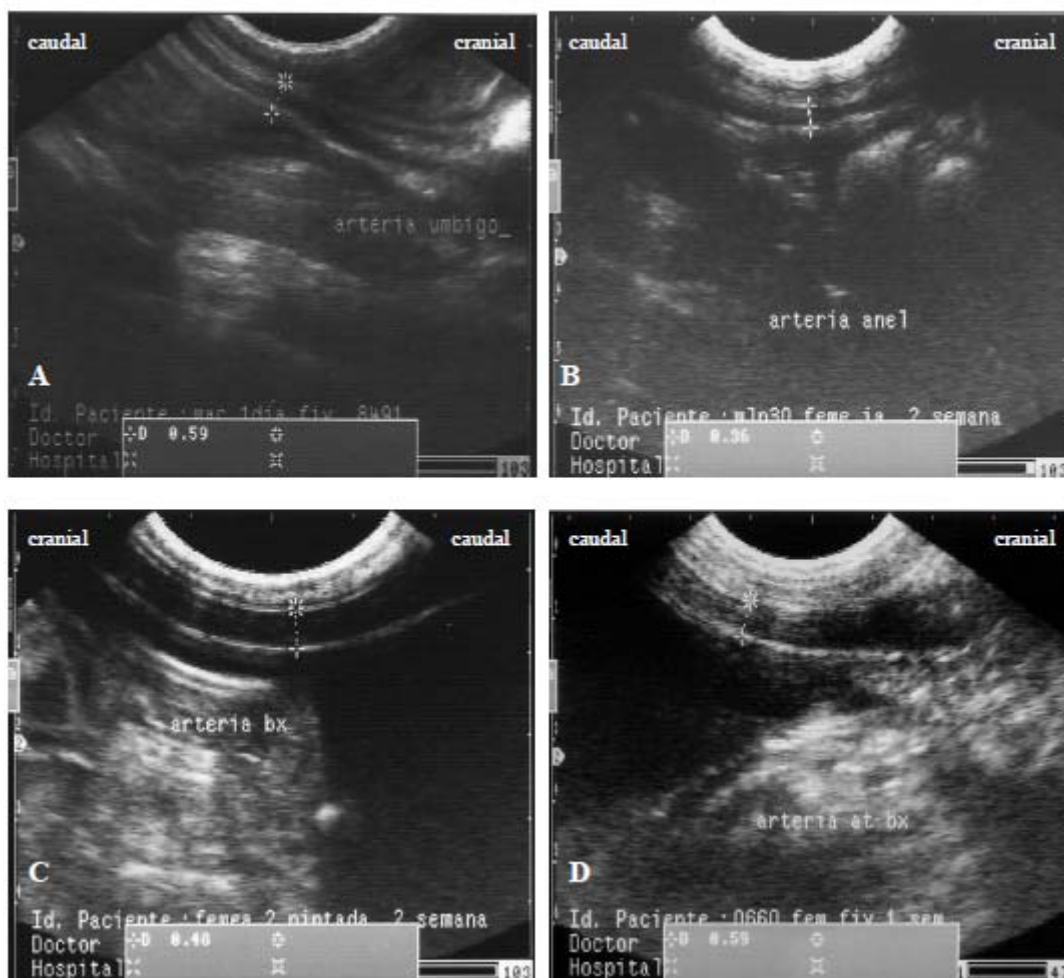
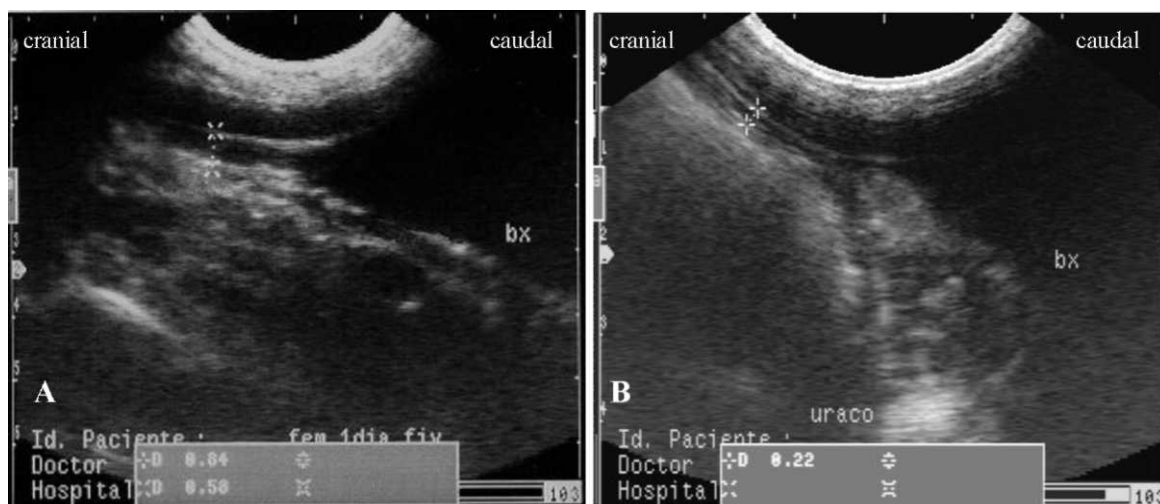


Figura 5 – Cortes longitudinais do ducto alantóide. No pólo cranial da bexiga em um bezerro com um dia de vida; notam-se paredes hiperecóticas com lúmen anecóico como uma estrutura que se continua do pólo cranial da bexiga, de formato cônico (A). Um centímetro cranialmente à bexiga em um bezerro com um dia de vida; nota-se a luz estreita da estrutura (B). Em ambas a imagens a bexiga (bx) se apresenta em situação caudal e a artéria umbilical esquerda aparece dorsalmente. Transdutor microconvexo de 7,5 MHz



REFERÊNCIAS

- Batchelder C.A., Bertoloni M., Mason J.B., Moyer A.L., Hoffert K.A., Petkov S.G., Famula T.R., Angelos J., George L.W. & Anderson G. B. 2007. Perinatal Physiology in cloned and normal calves: physical and clinical characteristic. *Cloning Stem Cells*. 9(1): 63-82.
- Baxter G.M. 1989. Umbilical masses in calves: diagnosis, treatment, and complications. *Comp. Contin. Educ.* 11(4): 505-513.
- Behboodi E., Anderson G.B., Bondurant R.H., Cargill S.L., Kreuzscher B.R., Medrano J.F. & Murray J.D. 1995. Birth of large calves that developed from in vitro-derived bovine embryos. *Theriogenology*. 44:227-232.
- Bertoline M. & Anderson G,B. 2002. The placenta as a contributor to production of large calves. *Theriogenology*. 57:181-187, 2002.
- Biondo A.W., Lopes S.T.A., Kohayagawa A., Takahira R.K. & Alencar N.X. 1998. Hemograma de bovinos (*Bos indicus*) sadios da raça Nelore no primeiro mês de vida, criados no estado de São Paulo. *Ciência Rural*. 28(2):, 251-256.
- Bouckaert J.H. & De Moor A. 1965. Surgical treatment of umbilical infections in calves. *Vet. Rec.* 77(27):771-774.
- Coles E.H. 1986a. Leucocitos, p. 15-71. In: Coles E.H.(ed.) *Patologia Clínica Veterinária*. 3ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 566 p. b
- Coles E.H. 1986b. Eritrócitos, p. 72-121. In: Coles E.H.(ed.) *Patologia Clínica Veterinária*. 3ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 566 p. a
- Diefendenfer D.L. & Brightling P. 1983. Dysuria due to urachal abscessation in calves diagnose by contrast urography. *Can. Vet. J.* 24: 218-221.
- Dyce K.M., Sack M.O. & Weseing C.J.G. 2004. Sistema Cardiovascular, p. 215-255 In: Dyce K.M., Sack M.O. & Weseing C.J.G. *Tratado de anatomia veterinária*. 3ª.ed. Elsevier ,Rio de Janeiro.
- Edwards III R.B. & Fubini S.L. 1995. A one-stage Marsupialization procedure for management of infected umbilical vein remnants in calves and foals. *Vet. Surg.* 24:32-35.
- Fagliari J.J., Santana A.E., Lucas F.A., Campos Filho E. & Curi P.R. 1998. Constituintes sanguíneos de bovinos recém-nascidos das raças Nelore (*Bos indicus*) e Holandesa (*Bos taurus*) e de bubalinos (*Bubalus bubalis*) da raça Murrah. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 50 (3):253-262.
- Farin P.W.; Piedrahita J.A. & Farin C.E. 2006. Errors in development of fetus and placenta from in vitro-produced bovine embryos. *Theriogenology*. 65:178-191.
- Farin C.E., Farmer W.T. & Farin P.W. 2010. Pregnancy recognition and abnormal offspring syndrome in cattle. *Reprod. Fertil. Dev.* 22:75-87.

- Figueiredo L.J.C. 1999. Onfalopatias de bezerros, p. 13-81 EDUFBA, Salvador.
- Garry F.G., Adams R., Mccann J.P. & Odde K.G. 1996. Postnatal characteristics of calves produced by nuclear transfer cloning. *Theriogenology*. 45:141-152.
- Gasparelli E.R.F., Camargo D.G., Yanaka R., Mendes L.C.N., Peiró J.R., Bovino F., Perri S.H.V. & Feitosa F.L.F. 2009. Avaliação física e dos níveis séricos de cortisol de bezerros neonatos da raça Nelore, nascidos de partos normais e auxiliados, *Pesq. Vet. Bras.* 29(10): 823-828.
- Geishauser Th. & Gründer H.D. 1992. Nabelentzündung beim kalb-ein rückblick auf 104 fälle. *Tierarztl Umsch.* 47:304-320.
- Gloshal N.G. 1986, Coração e artérias, p. 900-959. In: Getty R. (Ed), *Anatomia dos Animais Domésticos*. 3ª Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
- Habel R.E. 1986, Sistema digestorio, p. 807-858. In: Getty R. (Ed), *Anatomia dos Animais Domésticos*. 3ª Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
- Hasler J.F., Henderson W.B., Hurtgen P.J. Jin Z.Q., Mccouley A.D., Mower S.A., Neely B., Shuey L.S., Stokes J.E. & Trimmer S.A. 1995. Production, freezing and transfer of bovine IVF embryos and subsequent calving results. *Theriogenology*. 43:141-152.
- Hides S.J. & Hannah M.C. 2005. Drying times of umbilical cords of dairy calves. *Austral. Vet. J.* 83(6): 371-373.
- Jacobsen H., Holm P., Schmidt M., Avery B. & Callesen H. 2003. No peri- and postnatal effects on calves born after transfer in vitro produced embryos vitrified by the open pulled atraw (OPS) method. *Acta vet. scand.* 44(1-2):87-95.
- Jacobsen H., Schmidt M., Holm P., Sangild P.T., Vajta G., Greve T. & Callesen H. 2000. Body dimensions and birth and organ weights of calves derived from in vitro produced embryos cultured with or without serum and oviduct epithelium cells. *Theriogenology*. 53:1761-1769.
- Kaneko J.J. 1997. Serum proteins and Dysproteinemias. p. 117-138. In: Kaneko, J.J.; Harvey, J.W.; Michel, B.; *Clicical biochemistry of domestic animals*. 5a Academic Press, Sandiego.
- Kruip Th.A.M. & Den Daas J.H.G. 1997. In vitro produced and cloned embryos: effects on pregnancy, parturition and offspring. *Theriogenology*. 47:43-52.
- Lischer C.J. & Steiner A. 1993. Ultrasonography of umbilicus in calves. Part 1: Ultrasonographic description of umbilical involution in clinically heathy calvess. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 135(8):221-230.
- Lischer C.J & Steiner A. 1994. Ultrasonography of the umbilical structures in calves. Part 2: ultrasonography, diagnosis and treatment of umbilical diseases. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 136(6/7):227-241.

Madigan J.E. & House J.K 2002. Diagnosis of umbilical disorders using ultrasound. p. 285-288. In Smith B.P.(Ed.) Large Animal Internal Medicine. 3^a ed. Mosby, St. Louis.

Meirelles F.V., Birgel Jr E.H., Perecin F., Bertolini M., Traldi A., Pimentel J.R.V., Komninou E.R., Sangalli J.R., Fantinato Neto P., Nunes M.T., Pogliani F.C., Meirelles F.D.P., Kubrusly F.S., Vannucchi C.I. & Silva L.C.G. 2010. Delivery of cloned offspring: experience in Zebu cattle (*Bos indicus*). *Reprod. Fertil. Dev.* 22:88-97.

Noden D.M. & Lahunta A. 2001. Sistema cardiovascular III: sistema venoso e linfático, p.281-290. In: Noden D.M. & Lahunta A. *Embriologia de los animales domesticos*, Acribia S.A., Zaragoza.

Numabe T., Oikawa T., Kikuchi T. & Horiuchi T. 2000. Birth weight and birth rate of heavy calves conceived by transfer of in vitro or in vivo produced bovine embryos. *Anim. Reprod. Sci.* 64:13-20.

Nuss K. 2007. Erkrankungen der inneren Nabelstrukturen beim Rind. *Tierarztl Prax.* 35(G):149-156.

O'brien R.T. & Forrest L.J. 1996. A retrospective study of umbilical sonography in calves. *Vet. Radiol. Ultrasound.* 37(1):63-67.

Rérat M., Zbinden Y., Saner R., Hammon H. & Blum J.W. 2005. In vitro embryo production: growth performance, feed efficiency, and hematological, metabolic, and endocrine status in calves. *J. Dairy Sci.* 88(7):2579-2593.

Rodrigues C.A., Anhesini C.R., Oliva V.N.L.S. & Santos P.S.P. 2007. Estudo da correlação entre os métodos de concepção e a ocorrência de onfalopatias em bezerros. *Arch. of Vet. Sci.* 12:102-103.

Rodrigues C.A., Santos P.S.P., Perri S.H.V., Teodoro H.M., Anhesini C.R., Araújo M.A. & Viana Filho M.N. 2010. Correlation between conception methods, occurrence, and treatments ways of the umbilical diseases in cattle: a retrospective study. *Proceeding XXVI World Buiatrics Congress Santiago, Chile.* 366.

Santos S.A., Silva R.A.M.S., Comastri Filho J.A., Abreu U.G.P., Mcmanus C., Mariante A.S., Lara M.A.C., Pellegrin A.O. & Ravaglia E. 2005. Desempenho de bezerros pantaneiros, Nelore e cruzados criados no Pantanal, Brasil. *Arch. Zootec.* 54(206-207): 501-508.

Staller G.S., Tulleners E.P., Ree V.B. & Spencer P.A. 1995. Concordance of ultrasonographic and physical findings in cattle with mass or suspected to have infection of the umbilical cord remnants: 32 cases (1987-1989). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 206(1):77-81.

Trent A.M. & Smith D.F. 1984. Surgical management of umbilical masses with associated umbilical cord remnant infections in calves. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 185(12): 1531-1534.

Watson E., Mahaffey M.B., Crowell W., Selcer B.A., Morris D.D. & Seginak L. 1994. Ultrasonography of the umbilical structures in clinically normal calves. *Am. J. Vet. Res.* 55(6):773-780.

Young L.E., Sinclair K.D. & Wilmut I. 1998. Large offspring in cattle and sheep. *Rev. Reprod.* 3:155-163.

3 CONCLUSÕES

Por fim, pode-se concluir que:

A ultrassonografia é um método apropriado para a realização do exame das estruturas umbilicais extracavitárias e abdominais dos bezerros da raça Nelore.

Sob condições fisiológicas, o diâmetro das estruturas umbilicais se reduz continuamente após o nascimento, sendo a veia e a artéria umbilicais visualizadas até os 35 dias de idade e o ducto alantóide somente durante a primeira semana de vida.

Nos bezerros recém-nascidos da raça Nelore a espessura das estruturas que compõem o umbigo externo não deve ultrapassar 2 cm. Os diâmetros da veia e da artéria no interior do abdômen podem chegar a 1 cm e o do ducto alantóide é próximo a 0,5 cm.

Não há diferenças entre machos e fêmeas, e, comparados aos bezerros concebidos por métodos naturais, os produtos de fertilização *in vitro* nascem com os vasos umbilicais e o ducto alantóide um pouco mais calibrosos (diâmetros 1 a 3 mm maiores), diferença que se manteve somente até os 14 dias de vida para a veia e para a artéria.

A repleção do abomaso com leite cria dificuldade para a visualização da veia umbilical e a ausência de urina na bexiga dificulta o exame da artéria umbilical e do úraco.

4 REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS CRIADORES DE ZEBU, ABCZ. Movimentação TE/FIV 2010. Disponível em: <[http://www.abcz.org.br/conteudos/tecnica/movimentacao de embriões 08.pdf](http://www.abcz.org.br/conteudos/tecnica/movimentacao%20de%20embriões%2008.pdf)>. Acesso em: 20 jan. 2011.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS CRIADORES DE ZEBU, ABCZ. Movimentação TE/FIV 2005. Disponível em: <[http://www.abcz.org.br/conteudos/tecnica/movimentacao de embrioes 08.pdf](http://www.abcz.org.br/conteudos/tecnica/movimentacao%20de%20embrioes%2008.pdf)>. Acesso em: 20 jan. 2011.

ADAMS, S.B.; FESSLER, J.F. Umbilical cord remnant infections in foals: 16 cases (1975-1985). **Journal American Veterinary Medicine Association**, v. 190, p. 316-318, 1987.

ANUALPEC. **Anuário de Pecuária Brasileira**. 15th ed. São Paulo: FNP Consultoria & Agroinformativos, 2010. p. 5-360.

BATCHELDER, C.A.; BERTOLONI, M.; MASON, J.B.; MOYER, A.L.; HOFFERT, K.A.; PETKOV, S.G.; FAMULA, T.R.; ANGELOS, J.; GEORGE, L.W.; ANDERSON, G. B. Perinatal Physiology in cloned and normal calves: physical and clinical characteristic. **Cloning and stem cells**, v. 9, n. 1, p. 63-82, 2007.

BAXTER, G.M. Umbilical masses in calves: diagnosis, treatment, and complications. **Compendium of Continuum Education for the Practicing Veterinarian**, v. 11, p. 505-513, 1989.

BERTOLINE, M.; ANDERSON, G.B. The placenta as a contributor to production of large calves. **Theriogenology**, v. 57, p. 181-187, 2002.

BOUCKAERT, J.H.; DE MOOR, A. Surgical treatment of umbilical infections in calves. **The Veterinary Records**, v. 77, p. 771-774, 1965.

DIEFENDENFER, D.L.; BRIGHTLING, P. Dysuria due to urachal abscessation in calves diagnose by contrast urography. **Canadian Veterinary Journal**, v. 24, p. 218-221, 1983.

DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H.D.; STÖBER M. Enfermedades del mesenteric In:_____. **Medicina interna y cirurgica del bovino**. 4th ed. Buenos Aires: Inter-medica, 2005. p. 606- 632.

DYCE K.M.; SACK M.O.; WESEING C.J.G. Sistema Cardiovascular. In:_____. **Tratado de anatomia veterinária**. 3th ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004. p. 215-255.

EDWARDS III, R.B.; FUBINI, S.L. A one-stage Marsupialization procedure for management of infected umbilical vein remnants in calves and foals. **Veterinary Surgery**, v. 24, p. 32-35, 1995.

FARIN P.W.; PIEDRAHITA J.A.; FARIN C.E. Errors in development of fetus and placenta from in vitro-produced bovine embryos. **Theriogenology**, v. 65, p. 178 - 191, 2006.

- FARIN C.E.; FARMER, W.T.; FARIN P.W. Pregnancy recognition and abnormal offspring syndrome in cattle. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 22, p. 75-87, 2010.
- FIGUEIREDO, L. J. C. **Onfalopatias de bezerros**. Salvador: EDUFBA, 1999. p. 13-81.
- FIGUEIREDO, J. R.; GONÇALVES, P. B. D.; VISINTIN, J. A. Princípios básicos importância e desafios das biotécnicas aplicadas à reprodução animal. **Revista CFMV**, v. 44, p. 20-29. 2008.
- GARCIA, M.; LIBERA, D.; BARROS FILHO, I.R. Região umbilical. In: _____. **Manual de seminologia clínica dos ruminantes**. São Paulo: Varela, p. 112-115. 1996.
- GARRY, F.G.; ADAMS, R.; MCCANN, J.P.; ODDE, K.G. Postnatal characteristics of calves produced by nuclear transfer cloning, **Theriogenology**, v. 45, p. 141-152, 1996.
- GEISHAUSER, TH; GRÜNDER, H.D. Nabelentzündung beim kalb-ein rückblick auf 104 fälle. **Tierärztl Umschau**, v. 47, p. 304-320, 1992.
- HASLER, J.F.; HENDERSON, W.B.; HURTGEN, P.J.; JIN, Z.Q.; MCCOULEY, A.D.; MOWER, S.A.; NEELY, B.; SHUEY, L.S.; STOKES, J.E.; TRIMMER, S.A.; Production, freezing and transfer of bovine IVF embryos and subsequent calving results. **Theriogenology**, v. 43, p. 141-152, 1995.
- HATHAWAY, S.C.; BULLIANS, J.A.; JOHNSTONE, A.C.; BISS, M.E.; THOMPSON, A. A pathological and microbiological evaluation of omphalophlebitis in very Young calves slaughtered in New Zealand. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 41, p. 166-170, 1993.
- JACOBSEN, H.; HOLM, P.; SCHMIDT, M.; AVERY, B.; CALLESEN, H. No peri- and postnatal effects on calves born after transfer in vitro produced embryos vitrified by the open pulled atraw (OPS) method. **Acta Veterinary Scandinavia**, v. 44, p. 87-95, 2003.
- KASARI, T.R.; WIKSE, S.E. Perinatal mortality in beef herds. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 10, p. 147-166, 1994.
- LISCHER, C.J; STEINER A. Ultrasonography of umbilical structures in calves. Part 1: ultrasonographic description of umbilical involution in clinically healthy calves. **Schweizer Archiv für Tierheilkunde**, v. 135, p. 221-230, 1993.
- LISCHER, C.J; STEINER A. Ultrasonography of umbilical structures in calves. Part 2: ultrasonographic, diagnosis and treatment of umbilical diseases. **Schweizer Archiv für Tierheilkunde**, v. 136, p. 227-241, 1994.
- MEIRELLES, F.V.; BIRGEL JR, E.H.; PERECIN, F.; BERTOLINI, M.; TRALDI, A.; PIMENTEL, J.R.V.; KOMNINO, E.R.; SANGALLI, J.R.; FANTINATO NETO, P.; NUNES, M.T.; POGLIANI, F.C.; MEIRELLES, F.D.P.; KUBRUSLY, F.S.; VANNUCCHI, C.I.; SILVA, L.C.G. Delivery of cloned offspring: experience in Zebu

cattle (*Bos indicus*). **Reproduction, Fertility and Development**. v. 22, p. 88-97, 2010.

NASSER L.F.; REZENDE L.F.; BÖ G.A.; BARTH A. Induction of parturition in Zebu-cross recipients carrying *in vitro*-produced *Bos indicus* embryos. **Theriogenology**, v. 69, p. 16-23, 2008.

NODEN, D.M.; DE LHUNTA, A. Membranas extraembrionarias y placentación. In: _____. **Embriología de los animales domesticos**. Cap. 3, p. 53-76, 2001a.

NODEN, D.M.; DE LHUNTA, A. Sistema cardiovascularII: sistema venoso y linfático. In: _____. **Embriología de los animales domesticos**. Cap. 13, p. 281-285, 2001b.

NUSS K. Erkrankungen der inneren Nabelstrukturen beim Rind. **Tierärztl Prax**, v. 35(G), p. 149-156, 2007

O'BRIEN, R.T.; FORREST, L.J. A retrospective study of umbilical sonography in calves. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, v. 37, p. 63-67, 1996.

PRESTES, C. N.; LANDIM-ALVARENGA, F.C. **Obstetrícia Veterinária**. 3th ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p. 34.

PONTES, J.H.F.; NONATO JUNIOR, I., SANCHES, B.V.; ERENO JUNIOR, J.C.; UVO, S.; BARREIROS, T.R.R.; OLIVEIRA, J.A.; HASLER, J.F.; SENEDA, M.M. Comparison of embryo yield and pregnancy rate between *in vivo* and *in vitro* methods in the same Nelore (*Bos indicus*) donor cows. **Theriogenology**, v. 71, p. 690-697, 2009.

RADOSTITIS, O. M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C.; HINCHCLIFF, K.W. Doenças do recém-nascido. In: _____. **Clínica Veterinária: Um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos e equinos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p. 102-136.

RIBEIRO, A. A. C. M.; MIGLINO, M. A.; DIDIO, L. J. A. Pesquisa Anatômica sobre o funículo umbilical em bovinos azebuados. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 34, p. 321-326, 1997.

ROBINSON, N. E. Transporte de oxigênio fetal e neonatal. In: CUNNINGHAM, J. G. **Tratado de fisiologia veterinária**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. p. 533-538.

RODRIGUES, C.A.; ANHESINI, C.R.; OLIVA, V.N.L.S.; SANTOS, P.S.P. Estudo da correlação entre os métodos de concepção e a ocorrência de onfalopatias em bezerros. **Archives of Veterinary Science**, v. 12, p. 102-103, 2007.

RODRIGUES, C.A.; SANTOS, P.S.P.; PERRI, S.H.V.; TEODORO, H.M.; ANHESINI, C.R.; ARAÚJO, M.A.; VIANA FILHO, M.N. Correlation between conception methods, occurrence, and treatments ways of the umbilical diseases in cattle: a retrospective study. **Proceeding XXVI World Buiatrics Congress**, p. 366, 2010a.

RODRIGUES, C. A.; SANTOS, P. S. P.; VIANA FILHO, M. N.; FEITOSA, F. L. F.; LISBOA, J. A. N.; TEODORO, H. M.; ARAÚJO, M. A.; PERRI, S. H. V. Evaluation of

imunoglobulins in Nelore calves produced from *in vitro* fertilization and surgical treated to umbilical diseases. **Proceeding XXVI World Buiatrics Congress**, p. 366, 2010b.

STALLER, G.S.; TULLENERS, E.P.; REEF, V.B.; SPENCER, P.A. Concordance of ultrasonographic and phisycal findings in cattle with mass or suspected to have infection of the umbilical cord remnants: 32 cases (1987-1989). **Journal American Veterinary Medicine Association**, v. 206, p. 77-81, 1995.

STREETER, R. N.; STEP, D.L. Diagnostic Ultrasonography in Ruminants. **Veterinary Clinics Food Animal Practive**, v. 23, p. 541-574. 2007.

TRENT, A.M.,; SMITH, D.F. Surgical management of umbilical masses with associated umbilical cord remnant infections in calves. **Journal American Veterinary Medecine Association**, v. 185, p. 1531-1534, 1984.

THIBIER M.; Transfers of both in vivo-derived and in vitro produced embryos in cattle still on the rise and contrasted trends in the other species in 2005. **IETS Embryos Transfer Newsletter**, v. 24, p. 11-19. 2006.

VARAGO, F.C.; MENDONÇA, L.F.; LAGARES, M.A.; Produção *in vitro* de embriões bovinos: estado de arte e perspectiva de uma técnica em constante evolução. **Revista Brasileira de Reprodução Animal, Belo Horizonte**, v. 32, n. 2, p. 100-109, 2008.

VIANA, J.H.M.; CAMARGO, L.S.A. A produção de embriões bovinos no Brasil: uma nova realidade. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 35, p. 915-924, 2007.

WATSON, E.; MAHAFFEY, M.B.; CROWELL, W.; SELCER, B.A.; MORRIS, D.D.; SEGINAK, L. Ultrasonography of the umbilical structures in clinically normal calves. **American Journal Veterinary Research**, v. 55, p. 773-780, 1994.

YOUNG, L.E.; SINCLAIR, K.D.; WILMUT, I. Large offspring in cattle and sheep. **Reviews of Reproduction**, v. 3, p. 155-163, 1998.

APÊNDICE

APÊNDICE A

Comitê de Ética em Experimentação Animal



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA



GOVERNO DO
PARANÁ

COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL

OF. CIRC. CEEA Nº 24/2009

Londrina, 17 de março de 2009.

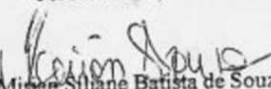
Prezado Pesquisador

O CEEA/UEL, reunido a 10 de março de 2009, avaliou o projeto de pesquisa intitulado "Avaliação ultrassonográfica das estruturas umbilicais extra e intracavitárias em bezerros da raça Nelore frutos de diferentes métodos de concepção", registrado no CEEA sob o nº 03/09, desenvolvido sob sua responsabilidade, esclarecido o aspecto metodológico solicitado, o projeto está *aprovado* para execução entendendo-se que os princípios éticos postulados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal estão respeitados.

Cumprir orientar que caso se pretendam quaisquer alterações no protocolo experimental aprovado, deve-se submeter o novo protocolo à apreciação do CEEA/UEL anteriormente à execução das modificações.

Sem mais para o momento, subscrevo-me.

Cordialmente,


Profª Drª Mirian Siliane Batista de Souza
Coordenadora do CEEA/UEL

Ilmo. Sr.
Prof. Dr. Júlio Augusto Naylor Lisboa
Coordenador do Projeto
Departamento de Clínicas Veterinárias
Centro de Ciências Agrárias

ANEXOS

ANEXO A

Normas para publicação na Pesquisa Veterinária Brasileira

Os trabalhos para submissão devem ser enviados por via eletrônica, através do e-mail <jurgen.dobereiner@terra.com.br>, com os arquivos de texto na versão mais recente do Word. Havendo necessidade (por causa de figuras "pesadas"), podem ser enviados em CD pelo correio, com uma via impressa, ao Dr. Jürgen Döbereiner, Revista PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA, Caixa Postal 74.591, Seropédica, RJ 23890-000. Devem constituir-se de resultados de pesquisa ainda não publicados e não considerados para publicação em outra revista.

Para abreviar sua tramitação e aceitação, os trabalhos sempre devem ser submetidos conforme as normas de apresentação da revista (www.pvb.com.br) e o modelo em Word (PDF no site). Os originais submetidos fora das normas de apresentação, serão devolvidos aos autores para a devida adequação.

Apesar de não serem aceitas comunicações (*Short Communications*) sob forma de "Notas Científicas", não há limite mínimo do número de páginas do trabalho enviado, que deve, porém, conter pormenores suficientes sobre os experimentos ou a metodologia empregada no estudo. Trabalhos sobre Anestesiologia e Cirurgia somente os da área de Animais Selvagens serão recebidos para submissão.

Embora sejam de responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos emitidos nos trabalhos, o Conselho Editorial, com a assistência da Assessoria Científica, reserva-se o direito de sugerir ou solicitar modificações aconselháveis ou necessárias. Os trabalhos submetidos são aceitos através da aprovação pelos pares (*peer review*).

NOTE: Em complementação aos recursos para edição da revista (impressa e online) e distribuição via correio é cobrada taxa de publicação (*page charge*) no valor de R\$ 120,00 por página editorada e impressa, na ocasião do envio da prova final, ao autor para correspondência.

1. Os trabalhos devem ser organizados, sempre que possível, em Título, ABSTRACT, RESUMO, INTRODUÇÃO, MATERIAL E MÉTODOS, RESULTADOS, DISCUSSÃO, CONCLUSÕES (ou combinação destes dois últimos), **Agradecimentos e REFERÊNCIAS:**

a) o **Título** do artigo deve ser conciso e indicar o conteúdo do trabalho; pormenores de identificação científica devem ser colocados em MATERIAL E METODOS.

b) O(s) **Autor(es)** deve(m) sistematicamente encurtar os nomes, tanto para facilitar sua identificação científica, como para as citações bibliográficas. Em muitos casos isto significa manter o primeiro nome e o último sobrenome e abreviar os demais sobrenomes: Paulo Fernando de Vargas Peixoto escreve Paulo V. Peixoto ou Peixoto P.V.; Franklin Riet-Correa Amaral escreve Franklin Riet-Correa ou Riet-Correa F.; Silvana Maria Medeiros de Sousa Silva poderia usar Silvana M.M.S. Silva, inverso Silva S.M.M.S., ou Silvana M.M. Sousa-Silva, inverso, Sousa-Silva S.M.M., ou mais curto, Silvana M. Medeiros-Silva, e inverso, Medeiros-Silva S.M.; para facilitar, inclusive, a moderna indexação, recomenda-se que os trabalhos tenham o máximo de 8 autores;

c) o **ABSTRACT** deverá ser apresentado com os elementos constituintes do RESUMO em português, podendo ser mais explicativos para estrangeiros. Ambos devem ser seguidos de "INDEX TERMS" ou "TERMOS DE INDEXAÇÃO", respectivamente;

d) o **RESUMO** deve apresentar, de forma direta e no passado, o que foi feito e estudado, indicando a metodologia e dando os mais importantes resultados e conclusões. Nos trabalhos em inglês, o título em português deve constar em negrito e entre colchetes, logo após a palavra RESUMO;

e) a **INTRODUÇÃO** deve ser breve, com citação bibliográfica específica sem que a mesma assuma importância principal, e finalizar com a indicação do objetivo do trabalho;

f) em **MATERIAL E MÉTODOS** devem ser reunidos os dados que permitam a repetição do trabalho por outros pesquisadores. Na experimentação com animais, deve constar a aprovação do projeto pela Comissão de Ética local;

g) em **RESULTADOS** deve ser feita a apresentação concisa dos dados obtidos. Quadros devem ser preparados sem dados supérfluos, apresentando, sempre que indicado, médias de várias repetições. É conveniente, às vezes, expressar dados complexos por gráficos (Figuras), ao invés de apresentá-los em Quadros extensos;

h) na **DISCUSSÃO** devem ser discutidos os resultados diante da literatura. Não convém mencionar trabalhos em desenvolvimento ou planos futuros, de modo a evitar uma obrigação do autor e da revista de publicá-los;

i) as **CONCLUSÕES** devem basear-se somente nos resultados apresentados no trabalho; j) **Agradecimentos** devem ser sucintos e não devem aparecer no texto ou em notas de rodapé;

k) a Lista de **REFERENCIAS**, que só incluirá a bibliografia citada no trabalho e a que tenha servido como fonte para consulta indireta, deverá ser ordenada alfabeticamente pelo sobrenome do primeiro autor, registrando-se os nomes de todos os autores, em caixa alta e baixa (colocando as referências em ordem cronológica quando houver mais de dois autores), o título de cada publicação e, abreviado ou por extenso (se tiver dúvida), o nome da revista ou obra, usando as instruções do "Style Manual for Biological Journals" (American Institute for Biological Sciences), o "Bibliographic Guide for Editors and Authors" (American Chemical Society, Washington, DC) e exemplos de fascículos já publicados (www.pvb.com.br).

2. Na elaboração do texto deverão ser atendidas as seguintes normas:

a) os trabalhos devem ser submetidos **segundo o exemplo de apresentação de fascículos recentes da revista e do modelo constante do site sob "Instruções aos Autores" (www.pvb.com.br)**. A digitalização deve ser na fonte **Helvética, corpo 11, entrelinha simples**; a **página** deve ser **no formato A4, com 2cm de margens** (superior, inferior, esquerda e direita), o texto deve ser corrido e não deve ser formatado em duas colunas, com as legendas das figuras e os Quadros no final (logo após as REFERENCIAS). As Figuras (inclusive gráficos) devem ter seus arquivos fornecidos separados do texto. Quando incluídos no texto do trabalho, devem ser introduzidos através da ferramenta "Inserir" do Word; pois imagens copiadas e coladas perdem as informações do programa onde foram geradas, resultando, sempre, em má qualidade;

b) a redação dos trabalhos deve ser concisa, com a linguagem, tanto quanto possível, no passado e impessoal; no texto, os sinais de chamada para notas de rodapé serão números arábicos colocados em sobrescrito após a palavra ou frase que motivou a nota. Essa numeração será contínua por todo o trabalho; as notas serão lançadas ao pé da página em que estiver o respectivo sinal de chamada. Todos os Quadros e todas as Figuras serão mencionados no texto. Estas remissões serão feitas pelos respectivos números e, sempre que possível, na ordem crescente destes. **ABSTRACT** e **RESUMO** serão escritos corridamente em um só parágrafo e não deverão conter citações bibliográficas.

c) **no rodapé da primeira página deverá constar endereço profissional completo de todos os autores e o e-mail do autor para correspondência, bem como e-mails de outros autores**;

d) siglas e abreviações dos nomes de instituições, ao aparecerem pela primeira vez no trabalho, serão colocadas entre parênteses e precedidas do nome por extenso;

e) citações bibliográficas serão feitas pelo sistema "autor e ano"; trabalhos de até três autores serão citados pelos nomes dos três, e com mais de três, pelo nome do primeiro, seguido de "et al.", mais o ano; se dois trabalhos não se distinguirem por esses

elementos, a diferenciação será feita através do acréscimo de letras minúsculas ao ano, em ambos. **Trabalhos não consultados na íntegra pelo(s) autor(es), devem ser diferenciados, colocando-se no final da respectiva referência, "(Resumo)" ou "(Apud Fulano e o ano.)"**; a referência do trabalho que serviu de fonte, será incluída na lista **uma só vez**. A menção de comunicação pessoal e de dados não publicados é feita no texto somente com citação de Nome e Ano, colocando-se na lista das Referências dados adicionais, como a Instituição de origem do(s) autor(es). Nas citações de trabalhos colocados entre parênteses, **não se usará vírgula entre o nome do autor e o ano, nem ponto-e-vírgula após cada ano**; a separação entre trabalhos, nesse caso, se fará apenas por vírgulas, exemplo: (Christian & Tryphonas 1971, Priester & Haves 1974, Lemos et al. 2004, Krametter-Froetcher et. al. 2007);

f) **"(Apud Fulano e o ano.)"**; a referência do trabalho que serviu de fonte, será incluída na lista **uma só vez**. A menção de comunicação pessoal e de dados não publicados é feita no texto somente com citação de Nome e Ano, colocando-se na lista das Referências dados adicionais, como a Instituição de origem do(s) autor(es). Nas citações de trabalhos colocados entre parênteses, **não se usará vírgula entre o nome do autor e o ano, nem ponto-e-vírgula após cada ano**; a separação entre trabalhos, nesse caso, se fará apenas por vírgulas, exemplo: (Christian & Tryphonas 1971, Priester & Haves 1974, Lemos et al. 2004, Krametter-Froetcher et. al. 2007);

f) a Lista das **REFERENCIAS** deverá ser apresentada **isenta do uso de caixa alta**, com os nomes científicos em itálico (grifo), **e sempre em conformidade com o padrão adotado nos últimos fascículos da revista**, inclusive quanto à ordenação de seus vários elementos.

3. As Figuras (gráficos, desenhos, mapas ou fotografias) **originais devem ser preferencialmente enviadas por via eletrônica**. Quando as fotos forem obtidas através de câmeras digitais (com extensão "jpg"), os arquivos deverão ser enviados como obtidos (sem tratamento ou alterações). Quando obtidas em papel ou outro suporte, deverão ser anexadas ao trabalho, mesmo se escaneadas pelo autor.

Nesse **caso**, cada Figura será identificada na margem ou no verso, a traço leve de lápis, pelo respectivo número e o nome do autor; havendo possibilidade de dúvida, deve ser indicada a parte inferior da figura pela palavra "pé". A chave das convenções adotadas será incluída preferentemente, na área da Figura; evitar-se-á o uso de título ao alto da figura. Fotografias deverão ser apresentadas preferentemente em preto e branco, em papel brilhante, ou em diapositivos ("slides"). Para evitar danos por grampos, desenhos e fotografias deverão ser colocados em envelope. Na versão online, fotos e gráficos poderão ser publicados em cores; na versão impressa, somente quando a cor for elemento primordial a impressão das figuras poderá ser em cores.

4. As legendas explicativas das Figuras conterão informações suficientes para que estas sejam compreensíveis, (até certo ponto autoexplicativas, com independência do texto) e **serão apresentadas no final do trabalho**.

5. Os Quadros deverão ser explicativos por si mesmos e **colocados no final do texto**. Cada um terá seu título completo e será caracterizado por dois traços longos, um acima e outro abaixo do cabeçalho das colunas; entre esses dois traços poderá haver outros mais curtos, para agrupamento de colunas. **Não há traços verticais. Os sinais de chamada serão alfabéticos, recomeçando, se possível, com "a" em cada Quadro**; as notas serão lançadas logo abaixo do Quadro respectivo, do qual serão separadas por um traço curto à esquerda.

ANEXO B

Representação gráfica das estruturas umbilicais de acordo com a idade

Figura 1 – Variação da espessura das estruturas que compõem o umbigo externo, mensurada por ultrassonografia dois centímetros acima da cicatriz umbilical, em bezerros Nelore do nascimento aos 35 dias de vida, produtos de fertilização *in vitro* (FIV) ou concebidos naturalmente (NAT)

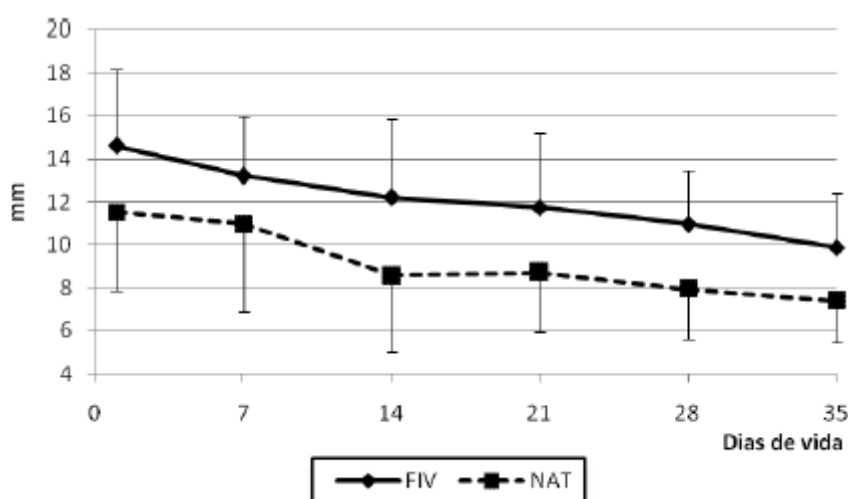


Figura 2 – Variação da espessura das estruturas que compõem o umbigo externo, mensurada por ultrassonografia próximo ao anel umbilical, em bezerros Nelore do nascimento aos 35 dias de vida, produtos de fertilização *in vitro* (FIV) ou concebidos naturalmente (NAT)

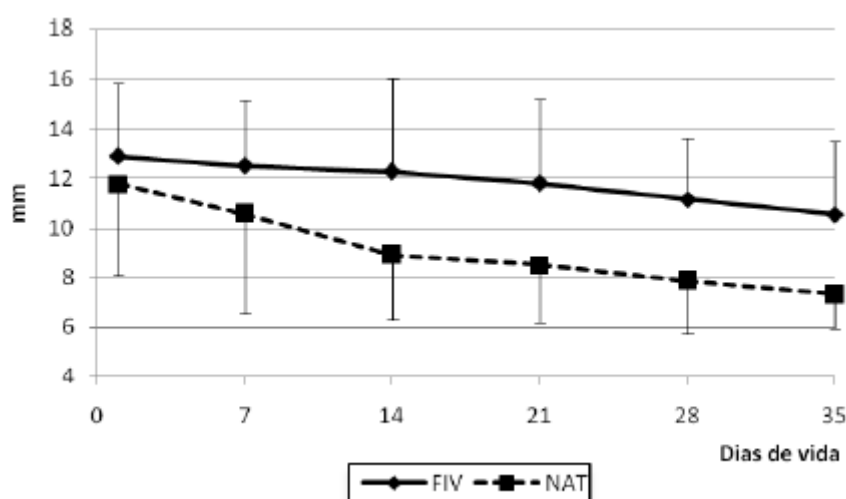


Figura 3 – Variação da espessura das estruturas que compõem o umbigo externo, mensurada por paquimetria dois centímetros acima da cicatriz umbilical, em bezerros Nelore do nascimento aos 35 dias de vida, produtos de fertilização *in vitro* (FIV) ou concebidos naturalmente (NAT)

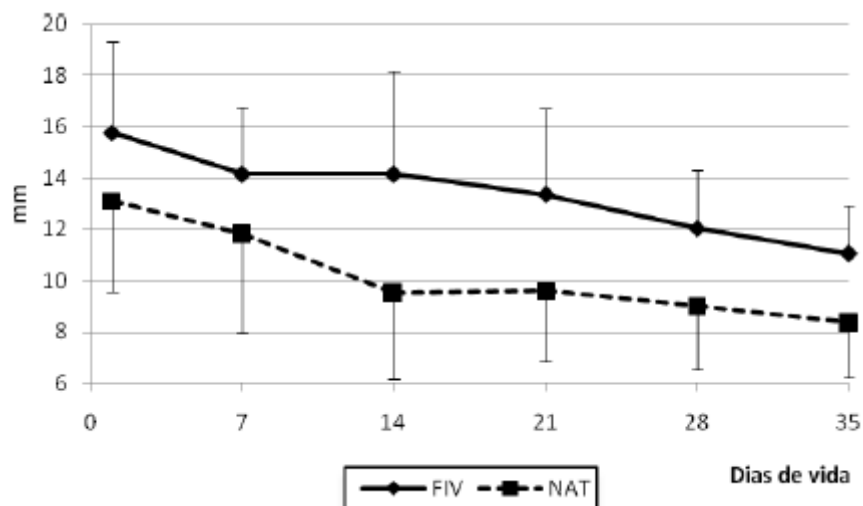


Figura 4 – Variação da espessura das estruturas que compõem o umbigo externo, mensurada por paquimetria próximo ao anel umbilical, em bezerros Nelore do nascimento aos 35 dias de vida, produtos de fertilização *in vitro* (FIV) ou concebidos naturalmente (NAT)

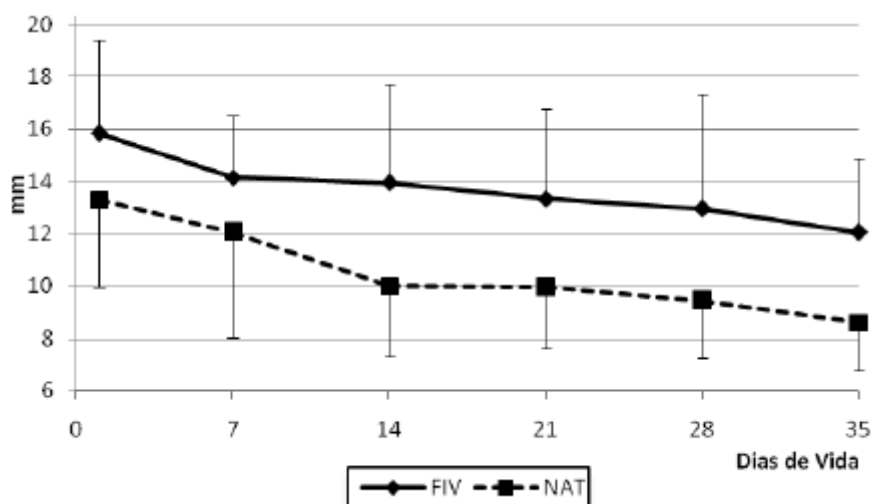


Figura 5 – Variação do diâmetro da veia umbilical, mensurado por ultrassonografia imediatamente próximo ao anel umbilical, em bezerros Nelore do nascimento aos 35 dias de vida, produtos de fertilização *in vitro* (FIV) ou concebidos naturalmente (NAT)

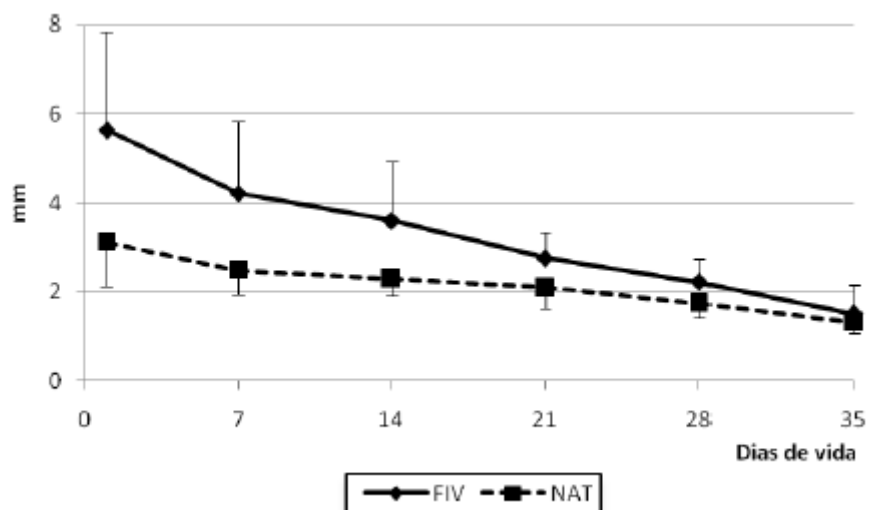


Figura 6 – Variação do diâmetro da veia umbilical, mensurado por ultrassonografia entre o anel umbilical e o fígado, em bezerros Nelore do nascimento aos 35 dias de vida, produtos de fertilização *in vitro* (FIV) ou concebidos naturalmente (NAT)

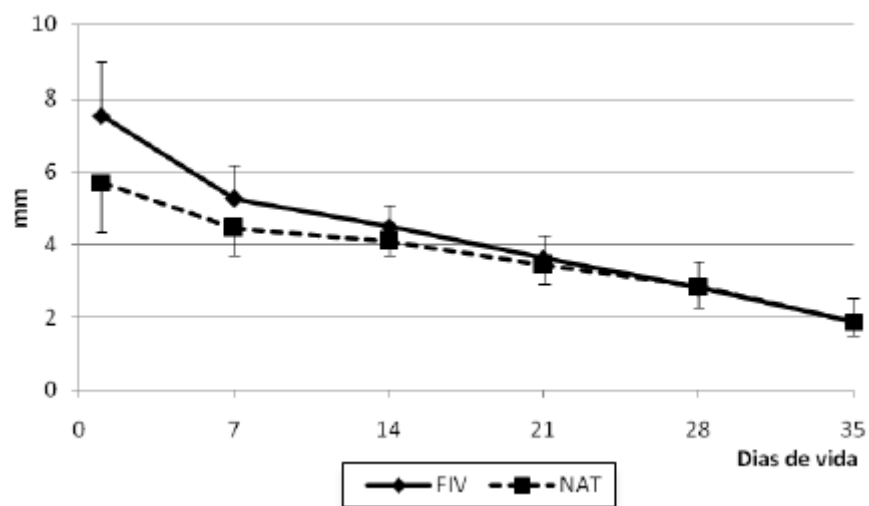


Figura 7 – Variação do diâmetro da veia umbilical, mensurado por ultrassonografia na chegada ao fígado, em bezerros Nelore do nascimento aos 35 dias de vida, produtos de fertilização *in vitro* (FIV) ou concebidos naturalmente (NAT)

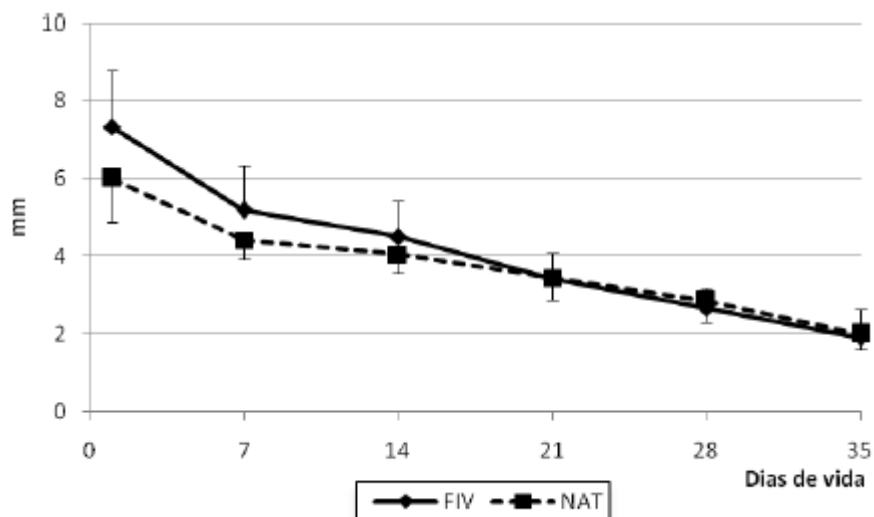


Figura 8 – Variação do diâmetro da veia umbilical, mensurado por ultrassonografia dentro do fígado, em bezerros Nelore do nascimento aos 35 dias de vida, produtos de fertilização *in vitro* (FIV) ou concebidos naturalmente (NAT)

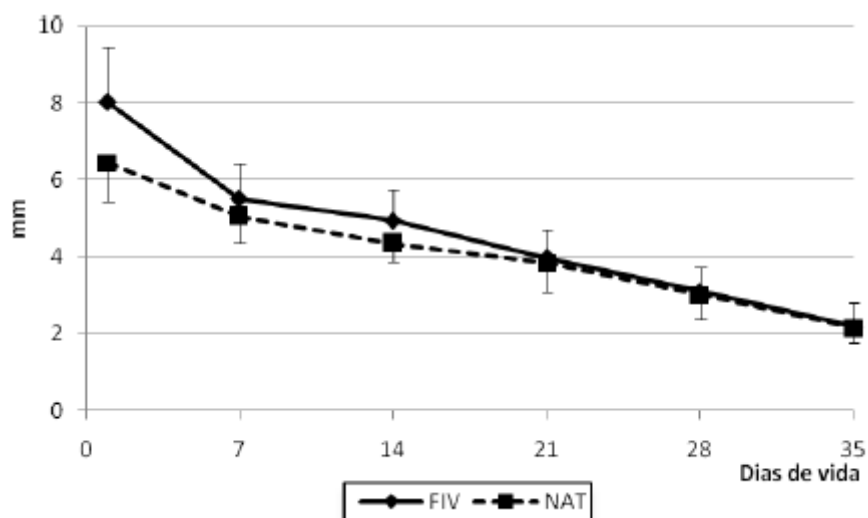


Figura 9 – Variação do diâmetro da artéria umbilical esquerda, mensurado por ultrassonografia lateralmente à bexiga, em bezerros Nelore do nascimento aos 35 dias de vida, produtos de fertilização *in vitro* (FIV) ou concebidos naturalmente (NAT)

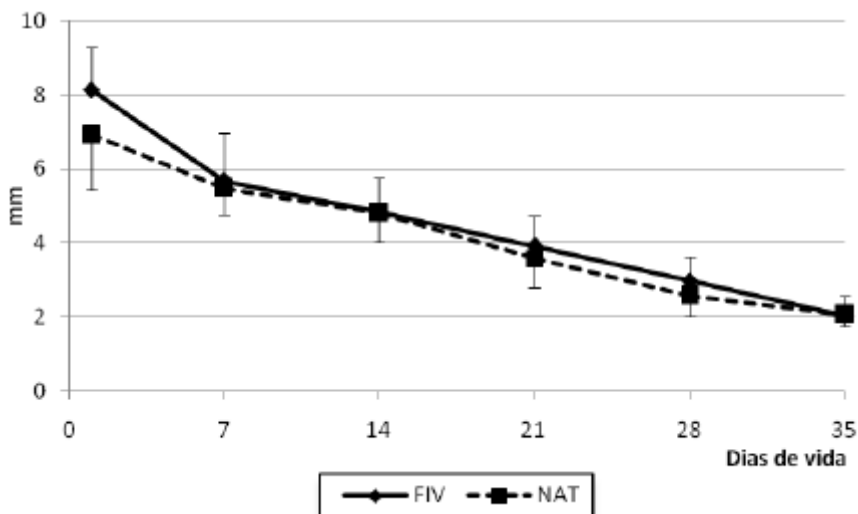


Figura 10 – Variação do diâmetro da artéria umbilical esquerda, mensurado por ultrassonografia no pólo cranial da bexiga, em bezerros Nelore do nascimento aos 35 dias de vida, produtos de fertilização *in vitro* (FIV) ou concebidos naturalmente (NAT)

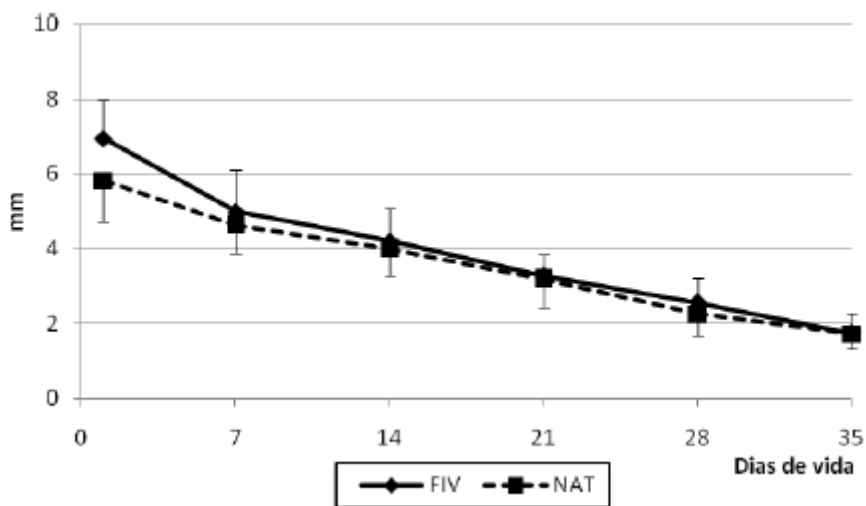


Figura 11 – Variação do diâmetro da artéria umbilical esquerda, mensurado por ultrassonografia dois centímetros caudais ao anel umbilical, em bezerros Nelore do nascimento aos 35 dias de vida, produtos de fertilização *in vitro* (FIV) ou concebidos naturalmente (NAT)

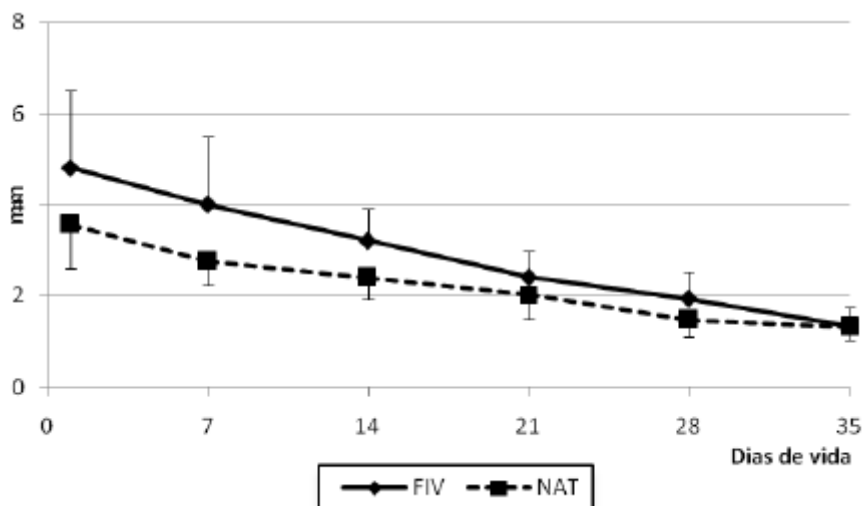


Figura 12 – Variação do diâmetro do ducto alantóide, mensurado por ultrassonografia no pólo cranial da bexiga, em bezerros Nelore do nascimento aos sete dias de vida, produtos de fertilização *in vitro* (FIV) ou concebidos naturalmente (Nat)

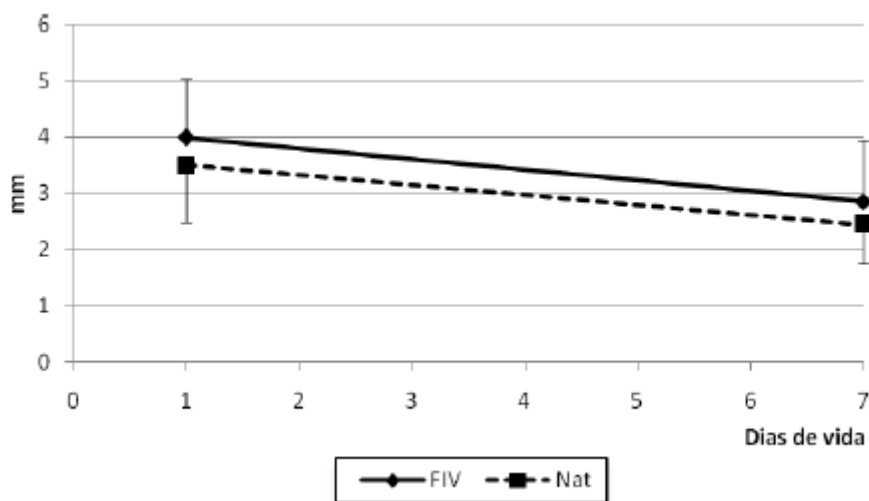


Figura 13 – Variação do diâmetro do ducto alantóide, mensurado por ultrassonografia um centímetro cranial do pólo cranial da bexiga, em bezerros Nelore do nascimento aos sete dias de vida, produtos de fertilização *in vitro* (FIV) ou concebidos naturalmente (Nat)

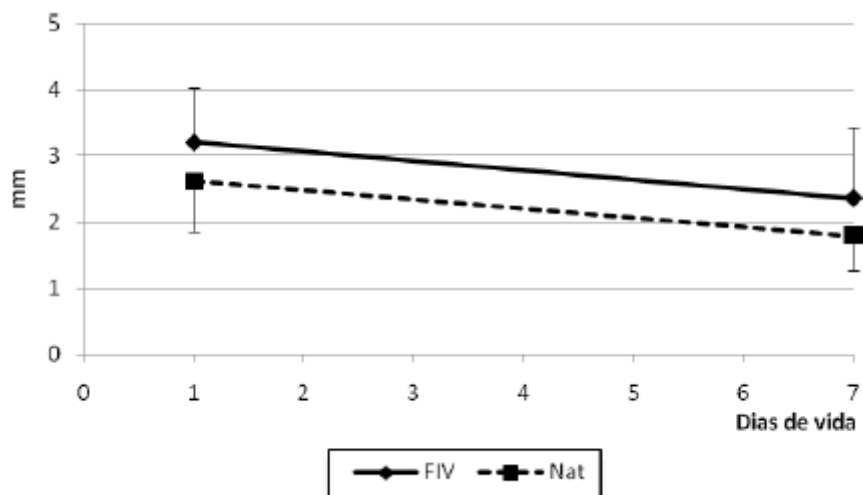


Figura 14 – Variação do diâmetro do ducto alantóide, mensurado por ultrassonografia cinco centímetros craniais do pólo cranial da bexiga, em bezerros Nelore do nascimento aos sete dias de vida, produtos de fertilização *in vitro* (FIV) ou concebidos naturalmente (Nat)

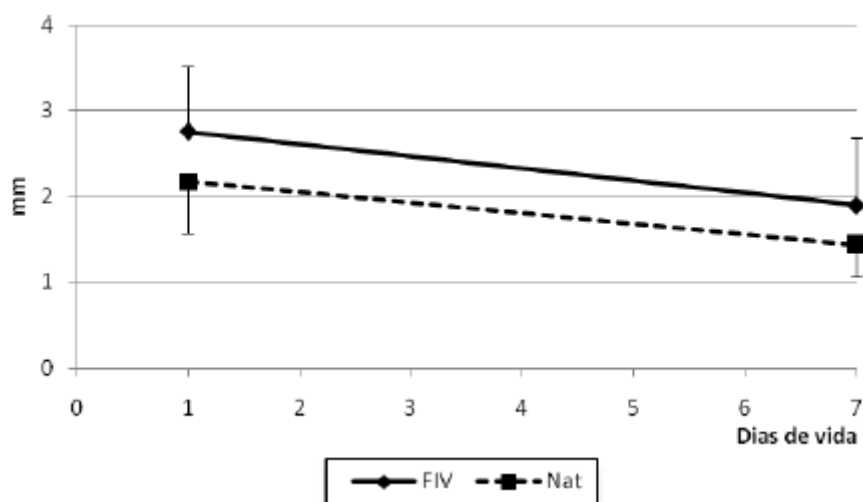


Figura 15 – Variação do diâmetro do ducto alantóide, mensurado por ultrassonografia dois centímetros caudais ao anel umbilical, em bezerros Nelore do nascimento aos sete dias de vida, produtos de fertilização *in vitro* (FIV) ou concebidos naturalmente (Nat)

