



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**  
**FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**RAFAELLA JACINTA DE BENTO BELO CALZADA**

**PARÂMETROS BIOQUÍMICOS SÉRICOS DE BOVINOS SUBMETIDOS A  
DIFERENTES PERÍODOS DE TRANSPORTE**

**Monografia apresentada para a conclusão  
do Curso de Medicina Veterinária da  
Faculdade de Agronomia e Medicina  
Veterinária da Universidade de Brasília**

Brasília DF

Julho de 2011



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**RAFAELLA JACINTA DE BENTO BELO CALZADA**

**PARÂMETROS BIOQUÍMICOS SÉRICOS DE BOVINOS SUBMETIDOS A  
DIFERENTES PERÍODOS DE TRANSPORTE**

**Monografia apresentada para a conclusão do  
Curso de Medicina Veterinária da Faculdade de  
Agronomia e Medicina Veterinária da  
Universidade de Brasília**

Orientador

Prof. Dr. Francisco Ernesto Moreno Bernal

Brasília DF

Julho de 2011

## FICHA CATALOGRÁFICA

Calzada, Rafaella Jacinta de Bento Belo  
Parâmetros Bioquímicos Séricos de Bovinos Submetidos a Diferentes  
Períodos de Transporte / Rafaella Jacinta de Bento Belo Calzada. – 2011.  
50p. : il.

Monografia (graduação) – Universidade de Brasília/Faculdade de  
Agronomia e Medicina Veterinária, 2011.

Orientação: Prof. Dr. Francisco Ernesto Moreno Bernal, Faculdade  
de Agronomia e Medicina Veterinária.

1. Parâmetros. 2. Bioquímicos. 3. Séricos. 4. Bovinos Submetidos a  
Diferentes Períodos de Transporte.

### **Cessão de Direitos**

Nome da Autora: Rafaella Jacinta de Bento Belo Calzada

Título da Monografia de Conclusão de Curso: Parâmetros bioquímicos séricos de bovinos submetidos a diferentes períodos de transporte

Ano: 2011

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta monografia e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos ou científicos. A autora reserva-se a outros direitos de publicação e nenhuma parte desta monografia pode ser reproduzida sem a autorização por escrito da autora.

---

Rafaella Jacinta de Bento Belo Calzada

[rafaellajcalzada@gmail.com](mailto:rafaellajcalzada@gmail.com)

## FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome do autor: CALZADA, Rafaella Jacinta de Bento Belo

Título: Parâmetros bioquímicos séricos de bovinos submetidos a diferentes períodos de transporte.

Monografia de conclusão do Curso de Medicina Veterinária apresentada à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília

Aprovado em: \_\_\_\_\_

Banca Examinadora

Prof. Dr. Francisco Ernesto Moreno Bernal

Julgamento: \_\_\_\_\_

Instituição: Universidade de Brasília

Assinatura: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. Cristiano Barros de Melo

Julgamento: \_\_\_\_\_

Instituição: Universidade de Brasília

Assinatura: \_\_\_\_\_

Méd.Vet. MSc. Bruno Stéfano Lima Dallago

Julgamento: \_\_\_\_\_

Instituição: Universidade de Brasília

Assinatura: \_\_\_\_\_

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pelas oportunidades e proteção.

Aos meus pais, Gabriel e Maria Acácia, pelo amor incondicional, apoio e por tudo que me proporcionam.

Aos Professores da Universidade de Brasília, pelos ensinamentos e dedicação, e, especialmente ao Professor Francisco Bernal, pelas oportunidades, cordialidade e orientação nesta monografia.

Aos Professores da Universidade de Minas Gerais- UFMG, pelos ensinamentos, dedicação e acolhimento durante o estágio final no Setor de Doenças das Aves, em especial ao Professor Nelson Rodrigo da Silva Martins, pela co-orientação e supervisão do estágio final. Aos mestrandos e doutorandos do Laboratório de Doenças das Aves, pelos ensinamentos e hospitalidade.

À Professora Concepta McManus, pela análise estatística.

À equipe do Laboratório de Bem Estar Animal e Doenças das Aves: Adriana Morato, Adriano Alvarenga, Aline Zorzan, Bruno Dallago, Diego Xavier, João Paulo Barbosa, Marina Borges, Patrícia Castro e Paula Lopes por todo coleguismo, auxílio e pelos vários bons momentos proporcionados durante a execução deste projeto.

À equipe do Laboratório de Patologia Clínica, em especial à Professora Giane Regina Paludo e à Aline Melgaço, pela execução das análises e auxílio na interpretação.

Ao CnPQ, pelo financiamento do presente projeto e bolsa concedida.

Ao Médico Veterinário Dr. Josélio Moura, proprietário da Fazenda Mouraria, onde foi realizado este projeto, pela oportunidade.

Aos bovinos utilizados no experimento e sem os quais nada disto seria possível.

## RESUMO

CALZADA, R.J.B.B. Parâmetros bioquímicos séricos de bovinos submetidos a diferentes períodos de transporte, [Serical biochemical parameters of bovine submitted to different periods of transport]. 2011. 50 p. Monografia apresentada para a conclusão do Curso de Medicina Veterinária da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília, Universidade de Brasília, Brasília, DF. O transporte de animais vivos figura como um elo importante na cadeia da produção animal. Embarque, transporte e desembarque executados de forma inadequada podem gerar estresse, o que leva, por conseguinte, ao comprometimento do bem-estar, da saúde e da produtividade do animal e da qualidade da carne e assim culmina na redução da lucratividade do produtor. A avaliação do manejo pré-abate pode ser acessada por meio de indicadores fisiológicos bioquímicos de bem-estar animal, os quais se encontram bem documentados na literatura. Foram utilizados 18 bovinos da raça nelore, de idades entre um ano e um ano e meio e pesos entre 140 e 380 kg, divididos em três grupos de seis animais (mais pesados, intermediários e mais leves). Os animais foram pesados e amostras de sangue foram colhidas da veia coccígea ventral. O experimento foi efetuado em três fases: com manejo e embarque tradicional; manejo tradicional com treinamento e, manejo com bandeiras. Os animais, em cada fase, foram submetidos a transporte em caminhão truque com durações de 24, 48 e 72 horas. Para fins desta monografia foi realizada a comparação dos tempos de transporte de 24, 48 e 72 horas. No laboratório foram realizados testes bioquímicos a fim de se obter as atividades enzimáticas de aspartato aminotransferase (AST), creatinoquinase (CK) e fosfatase alcalina (FA), as concentrações séricas de albumina (ALB), proteínas totais (PT), frutossamina (FrAm) e mensuração da glicose sanguínea. Buscou-se, com o presente trabalho, avaliar a influência da duração do transporte no grau de bem-estar animal por meio de indicadores fisiológicos bioquímicos. Para a análise estatística foi realizada ANOVA e foram utilizados o General Linear Model e fatores fixos. As diferenças entre as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, dentro do programa SAS. A concentração média de CK foi maior com transporte de 72 horas sendo sugestivo de injúrias e desgaste muscular. ALB apresentou-se maior ao fim do transporte de 48 horas, possivelmente estando relacionada à desidratação. Esse também é o motivo sugerido para o maior valor de PT obtido ao fim de 72 horas de transporte em comparação ao transporte de 24 horas. Depleção de reservas metabólicas em consequência de jejum prolongado apresenta-se como possível causa para a redução de GLIC. O aumento de FrAm ao fim de 48 horas de transporte pode estar relacionado ao efeito de catecolaminas em resposta a estressores.

## ABSTRACT

CALZADA, R.J.B.B. Serical biochemical parameters of bovine submitted to different periods of transport [Parâmetros bioquímicos séricos de bovinos submetidos a diferentes períodos de transporte]. 2011. 50 p. Research made as part to the Conclusion of the Veterinarian Medicine Course – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Universidade de Brasília, Brasília, DF. Transport of live animals figure as an important key in the animal production chain. Loading, transport and unloading performed improperly can cause stress, which leads impaired welfare, meat quality, health and productivity of animals and thus, culminates in profitability reduction. The evaluation of pre-slaughter management can be accessed by evaluation of serical biochemical parameters used as welfare indicators, witch, in turn, are well documented in the literature. Were used for the considerations of this study, data pertaining to an experiment conducted with 18 nelore cattle, with age between one year and a year and a half and weights between 140 and 380 kg, were divided into three groups of six animals (heavy, intermediate and lighter). The animals were weighed and blood samples were collected from the ventral coccygeal vein. The experiment was conducted in three phases: traditional management and loading, traditional management training and management with flags. In each phase animals were subjected to transport with durations of 24, 48 and 72 hours in the truck trick. This work aims to compare the transport times of 24, 48 and 72 hours. In the laboratory biochemical tests were performed in order to obtain the enzymatic activity of aspartate aminotransferase (AST), creatine kinase (CK) and alkaline phosphatase (ALP), serum concentrations of albumin (ALB), total protein (TP), fructosamine (Frame) and measurement of blood glucose (GLIC). Sought, this study was to evaluate the influence of transportation time in the degree of animal welfare through biochemical physiological indicators. It was done an ANOVA procedure, and were utilized General Linear Model and fixed factors. The differences between means were compared by Tukey test. The average concentration of CK was higher with 72 hours of transport being suggestive of muscle damage and injuries. ALB was higher after 48 hours of transport, possibly being related to dehydration. This is also the reason suggested for the largest value of PT achieved within 72 hours of transportation in comparison to the transport of 24 hours. Depletion of metabolic consequence of prolonged fasting is presented as a possible cause for the reduction of carbohydrates. The increase in Frame to the end of 48 hours of transport may be related with effects of catecholamines in consequence to stressors.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - Esquematização das divisões anatômicas da hipófise.....	22
--	----

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Valores médios de parâmetros bioquímicos séricos utilizados como indicadores de bem estar animal sob diferentes tempos de transporte.....	43
--	----

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABIEC	Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne
ACTH	Hormônio adrenocorticotrópico
AGNE	Ácidos graxos não esterificados
AGVs	Ácidos graxos voláteis
ALB	Albumina
AST	Aspartato aminotransferase
ATP	Adenosina trifosfato
CNT	Confederação Nacional de Transportes
CK	Creatinoquinase
CRH	Hormônio liberador de corticotropina
EDTA	Ácido etileno diamino tetra-acético
FA	Fosfatase alcalina
FrAM	Frutosamina
IN	Instrução Normativa
GLIC	Glicose
GnRH	Hormônio liberador de gonadotrofinas
HHA	Hipotalâmico hipofisário adrenal
LH	Hormônio luteinizante
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MSH	Hormônio melanócito estimulante
ng	nanograma
mL	mililitro
OP	Opióides endógenos
PT	Proteínas séricas totais
WSPA	Sociedade Mundial de Proteção Animal

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>09</b>
<b>2. OBJETIVO GERAL.....</b>	<b>11</b>
2.1. Objetivos específicos.....	11
<b>3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>12</b>
3.1. Transporte - aspectos gerais.....	12
3.2. Legislação concernente ao transporte animal.....	14
3.3. Considerações sobre comportamento da espécie bovina.....	15
3.4. Bioquímica de ruminantes.....	16
3.4.1. Metabolismo intermediário.....	16
3.4.2. Metabolismo no jejum.....	18
3.5. Bem-estar e estresse – conceitos.....	19
3.6. O eixo Hipotalâmico Hipofisário Adrenal.....	20
3.6.1. Hipotálamo.....	21
3.6.2. Hipófise.....	21
3.6.3. Glândula Adrenal.....	22
3.7. Efeitos da ativação do eixo HHA sobre o organismo do animal.....	23
3.8. Indicadores de bem-estar animal.....	25
3.8.1. Elementos da bioquímica sanguínea como indicadores de bem-estar animal.....	26
3.8.1.1. Bioquímica Clínica.....	26
3.8.1.2. Aspartato aminotransferase.....	28
3.8.1.3. Creatinoquinase.....	28
3.8.1.4. Proteínas Totais Séricas.....	29
3.8.1.5. Albumina.....	30
3.8.1.6. Fosfatase Alcalina.....	30
3.8.1.7. Glicose.....	31
3.8.1.8. Frutosamina.....	32
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>34</b>
4.1. Animais.....	34
4.2. Local e Instalações.....	34
4.3. Método de agrupamento e transporte.....	34

<b>4.4. Cronograma.....</b>	<b>35</b>
<b>4.5. Colheita de amostras.....</b>	<b>35</b>
<b>4.6. Processamento das amostras.....</b>	<b>36</b>
<b>4.7. Método de Análise.....</b>	<b>36</b>
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>37</b>
<b>5.1 Creatinoquinase.....</b>	<b>37</b>
<b>5.2. Albumina e Proteínas Totais Séricas.....</b>	<b>39</b>
<b>5.3 Glicose.....</b>	<b>40</b>
<b>5.4 Frutosamina.....</b>	<b>41</b>
<b>6. Tabela.....</b>	<b>43</b>
<b>7. CONCLUSÃO.....</b>	<b>44</b>
<b>8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>45</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O transporte animal, atividade fundamental na cadeia produtiva, (AATA, 2000) é relevante para o país, haja vista a significativa influência da atividade pecuária na economia brasileira (Gonçalves, 2009).

Fatores adversos como redução do bem-estar animal e estresse podem surgir em consequência de embarque, transporte e desembarque em condições desfavoráveis (Broom, 2003; Molento, 2005; Grandin, 2008).

O bem-estar dos animais durante o manejo pré-abate é importante não só pelas razões éticas envolvidas, já que os bovinos são seres sencientes, mas também, porque seu comprometimento pode afetar a saúde, a produtividade e a qualidade dos produtos finais (Molento, 2005; Oliveira, 2008). Estes fatores, por sua vez, interferem na lucratividade do produtor e da indústria ligada à pecuária (Molento, 2005) e, por conseguinte, na economia do país como um todo.

O bem-estar animal pode ser avaliado pela mensuração de indicadores fisiológicos bioquímicos e hematológicos (Knowles e Warriss, 2000; Fazio, 2004), observação do comportamento animal (Gallo, 2000; Paranhos da Costa & Costa e Silva, 2007; Oliveira, 2008), presença de contusões, hematomas e avaliação do aspecto da carne e qualidade da mesma (Roça, 2001; Manteca, 2008; Nascimento et al. 2008; Oliveira, 2008).

O transporte pode comprometer o equilíbrio fisiológico dos animais por meio de três vertentes: pela alteração no eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal a partir da percepção de estímulos estressantes ligados ao manejo e à viagem, com consequente liberação de adrenalina e a seguir cortisol; pelo jejum e desidratação aos quais os animais transportados por longas distâncias e sem período de descanso são forçosamente submetidos e, por brigas entre animais de lotes diferentes, choques e freadas bruscas durante o trajeto.

A fim de se evitar o estresse e diminuição do bem-estar animal, o transporte deve ser efetuado sem demora para o local de destino e as condições de bem-estar dos animais devem ser verificadas regularmente e mantidas de forma adequada (Broom, 2003). Isto envolve manejo operacional, alimentação, fornecimento de água e descanso apropriados. Densidade de carga e temperatura (ventilação e microclima dentro do caminhão) também são itens de alta relevância (Gallo, 2005; Grandin, 2008).

Garantir manejo humanitário traz benefícios a todos os elos da cadeia produtiva: aos consumidores, cada vez mais conscientes e participativos na exigência pela qualidade e procedência do produto adquirido (Rastreabilidade); aos produtores, que podem assim otimizar seus lucros; aos tratadores, os quais passam a desfrutar de maior bem-estar durante o trabalho e aos próprios animais, pela diminuição de submissão a estímulos estressantes desnecessários.

O presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito do tempo de transporte (24, 48 e 72 horas) sobre os indicadores fisiológicos bioquímicos de bem-estar.

## **2. OBJETIVO GERAL**

Avaliar o efeito do estresse produzido durante os períodos de transporte prolongados sobre parâmetros bioquímicos de bovinos de corte.

### **2.1. Objetivos Específicos**

Avaliar a relação dos valores bioquímicos séricos antes e depois do transporte.

Relacionar valores da bioquímica sérica depois de 24, 48 e 72 horas de transporte.

Determinar se os valores bioquímicos encontrados após o transporte servem como indicadores do bem-estar animal dos animais.

Determinar se mudanças nos valores bioquímicos após 48 e 72 horas incidem sobre fatores relacionados à qualidade da carne.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1. Transporte - aspectos gerais

O transporte de carga viva é uma etapa importante na cadeia da produção animal (AATA, 2000), sendo fundamental na atividade agropecuária de um país (Roça, 2001).

O Brasil, o maior exportador mundial de carne bovina (ABIEC, 2011) depende principalmente do transporte rodoviário para as atividades ligadas à produção pecuária (Roça, 2001; Ciocca et al., 2006; Aguillar, 2008). Para exemplificar, cerca de 45,5 milhões de bovinos são transportados e abatidos no Brasil por ano (Gallo e Tadich, 2008).

O país possui uma rede de rodovias com mais de 1,6 milhões de quilômetros (CNT, 2006 *apud* Ciocca et al., 2006) englobando estradas federais, estaduais e municipais. Ciocca et al. (2006) citaram que apenas 10% das rodovias federais são pavimentadas, sendo que dessas, somente 17% encontram-se em boas condições e apenas 11% em ótimas condições.

O transporte de bovinos no Brasil costuma ser realizado em caminhões “boiadeiro”, os quais podem possuir eixo simples ou duplo na carroceria. Os primeiros são denominados caminhões “toco” ou semi-pesados e os segundos recebem o nome de caminhão “truque” ou pesado (Coelho, 2010). Caminhões “truque” são maiores e têm capacidade de carga para 20 animais (Roça, 2001). Esses veículos são compostos por carrocerias divididas em três compartimentos, o anterior e o final com medidas de 2,65 x 2,40m e o intermediário com 5,30 x 2,40m, sendo possível acomodar dez animais na divisão intermediária e cinco em cada uma das demais (Roça, 2001). Gallo et al. (2000) afirmaram que na ausência dessas subdivisões a possibilidade de golpes e quedas de animais é maior, sobretudo quando o veículo é submetido à freadas bruscas, mudanças abruptas de velocidade e curvas acentuadas, o que é sentido principalmente pelos animais mantidos no compartimento posterior da carroceria (Roça, 2001). Por esse motivo eles tendem a sofrer mais as conseqüências de um transporte inadequado e indiferente à condição de bem-estar animal.

Tadich e Gallo (2008) afirmaram que os caminhões utilizados no Brasil e outros países da América do Sul podem ser articulados ou não-articulados, possuem carroceria

de madeira ou metal e não apresentam teto nem estruturas que permitam fornecer alimento e água durante a viagem.

O transporte também pode ser realizado em caminhão de dois andares, desde que haja espaço suficiente no andar inferior para que os animais se mantenham em pé (Broom, 2003) e para que o ar circule, garantindo assim a ventilação, e, conseqüentemente, um microclima adequado (ATTA, 2000; Roça, 2001).

Nos países da América do Sul o transporte de longas distâncias ocorre com frequência, sendo que a existência de estradas precárias, as grandes extensões dos territórios e presença de intermediários no comércio de gado nesses países são apontadas como as principais causas para isso. O clima, com período de chuvas intensas e sazonais, e a condição das estradas contribui para a ocorrência de acidentes, elevando o tempo de permanência do gado nas estradas. Pela condição precária da maioria das estradas, em muitos casos, os animais podem permanecer por 60 horas ou mais em jornadas de transporte, sob privação de água, alimento e ausência de sombreamento que os proteja do Sol e proporcione um maior conforto térmico (ATTA, 2000; Tadich e Gallo, 2008).

Tadich e Gallo (2008), citando Paranhos da Costa et al. (2006), afirmaram que os animais, no Brasil, são submetidos a jornadas que variam desde 20 até 2560 km e que desembarque para descanso durante as viagens longas não é algo freqüente.

Grandin (2008) mostrou que não são as distâncias em si que importam, mas o tempo de transporte a que o animal é submetido. A distância é uma questão relativa, pois varia, por exemplo, com a condição e fluxo nas estradas.

Atualmente muitos trabalhos buscam associar eventos que comprometem o bem-estar animal com a ocorrência de alterações na consistência e qualidade da carne e queda de produtividade (Roça, 2001; Hötzel, 2004; Molento, 2005; Oliveira, 2008).

O modo como são realizados o embarque, transporte e desembarque, pode influenciar, sobremaneira, o nível de bem-estar dos animais (Broom, 2003). Tarrant et al. (1992), citados por Roça (2001) afirmaram que manejos de embarque e desembarque bem conduzidos não produzem reações significativas de estresse. Por operações bem conduzidas subentende-se manejo humanitário ou racional, no qual o tratador consegue passar as ordens, a contento, ao animal, fazendo-se entender por este, sem necessidade de força física e gritos. Isso é possível a partir do momento em que o mesmo compreenda aspectos do comportamento da espécie bovina, permitindo-o utilizar esses conhecimentos a seu favor durante o manejo com o gado (Paranhos da Costa et al.,

2008). Deste modo, o bem-estar, tanto do animal quanto do tratador, é melhorado (Broom, 2003) e o trabalho deste flui sem maiores empecilhos (Paranhos da Costa & Costa e Silva, 2007; Paranhos da Costa et al., 2008).

Soma-se a isso a questão ética envolvida em bem-estar animal. Animais são seres sencientes, ou seja, possuem capacidade de sentir (Molento, 2005). A partir do momento que a população desperta a consciência para isso passa a não mais aceitar obter alimentos com baixos preços às custas, em parte, de sofrimento animal (Molento, 2005; Oliveira, 2008). O sentimento de empatia (capacidade de colocar-se no lugar do outro, sentir pelo outro) é a motriz para esse pensamento (Molento, 2005). Como afirmou Roça (2001), é dever moral do homem respeitar todos os animais e evitar sofrimentos inúteis àqueles destinados ao abate.

### **3.2. Legislação concernente ao transporte animal**

A exigência da sociedade quanto à rastreabilidade e bem-estar na produção animal tem se refletido na forma de legislação específica quanto ao tema (Amaro, 2007). Na Europa isso já é uma realidade e acredita-se que em breve as pressões comerciais da população desse continente levem à adoção de manejo que garanta bem-estar aos animais de produção em todo o mundo (Molento, 2005; Oliveira, 2008). O Brasil, pela sua relevância na atividade pecuária, será altamente influenciado por essas exigências e a adoção de manejo que garanta bem-estar será um requisito para que ele se mantenha nessa posição de destaque (Molento, 2005).

A valorização e garantia do bem-estar para animais de produção é um diferencial, mesmo no competitivo mercado de produtos de origem animal, de modo que uma parcela crescente da população apresenta-se disposta a obter esses produtos diferenciados, mesmo que se pague um pouco mais por isso (Molento, 2005; Oliveira, 2008).

Atualmente as normas que regem o transporte de animais no Brasil estão reunidas na IN MAPA nº 13/2010 (Brasil, 2010), relacionada à exportação de gado vivo, e se atém apenas a diretrizes gerais sobre a condição do veículo terrestre e navio e sobre a forma de tratamento dos animais transportados.

Seria interessante a elaboração de um manual de boas práticas durante embarque, transporte e desembarque que pudesse ser utilizado como diretriz para os

transportadores, bem como a criação de regulamentação específica quanto a aspectos técnicos ligados ao transporte, o qual contivesse, por exemplo, a determinação da densidade máxima permitida, o período mínimo de descanso e período máximo de transporte toleráveis e aspectos do comportamento animal de forma específica para cada espécie trabalhada. Isso poderá se tornar realidade em breve, pois foi aprovada, dia 22 de junho deste ano, a portaria nº 524, de 21 de junho de 2011, a qual prevê a insituição da Comissão Técnica Permanente de Bem-estar Animal (CTBEA), com objetivo de coordenar ações em bem-estar dos animais de produção e de interesse econômico nos diversos elos da cadeia pecuária (Brasil, 2011). Estará no âmbito dessa Comissão a proposição de normas e recomendações técnicas de boas práticas de bem-estar animal; promoção de eventos relacionados ao bem-estar animal; articulação com entidades representativas do setor pecuário e de pesquisa; celebração de acordos, convênios e termos de compromisso com entidades públicas e privadas para o desenvolvimento de ações ligadas ao tema; fomento à capacitação dos atores envolvidos nas cadeias pecuárias e ainda, publicação e divulgação de material técnico e informativo.

Em 2009 o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA e a Sociedade Mundial de Proteção Animal - WSPA firmaram um acordo para a criação de um programa de treinamento de fiscais agropecuários, o STEPS, no tocante a questões relacionadas ao abate humanitário. Profissionais do Paraná, São Paulo, Brasília e Belo Horizonte já receberam o treinamento, que deve continuar sendo efetuado progressivamente nos demais estados da União.

### **3.3. Considerações sobre comportamento da espécie bovina**

Bovinos são animais gregários e quando isolados tendem a demonstrar estresse (AATA, 2000; Paranhos da Costa & Costa e Silva, 2007). Essa espécie apresenta formas de interações sociais que podem ser aproveitadas no momento do manejo com a mesma. Entre elas cita-se a hierarquia e dominância e a formação de liderança. A detecção do líder e a execução dos comandos para esse animal, antes dos demais, pode facilitar o manejo, uma vez que os outros do rebanho seguem o padrão de comportamentos do líder, geralmente seguindo-o (Paranhos da Costa & Costa e Silva, 2007).

Outras características dessa espécie são a curiosidade e o medo. Como são animais que temem instintivamente o ambiente estranho, podem apresentar algumas alterações de comportamento quando submetidos a atividades ligadas ao transporte (Paranhos da Costa & Costa e Silva, 2007). Bovinos também são mais sensíveis a barulhos que humanos e tem capacidade de detectar sons em uma faixa de 7000 a 8000 Hz. Barulhos excessivos no momento do embarque, como gritos, latidos, apitos, entre outros, atuam como estímulo estressor (Minka e Ayo, 2010).

### **3.4. Bioquímica de ruminantes**

#### **3.4.1. Metabolismo intermediário de carboidratos**

Metabolismo intermediário se refere ao mecanismo através do qual a energia é obtida, retida e liberada para a maquinaria funcional ativa em células individuais (Beitz, 1996). Grande parte dessa energia é adquirida a partir de carboidratos dietéticos e é a força motriz para o desempenho do trabalho metabólico, crescimento, reparo, secreção, absorção, excreção e trabalho mecânico (Beitz, 1996).

Os carboidratos dietéticos são disponibilizados, em sua grande maioria, na forma de polissacarídeos (amido, glicogênio, celulose, hemicelulose e pentosanos) (Beitz, 1996; Kozloski, 2008). Também podem estar na forma de dissacarídeos ou monossacarídeos, porém os últimos não são fontes dietéticas significativas de energia.

O metabolismo dos carboidratos corresponde a todas as reações sofridas por esses compostos, tanto os fornecidos pela dieta quanto os cedidos pelo organismo a partir de fontes não-carboidratos (Beitz, 1996).

O estado alimentado, também denominado estado absorptivo, consiste no período em que, após a ingestão de alimento, existe uma entrada significativa de nutrientes na circulação proveniente do trato gastrointestinal. Essa condição é mais demorada em ruminantes. Enquanto nos monogástricos o estado absorptivo equivale a aproximadamente 4 horas após a ingestão do alimento, nos ruminantes com dieta a base de forragem essa fase pode durar em torno de oito horas (Kozloski, 2008).

No caso de animais herbívoros, cuja principal fonte de carboidratos digestíveis consiste de celulose, hemicelulose e pentosanos, estes são convertidos, à medida em que são digeridos, em ácidos graxos voláteis ou de cadeia curta (AGVs) por fermentação

microbiana no rúmen (Beitz, 1996). Kozloski (2008) afirmou que predominam, nesse órgão, cerca de 20 espécies bacterianas (embora um número bem maior de espécies já tenha sido isolado), em concentração aproximada de  $10^{10}$  células/mL; além de  $10^6$  células/mL de protozoários e  $10^4$  de zoósporos/ mL (fungos estritamente anaeróbicos). Os AGVs produzidos predominantemente são acetato, propionato e butirato, sendo os dois primeiros os mais abundantes (Beitz, 1996). Kozloski (2008) afirmou que propionato é o principal gerador de energia, atuando como um precursor de glicose. A quantidade dos AGVs, segundo Beitz (1996), varia de acordo com o tempo após a alimentação, com a dieta, o pH e a composição microbiana do conteúdo ruminal, cecal ou intestinal.

Como os ruminantes obtêm a maior parte de sua energia a partir de AGV, a glicose e outros monossacarídeos desempenham apenas um papel secundário no metabolismo energético desses animais (Beitz, 1996). Alguns tecidos, no entanto, dependem exclusivamente de glicose para execução de suas funções, como por exemplo, cérebro e tecido gastrintestinal (Kozloski, 2008).

A glicose ao entrar na célula pode ter vários destinos, e, o que determina isto é o tipo da célula em questão e estado energético da mesma. Primeiramente a glicose é catabolizada, por glicólise, a piruvato (quando na presença de oxigênio) ou lactato (quando na ausência de oxigênio) (Beitz, 1996). Células que utilizam oxigênio oxidam piruvato, o que dá origem a acetil-CoA e  $\text{CO}_2$ . A acetil-CoA então, na mitocôndria, entra no ciclo do ácido cítrico para sofrer oxidação completa em  $\text{CO}_2$ . Ao longo desse processo há liberação de elétrons ricos em energia que participarão da fosforilação oxidativa, ocorrendo por fim, formação de ATP e água (Alberts, 2004).

Quando em balanço energético positivo, a glicose dá origem a glicogênio, a forma polimerizada de glicose-1-fosfato, que está presente no citosol das células hepáticas e musculares e que atua como uma forma de armazenamento de energia nas células (Beitz, 1996). O glicogênio é observado a uma concentração menor que 3% no fígado seco de ruminantes e a 0,5% na musculatura esquelética (Kozloski, 2008). Por esse motivo, Kozloski (2008) afirmou que a obtenção de glicose a partir de mobilização de glicogênio, para o fornecimento de energia e manutenção da glicemia, não é tão representativa como o é para monogástricos, exceto em situações de estresse ou aumento da demanda muscular. Beitz (1996) afirmou que o glicogênio muscular atua como uma fonte facilmente viável para oxidação e síntese de ATP no próprio músculo.

Esse polímero está submetido à regulação endócrina (Rastogi, 2007; Kosloski, 2008) sendo que adrenalina e glucagon possuem atividade glicogenolítica. Insulina, por sua vez, favorece o acúmulo de glicogênio hepático. Insulina, inclusive, é necessária para a captação de glicose do sangue pela musculatura esquelética, diferentemente da captação pelo fígado, não-dependente de insulina (Beitz, 1996; Kozloski, 2008). Beitz (1996) afirmou que apesar dos glicocorticóides apresentarem antagonismo à ação da insulina, levando à glicogenólise muscular, a ação de ambos sobre o fígado, em relação à mobilização de glicogênio é semelhante: eles induzem o aumento no depósito de glicogênio. Essa ação sobre o glicogênio hepático consiste em uma tentativa de proteção contra privação alimentar de longo período.

### **3.4.2. Metabolismo no jejum**

O metabolismo de jejum, ou metabolismo do estado pós-absortivo, é observado quando o animal é privado do fornecimento de fontes externas de energia metabólica e se inicia após determinado período seguinte à última refeição. Geralmente bovinos permanecem no estado alimentado por períodos próximos a oito horas (Kozloski, 2008).

Esse tipo de metabolismo tem como característica o desvio orientado para a mobilização de reservas e substratos previamente incorporados aos tecidos periféricos com intuito de obtenção de energia. Esses substratos podem ser utilizados como alternativa ao piruvato para a obtenção de glicose pela gliconeogênese ou podem ser utilizados como substitutos aos AGVs para fornecimento de energia (Kozloski, 2008).

O hormônio predominante nesse estado de metabolismo é o glucagon, produzido pelas células  $\alpha$  pancreáticas e relacionado ao catabolismo (Beitz, 1996). O que se observa é uma alteração na razão insulina/glucagon: com redução da primeira e aumento na concentração do segundo até o ponto em que essa proporção fica próxima de 1:1. No estado absortivo normalmente a insulina chega a atingir concentrações até oito vezes mais altas que as de glucagon. Essa redução na insulinemia no estado pós-absortivo diminui os efeitos inibitórios desse hormônio sobre o glucagon no fígado, e sobre a adrenalina, no tecido adiposo. No estado pós-absortivo, então, tanto glucagon quanto adrenalina estimulam a lipólise e a liberação de ácidos graxos não esterificados (AGNE), que apresentam, assim, concentração elevada na circulação, durante o jejum (Kozloski, 2008). Ácidos graxos também são captados nas mitocôndrias dos hepatócitos e oxidados para obtenção de energia. Muitas vezes a quantidade mobilizada, em

resposta à gliconeogênese induzida por estes hormônios, supera a demanda celular levando a um acúmulo de acetil-coA no ciclo de Krebs, com conversão deste composto a corpos cetônicos. Segundo Kozloski (2008) o principal corpo cetônico formado por ruminantes em jejum é o acetoacetato. Já nos ruminantes alimentados e em monogástricos predomina a formação de  $\beta$ -OH-butilato.

Ocorre também, no estado pós-absortivo, redução na síntese protéica e aumento no número de aminoácidos livres (Kosloski, 2008).

### **3.5. Bem-estar animal e estresse – conceitos**

O bem-estar animal, na concepção de Broom (1986), é definido como “o estado do indivíduo em relação às tentativas em lidar e se adaptar ao seu ambiente”. Quando o animal recebe uma ameaça às suas condições normais e enfrenta dificuldades para se adaptar ao meio, o bem-estar é, portanto, comprometido (Knowles e Warriss, 2000; Fazio, 2005). Nesses casos, o organismo do animal irá lançar mão de algumas ferramentas fisiológicas e comportamentais, na tentativa de contornar a situação (retornar a homeostase) (Manteca, 2008) e se adaptar ao ambiente inóspito. Isto é caracterizado como estresse (Knowles e Warris, 2000) e este culmina em um estado de alerta que, quando prolongado pode conduzir à exaustão e desgaste físico (Cruz e Souza, 2005 *apud* Oliveira, 2008; Manteca, 2008). Como afirmou Beitz (1996), a ruptura da manutenção do ajuste perfeito que mantém a homeostase resulta em metabolismo anormal e freqüentemente em estados patológicos.

Os estímulos desencadeantes de estresse podem ser tanto físicos quanto psicológicos (Manteca, 2008) e são conhecidos como estressores (Morberg, 2000; WSPA, 2009).

Moberg (2000) postulou que o estresse pode ser dividido em três estágios. A primeira fase corresponde à percepção do estressor; a segunda fase consiste na defesa biológica contra o estressor; e por fim, a terceira fase abrange as conseqüências da reposta de estresse. A segunda fase é composta de quatro repostas que podem estar inter-relacionadas: resposta comportamental, resposta do sistema nervoso autônomo, resposta neuroendócrina e resposta imunitária.

Quando animais são submetidos a grande quantidade de estressores e durante longos períodos de tempo, há maior propensão à ocorrência de distresse, que consiste na

condição em que as respostas ligadas ao estresse falham, não sendo suficientes para adaptar o animal às mudanças adversas ocorridas em seu ambiente. Quando isso ocorre o animal sucumbe, entrando em um estado de exaustão e pode, inclusive, vir a óbito (Moberg, 2000; WSPA, 2009).

### **3.6. O eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal**

A reação de estresse está intimamente ligada ao eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal (resposta neuroendócrina) (Dukes, 1996; Knowles e Warriss, 2000). O estímulo estressor desencadeia a liberação de CRH (hormônio liberador de corticotropina) pelo hipotálamo. Este, por sua vez, estimula a hipófise anterior a produzir ACTH (hormônio adrenocorticotrópico), o qual, em sua via, induzirá a produção de catecolaminas (epinefrina e norepinefrina) pela região medular da adrenal e, em seguida, a produção de glicocorticóides (cortisol, em se tratando de bovinos) pelo córtex adrenal (Dukes, 1996). Com o estímulo da hipófise e adrenal ocorre ainda aumento dos níveis de glicose e ácidos graxos livres no plasma (Dukes, 1996; Thrall, 2006).

Em bovinos, a concentração plasmática média de cortisol oscila entre 2 e 12 ng/mL (Silanikove, 2000). O cortisol aumenta em cerca de 20 minutos diante da exposição do animal a um estresse agudo, e alcança um platô dentro de duas horas (Silanikove, 2000).

Em situações agudas o eixo libera adrenalina e noradrenalina, catecolaminas que desencadeiam reações adrenérgicas imediatas, verificadas em situações emergenciais (“fuga ou luta”), causando mudanças em quase todo o sistema endócrino. Seus efeitos são bastante drásticos, por isso os níveis séricos precisam diminuir rapidamente (meia vida entre 1 e 3 minutos) (Fazio, 2005).

Segundo Broom (2003), o cortisol sofre aumento na fase inicial do transporte restabelecendo-se parcialmente (Fazio, 2005) em seguida.

Fazio (2005) afirmou que os níveis de cortisol, aumentados em consequência a estímulos estressores ligados ao transporte, apresentam uma redução após 15 dias, e acredita-se que esta queda possa ser um efeito do feedback negativo no eixo hipotálamo-hipófise-adrenocortical. Broom (2003) vai de encontro a esta proposta ao ter afirmado que os níveis de cortisol se normalizam em até 24 horas.

Outros compostos, liberados em resposta a estímulos estressantes (dor física e baixa condição corporal, por exemplo), são os opióides endógenos (OP). As substâncias conhecidas até agora são as endorfinas e as encefalinas, polipeptídeos derivados da  $\beta$ -lipotrofina, a qual se origina a partir da hidrólise de uma molécula precursora, a proopiocortina, na *pars distalis*.

Já foi demonstrado que os opióides endógenos parecem suprimir a secreção do hormônio hipotalâmico liberador de gonadotropinas (GnRH), o qual modula a liberação do hormônio luteinizante (LH), e dessa forma interferem no controle da ovulação e da espermatogênese (Dickson, 1996), interferindo portanto, diretamente sobre a função reprodutiva.

### **3.6.1. Hipotálamo**

Hipotálamo e hipófise, ápices do eixo HHA, estão intimamente relacionados tanto morfológica quanto funcionalmente. Tanto o tecido hipotalâmico quanto o neuro-hipofisário são compostos de tecido conjuntivo, axônios não-medulados e neuróglio. Entre a eminência média e a neuro-hipófise os axônios estão dispostos de forma relativamente paralela entre si e muitos deles passam através do talo neural para terminar na neuro-hipófise. A maioria desses axônios tem origem em dois núcleos presentes no hipotálamo: o supra-ótico e o paraventricular (Dickson, 1996).

O hipotálamo está localizado no diencéfalo, se situa ventralmente ao tálamo e forma o assoalho do 3º ventrículo (Morberg, 2000). É composto por quiasma óptico, *tuber cinereum*, corpos mamilares, eminência média, infundíbulo e a neuro-hipófise. Estas últimas também são descritas como fazendo parte da hipófise, o que se justifica pelo fato de ambas serem projeções ventrais do tecido do próprio hipotálamo. Já a adeno-hipófise, por sua vez, tem como origem embrionária a evaginação do teto da cavidade bucal do embrião, denominada bolsa de Rathke (Dickson, 1996).

O hipotálamo, por intermédio da hipófise, regula muitas das glândulas endócrinas periféricas importantes (Dickson, 1996; Fazio, 2005) e é o centro de um grande número de vias controladoras de complexos neurais vegetativos (Rastogi, 2007).

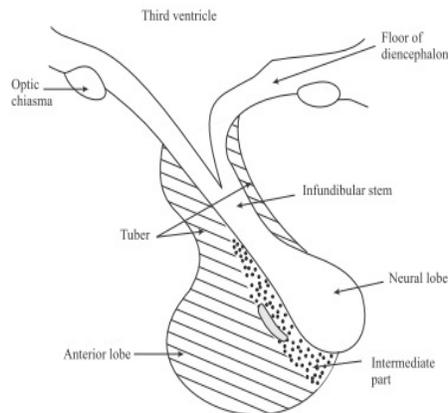
### 3.6.2. Hipófise

A hipófise, glândula situada na base do cérebro e adjacente ao hipotálamo (Rastogi, 2007), é responsável pelo controle de várias glândulas através de seus hormônios (Dickson, 1996; Rastogi, 2007).

Ela é dividida em: neuro-hipófise e adeno-hipófise. Esta, por sua vez é formada por três partes: *pars intermedia*, *pars tuberalis* e *pars distalis* e se situa anteriormente à neuro-hipófise (Dickson, 1996).

São observados cinco tipos de células secretoras na adeno-hipófise: somatotrópicas, corticotrópicas, mamotrópicas, tireotrópicas e gonadotrópicas (Dickson, 1996). As primeiras secretam o hormônio do crescimento (GH), as corticotrópicas liberam o hormônio adrenocorticotrópico (ACTH) e  $\beta$ -lipotropina, as mamotrópicas secretam prolactina, as tireotrópicas liberam hormônio estimulante da tireóide (TSH) e as gonadotrópicas secretam hormônio folículo-estimulante (FSH) e hormônio luteinizante (LH). Cada qual exerce uma função específica sobre outras glândulas no organismo, como adrenais, tireóide e gônadas, por exemplo.

A neuro-hipófise armazena os hormônios ocitocina, arginina-vasopressina, lisina-vasopressina e arginina-vasotocina, hormônios não peptídicos (Dickson, 1996) sintetizados pelo hipotálamo (Rastogi, 2007). Ocitocina relaciona-se a estímulo para ejeção de leite e para contração uterina de fêmeas no momento do parto. A vasopressina, também denominado hormônio anti-diurético (ADH), por sua vez, está relacionada à regulação da diurese e da concentração do filtrado urinário.



**Figura 1: Esquematização das divisões anatômicas da hipófise.** (Fonte: Rastogi, S.C. Essentials of Animal Physiology. 4<sup>o</sup> Edition. New Delhi, 2007. 597 p.)

### **3.6.3. Glândula adrenal**

As adrenais correspondem a órgãos elipsoidais pequenos e simétricos (Dickson, 1996). São divididas em uma porção cortical e uma medular. Hormônios produzidos nesse órgão estão relacionados às tentativas de adaptação do animal a estímulos estressores em ambientes adversos (Odore, 2003; Fazio, 2005).

A região medular é responsável pela produção das catecolaminas, relacionadas à resposta de “fuga ou luta” e a região cortical é responsável pela produção dos glicocorticóides e mineralocorticóides (Dickson, 1996; Fazio, 2005).

### **3.7. Efeitos da ativação do eixo HHA sobre o organismo do animal**

As substâncias liberadas em consequência da ativação do eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal desencadeiam uma série de alterações no organismo do animal na tentativa de protegê-lo das adversidades do ambiente (Fazio, 2004; Molento, 2005). As respostas fisiológicas iniciais ao estresse são traduzidas através da hipertermia (Ferreira, 2006), aumento da frequência respiratória (Ferreira, 2006) e cardíaca (Broom, 2003; Fazio, 2005) e hiperglicemia e estão ligadas às catecolaminas, principalmente epinefrina e norepinefrina.

A epinefrina promove a dilatação de vasos situados nos músculos esqueléticos e, ao contrário, vasoconstrição na pele, fígado e mesentério para propiciar desvio de sangue para os órgãos requeridos para a “fuga ou luta”. Ela induz também contração esplênica com o intuito de obter aumento nas concentrações periféricas de eritrócitos e aumento no suprimento de oxigênio aos tecidos. Os efeitos metabólicos observados por influência das catecolaminas são hiperglicemia, como resultado do aumento da glicogenólise hepática e por inibição da insulina, aumento de lactato no sangue (efeito da glicogenólise muscular aumentada), aumento do teor de potássio sérico e lipólise (Dickson, 1996; Hartung, 2003).

Os glicocorticóides, por sua vez, apresentam como efeito primário sobre o metabolismo dos carboidratos o estímulo à gliconeogênese e antagonismo periférico aos efeitos da insulina (levando à hiperglicemia). O cortisol exerce efeito permissivo para que o glucagon e a adrenalina executem suas ações gliconeogênicas e glicogenolíticas, respectivamente, sobre o organismo (Thrall, 2006), mas influencia também a formação de glicogênio hepático.

Pode ocorrer ainda o aumento no número de neutrófilos e diminuição de linfócitos, eosinófilos e monócitos (Odore, 2003) por uma atrofia do tecido induzida por glicocorticóides (Dickson, 1996; Moberg, 2000). Isso leva a uma supressão do sistema imunitário cuja duração ainda não é claramente conhecida (Warriss, 2004) e o animal se torna mais vulnerável a doenças como, por exemplo, herpes bovino tipo I (Hartung, 2003). As rotas mais comuns de contaminação envolvidas neste contexto são contágio pelas fezes ou por aerossóis respiratórios (Hartung, 2003; María, 2008). A própria mistura de lotes diferentes de animais também é um fator predisponente à disseminação de doenças durante o transporte (María, 2008). Como os animais passam longos períodos confinados dentro do veículo durante o transporte, sem ventilação adequada nem limpeza do mesmo, ficam em constante contato com aerossóis e excretas, estando propensos à disseminação de doenças caso haja algum animal contaminado em um dos lotes (María, 2008).

Segundo Gallo (2005), o estresse causa a depleção das reservas de glicogênio muscular reduzindo a formação de ácido láctico pós-mortem, fazendo assim com que o pH, após a morte do animal permaneça alto (maior ou igual a 5,8) ao invés de cair, o que, por sua vez, interfere no processo de conversão de músculo à carne.

Em animais submetidos a poucos estressores durante embarque e transporte, há glicogênio suficiente para ser convertido, progressivamente, em ácido láctico nas 24 horas seguintes ao abate. Já nos casos de animais submetidos a muitos estressores e por longos períodos, todo glicogênio é consumido (Souza e Ferreira, 2006; Hernández, et al. 2010). Essa depleção é decorrente da demanda energética das respostas ligadas ao estresse, o que é conhecido como “custo biológico do estresse” (Morberg, 2000), somado ao fato de o animal estar sob privação de alimento durante longos períodos de transporte (WSPA, 2009). Dessa forma ele não tem como obter uma fonte de energia que não a de sua própria reserva, o que acarreta em consumo do glicogênio.

A insuficiente formação de ácido láctico e, conseqüentemente, a não acidificação da carne resulta em um produto escuro, firme, duro e seco: a carne DFD, do inglês dark, firm and dry. Essa alteração é consequência da submissão dos animais a estresse crônico (WSPA, 2009), comumente observada na carne bovina. (Souza e Ferreira, 2006).

A ocorrência de carne DFD prejudica não só características organolépticas e físicas da carne, mas também, sua durabilidade. Como o pH está mais alcalino, há maior propensão a crescimento bacteriano reduzindo assim, também, o tempo de prateleira do produto. (Manteca, 2008; WSPA, 2009).

Outra alteração que pode ser observada na carne em decorrência de estresse é a condição PSE (pale, soft and exsudative), na qual a carne se apresenta pálida, mole e exsudativa. Essa condição, porém, é relacionada a estresse agudo e é mais observada em aves e suínos. Nesse caso o pH, ao contrário da condição DFD, decai de forma brusca e excessiva, aos 45 minutos pós-abate (Souza e Ferreira, 2006).

Fazio (2005) afirmou que deve-se ter em consideração a distância do transporte, idade, raça, fatores genéticos, experiência anterior, sexo, peso e temperamento do animal para avaliar o grau de influência que as respostas ligadas ao estresse exercem sobre o mesmo.

Segundo Oliveira (2008), a experiência prévia habitua o animal e assim diminui o medo e estresse deste quando manejado ou transportado, o que pode reduzir a sua suscetibilidade a estressores. No entanto, bovinos de corte no Brasil são mantidos principalmente em regime de criação extensiva, e dessa forma, tem pouco contato com humanos, de forma que se apresentam mais temerosos e ansiosos durante as etapas do manejo pré-abate (Grandin, 2008).

### **3.8. Indicadores de bem-estar animal**

Alterações em decorrência do transporte podem ser detectadas por meio da mensuração de mudanças fisiológicas (Odore, 2003; Fazio, 2005) e por alguns valores hematológicos e bioquímicos (Fazio, 2004). A observação do comportamento animal (Broom, 2003; Fazio, 2005; Molento, 2005) e a avaliação da qualidade da carne (observação de pH, aspecto e presença de contusões) também podem indicar problemas relacionados ao bem-estar (Oliveira, 2008) e representam assim, formas de avaliação da qualidade do transporte (Ciocca et. al, 2006).

Gallo (2006) citando Moberg (1996) afirmou que alterações fisiológicas associadas ao estresse estão relacionadas a alterações nas concentrações sanguíneas de cortisol, volume globular (VG), glicose, ácidos graxos voláteis ( $\beta$ -hidroxibutirato) e também indicadores enzimáticos como a creatinoquinase. Para Gallo (2006) essas variáveis são utilizadas como indicadores de estresse, especialmente quando se comparam valores prévios e posteriores a um determinado manejo que se acredita induzir estresse, sempre que as comparações forem feitas entre animais de características gerais semelhantes (idade, raça e sistema de criação). Broom (2000),

Knowles & Warriss (2000) e Adenkola e Ayo (2009) também citaram a mensuração da glicose, uréia e osmolaridade do sangue como indicadores fisiológicos de bem-estar animal.

Deve-se ter cuidado, no entanto, para que a colheita da amostra cause o mínimo estresse possível no animal para não haver interferência nos resultados (Molst, 2000).

Mounaix (2010) citando Grandin (1997) afirmou que certas vezes os resultados publicados podem ser contraditórios ou difíceis de serem interpretados devido à alta variabilidade entre indivíduos e devido à influência genética.

Fazio (2005) afirmou que operações de embarque, transporte e desembarque, quando conduzidas de forma inadequada tornam-se os eventos nos quais se observa a maior intensidade de alterações fisiológicas e comportamentais decorrentes de estresse.

Em transportes de longa duração, os animais são expostos a eventos estressantes repetitivamente durante um longo período de tempo (Odore, 2003) e a ativação de diferentes vias hormonais pode causar mudanças bioquímicas em tecidos-alvo.

Roça (2001) afirma que o transporte por tempo superior a 15 horas (sem intervalo) é inaceitável do ponto de vista do bem-estar animal. Trabalhos recentes realizados nos Estados Unidos, com diferentes períodos de transporte, apontam uma duração limite tolerável de 29 horas (Grandin, 2008).

### **3.8.1 Elementos da bioquímica sanguínea como indicadores de bem-estar animal**

As amostras mais utilizadas em bioquímica clínica são o plasma e o soro (Thrall, 2006). O plasma corresponde à fração líquida do sangue não coagulado e é obtido a partir de sangue na presença de anticoagulantes, como por exemplo, citrato de sódio e EDTA. Já o soro é obtido a partir de amostras de sangue colhidas sem anticoagulante, o que permite a formação de coágulo a partir da conversão total de fibrinogênio em fibrina. A fração do sangue remanescente é o que constitui o soro, o qual não contém fibrinogênio, mas sim albumina, globulinas e enzimas (Thrall, 2006).

Esse material é necessário para a avaliação dos parâmetros bioquímicos séricos referidos na literatura como indicadores de bem-estar animal, como por exemplo, creatinoquinase, glicose, albumina e proteínas totais (Broom, 2000; Knowles e Warriss, 2000). Estes parâmetros podem fornecer indicativos da condição do animal frente a determinado tipo de manejo, quantidade de estressores, períodos de transporte, entre outros.

### **3.8.1.1. Bioquímica clínica**

A bioquímica clínica permite análise da condição fisiológica do animal por meio da avaliação da atividade de enzimas específicas a determinados órgãos e concentração de metabólitos presentes no plasma e/ou soro (Thrall, 2006; Scheffer, 2010).

A enzimologia clínica estuda e testa a atividade enzimática no soro, plasma, urina e outros fluidos corporais com a finalidade de auxiliar o estabelecimento do diagnóstico e prognóstico de doenças além de detectar alterações nas funções dos órgãos (Kaneko, 2008).

Como enzimas catalisam reações bioquímicas convertendo substratos em produtos, o que é medido é a sua atividade e não sua concentração em si. Isso pode ser feito através de testes conhecidos como testes de ponto final ou por testes cinéticos e para a determinação dessa atividade são utilizados aparelhos de espectrofotometria (Thrall, 2006).

Segundo Kaneko (2008) a detecção de enzimas no soro pela sua atividade catalítica para a revelação de danos a tecidos é uma premissa fundamental nas análises clínicas laboratoriais.

Thrall (2006) afirma que diferentes órgãos, tecidos ou células possuem diferentes enzimas, sendo que em alguns casos a especificidade é mais alta, isto é, quando apenas poucos órgãos ou tecidos apresentam uma certa enzima. Enzimas tecido-específicas tendem a ser mais úteis no diagnóstico de alterações.

Para considerar os resultados de exames laboratoriais como anormais, é necessário ter conhecimento da faixa de variação dos valores em animais saudáveis. Esses valores são conhecidos como valores normais ou valores de referência e podem ser obtidos por diferentes métodos. Os valores de referência devem ser obtidos para cada espécie e grupos ou categorias dessa espécie. Essas subdivisões podem se fundamentar na idade, sexo e tipo de criação, por exemplo (Thrall, 2006).

O estabelecimento de valores de referência, no entanto, é um procedimento oneroso e consome tempo (Thrall, 2006), por isso, muitas vezes, os veterinários usam uma única faixa de referência para todos os animais de uma determinada espécie.

O aumento da atividade enzimática no soro pode ocorrer de duas formas: por extravasamento de enzimas após lesão celular ou por aumento da síntese enzimática por

estímulo do órgão, tecido ou célula de origem. Enzimas liberadas após lesão à membrana celular são conhecidas como enzimas de extravasamento, e alguns exemplos são a alanina aminotransferase, aspartato aminotransferase e creatinoquinase. Em estado normal, a membrana plasmática é impermeável a macromoléculas como as enzimas (Thrall, 2006; Kaneko, 2008).

As enzimas cujo aumento da síntese culmina em aumento da atividade sérica são denominadas enzimas de indução e geralmente estão localizadas na própria membrana plasmática. A fosfatase alcalina é um exemplo de enzima de indução.

Após o estímulo inicial, as enzimas extravasadas ou o excesso de enzimas produzido é lançado então no espaço extracelular e daí para a corrente sanguínea (Thrall, 2006).

A intensidade da atividade enzimática no sangue é dependente da taxa do *clearance* da enzima, que pode ser feito a partir de proteases, endocitose por receptores de galactose em hepatócitos, receptores de manose em células Kupffer ou por filtração glomerular (para as de menor peso molecular). A meia-vida das enzimas existentes pode variar de minutos, horas a dias (Kaneko, 2008).

### **3.8.1.2. Aspartato aminotransferase**

A Aspartato aminotransferase (AST) é uma enzima responsável por catalisar a transaminação do L-aspartato e 2-oxoglutarato a oxaloacetato e glutamato (Kaneko, 2008).

A enzima aspartato aminotransferase (AST) está presente em maior concentração no interior de mitocôndrias de hepatócitos e de células musculares esqueléticas e cardíacas (Beitz, 1996; Thrall, 2006), sendo encontrada em quantidades similares no fígado e na musculatura. Kaneko (2008) afirma que isso pode, no entanto, variar entre espécies.

A mensuração da atividade de AST é utilizada rotineiramente na enzimologia clínica em animais de produção como um teste de injúria tanto hepática quanto muscular. Quando as células desses órgãos são lesionadas, ocorre extravasamento dessa enzima, o que reflete em aumento da sua concentração sérica (Thrall, 2006; Knowles e Warris, 2000). Como é menos específica que a enzima creatinoquinase, geralmente essas enzimas são analisadas em conjunto para a determinação do tecido de origem da

lesão. Por apresentar meia-vida mais longa que a CK, a AST é considerada mais sensível que a primeira.

Os valores padrão de normalidade em relação à concentração de AST para bovinos situam-se entre o intervalo de 20 a 34 UI/L e a meia-vida dessa enzima em bovinos é de aproximadamente 24 horas (Kaneko, 2008).

### **3.8.1.3. Creatinoquinase**

A creatinoquinase é uma enzima presente no citoplasma de células na musculatura esquelética, lisa e cardíaca, cérebro e nervos. Ela torna disponível o ATP originado da fosforilação do ADP da creatina fosfato para a contração muscular (Paes, 2005).

A meia-vida da atividade de CK no sangue é relativamente curta em todas espécies, correspondendo a 8,67h em média, para bovinos (Kaneko, 2008).

Nas espécies domésticas, a atividade de CK é utilizada principalmente como um marcador de injúria muscular associada a trauma, miopatias nutricionais, injúrias musculares induzidas por exercício ou miopatias congênitas (Kaneko, 2008).

Bovinos apresentam aumentos na atividade sérica de CK em consequência a variedades de injúrias musculares e doenças. Aumento da atividade sérica de CK é comum em casos de deficiência de selênio e vitamina E.

Em todas as espécies, a mensuração de CK é vantajosa em relação à utilização de AST pelo fato de a primeira ser específica de injúria muscular e não ser afetada em casos de injúria hepatocelular. A menor meia-vida da CK tende a reduzir a sensibilidade do teste, sendo que essa enzima é indicada para detecção de lesões musculares agudas (Kaneko, 2008). Nesse tipo de lesão, a atividade sérica da CK aumenta e declina antes da AST. Já lesões em que se observa apenas aumento significativo de AST indicam fase de recuperação. Por outro lado, lesões com aumento exclusivo de CK são consideradas hiperagudas.

Os valores de referência de normalidade em relação à CK para a espécie bovina correspondem ao intervalo entre 4,8 a 12,1 UI/L (Kaneko, 2008).

### **3.8.1.4. Proteínas Totais Séricas**

Os dois principais tipos de proteínas detectadas no soro são albuminas e globulinas, sendo a albumina menor em tamanho e maior em quantidade em comparação às globulinas (Thrall, 2006). A maior parte dessas, exceto as imunoglobulinas, é sintetizada pelo fígado (Baker e Murray, 2001).

As globulinas fazem parte de um grupo heterogêneo de proteínas de maior tamanho e correspondem a diversos tipos de moléculas entre elas anticorpos, fatores do complemento e da coagulação, enzimas e proteínas transportadoras de diferentes substâncias como lipídeos, vitaminas, hormônios, hemoglobina extracelular e íons metálicos como ferro e cobre. A diferença entre a migração por eletroforese permite a classificação em alfa, beta e gamaglobulina (Thrall, 2006).

O intervalo de referência de normalidade em relação à concentração de proteínas totais para a espécie bovina situa-se entre 7 e 8,5 g/dL (Kaneko, 2008).

A alteração na concentração de proteína total está relacionada a anormalidades no teor de albumina e/ou globulina, portanto, para interpretação dessa alteração torna-se necessária a determinação de qual fração protéica encontra-se alterada.

Paes (2005) citando Fagliari et al. (1998), reportou que bovinos nelore lactentes e desmamados apresentam valores médios, de respectivamente, 2,97 e 3,17 g/dL de concentração de proteínas séricas totais.

#### **3.8.1.5. Albumina**

A albumina é a principal proteína isolada detectada no soro e corresponde de 35 a 50% do total das proteínas séricas. A albumina sérica bovina é composta por 583 aminoácidos e apresenta peso molecular de 66,4 kDa. A síntese da albumina se dá no fígado e sua meia-vida varia de acordo com a espécie, sendo que a de bovinos varia de uma a três semanas, estando normalmente em torno de quinze dias (Thrall, 2006; Kaneko, 2008)

Essa proteína tem grande participação na manutenção da pressão oncótica (responde por 80% de participação) do sangue, impedindo dessa forma o extravasamento de água do sangue para os tecidos. Outra função da albumina é o transporte de diversas substâncias pelo sangue, entre elas hormônios, medicamentos, ácidos graxos livres, cálcio, bilirrubina e ácidos biliares.

A concentração sérica de albumina pode não ser alterada no estresse, pois apesar de o cortisol causar um incremento na síntese desta no fígado, ele pode também causar

degradação catabólica da albumina pelo fato de induzir gliconeogênese a partir de compostos não carboidratados (Coppo, 2004).

Os valores padrão de normalidade em relação à concentração sérica de albumina para a espécie bovina correspondem ao intervalo entre 3 e 3,55 g/dL (Kaneko, 2008).

#### **3.8.1.6. Fosfatase alcalina**

A fosfatase alcalina é uma enzima de indução sintetizada no fígado, nos osteoblastos, no epitélio intestinal e na placenta (Thrall, 2006), sendo encontrada sobre a forma de isoenzimas. É responsável por hidrolisar grupos fosfato de diversas origens, porém sua função não está totalmente esclarecida (Kaneko, 2008; Scheffer, 2010). Esta enzima possui atividade ótima em pH alcalino (pH 10).

Elevações nas atividades da fosfatase alcalina são observadas em animais em crescimento ou em adultos com atividades osteoblásticas. A atividade da fosfatase alcalina pode também estar elevada nas doenças hepáticas agudas e crônicas, porém, aumentos marcantes são indicativos de colestase. A atividade da fosfatase alcalina é menos útil para avaliação de colestase hepática em ruminantes devido à ampla variação dos seus valores de referência para estas espécies. Em bovinos o intervalo de referência situa-se entre 0 a 488 UI/L (Paes, 2005). Para caprinos o intervalo situa-se entre 93 a 387 UI/L e para ovinos, entre 68 e 387 UI/L (Kaneko, 2008).

Como a fosfatase alcalina está presente em vários locais diferentes, quando for detectado aumento na atividade desta enzima em um exame, uma forma de detectar qual isoenzima determinou isso é considerar o tipo de amostra analisado. Quanto mais próximo do local de liberação for o local de colheita da amostra, maior o índice de que se trata da isoenzima mais comumente presente em órgãos próximos a esse local. A detecção da enzima exclusivamente no sangue, ou urina ou em outro fluido pode auxiliar a determinação do órgão de origem. A fosfatase alcalina localizada na membrana plasmática de enterócitos, por exemplo, será lançada, em grande parte, no lúmen intestinal ao passo que a fosfatase alcalina presente na membrana de hepatócitos poderá ser observada na bile e no sangue. Em vista disso, não é esperado encontrar, em exames sanguíneos, presença de fosfatase alcalina oriunda de enterócitos (Kaneko, 2008), mas sim de isoenzimas hepática e óssea.

As isoenzimas de fosfatase alcalina podem, ainda, serem separadas por meio de eletroforese.

### **3.8.1.7. Glicose**

O carboidrato característico do sangue e de outros líquidos tissulares é a glicose (Beitz, 1996), utilizado por todas as células do organismo para produzir energia útil na forma de ATP (Alberts, 2004).

Em condições pós-absorção, as concentrações de glicose sanguínea variam de maneira considerável entre espécies (Beitz, 1996). Dentro da mesma espécie, no entanto, os níveis de glicose tendem a se manter relativamente constantes, variando em uma estreita faixa específica para cada qual (Thrall, 2006). A glicemia é controlada por uma série de fatores, como por exemplo, demanda de tecidos periféricos, influência hormonal e tempo após a absorção (Thrall, 2006). O fígado e o pâncreas desempenham importante papel nessa regulação (Beitz, 1996).

As concentrações de glicose sanguínea em ruminantes adultos são substancialmente inferiores àquelas em não-ruminantes. Em recém-nascidos os valores são semelhantes aos de mamíferos não ruminantes, porém, durante as primeiras semanas de vida esses valores diminuem abruptamente e em seguida declinam lentamente até atingir os níveis observados em adultos (Beitz, 1996).

Glucagon, produzido pelas células  $\alpha$  do pâncreas está relacionado com aumento da glicemia, devido à sua característica indução ao catabolismo. Esse hormônio estimula a gliconeogênese e glicogenólise no fígado (Rastogi, 2007).

Redução na glicemia é observada em consequência ao efeito da insulina, que tem por função transportar essa hexose do sangue para o interior das células.

Hormônios produzidos pela adrenal também participam na regulação de glicose. Adrenalina e noradrenalina (em menor proporção), produzidas na medular da adrenal, irão induzir glicogenólise hepática, inibem a secreção de insulina e estimulam a secreção de glucagon (Beitz, 1996; Rastogi, 2007). Já os glicocorticóides, produzidos na zona cortical adrenal, estão relacionados à hiperglicemia por estimularem a gliconeogênese hepática e inibirem a insulina. Outro hormônio que influi nas concentrações de glicose é o hormônio do crescimento por inibição da ação da insulina e também no estímulo de síntese hepática de glicose (Thrall, 2006).

Os valores padrão de referência utilizados para avaliação de concentração sanguínea de glicose para a espécie bovina situam-se no intervalo entre 45 e 75 (mg/dL) (Kaneko, 2008).

Thrall (2006) afirma que não é preciso manter ruminantes em jejum antes da colheita de sangue, pois esses animais absorvem principalmente ácidos graxos voláteis, em vez de glicose, no trato gastrointestinal.

#### **3.8.1.8. Frutosamina**

A frutosamina é uma proteína glicosilada, termo que se refere a compostos estáveis originados da combinação de glicose com proteínas séricas do sangue, principalmente a albumina (Thrall, 2006; Kaneko, 2008). Outro tipo de proteína glicosilada existente, por exemplo, é a hemoglobina glicosilada, formada a partir combinação de glicose com hemoglobina.

Esse composto é uma cetoamina estável, formada a partir de uma aldimina, composto instável originado pela ligação inicial da glicose com grupos amino da proteína que ao sofrer um rearranjo adquire a estabilidade (Kaneko, 2008).

Essa ligação permanece firme e constante durante toda a meia-vida da proteína (Kaneko, 2008) e por isto a mensuração deste composto é um parâmetro mais confiável para avaliação do metabolismo da glicose, uma vez que indica a concentração sanguínea de glicose de uma a três semanas anteriores ao teste, enquanto que a mensuração sanguínea é um indicativo da condição momentânea (Thrall, 2006).

Jensen et al. (1993) relataram que a faixa entre 213,4  $\mu\text{mol/L}$  a 265  $\mu\text{mol/L}$  pode ser utilizada como um intervalo de referência de frutosamina para bovinos.



## **4. MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1. Animais**

Foram utilizados 18 bovinos da raça nelore com idades entre um ano e um ano e meio e pesos entre 140 e 380 kg. Os animais foram divididos por categorias de peso em três grupos de seis animais: mais pesados, intermediários e mais leves. Para efeito do trabalho foram considerados exclusivamente os tempos de transporte.

Esses animais receberam água, feno e concentrado, durante o período em que não havia experimento.

### **4.2. Local e Instalações**

Os experimentos foram realizados na Fazenda Mouraria - Núcleo Rural Santos Dumont – Planaltina - DF. A fazenda é munida de curral com quatro divisões, sendo uma coberta; seringa; brete; balança digital; tronco de contenção regulável e embarcadouro. O telhado é de cerâmica e a cerca de madeira.

### **4.3. Método de agrupamento e transporte**

Para a realização do experimento os animais foram divididos em três grupos de seis, selecionados por categorias de peso (animais mais pesados, intermediários e mais leves).

Como critério para tal classificação foi utilizado o intervalo de 140 a 179 kg para animais mais leves; 180 a 249 kg para animais intermediários e 250 a 380 kg para animais mais pesados.

O transporte foi realizado com durações de 24, 48 e 72 horas, em caminhão truque. O trajeto foi feito em rodovias do Distrito Federal e entorno.

O experimento foi efetuado em três etapas, sendo a primeira trabalhada com manejo e embarque tradicional, simulando a situação observada na maioria das fazendas pecuárias brasileiras, sendo que os animais foram conduzidos sob gritos e ferrão (sem choque). Na segunda etapa os animais foram condicionados a passar pelo tronco várias vezes, sem paradas, como tentativa de adaptá-los ao percurso e o manejo foi feito com comando de voz. O treinamento durou cinco dias. Na terceira e última etapa, os animais

foram conduzidos por meio da utilização de bandeiras e o manejo foi totalmente realizado sem gritos nem ferrão.

Durante o transporte de 24 horas o veículo percorreu uma distância de 200 Km. Proporcionalmente, em 48 horas de transporte foram percorridos 400 Km e em 72 horas, 600 km.

#### **4.4. Cronograma**

O experimento a campo durou três meses. A primeira parte foi realizada na segunda quinzena de maio, a segunda em junho e a terceira em julho. As coletas foram feitas a cada manhã dos dias 0, 1, 2, 4, 7 e 10 de cada uma das etapas de manejo que formaram parte do experimento. Desse modo foi possível simular transportes de 24, 48 e 72 horas.

#### **4.5. Colheita de amostras**

A cada manhã os animais foram conduzidos à seringa, em seguida identificados e pesados em balança eletrônica (Valfran®) e o peso anotado. O animal era levado ao brete para a colheita de amostra de sangue buscando a realização do procedimento no menor espaço de tempo possível.

O sangue foi colhido a partir da punção da veia coccígea ventral, através de tubos a vácuo e adaptador para agulhas (Vacutainer®). Foram utilizados três tubos para o acondicionamento da amostra: um com EDTA, para posterior realização de hemograma; um com fluoreto de sódio para mensuração da glicose sanguínea e um tubo sem anticoagulante, para a obtenção do soro utilizado na realização de testes bioquímicos. As amostras foram acondicionadas adequadamente em caixa térmicas.

Os animais foram conduzidos à rampa e embarcados no caminhão.

Ao final de cada transporte, após o desembarque, os animais foram submetidos a nova pesagem e colheita de sangue.

As amostras de sangue foram levadas então, imediatamente após as colheitas, ao Laboratório de Patologia Clínica da Universidade de Brasília, localizado no Hospital Veterinário de Pequenos Animais - Hvet-UnB e em seguida processadas.

#### **4.6. Processamento das amostras**

O sangue armazenado sem anticoagulante e o sangue armazenado com fluoreto de sódio foram submetidos à centrifugação (rotação de 3500 rpm, por cinco minutos).

O soro foi separado do sangue contido no tubo com fluoreto de sódio, para a mensuração da glicose.

O soro do sangue armazenado em tubos sem anticoagulante foi utilizado para mensuração da atividade enzimática de aspartato aminotransferase (AST), creatinoquinase (CK) e fosfatase alcalina (FA) e concentrações de frutossamina, albumina (ALB), e proteína total (PT).

Para a realização destes testes foram utilizados “kits” bioquímicos específicos, seguindo a recomendação do fabricante, e a leitura de absorbância foi feita em um analisador bioquímico semi-automático (Bioplus® – Bio2000).

#### **4.7. Métodos de Análise**

O modelo estatístico seguido correspondeu a uma análise de variância visando mostrar as diferenças entre as médias para tempos de transporte segundo o teste de Tukey.

A análise estatística foi realizada utilizando-se o General Linear Model, procedimento do SAS®, com os dados bioquímicos como variáveis dependentes e a data, a remessa e sua interação como fatores fixos independentes, bem como o efeito do animal como fator independente aleatório. Também foram calculadas as correlações entre as variáveis usando o procedimento de correlação.

Uma análise de fatores foi realizada, ainda, para melhor visualizar as relações entre as variáveis analisadas neste experimento.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Creatinoquinase (CK)

Comparando-se as concentrações médias de CK entre o início e o final do transporte de 72 horas (Tabela 1) foi possível observar diferença estatística ( $p < 0,05$ ), os valores médios obtidos ao fim do transporte (596.65 UI/L) apresentando-se maiores estatisticamente que a média dos valores iniciais (189.45 UI/L). Essa enzima é liberada no sangue quando há dano muscular, como contusões, por exemplo, e em consequência de exercícios vigorosos (Broom, 2000; Knowles e Warriss, 2000; Broom, 2008) podendo ser interpretada como um indicador de fadiga muscular (Knowles e Warriss, 2000) e de redução no grau de bem-estar animal (Broom, 2000). O aumento observado no presente estudo pode ser conseqüente ao manejo antes do transporte e ao alto número de horas em que os animais ficaram sendo transportados, com conseqüente desgaste muscular.

Em termos comportamentais, na primeira etapa, os animais foram conduzidos à rampa com utilização de ferrão, e durante o embarque não foi dado tempo necessário para que eles se acostumassem com o ambiente à sua volta. Desta forma, os animais apresentaram-se acuados e temerosos, e sem ter para onde fugir acabavam por diversas vezes sobrepondo-se aos que estavam na frente. Esse comportamento pode ter contribuído para o surgimento de contusões. Broom (2008) relatou que animais no momento do embarque, e também durante o transporte, podem se tornar mais agressivos, lutando com os demais ou podem ainda apresentar comportamento de monta, predispondo-se a ocorrência de injúrias físicas. Nas duas seguintes etapas o embarque foi mais tranqüilo.

Moberg (2000) afirmou que a primeira resposta observada frente a um estímulo estressor é a resposta comportamental, que pode variar entre fugir do estímulo ou enfrentá-lo, e que isso varia individualmente. Ambas as opções (tentar fugir do local ou lutar com outros animais) poderiam, de acordo com o relatado acima, de uma forma ou de outra, predispor ao surgimento de injúrias ou desgaste muscular.

Aliado a isso há o fato de que os animais utilizados no experimento eram zebuínos - nelores, criados extensivamente e, portanto, submetidos a pouco contato com humanos. Grandin (2008) observou que animais criados dessa forma apresentam maior propensão a estresse psicológico. Minka e Ayo (2007), no entanto, relataram menor

porcentagem de injúrias durante o transporte de três raças indianas de *Bos indicus* e concluíram que isso pode ser creditado ao fato desses animais serem mais resistentes e adaptáveis a condições ambientais estressantes - como o transporte - justamente por serem criados de forma extensiva.

Trata-se também de uma raça mais agressiva, o que poderia justificar o comportamento arreado durante o manejo de embarque, sendo outra possível justificativa ao surgimento de contusões.

Grandin (2008) e Broom (2008) observaram que, para bovinos, o momento de passagem do tronco para a rampa corresponde a um intenso grau de exercício, o que também pode, possivelmente, justificar o aumento observado na concentração de CK ao final do transporte de 72 horas, citado no presente trabalho.

Durante o transporte os animais ficam constantemente submetidos a bacadas e freadas. Muitas vezes é o mesmo motorista quem executa todo trajeto e o cansaço, inerente a longas horas trabalhadas, pode refletir na qualidade da direção, o que também poderá reverter em conseqüências danosas para o animal transportado (Broom, 2000; Broom, 2003). No presente estudo o mesmo motorista realizou todo o trajeto, o que sugere ter refletido na qualidade da direção. Broom (2000) observou que animais submetidos a transporte sob má direção do caminhão ficam mais propensos a injúrias musculares, principalmente devido à alta velocidade, freadas, acelerações bruscas e colisões durante curvas acentuadas.

De acordo com a literatura, bovinos mostram-se propensos a deitarem-se após 16 horas de viagem, no entanto o evitam, mesmo que isso seja possível, provavelmente para não serem pisados pelos demais ou sofrerem colisões dentro da carroceria do caminhão (Broom, 2000; Broom, 2008). Isso permite inferir que, possivelmente, os animais do presente estudo podem ter sido forçados a suportar seu peso, em pé, por longas horas consecutivas, o que pode ter contribuído para a fadiga muscular.

Minka e Ayo (2010) também afirmaram que o aumento da atividade sérica de CK no sangue pode ser observado após hipóxia e redução na dissipação de calor.

Minka e Ayo (2007) relataram que as injúrias musculares mais comumente observadas em bovinos submetidos a transporte são feridas, lacerações e contusões, observadas principalmente na parede torácica e abdominal. No presente trabalho também foram observadas contusões das patas no momento do embarque, ao passar da balança para o tronco, o que poderia influenciar no aumento da concentração média da creatinoquinase observada (Grandin, 2000).

Também as concentrações médias desta enzima ao final do transporte de 72 horas (596.65 UI/L) diferiram estatisticamente ( $p < 0,05$ ) das concentrações obtidas ao fim do transporte de 48 horas (249.64 UI/L). A média dos valores de CK ao fim do transporte de 72 horas também se revelou mais alta (Tabela 1) em comparação ao valor médio obtido no início do transporte de 24 horas. Isso possivelmente mostra que os animais tendem a sofrer mais intensamente de injúrias musculares ao serem submetidos a jornadas mais longas. Knowles (1999) e Minka e Ayo (2007), citados por Mynka e Ayo (2010) afirmaram que a porcentagem de injúrias relacionadas a traumas tende a aumentar de acordo com a duração do transporte. Segundo os mesmos autores, isto demonstra a influência prolongada dos estressores físicos infligidos pelas condições de transporte sobre o animal.

Contusões, devido às brechadas, brigas entre animais e monta podem ser apontadas como prováveis causas de injúria muscular relacionadas ao aumento da creatinoquinase (Broom, 2000; Grandin, 2008) durante o transporte. Hartung (2003), no entanto, observou maior grau de injúrias em transportes de curta distância do que nos de longa distância, concluindo que os animais aparentam apresentar distintos sinais de adaptação.

## **5.2. Albumina (ALB) e Proteínas séricas totais (PT)**

O valor médio das concentrações de albumina (Tabela 1) apresentado ao fim do transporte de 48 horas foi diferente estatisticamente ( $p < 0,05$ ) em relação ao valor médio das concentrações dessa proteína obtido ao início deste transporte. A média das concentrações de albumina obtidas ao final das 48 horas de transporte (2.91 g/dL) foi maior que a média dos valores obtidos antes do transporte (2.63 g/dL). Esse resultado sugere desidratação, uma vez que ocorreu aumento na concentração média de proteínas séricas totais. Em outro trabalho Amtmann et al. (2006) relataram aumentos na concentração de albumina em bovinos ao fim de 36 horas de transporte, e Parker et al. (2003), relataram aumento de albumina ao final de 48 horas de transporte. A desidratação, sugerida por aumento na concentração de albumina e outros componentes do sangue é devida a ocorrência de hemoconcentração, pela redução na diluição dos componentes sanguíneos, devido à redução de líquido (Thrall, 2006).

Parker et al. (2003), comparando variáveis afirmaram que a alteração mais importante infligida sobre *Bos indicus* transportados por longas distâncias parece ser a desidratação.

Mynka e Ayo (2010), citando Krizanovic et al., (2008) e Powers & Jackson (2008) afirmaram que o aumento da albumina observado em animais transportados pode estar relacionado ao fato de esta possuir ação anti-oxidante contra radicais livres liberados em decorrência de exercícios físicos extenuantes. Os valores aumentados de albumina podem estar ligados a essa hipótese.

O valor médio das concentrações de proteínas séricas totais ao final de 72 horas de transporte (Tabela 1) apresentou-se maior (7.78 g/dL) quando comparado à média das concentrações obtidas após 24 horas de transporte (7.28 g/dL). Esse resultado sugere desidratação. Situações similares foram relatadas em trabalhos de Amtmann et. al (2006) e Parker et al. (2003) onde foram observados aumentos na concentração de proteínas totais ao fim de 36 horas de transporte e ao fim de 48 horas de transporte, respectivamente. Thrall (2006) afirmou que a necessidade de água pelo organismo é determinada pela proporção entre sua condição metabólica e suas necessidades calóricas. Quanto maior o gasto energético, portanto, maior a necessidade de água. Ao fim de 72 horas de transporte o período de privação foi maior e mais energia foi demandada, o que talvez explique a maior concentração de proteínas totais séricas ao fim de 72 horas.

### **5.3.Glicose**

O valor médio das concentrações de glicose (Tabela 1) ao fim do transporte de 48 horas (71.23 mg/dL) apresentou diferença estatística ( $p < 0,05$ ) em relação ao valor médio obtido ao início desse transporte (80.31 mg/dL), tendo sido observada redução na glicemia ao fim do transporte.

Com os resultados obtidos é possível inferir que essa redução observada se deve à privação de alimento e depleção das reservas energéticas. Kozloski (2008) afirmou que os ruminantes tendem a entrar em metabolismo de jejum cerca de oito horas após a última refeição, e a partir de então passam a estar sobre efeito do glucagon. Hartung (2003) concordou com essa afirmação, ao observar que após seis horas de transporte os animais tendem a desenvolver deficiências energéticas. O glucagon está associado ao catabolismo e as reações metabólicas desviadas para este fim, com o intuito de se obter

energia a partir das reservas de glicogênio muscular e hepático e de outras fontes, como proteínas e trigliceróis (Beitz, 1996; Kozloski, 2008). Logo, glicogenólise e glicólise são estimuladas e a glicose obtida é destinada aos tecidos de maior importância. Nesta fase, cérebro, eritrócitos e tecido gastrintestinal passam a ser os principais receptores de glicose sanguínea (Kozloski, 2008).

Além disso, sugere-se que estes animais estivessem com uma maior demanda energética por estarem submetidos a diversos estressores, a maioria destes, constantes durante a viagem. Cita-se como exemplo barulho, movimento, vibração do caminhão, (Broom, 2000), choques e colisões dos animais, variações de temperatura, privação de água e alimento, entre outros. Estímulos estressores desencadeiam resposta biológica de estresse, com liberação de catecolaminas e cortisol, que irão por sua vez, desviar energia que seria destinada a outras funções orgânicas. Martung (2000) definiu como custo biológico esse desvio de energia e afirma que caso o animal esteja sendo submetido a mais de um agente estressor, ocorrerá um efeito somatório e o custo biológico se torna mais intenso. O autor utilizou esse parâmetro para diferenciar estresse de distresse, sendo que no último caso o desvio energético influi sobremaneira em funções como produção e reprodução (Martung, 2000). O acúmulo dos custos biológicos conduz o animal ao estado pré-patológico e caso permaneça o estímulo, o animal pode vir a desenvolver patologias ou mesmo sucumbir e morrer.

Ao final de 72 horas de transporte (Tabela 1) a média dos valores apresentados para a concentração de glicose no sangue foi menor (73.69 mg/dL) que a média obtida ao fim do transporte de 24 horas (88.58 mg/dL). Grandin (2008), afirmou que quanto maior a duração do transporte, maior o impacto sobre o bem-estar animal, pois os animais demandam mais energia para se manter em equilíbrio no veículo em movimento e também porque ficam sobre os efeitos catabólicos determinados pelas catecolaminas e glicocorticóides liberados em resposta aos estímulos estressores ocorridos durante embarque, transporte e desembarque.

#### **5.4. Frutosamina**

Ao se comparar os valores médios da frutosamina (Tabela 1) ao final de 72 horas de transporte com o valor médio obtido ao fim de 24 horas de transporte foi possível observar que aquele apresentou maior valor (272.41 mol/L) quando comparados (241.25 mol/L). Também se observou diferença estatística ( $p < 0,05$ ) na

comparação entre o valor médio de frutossamina ao final do transporte de 72 horas (272.43 mol/L) dos valores médios obtidos ao fim de 48 horas de transporte (251,08 mol/L).

O valor médio das concentrações de frutossamina ao fim de 48 horas de transporte apresentou diferença estatística em comparação com o valor médio inicial, sendo que o valor médio ao fim do transporte (251.08 mol/L) apresentou-se maior que o do início (216.97 mol/L). Também foi observada diferença estatística entre os valores médios de frutossamina obtidos ao final do transporte de 72 horas (272.41mol/L) e início do mesmo (241,43 mol/L).

A frutossamina (proteína glicosilada) refere-se a compostos estáveis originados da combinação de glicose com proteínas do sangue, principalmente a albumina (Thrall, 2006). A mensuração deste composto é um parâmetro mais confiável para avaliação do metabolismo da glicose uma vez que indica a concentração sanguínea de glicose de uma a três semanas anteriores ao teste, enquanto que a mensuração sanguínea de glicose é um indicativo da condição momentânea (Thrall, 2006). Aumento de frutossamina, segundo Thrall (2006) é indicativo de hiperglicemia e pode ser conseqüente a efeito de catecolaminas e glicocorticóides sobre o organismo em resposta a agentes estressores. Essa parece ser a justificativa para valores aumentados de frutossamina observados neste trabalho. Os aumentos da proteína glicosilada poderiam estar refletindo um aumento de glicose determinado pela resposta desencadeada pelo estresse e pela mobilização de reservas (devido ao jejum) e estariam refletindo a condição de 15 dias atrás, o que coincide com a fase antecedente de transporte no experimento. Thrall (2006) afirmou que a mensuração de frutossamina é útil para diferenciar uma hiperglicemia transitória de uma persistente. Adenkola e Ayo (2010) citam que a frutossamina, além de glicose e AGNEs (ácidos graxos não esterificados) podem ser utilizados para acessar o estado metabólico do animal.

**Tabela 1 – Valores médios de parâmetros bioquímicos utilizados como indicadores de bem estar animal sob diferentes tempos de transporte**

Testes bioquímicos	Período de Transporte (horas)						Valores de Referência
	24		48		72		
	1	2	1	2	1	2	
AST	75.92 <sup>a</sup>	83.30 <sup>a</sup>	79.49 <sup>a</sup>	74.68 <sup>a</sup>	76.71 <sup>a</sup>	77.74 <sup>a</sup>	20-34 UI/L
CK	189.45 <sup>b</sup>	359.40 <sup>ab</sup>	372.82 <sup>ab</sup>	249.64 <sup>b</sup>	189.45 <sup>b</sup>	596.65 <sup>a</sup>	4,8-12,1 UI/L
FA	120.02 <sup>a</sup>	104.19 <sup>bc</sup>	97.24 <sup>c</sup>	99.61 <sup>c</sup>	114.49 <sup>ab</sup>	95.15 <sup>c</sup>	0-488 UI/L
ALB	2.68 <sup>bc</sup>	2.77 <sup>abc</sup>	2.63 <sup>c</sup>	2.91 <sup>a</sup>	2.86 <sup>ab</sup>	2.72 <sup>abc</sup>	3-3,55 g/dL
PT	7.62 <sup>ab</sup>	7.28 <sup>b</sup>	7.69 <sup>a</sup>	7.42 <sup>ab</sup>	7.41 <sup>ab</sup>	7.78 <sup>a</sup>	7-8,5 g/dL
GLIC	84.22 <sup>ab</sup>	88.58 <sup>a</sup>	80.31 <sup>bc</sup>	71.23 <sup>d</sup>	70.00 <sup>d</sup>	73.69 <sup>dc</sup>	45-75 g/dL
FrAM	225.88 <sup>cd</sup>	241.25 <sup>bc</sup>	216.97 <sup>d</sup>	251.08 <sup>b</sup>	241.43 <sup>bc</sup>	272.41 <sup>a</sup>	213,4-265 μmol/L

Valor com letras minúsculas diferentes na mesma linha representam diferença estatística ( $p < 0,05$ ). AST = aspartato aminotransferase, CK= creatinoquinase, FA= fosfatase alcalina, ALB= albumina, PT= proteínas séricas totais, GLIC= glicose,

FrAM= frutossamina, 1= início do período de transporte, 2= final do período de transporte.

## 7. CONCLUSÃO

A mensuração de parâmetros fisiológicos para avaliação do grau de bem-estar animal é útil na indicação de problemas decorrentes de transporte. É interessante que essa estratégia seja adotada como modo de se avaliar o tipo de manejo a que os animais são submetidos, a fim de se adequar a situação de forma a se obter maior grau de bem-estar, maior produtividade, menor incidência de doenças e condenação de carcaças, gerando produtos de origem animal de melhor qualidade.

Os valores obtidos nesse estudo relacionados às concentrações de glicose, proteínas séricas totais e creatinoquinase podem estar relacionados a respostas fisiológicas ao estresse, jejum prolongado e desgaste muscular a que os animais foram submetidos durante os tempos de transporte implementados, mostrando que esses parâmetros são fidedignos nesse intuito.

De acordo com a avaliação bioquímica realizada infere-se que a cada 24 horas deve ser proporcionado um período de descanso aos animais transportados.

Adoção de manejo humanitário e treinamento dos tratadores e motoristas, conscientização dos mesmos quanto à sensibilidade e comportamento animal e período de descanso, alimentação e abeberamento dos animais transportados em caminhão em condições adequadas são requisitos necessários para que o transporte, procedimento comum a animais de produção, seja feito de forma a não comprometer o bem-estar animal.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AATA- ANIMAL TRANSPORTATION ASSOCIATION. **Manual for the Transportation of live animals**. 2<sup>a</sup> ed. Harris Associates Limited, 2000. 156 p.

ADENKOLA, A.Y; AYO, J.O. Physiological and behavioural responses of livestock to road transportation stress: A review. **African Journal of Biotechnology**, [s.l], v. 9, n.31, p. 4845-4856, 2010. Disponível em: <<http://www.academicjournals.org/AJB>>. Acesso em: 13 de maio de 2010.

ABIEC- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNE. Exportação Mundial de Carne Bovina, [s.l.; s.n], 2011. Disponível em: <[http://www.abiec.com.br/news\\_view.asp](http://www.abiec.com.br/news_view.asp) > Acesso em: 20 de junho de 2011.

AMTMANN, V. A.; GALLO, C.; SCHAİK, G.; TADICH. N. Relaciones entre el manejo antemortem, variables sanguíneas indicadoras de estrés y pH de la canal em novillos. **Arch. Med. Vet**, [s.l], v. 38, n.3, 2006.

AGUILAR, R.; CARVALHO, L.; ROÇA, R. O.; ANDRADE, E. N. Sistema de Transporte de Bovinos no Pantanal Sul- matogrossense: Revisão. **Revista CFMV- Brasília/DF – Ano XIV**, n. 44, p. 2008.

ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, R.; ROBERTS, K.; WALTER, P. **Biologia Molecular da Célula**. 4<sup>a</sup> ed. Porto Alegre. Artmed, 2004. 1463 p.

AMARO, I. Bem-estar animal: Novas regras para o transporte de animais. **Voz da Terra**. [S.l.: s.n], 2007.

BAKER, R. R.; MURRAY .R. K. **PDQ Biochemistry**. Ed. BC Decker, Ontario, 2001. 361 p.

BEITZ, D. C. Metabolismo de proteínas e aminoácidos. In: DUKES, R. **Fisiologia dos Animais Domésticos**. Guanabara Koogan, 1996. p. 430-446.

BRASIL. Instrução Normativa n. 13, de 31 de março de 2010. Aprova o Regulamento Técnico para Exportação de Bovinos, Búfalos, Ovinos e Caprinos Vivos, destinados ao abate. **Diário Oficial da República federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 31 de mar. 2010.

BRASIL. Portaria n.524, de 21 de junho de 2011. Institui a Comissão Pemanente de Bem-estar Animal - CTBEA. **Diário Oficial da República federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 21 de jun. 2010.

BROOM, D. M. Indicators of poor welfare. **British Veterinary Journal**, v.142, [s.n], p. 24-526, 1986. Citado por: MOLENTO, C. F. M. Bem-estar e produção animal: aspectos econômicos- Revisão. **Archives of Veterinary Science**, v.10, n.1, p. 1-11, 2005.

BROOM, D. M. Welfare assessment and welfare problem areas during handling and transport p. 43-62 In: GRANDIN, T. **Livestock Handling and Transport**. Oxford.CAB International, 2000. 459 p.

BROOM, D. M. Causes of Poor Welfare in Large Animals During Transport. **Veterinary Research Communications**, v.1, n.27, p. 515-518, 2003.

BROOM, D. M. The Welfare of Livestock During Road Transport. In: APPLEBY, M. C., et al. **Long Distance Transport and Welfare of Farm Animals**, Oxford. CAB International.2008. p. 157-183.

CIOCCA, J. R. P.; TSEIMAZIDES, S. P.; PARANHOS DA COSTA, J. R. Efeitos do transporte no bem-estar e na qualidade da carne. [S.l.: s.n], 2006. Disponível em: <<http://www.beefpoint.com.br/radares-tecnicos/manejo-racional/efeitosdotransportenobemestar-e-na-qualidade-da-carne-29319n>>. Acesso em: 03 de março de 2011.

COELHO, L. C. Tipos de caminhões: tamanhos e capacidades. [S.l.; s.n], 2010. Disponível em <<http://www.logisticadescomplicada.com/tipos-de-caminhoes-tamanhos-e-capacidades>> acesso em: 16 de julho de 2011.

CONFEDERAÇÃO NACIONAL DE TRANSPORTES, 2006, citado por CIOCCA, J. R. P.; TSEIMAZIDES, S. P.; PARANHOS DA COSTA, J. R. Efeitos do transporte no bem-estar e na qualidade da carne, [s.l.: s.n], 2006.

COSTA E SILVA, E.V. Estresse e Manejo reprodutivo de bovinos de corte: problemas e soluções. [S.l: S.n], 2010. Disponível em: <[http://www.simcorte.com/index/q\\_simcorte](http://www.simcorte.com/index/q_simcorte)>. Acesso em: 01 de março de 2011.

COPPO, J. A. Biochemical demonstration of malnutrition state in early weaned half-bred zebu calves. **RIA**, Argentina, v.1, n.33, p. 81-100, 2004.

CRUZ, V. F.; SOUSA, P. Sistema integrado de monitoramento do bem-estar animal. EMBRAPA Suínos e Aves. **Artigos**, 2005. Citados por OLIVEIRA, C., BORTOLI, E.; BARCELLOS, J. Diferenciação por qualidade da carne bovina: a ótica do bem-estar animal. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.7, p. 2092-2096, 2008.

DUKES, R. **Fisiologia dos Animais Domésticos**. Guanabara Koogan, 1996. p. 430-446.

DICKSON, W. M. Endocrinologia, reprodução e lactação. In: DUKES, R..**Fisiologia dos Animais Domésticos**. Guanabara Koogan, 1996. p. 430-446.

FAGLIARI, J. J.; SANTANA, A. E.; LUCAS, F. A.; CAMPOS FILHO, E.; CURTI, P. R. Constituintes sanguíneos de bovinos lactantes, demamados e adultos das raças Nelore (*Bos indicus*) e Holandesa (*Bos taurus*) e de bubalinos (*Bubalus bubalis*) da raça Murrah. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, vol.3, n.50, p.263-271, 1998, citado por PAES, P. R. O. **A influência do desmame, da contenção em tronco e do transporte rodoviário na etologia, hematologia e bioquímica clínica de bovinos da raça nelore (*Bos indicus*)**. Tese (Doutorado em Clínica Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2005. 123 p.

FAZIO, E.; FERLAZZO, A. Evaluation of Stress During Transport. **Veterinary Research Communications**, v. 27, p. 519-524, 2004.

FAZIO, E.; MEDICA, P.; ALBERGHINA, D.; CAVALERI, S.; FERLAZZO, A. Effect of Long-distance Road Transport on Thyroid and Adrenal Function and Haematocrit Values in Limousin Cattle: Influence of Body Weight Decrease. **Veterinary Research Communications**, [s.l], n.29, p. 713-719, 2005.

FERREIRA, F.; PIRES, M. F. A; MARTINEZ, M. L.; COELHO, S. G.; CARVALHO, P. M.; FERREIRA, P. M; FACURY FILHO, E. J.; CAMPOS, W. E. Parâmetros fisiológicos de bovinos cruzados submetidos ao estresse calórico. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**, v.58, n.5, p. 732-738, 2006.

GALLO, C.; PEREZ, V.; SANHUEZA, V.; GASIC, J. Effects of transport time of steers before slaughter on behaviour, weight loss and some carcass characteristics. **Arch. Med. Vet.** Valdivia, v. 32, n.2, 2000.

GALLO, C.; WARRISS, P.; KNOWLES, T.; NEGRÓN, R.; VALDÉS, A.; MENCARINI, I. Densidades de carga utilizadas para el transporte de bovinos destinados a matadero en Chile. **Arch. Med. Vet.** Valdivia, v. 37, n.7, p. 155-159, 2005.

GALLO, C. B.; TADICH, T.A. South America. In: APPLEBY, M. C., et al. **Long Distance Transport and Welfare of Farm Animals**, Oxford. CAB International, 2008, p. 261-287.

GONÇALVES, R. **Desvantagens Econômicas da Exportação e Gado em Pé**. São Paulo, SP. WSPA, 2009. 48 p.

GRANDIN, T. Assessment of Stress During Handling and Transport. *Anim. Sci.*, n.75, p. 249-257, 1997, citada por MOUNAIX, B., DION, J., BRUN, T., DUFOUR, V., PERRIN, M., RAFLEGEAU, F., BRULE, A., DAVID, V., LUCBERT, J., MIRABITO, L. Long distance cattle transport: impact of variations of space allowance and/or group size on physiological and behavioural indicators of stress.[ S.I.: s.n], [2010].

GRANDIN, T. **Livestock Handling and Transport**. Oxford. 2ª Ed. CAB International, 2000.459 p.

GRANDIN, T. Foreword: Strategies to Improve Farm Animal Welfare and Reduce Long Distance Transport of Livestock Going to Slaughter. In: APPLEBY, M.C., et al. **Long Distance Transport and Welfare of Farm Animals**, Oxford. CAB International. 2008. 476 p.

HARTUNG, J. Effects of Transport on Health of Farm Animals. **Veterinary Research Communications**, v. 27, suppl.1, 2003.

HERNANDÉZ, I. T.; ARENAS, O. A.; LEZAMA, P. A. C.; HUERTA, G.V.; Manejo pré-abate e qualidade de carne. **RedVet**, [s.l], v.11, n.08, p.1695-7504, 2010. Disponível em: <<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n080810/081005>>. Acesso em: 01 de julho de 2011.

HOTZEL, M. J.; MACHADO FILHO, L. C. P. Bem-estar na Agricultura do Século XXI. **Revista de Etologia**, v. 6, n. 1, p. 03-15, 2004.

JACOBSON, L. H.; COOK, C. J. Partitioning Psychological and Physical Sources of Transport- related Stress in Young Cattle. **The Veterinary Journal**, n.155, p. 205-208, 1998.

JENSEN, A. L.; PETERSEN, M. B; HOUE, H. Determination of the fructosamine concentration in bovine serum samples. **Journal of Veterinary Medicine** vol.A, n.40, p. 111-117, 1993.

KNOWLES, T. G.; WARRISS, P. D.; BROWN, S. N.; EDWARDS, J. E. Effects on cattle of transportation by road for up to 31-hours. **Vet. Rec.**, [s.l], n.145, p. 575-582, 1999, citados por MINKA, N. S.; AYO, J. O. Physiological responses of food animals to road transportation stress **African Journal of Biotechnology** v. 9, n.40, 2010. Disponível em: <<http://www.academicjournals.org>> Acesso em: 10 de maio de 2011.

KNOWLES, T. G; WARRISS, P. D. In: **Livestock Handling and Transport**. Stress Physiology of Animals During Transport. 2<sup>a</sup> ed. CAB Internacional, 2000.

KANEKO, J. J. **Veterinary Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. Sixth edition, Hardcover, 2008. 896 p.

KOZLOSKI, G. V., **Bioquímica dos Ruminantes**. 2<sup>a</sup> Edição. Santa Maria, RS. EditoraUFSM, 2008.

KRIZANOVIC, D.; SUSIC, V.; BOZIC, P.; STOKOVIC, I.; EKERT- KABALIN, A. Changes of bovine lipid peroxides and some antioxidants in the cause of growth. **Vet. Arhiv**. n.78, p.269-278, 2008, citados por MINKA, N. S.; AYO, J. O. Physiological responses of food animals to road transportation stress. **African Journal of Biotechnology**, [s.l], v. 9, n.40, 2010. Disponível em: <<http://www.academicjournals.org>> Acesso em: 10 de maio de 2011.

MANTECA, X. Physiology and Disease. In: **Long Distance Transport and Welfare**. p. 69-77. CAB Internacional, 2008.

MARÍA, G.A. Meat Quality. In: **Long Distance Transport and Welfare**. p. 77-113. CAB Internacional, 2008.

MINKA, N. S.; AYO, J. O. Effects of loading behaviour and road transport stress on traumatic injuries in cattle transported by road during the hot-dry season. **Livestock Science**, [s.l.; s.n], 2007

MINKA, N. S.; AYO, J. O. Physiological responses of food animals to road transportation stress. **African Journal of Biotechnology** [s.l], v. 9, n.40, 2010. Disponível em: <<http://www.academicjournals.org>> Acesso em: 10 de maio de 2011.

MOBERG, G. P. Stress and it's measurement in domestic animals. A review of behavioural and physiological studies under field and laboratory situations. **Adv Vet Sci**

**Comp Med**, v.24, p. 179-210, 1996, citado por AMTMANN, V. A.; GALLO, C.; SCHAİK, G.; TADICH, N. Relaciones entre el manejo antemortem, variables sanguíneas indicadoras de estrés y pH de la canal em novillos. **Arch. Med. Vet.**, v. 38, n.3, 2006.

MOBERG, G. P; MENCH. J. A. **The Biology of Animal Stress. Basic Principles and Implications for Animal Welfare.** Davis, USA. CAB International, 2000.

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

MOUNAIX, B.; DION, J.; BRUN, T.; DUFOUR, V.; PERRIN, M.; RAFLEGEAU, F.; BRULE, A.; DAVID, V.; LUCBERT, J.; MIRABITO, L. Long distance cattle transport: impact of variations of space allowance and/or group size on physiological and behavioural indicators of stress, [s.l.: s.n], [2010].

MÖSTL, E.; MAGGS, J. L. ; SCHRÖTTER, G. ; BESENFELDER, U.; PALME, R. Measurement of Cortisol Metabolites in Faeces of Ruminants. **Veterinary Research Communications**, v.26, p. 127-139, 2002.

NASCIMENTO, G., RODRIGUES, W., MARTINS, N., DIAS, F., CAVALCANTE, T., FREITAS, F.,LEIRA, M., ALMEIDA, K. Avaliação do bem-estar em bovinos abatidos em frigorífico do Pará, [s.l.: s.n.], 2008.

ODORE, R.; ANGELO, A. D., BADINO. P, BELLINO. C., PAGLIASSO, S., RE. Road transportation affects blood hormone levels and lymphocyte glucocorticoid and b-adrenergic receptor contrations in calves. **The Veterinary Journal** 168 p. 297-303, 2003.

OLIVEIRA, C.; BORTOLI, E.; BARCELLOS, J. Diferenciação por qualidade da carne bovina: a ótica do bem-estar animal. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.7, p. 2092-2096, 2008.

PARANHOS DA COSTA, M. J. R.; DALLA COSTA, O. A.; CRUZ BARBALHO, P.; BIAGIOTT, D.; CIOCCA, J. R., NAVES, J. E.; QUINTILIANO, M. E.; RIBEIRO, J.E.; NAVES, G.; BARBOSA SILVEIRA, I. The transport of farm animals in Brazil: First report. Report for the World Society for the Protection of Animals, 2006, citados por GALLO, C. B.; TADICH, T. A. South America. In: APPLEBY, M. C., et al. **Long Distance Transport and Welfare of Farm Animals**, Oxford. CAB International, 2008, p. 261-287.

PARANHOS DA COSTA, M. J. R; COSTA E SILVA, E.V. Aspectos básicos do comportamento social de bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.31, n.2, p. 172-176, 2007. Disponível em <[www.cbra.org.br](http://www.cbra.org.br)>. Acessado em: janeiro de 2010.

PARANHOS DA COSTA, M. J. R.; SPIRONELLI, A. L. G.; QUINTILIANO, M. H. **Boas Práticas de Manejo – Embarque.** Ed. Funep, 2008. 35p.

PAES, P. R. O. **A influência do desmame, da contenção em tronco e do transporte rodoviário na etologia, hematologia e bioquímica clínica de bovinos da raça nelore**

**(Bos indicus)**. Tese (Doutorado em Clínica Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2005. 123 p.

PARKER, A. J.; HAMLIN, G. P; COLEMAN, C. J; FITZPATRICK, L. A. Quantitative analysis of acid-base balance in *Bos indicus* steers subjected to transportation of long duration. **J. Anim. Sci.** v, 81, p.1434- 1439, 2003.

POWERS, S. K.; JACKSON, M. J. Exercise-induced oxidative stress: Cellular mechanisms and impact on muscle force production. **Physiol. Rev**, v.88, p.1243-1276, 2008, citados por MINKA, N. S.; AYO, J. O. Physiological responses of food animals to road transportation stress **African Journal of Biotechnology** v. 9, n.40, 2010. Disponível em: < <http://www.academicjournals.org>> Acesso em: 10 de maio de 2011.

RASTOGI, S. C. **Essentials of Animal Physiology**. 4<sup>o</sup> Edition. New Delhi, 2007. 597 p.

ROÇA, R. O. 2001. Abate humanitário: manejo *ante-mortem*. **Revista Tec Carnes**. Campinas, SP, v.3, n.1, p.7-12. Disponível em: < <http://www.comciência.br/teccarnes/artigos.htm>> Acesso em: 20 de outubro de 2010.

SCHEFFER, J. F.; GONZÁLEZ, F. D. **Enzimologia Clínica em Medicina Veterinária**. 21 p., 2010.

SILANIKOVE, N. Effects of heat stress on the welfare of extensively managed domestic ruminants. **Livest. Prod. Sci.**, v.67, p.1-18, 2000.

SOUZA, A. A.; FERREIRA, T. I. Influência do transporte sobre a qualidade da carne produzida, [s.l.; s.n], 2010. Disponível em:<<http://www.beefpoint.com.br/radarestecnicos/manejoracional/influenciadotransportesobrea-qualidade-da-carne-produzida-39495n.aspx>>. Acesso em: 01 de julho de 2010.

TARRANT, P. V; KENNY, F.J.; HARRINGTON, D.; MURPHY, M. Long distance transportation of steers to slaughter: effect of stocking density and physiology, behaviour and carcass quality. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v.30, p. 223-238, 1992. Citado por: ROÇA, R. O. Abate humanitário: manejo ante-mortem. **Revista Tec Carnes**. Campinas, SP, v.3, n.1, p.7-12, 2001.

THRALL, M. A. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. 1<sup>a</sup> ed. São Paulo. Roca. 2007. 582 p.

WARRISS, P. D. The transport of animals: A long way to go. (Guest Editorial) **The Vet. J.** [S:.l], n.168, p. 213-214, 2004.

WORLD SOCIETY FOR THE PROTECTION OF ANIMALS. STEPS: Melhorando o Bem-estar Animal no abate. Produção de WSPA e animal-I. 2009. DVD (65 min), son. Color. Com narrativa. Didático.