

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DA PARAÍBA
CAMPUS SOUSA
BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

João Marcos Queiroz Barbosa

**EFICIÊNCIA DA CASTRAÇÃO QUÍMICA POR CLORETO DE CÁLCIO EM
CÃES: RESULTADOS PRELIMINARES**

SOUSA/PB

2026

João Marcos Queiroz Barbosa

**EFICIÊNCIA DA CASTRAÇÃO QUÍMICA POR CLORETO DE CÁLCIO EM
CÃES: RESULTADOS PRELIMINARES**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado,
como parte das exigências para a conclusão do
Curso de Graduação de Bacharelado em
Medicina Veterinária do Instituto Federal da
Paraíba, Campus Sousa.

Orientador: Dr. Francisco Léo Nascimento Aguiar

SOUSA/PB

2026

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Milena Beatriz Lira Dias da Silva – Bibliotecária CRB 15/964

B238e Barbosa, João Marcos Queiroz.
Eficiência da castração química por cloreto de cálcio em cães:
resultados preliminares / João Marcos Queiroz Barbosa, 2026.

39 p. : il.

Orientador: Prof. Dr. Francisco Léo Nascimento Aguiar.
TCC (Bacharelado em Medicina Veterinária) - IFPB, 2026.

1. Esterilização química. 2. Azoospermia. 3. Morfologia
espermática. 4. Histopatologia testicular. 5. Infertilidade
masculina. I. Título. II. Aguiar, Francisco Léo Nascimento.

BC/SG

CDU 619



INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DA PARAÍBA
CAMPUS SOUSA

CURSO SUPERIOR DE BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

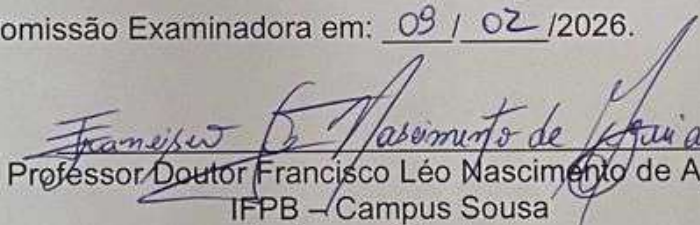
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

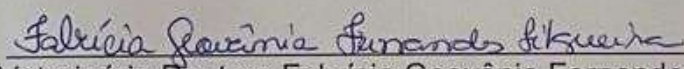
Título: EFICIÊNCIA DA CASTRAÇÃO QUÍMICA POR CLORETO DE CÁLCIO EM
CÃES: RESULTADOS PRELIMINARES

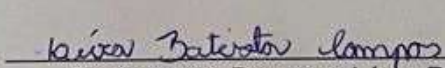
Autor: João Marcos Queiroz Barbosa

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Instituto Federal de Educação, Ciência e
Tecnologia da Paraíba, Campus Sousa como parte
das exigências para a obtenção do título de
Bacharel em Medicina Veterinária.

Aprovado pela Comissão Examinadora em: 09 / 02 /2026.


Professor Doutor Francisco Léo Nascimento de Aguiar
IFPB – Campus Sousa
Professor Orientador


Médica Veterinária Doutora Fabrícia Geovânia Fernandes Filgueira
IFPB – Campus Sousa
Examinadora 1


Professora Doutora Lívia Batista Campos
IFPB – Campus Sousa
Examinadora 2

Dedico este trabalho a Duquesa
(*in memoriam*), minha primeira
amiga de quatro patas, que me
amou independente de qualquer
coisa, e me inspirou a seguir essa
linda profissão

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, aos meus pais, João de Deus Barbosa e Suerda Queiroz, e à minha irmã, Juliana Queiroz. Deixo a vocês minha mais profunda gratidão. O amor, o incentivo e o apoio incondicional de vocês foram a base que me sustentou nos momentos de dúvida, cansaço e superação. Aos meus sobrinhos, João Lucas e José Pedro, agradeço pela alegria espontânea e pela leveza que trouxeram aos meus dias, lembrando-me constantemente do que realmente importa.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Francisco Léo Nascimento de Aguiar, pela orientação segura, pela disponibilidade constante e pelos ensinamentos que ultrapassaram o âmbito técnico, contribuindo de forma significativa para minha formação acadêmica e profissional.

À Prof.^a Dra. Livia Campos, membra da banca examinadora, expresso minha sincera gratidão pelo apoio, pelas contribuições valiosas e pelo acompanhamento atento ao longo de todo o desenvolvimento deste trabalho. Sem você, este percurso não teria sido possível.

À Dra. Fabrícia Geovânia, membra da banca examinadora, agradeço pelas considerações, pela positividade e pelas contribuições que enriqueceram este estudo. Estendo meus agradecimentos à equipe da CCPA — Ana Luzia Peixoto, Izadora Souza, Henrique Daniel e Igor Ferreira — pelo suporte institucional e pela colaboração indispensável à realização deste trabalho.

A Jânio Virgínio e à equipe do Canil Municipal de Sousa–PB, deixo meu reconhecimento pela receptividade, pela confiança e pelo auxílio durante as etapas práticas da pesquisa.

Agradeço, de forma especial, à Prof.^a Dra. Roseane Portela e a Isabela Calixto, cujo apoio na confecção e na análise das lâminas histológicas foi fundamental para a qualidade e a consistência dos achados apresentados, tornando possível a materialização dos resultados deste estudo.

Aos meus pequenos companheiros, Duquesa (in memoriam), Hachi, Ravena (in memoriam), Loki, Zoro (in memoriam), Romeu, John Wick, Serafina, Pitoco e Sabina, agradeço pelo carinho que não pede nada em troca, pelos momentos que fizeram o mundo parecer mais leve do que realmente é, por serem os bichinhos que mais amo e amei nesse mundo, grande parte dessa jornada foi por vocês.

A Armando Melo, meu companheiro, expresso minha gratidão pela parceria, pela compreensão e pelo apoio incondicional. Sua presença foi fundamental para que eu seguisse em frente, mesmo nos momentos mais desafiadores, tornando o caminho mais leve e possível. Um pelo outro. Sempre.

Aos amigos da minha terrinha, Wanderson Carvalho, Luciana Carmem, Allan Gabriel e Neilla Souza, agradeço pela amizade sincera, pelo carinho e pela constância, que resistem ao tempo e à distância. Obrigado por serem meus restauradores mentais nos recessos da faculdade.

É impossível não citar os demais amigos que fiz durante essa caminhada: Amanda Melo, Matheus Macedo, Emanuel Alves e Lúcio Soares, além de minha figura materna sousense,

Tatiane Cavalcanti (Dona Tati). Os momentos vividos com vocês sempre serão lembrados por mim.

Ao meu “Titanic” — Anderson Rodrigues, Armando Melo, Vitória Cavalcanti e Brunna Araújo — deixo minha gratidão pelo apoio, pelas risadas e por lutarem guerras comigo, sendo abrigo seguro quando os desafios pareciam maiores do que eu. Nosso barco não afundou, nem afundará.

A Matheus Oliveira, Francicarla Nascimento, Verinha Estrela e Daniela Oliveira, deixo meu reconhecimento e admiração. Vocês são fontes de inspiração, exemplos de dedicação e humanidade na profissão, e referências que moldaram meus sonhos e objetivos profissionais.

À “Dona” Raimunda (in memoriam) e “Seu” Duda, meus avós paternos; ao “Vovô” Jaime (in memoriam) e à “Vovó” Ionete, meus avós maternos; aos meus tios Célio, Silnei, Simônida, Fernanda, Soraia e Sílvio; e aos meus primos Thayane, Thais, Davi, João Paulo, Luís Felipe e Artur, que, mesmo à distância, não se esqueceram de mim e nunca deixaram de apoiar ou acreditar. O tempo que nos tirou momentos não foi em vão.

Aos meus colegas de graduação — Alana, Alyson, Ana Beatriz, Basílio, Camilly, Emily, Francisco, Iasmim, Jeizom, Joyce, Kahena, Lara Alencar, Lara Fabian, Laura, Lucas, Luis, Matias, Maycon, Nathalia, Nathan, Pedro Germano, Pedro Henrique, Rebeca, Ryandro, Thayline e Vitória Lacerda — é difícil quantificar o quanto fomos grandes juntos. Sem vocês, a caminhada teria sido imensamente mais difícil.

Por fim, agradeço a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho e para minha formação pessoal e acadêmica. Cada apoio recebido teve significado e foi essencial para que este caminho fosse concluído.

*“Que Deus me conceda a serenidade para
aceitar as coisas que não posso mudar,
a coragem para mudar as coisas que posso
e a sabedoria para discernir a diferença.”*

-Reinhold Niebuhr

RESUMO: A superpopulação de cães representa um importante desafio à saúde pública, demandando métodos eficazes, acessíveis e seguros de controle reprodutivo. A castração cirúrgica, embora amplamente utilizada, pode apresentar limitações operacionais e efeitos adversos, o que impulsiona a busca por alternativas, como a esterilização química. O presente estudo teve como objetivo avaliar a eficácia e a segurança da castração química por meio da aplicação intratesticular de cloreto de cálcio (CaCl_2) em diferentes concentrações, comparando seus efeitos clínicos, seminais e histológicos. Foram utilizados seis cães machos, distribuídos em três grupos experimentais: grupo controle submetido à orquiectomia, grupo tratado com CaCl_2 a 40% e grupo tratado com CaCl_2 a 20% associado ao etanol absoluto. Avaliaram-se os efeitos clínicos locais, a motilidade e a morfologia espermática, bem como as alterações histológicas testiculares sete dias após a aplicação. Os animais tratados com CaCl_2 a 20% associado ao etanol apresentaram boa tolerância clínica, sem efeitos adversos significativos, enquanto o grupo CaCl_2 40% apresentou sinais inflamatórios locais moderados. Em ambos os grupos tratados, observou-se ausência de motilidade espermática e elevada frequência de alterações morfológicas. A avaliação histológica evidenciou lesões testiculares de grau moderado no grupo CaCl_2 20% + etanol e alterações severas no grupo CaCl_2 40%, incluindo necrose, degeneração e inflamação. Conclui-se que a aplicação intratesticular de CaCl_2 compromete significativamente a espermatogênese, sendo a formulação a 20% associada ao etanol uma alternativa promissora à orquiectomia, com menor intensidade de efeitos adversos.

Palavras-chave: Esterilização química. Azoospermia. Morfologia espermática. Histopatologia testicular. Infertilidade masculina.

ABSTRACT: The overpopulation of dogs represents a major public health challenge, requiring effective, accessible, and safe reproductive control methods. Although surgical castration is widely used, it may present operational limitations and adverse effects, which has stimulated the search for alternatives such as chemical sterilization. This study aimed to evaluate the efficacy and safety of chemical castration through intratesticular injection of calcium chloride (CaCl₂) at different concentrations, comparing clinical, seminal, and histological outcomes. Six intact male dogs were allocated into three experimental groups: a control group subjected to orchiectomy, a group treated with 40% CaCl₂, and a group treated with 20% CaCl₂ associated with absolute ethanol. Local clinical effects, sperm motility and morphology, and testicular histological changes were evaluated seven days after treatment. Dogs treated with 20% CaCl₂ plus ethanol showed good clinical tolerance, with no significant adverse effects, whereas animals treated with 40% CaCl₂ exhibited moderate local inflammatory reactions. In both treated groups, sperm motility was absent and a high frequency of morphological abnormalities was observed. Histological evaluation revealed moderate testicular lesions in the 20% CaCl₂ plus ethanol group and severe alterations in the 40% CaCl₂ group, including necrosis, degeneration, and inflammation. It is concluded that intratesticular injection of CaCl₂ significantly impairs spermatogenesis, and the 20% CaCl₂ plus ethanol formulation appears to be a promising alternative to orchiectomy, with fewer adverse effects.

Keywords: Chemical sterilization. Azoospermia. Sperm morphology. Testicular histopathology. Male infertility.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Representação esquemática da morfologia testicular do cão macho.....	16
Figura 2 - Representação esquemática da morfologia do espermatozoide canino.....	17
Figura 3 - Produção da formulação de CaCl ₂ a 20% + Etanol.....	21
Figura 4 - Aplicação intratesticular de formulação química de CaCl ₂ 40% em cão.....	22
Figura 5 – Método de Fatiamento de Epidídimo.....	23
Figura 6 - Testículo de animal do Grupo CaCl ₂ 40%.....	25
Figura 7 - Fotomicrografias de espermatozoides de cão do grupo controle.....	26
Figura 8 - Fotomicrografias de espermatozoides de cão do Grupo CaCl ₂ 20% + Etanol.....	27
Figura 9 - Fotomicrografias de espermatozoides de cão do Grupo CaCl ₂ 40%.....	27
Figura 10 - Fotomicrografias de tecido testicular de animal do Grupo Controle.....	29
Figura 11 - Fotomicrografias de tecido testicular de animal do Grupo CaCl ₂ 40%.....	30
Figura 12 - Fotomicrografias de tecido testicular do animal do Grupo CaCl ₂ 20% + Etanol.....	31

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Distribuição quantitativa e percentual das alterações morfológicas espermáticas nos diferentes grupos experimentais de cães submetidos a esterilização cirúrgica (Grupo 1, Controle) e esterilização química (Grupo 2, CaCl ₂ 40%; Grupo 3, CaCl ₂ 20% + Etanol)	28
Tabela 2 - Avaliação semiquantitativa dos achados histopatológicos no tecido testicular dos diferentes grupos experimentais de cães submetidos a esterilização química.....	31

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

% - Porcentagem

+/- Mais

= - Igual

$\geq$ - Maior ou igual que

μL - Microlitro

CaCl_2 - Cloreto de Cálcio diidratado

CCPA - Clínica Cirúrgica de Pequenos Animais

DMSO - Dimetilsulfóxido

G - Gauge

g - Grama

HV-ASA - Hospital Veterinário Adílio Santos de Azevedo

IFPB - Instituto Federal da Paraíba

IPB - Instituto Pet Brasil

LPA - Laboratório de Patologia Animal

mL - Miligrama

mm - Milímetro

MPA - Medicação Pré-Anestésica

n - Número

PB - Paraíba

PI - Peça intermediária

TVT - Tumor Venéreo Transmissível

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO.....	13
2.FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	15
2.1. Sistema reprodutor masculino do cão	15
2.1.1. Morfologia do espermatozóide do cão	16
2.2. Esterilização cirúrgica.....	18
2.2.1 Orquiectomia.....	18
2.3 Esterilização química	19
2.3.1 Cloreto de cálcio	20
3.MATERIAIS E MÉTODOS	21
3.1. Local de estudo e animais	21
3.2. Preparação e aplicação intratesticular das soluções	21
3.2.1. Formulações.....	21
3.2.3. Aplicação intratesticular	22
3.3. Delineamento experimental	22
3.4. Avaliação espermática (motilidade e morfologia).....	24
3.5. Avaliação histológica	25
3.6. Análises estatísticas	25
4.RESULTADOS	25
4.1 Efeitos observados.....	25
4.2 Avaliação espermática	26
4.3 Avaliação histológica.....	28
5.DISSCUSSÃO	32
6.CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	36

1. INTRODUÇÃO

A superpopulação de cães e gatos errantes acarreta impactos significativos à saúde única, representando desafios aos sistemas de saúde municipais, especialmente em função do aumento do risco de transmissão de zoonoses (PAULA, 2012). Estima-se que a maior parte da população de cães e gatos no país vivam em condições de abandono ou vulnerabilidade, segundo dados do Instituto Pet Brasil (IPB), a população de cães e gatos no país já ultrapassa 81,5 milhões de indivíduos, cenário que apresentou crescimento expressivo de 126% entre os anos de 2018 e 2020 (SILVA *et al.*, 2023).

A perpetuação da vulnerabilidade de cães e gatos está associada, principalmente, à desinformação dos tutores e ao elevado potencial reprodutivo dessas espécies, caracterizado por rápido amadurecimento sexual e proles numerosos. Diante disso, torna-se necessária a implementação de medidas eficazes de controle populacional, a fim de mitigar a superpopulação e seus impactos à saúde pública (LIMA *et al.*, 2010).

A esterilização constitui o principal método contraceptivo empregado na Medicina Veterinária, sendo aplicada em diferentes espécies por meio de técnicas cirúrgicas, químicas ou físicas. Tais métodos apresentam variações quanto à eficácia, aos efeitos fisiológicos e comportamentais, bem como à duração dos resultados, de acordo com a técnica adotada (ROMAGNOLI *et al.*, 2024).

Dentre os métodos de esterilização cirúrgica, a orquiectomia é a técnica de eleição para a castração de machos, sendo a abordagem tradicional e mais comumente empregada. Seu objetivo primário é o controle reprodutivo por meio da remoção dos órgãos sexuais, além da redução de comportamentos indesejáveis, como marcação territorial por urina e monta excessiva, em decorrência da supressão dos hormônios gonadais. Entretanto, embora tais comportamentos possam ser atenuados, alguns animais podem desenvolver alterações comportamentais, incluindo medo, fobias, ansiedade ou agressividade redirecionada, o que evidencia possíveis efeitos adversos dessa técnica (CARVALHO *et al.*, 2007; ROMAGNOLI *et al.*, 2024).

Como alternativa, a esterilização química caracteriza-se como um método não invasivo que emprega substâncias capazes de provocar inflamação, fibrose e danos permanentes às estruturas do sistema reprodutor (LOPES & SILVA, 2014). Esses agentes podem ser administrados no testículo, epidídimo ou ducto deferente, resultando em azoospermia e em redução variável das concentrações de testosterona (ROMAGNOLI *et al.*, 2024). Entre as

principais vantagens dessa técnica destaca-se a dispensa do procedimento cirúrgico, especialmente no que se refere ao manejo pós-operatório (LOPES & SILVA, 2014), enquanto que a principal desvantagem do método é que ele deve ser completamente efetivo em todo o tecido, caso contrário, pode haver regeneração de uma parte dos túbulos seminíferos e células de Leydig (PINTO, 2018).

O cloreto de cálcio (CaCl_2) é um dos agentes químicos esterilizantes já testados em diversas espécies (ROMAGNOLI *et al.*, 2024). Seu mecanismo de ação envolve a geração de radicais livres, promovendo destruição dos tecidos tubulares e intersticiais, com consequente redução sérica da testosterona e inibição de enzimas antioxidantes (MOHAMED *et al.*, 2024). O CaCl_2 apresenta-se como uma alternativa vantajosa por seu baixo custo e pela relativa simplicidade e efetividade da técnica, desde que utilizada em concentrações adequadas que associem eficácia esterilizante a mínimos efeitos colaterais (PINTO, 2018; LEOCI *et al.*, 2014a).

Diante da necessidade de controle do crescimento populacional de cães, torna-se essencial o aprimoramento de técnicas de esterilização, bem como, estudos para identificar doses eficazes visando maior viabilidade e praticidade. Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar a eficácia e a segurança da castração química por meio da aplicação intratesticular de cloreto de cálcio (CaCl_2) em diferentes concentrações, comparando seus efeitos clínicos, seminais e histológicos.

2.FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Sistema reprodutor masculino do cão

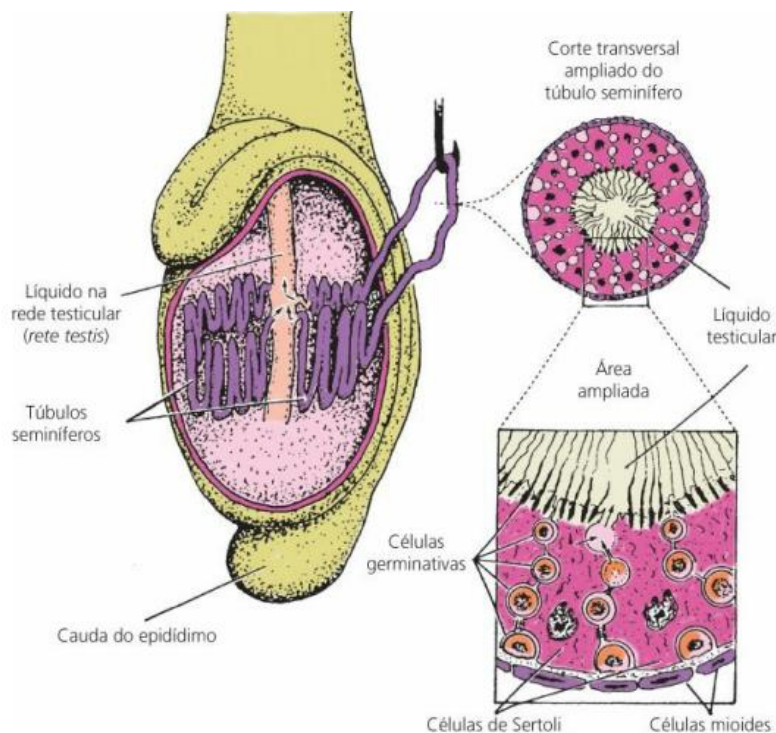
O sistema reprodutor dos caninos machos é composto por um par de testículos, epidídimo (subdividido em cabeça, corpo e cauda), ducto deferente, próstata, uretra e pênis (ROMANO & BRINSKO, 2021).

O escroto é constituído pela pele externa, túnica dartos subcutânea e fáscia espermática externa, estruturas que desempenham papel fundamental na espermatogênese ao promover a manutenção da temperatura testicular, que deve ser inferior a corporal. No interior do saco escrotal localizam-se os testículos, gônadas masculinas responsáveis pela produção de espermatozoides e hormônios. Cada testículo é revestido externamente por uma cápsula fibrosa densa denominada túnica albugínea, que é recoberta pela túnica vaginal visceral, sendo responsável por dar um aspecto liso à superfície testicular. A túnica albugínea emite septos que se projetam para o interior da gônada, subdividindo o parênquima testicular em lóbulos piramidais que convergem em direção ao mediastino testicular (KÖNIG & LIEBICH, 2014).

Cada lóbulo contém de dois a cinco túbulos seminíferos contorcidos, constituídos por células espermato gênicas e células de Sertoli, as quais exercem funções de sustentação e regulação da espermatogênese, fornecendo suporte nutricional e secretando hormônios. Entre os túbulos seminíferos localiza-se o tecido intersticial, que abriga as células de Leydig, responsáveis pela síntese de hormônios esteroides androgênicos, especialmente a testosterona (SENGER, 2015).

A rede testicular (rete testis), localizada no mediastino testicular, recebe os espermatozoides provenientes dos túbulos seminíferos por meio dos túbulos retos e comunica-se com os ductos eferentes, geralmente em número de seis a dez, os quais desembocam na cabeça do epidídimo, estabelecendo a conexão entre o parênquima testicular e o epidídimo. A cabeça do epidídimo recebe espermatozoides ainda imaturos, que adquirem maturidade funcional durante o trânsito pelo ducto do epidídimo, especialmente na região do corpo. Na cauda do epidídimo ocorre o armazenamento das células já maturadas. A partir dessa região, no momento da ejaculação, os espermatozoides seguem pelo ducto deferente, uretra pélvica e uretra peniana, alcançando o meato urinário externo do pênis do cão (KÖNIG & LIEBICH, 2014).

Figura 1 – Representação esquemática da morfologia testicular do cão macho.



Fonte: Dukes e Reece (2017)

As glândulas genitais acessórias contribuem com secreções que compõem o plasma seminal e, portanto, desempenham papel essencial na viabilidade e transporte dos espermatozoides (ROMANO & BRINSKO, 2021).

2.1.1. Morfologia do espermatozóide

O espermatozóide é uma célula altamente especializada composta por cabeça, cauda intermediária e cauda (flagelo). Essa organização estrutural está diretamente relacionada às funções de proteção do material genético, reconhecimento do oócito e motilidade celular (ARAÚJO *et al.*, 2025).

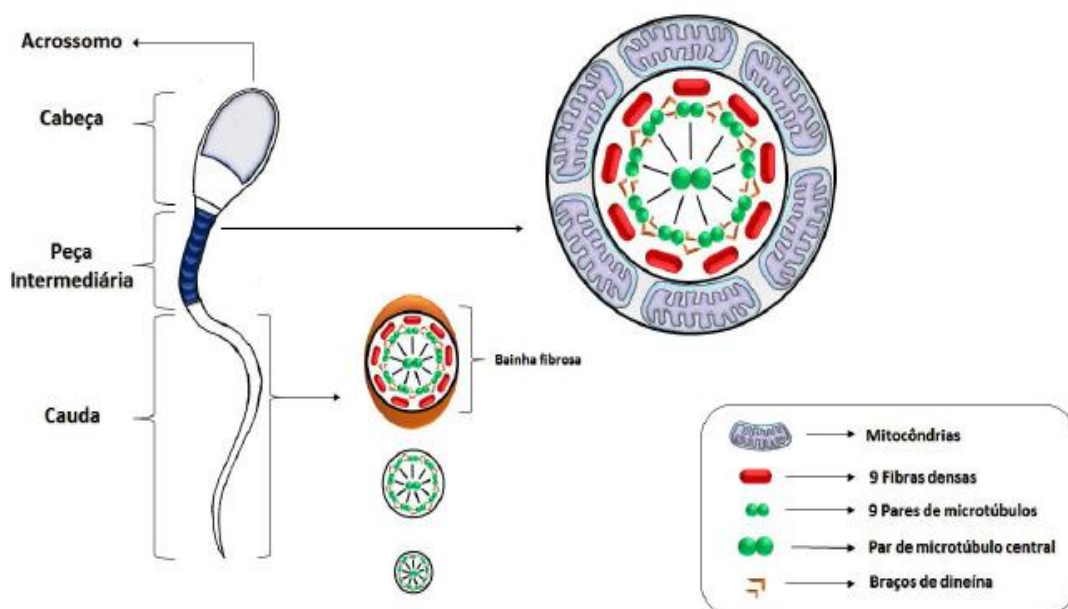
A cabeça apresenta formato elíptico e abriga um núcleo denso, cujo contorno acompanha a morfologia da própria cabeça. Na região anterior localiza-se o acrossoma, uma vesícula achatada situada entre a membrana plasmática e o envelope nuclear, delimitada por membranas anterior e posterior. O acrossoma contém enzimas hidrolíticas, como a hialuronidase e a acrosina, fundamentais para a penetração nas camadas externas do oócito durante a reação acrossômica (SENGER, 2015).

A peça intermediária localiza-se entre a cabeça e a cauda propriamente dita, e é subdividida em colo e na bainha mitocondrial. No colo encontra-se um centríolo, a partir do qual se origina o axonema, estrutura responsável pelo movimento flagelar, constituída por dois microtúbulos centrais e nove dupletos periféricos. Associadas a esses dupletos surgem nove fibras densas, localizadas na periferia do colo, que se estendem longitudinalmente ao longo das porções subsequentes da cauda. Em seguida, na bainha mitocondrial, estão dispostas as fibras densas e o axonema circundadas por mitocôndrias dispostas em espiral. Essas mitocôndrias são responsáveis pela produção da energia necessária à atividade do axonema e, conseqüentemente, à motilidade do espermatozoide. (HIB, 2008; SENGGER, 2015).

O término da bainha mitocondrial marca o início da cauda do espermatozoide, que pode morfológicamente ser subdividido em peça principal e peça terminal. Em suma, a principal diferença destas divisões é sua composição estrutural. Enquanto que a peça principal da cauda é composta pelo axonema, sete fibras densas e duas colunas da bainha fibrosa, a peça terminal conta com o axonema envolto apenas pela membrana plasmática e por microtúbulos independentes, o que caracteriza a porção final da cauda (HIB, 2008).

Na Figura 2, é possível observar a morfologia do espermatozoide canino, além de sua estruturação interna composta de fibras, microtúbulos e axônio, que tende a ficar menos complexa conforme a cauda chega em sua porção final.

Figura 2 - Representação esquemática da morfologia do espermatozoide canino.



Fonte: De Araújo & Silva (2017).

2.2. Esterilização cirúrgica

A esterilização cirúrgica tem sido uma ferramenta global para combater a superpopulação de cães e o risco de doenças de origem reprodutiva, como neoplasia testiculares, tumor venéreo transmissível (TVT), orquites e epididimites. A gonadectomia deve ser realizada apenas após a descida completa dos testículos para o escroto, o que ocorre nos cães por volta das 4-5 semanas (KUTZLER, 2020).

Dentre os métodos mais comuns de esterilização estão a orquiectomia, e a vasectomia. Em suma, a principal diferença entre os efeitos das duas alternativas é a permanência da testosterona na segunda (CAVALCANTE, 2022).

2.2.1 Orquiectomia

A orquiectomia é o procedimento cirúrgico para a remoção dos testículos, epidídimos e parte dos cordões espermáticos dos animais, sendo uma técnica amplamente utilizada na rotina veterinária. Dentre várias técnicas, destaca-se a orquiectomia pré-escrotal aberta (FERNANDES, 2025).

O procedimento inicia-se com a contenção do paciente em decúbito dorsal, seguida da confirmação da presença dos testículos no interior da bolsa escrotal. Após a adequada preparação e anestesia do paciente, procede-se à tricotomia e à antissepsia do abdome caudal e da face medial das coxas, adotando-se cuidados para evitar irritações escrotais decorrentes do uso do tricótomo ou de agentes antissépticos. Em seguida, o campo operatório é delimitado de modo a excluir o escroto da área cirúrgica. Mediante leve pressão escrotal, um dos testículos é deslocado para a região pré-escrotal, onde se realiza uma incisão ao longo da rafe mediana, transpassando a pele, o tecido subcutâneo e a fáscia espermática, possibilitando a exteriorização testicular. Com o testículo exposto, efetua-se a abertura da túnica vaginal parietal, preservando-se a túnica albugínea, a fim de evitar a exposição do parênquima testicular. Na sequência, realiza-se a separação digital do ligamento da cauda do epidídimo, auxiliada por tração com pinça hemostática aplicada à túnica vaginal. As estruturas que compõem o cordão espermático, incluindo o cordão vascular e o ducto deferente, são então devidamente identificadas e submetidas à ligadura, de forma individual ou conjunta, utilizando-se fio absorvível ou, alternativamente, grampos hemostáticos. Após a ligadura, o cordão espermático é seccionado entre a ligadura e uma pinça hemostática previamente posicionada, procedendo-se à inspeção cuidadosa para detecção de possíveis hemorragias. O mesmo procedimento é repetido para o

segundo testículo por meio da mesma incisão cirúrgica. Por fim, a fáscia densa adjacente ao pênis é aproximada com sutura contínua ou interrompida, e o fechamento final é realizado com sutura contínua no tecido subcutâneo e sutura intradérmica, subcuticular ou interrompida na pele (FOSSUM, 2019; OLIVEIRA, 2022).

Essa alternativa cirúrgica, além de preventiva pode ser utilizada como terapêutica de patologias reprodutivas, e sua principal vantagem é a perda definitiva da capacidade reprodutiva do animal, em um único procedimento. Entretanto, são necessários diversos cuidados de assepsia, além de assumir riscos anestésicos, cirúrgicos e pós cirúrgicos, incluindo hemorragias, edema escrotal, deiscência de pontos e infecção (CRUZ, 2015).

2.3 Esterilização química

A esterilização química consiste em uma alternativa não cirúrgica contraceptiva de machos, realizada por meio da administração de agentes químicos diretamente no testículo, epidídimo ou ducto deferente, com o objetivo de induzir a infertilidade por meio da azoospermia. Essa técnica é caracterizada por sua simplicidade, baixo custo, relativa facilidade de execução, além de minimizar as infecções oportunistas e complicações do pós-cirúrgico (LOPES & SILVA, 2014).

Estudos indicam que os métodos de castração química estão associados à ocorrência mínima ou ausente de desconforto após a administração do agente, embora a intensidade das reações possa variar de acordo com a via de aplicação e a substância utilizada. Esse perfil de sensibilidade reduzida relaciona-se à distribuição das terminações nervosas aferentes responsáveis pela percepção dolorosa, as quais se concentram predominantemente na pele escrotal e na cápsula testicular, estando ausentes no interior do parênquima testicular e epididimário (KUTZLER & WOOD, 2006; ROMAGNOLI *et al.*, 2024).

Entre as substâncias investigadas como agentes esclerosantes, destacam-se o cloreto de cádmio, possivelmente o primeiro composto a apresentar efeitos sobre o tecido testicular descritos na literatura, sendo classificado como perigoso e instável (MARTELLI, 2006); o zinco, que passou a ser empregado comercialmente na forma de gluconato de zinco (LOPES & SILVA, 2014); e o cloreto de cálcio, considerado uma alternativa altamente eficaz e promissora em felinos (JANA & SAMANTA, 2011) e em cães (LEOCI *et al.*, 2014a).

2.3.1 Cloreto de cálcio

Uma substância química ideal para a esterilização de cães deve promover a interrupção da espermatogênese, da androgênese e da libido, sem ocasionar efeitos colaterais graves. No entanto, a maioria dos compostos disponíveis não é capaz de eliminar as fontes gonadais de testosterona. Nesse contexto, o cloreto de cálcio di-hidratado (CaCl_2) apresenta-se como uma alternativa promissora, tendo demonstrado quimioesterilização permanente em estudos experimentais (JANA & SAMANTA, 2011), além de redução dos níveis de testosterona em cães machos (LEOCI *et al.*, 2014b).

Estudo realizado em cães por Leoci *et al.* (2014b) avaliou diferentes concentrações de CaCl_2 em solução salina fisiológica ao longo de um período de doze meses. No experimento, os grupos tratados com concentrações de 30% e 60% de CaCl_2 em solução salina alcançaram azoospermia e apresentaram redução dos níveis séricos de testosterona nos primeiros meses, entretanto, a partir do sexto mês, os animais tratados com a solução a 30% demonstraram aumento nos níveis séricos do hormônio. Além disso, a motilidade espermática reduziu-se a zero ou valores próximos em todos os grupos avaliados (10%, 20%, 30% e 60%), e observou-se também diminuição do diâmetro testicular. Nos cães submetidos às concentrações de 10% e 20% não foram observados efeitos colaterais significativos, enquanto as concentrações de 30% e 60% mostraram-se mais agressivas, com ocorrência de dor, inflamação, necrose e formação de fístulas testiculares em alguns animais.

Em novos experimentos, Leoci *et al.* (2014a) avaliou as propriedades esterilizantes de uma solução de CaCl_2 a 20% diluído em álcool etílico a 95%, por via intratesticular, em um período de doze meses. A formulação demonstrou efeito esterilizante duradouro, mantendo azoospermia completa e níveis reduzidos de testosterona ao longo de todo o período de acompanhamento, além de promover a regressão de comportamentos sexuais e agressivos, sem efeitos adversos observáveis. Além disso, houve redução do volume seminal, atrofia testicular progressiva e ausência de dor ou reações inflamatórias significativas.

A técnica de esterilização química por meio da aplicação de CaCl_2 a 20%, diluído em etanol a 95%, mostrou-se eficaz e configura-se como uma possível alternativa à orquiectomia, especialmente em situações em que tutores demonstram resistência à intervenção cirúrgica e à alteração da integridade anatômica dos animais, contribuindo, assim, para estratégias de controle da superpopulação animal (LEOCI *et al.* 2019).

3.MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Local de estudo e animais

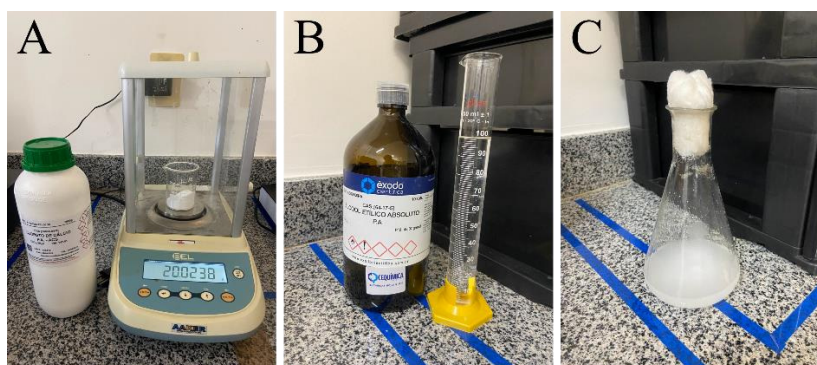
Todos os animais foram previamente submetidos à avaliação clínica geral e andrológica por meio da técnica de palpação, com o objetivo de investigar possíveis anormalidades morfológicas e fisiológicas. O estudo utilizou seis cães machos não castrados ($n = 6$), com idade entre 2 e 4 anos, sendo priorizados cães com escore corporal entre 3 e 4, provenientes do território do IFPB – Campus Sousa e do Canil Municipal de Sousa/PB, distribuídos em três grupos experimentais por meio de delineamento inteiramente casualizado. Os animais do Grupo 1 (controle; $n = 1$) foram submetidos ao procedimento cirúrgico de orquiectomia. O Grupo 2 ($n = 3$) foi submetido à aplicação química intratesticular de solução de cloreto de cálcio a 40% (CaCl_2 40%). Já o Grupo 3 ($n = 2$) recebeu aplicação química intratesticular de solução de cloreto de cálcio a 20% associada ao etanol absoluto (CaCl_2 20% + etanol 100%).

3.2. Preparação e aplicação intratesticular das soluções

3.2.1. Formulações

A formulação de CaCl_2 a 40% foi preparada pela dissolução de 40 g de CaCl_2 di-hidratado em pó em volume final de 100 mL de solução salina fisiológica, seguida de homogeneização e esterilização da solução. Já a formulação de CaCl_2 a 20% associada ao etanol a 100% foi obtida pela dissolução de 20 g de CaCl_2 di-hidratado em pó em volume final de 100 mL de etanol a 100%, sendo a mistura igualmente homogeneizada (Figura 3).

Figura 3 - Produção da formulação de Cloreto de Cálcio a 20% + Etanol 100%. **A)** Balança de Precisão com 20g de Cloreto de Cálcio di-hidratado. **B)** Proveta com 100ml de Etanol Absoluto. **C)** Mistura da formulação.



Fonte: Laboratório de Reprodução Animal (LRA-IFPB).

3.2.3. Aplicação intratesticular

Para a definição da dose a ser aplicada em ambos os grupos experimentais, os testículos foram mensurados com auxílio de um paquímetro. Testículos com comprimento de até 22 mm receberam 0,8 mL da formulação, enquanto aqueles com medidas iguais ou superiores a 23 mm receberam 1,0 mL conforme descrito por Leoci et al. (2014b). A aplicação intratesticular foi realizada por meio de injeção bilateral, utilizando-se agulha 25x7, inserida a partir do polo caudal de cada testículo, a uma distância milimétrica da cauda do epidídimo e direcionada ao polo oposto. A solução foi depositada por infiltração linear, do polo proximal ao distal, em ritmo moderadamente lento, com duração aproximada de 7 a 8 segundos (Figura 4).

Figura 4 - Aplicação intratesticular de formulação química de CaCl_2 40% em cão.



Fonte: Laboratório de Reprodução Animal (LRA-IFPB).

3.3. Delineamento experimental

O animal pertencente ao Grupo 1 (Grupo controle) foi selecionado no Campus do IFPB, sendo submetido à técnica de orquiectomia pré-escrotal aberta, conforme protocolo padrão da Clínica Cirúrgica de Pequenos Animais (CCPA). O cão foi previamente submetido a exame físico andrológico e avaliação hematológica por meio de hemograma completo, sendo posteriormente encaminhado para a preparação pré-cirúrgica. Como medicação pré-anestésica (MPA), foram administrados midazolam 0,5% na dose de 0,2mg/kg, dexmedetomidina 0,01% a dose de 3µg e morfina 1% na dose de 0,2mg/kg, todas por via intravenosa. A indução e a manutenção anestésica foi realizada com propofol a 1% na dose de 4mg/kg via IV,. O bloqueio local intrafunicular utilizou-se da lidocaína 2% com vasoconstritor na dose de 0,5mg/kg por fúnculo. O procedimento seguiu a técnica cirúrgica de Fossum (2021) e após a retirada cirúrgica

dos testículos, o material foi encaminhado ao Laboratório de Reprodução do IFPB para processamento e posterior avaliação seminal.

Os animais dos Grupos 2 (CaCl₂ 40%, n = 2) e Grupo 3 (CaCl₂ 20% + etanol 100%, n = 3) foram selecionados no Canil Municipal João Bosco Estrela, no município de Sousa-PB. No Dia 0, os animais de ambos os grupos permaneceram diante de jejum prévio de 12 horas de alimentos sólidos e 4 horas de líquidos. No Dia 1, após sedação com xilazina 2mg/kg via IM associada à cetamina 10% 10mg/kg via IM, foi realizada a mensuração do diâmetro testicular com o objetivo de determinar a dose adequada, seguida da aplicação bilateral intratesticular das respectivas formulações. No Dia 7, os animais foram novamente anestesiados com xilazina e cetamina seguindo o mesmo protocolo, associadas ao bloqueio local intrafunicular com lidocaína a 2% com vasoconstritor, sendo então submetidos à técnica de orquiectomia pré-escrotal aberta para a retirada dos testículos.

Imediatamente após a exérese testicular, foram confeccionadas lâminas para avaliação da motilidade espermática de todos os cinco cães, bem como preparadas amostras com corante rosa-bengala para posterior análise da morfologia espermática de um cão representativo de cada grupo. Os testículos de um cão de cada grupo foram selecionados, seccionados em dois cortes transversais e fixados em formol, visando ao posterior processamento histológico no Laboratório de Patologia Animal (LPA) do IFPB.

Figura 5 - Método de fatiamento de epidídimo em placa de petri com soro fisiológico aquecido.



Fonte: Laboratório de Reprodução Animal (LRA-IFPB).

Todos os animais do experimento receberam cuidados pós-operatórios, incluindo aplicação tópica de pomada cicatrizante (Ganadol®) uma vez ao dia, durante 7 dias e administração oral de anti-inflamatório (Meloxicam) na dose de 0,2mg/kg, uma vez ao dia, durante 4 dias. Os protocolos anestésicos empregados nos cães dos Grupos 2 e 3 seguiram o padrão adotado pelo Canil Municipal João Bosco Estrela de Sousa-PB, motivo pelo qual diferiram daquele utilizado no animal do Grupo 1 e do inicialmente planejado para o experimento.

3.4. Avaliação espermática (motilidade e morfologia)

A coleta dos espermatozoides foi realizada imediatamente após a retirada cirúrgica dos testículos, diretamente da cauda do epidídimo, por meio do método de fatiamento, conforme descrito por Yu & Leibo (2002). Para isso, a cauda do epidídimo foi disposta em placa de Petri contendo solução fisiológica previamente aquecida em banho-maria e, em seguida, seccionada com auxílio de bisturi. Durante esse procedimento, os espermatozoides migraram para o meio, sendo posteriormente coletados com pipeta para as avaliações subsequentes.

A motilidade espermática avalia a capacidade de deslocamento dos espermatozoides, sendo um dos principais indicadores da viabilidade e potencial fecundante do sêmen. A avaliação foi feita pela visualização e contagem de espermatozoides com atividade móvel, distribuídos em diferentes campos microscópicos, foram considerados móveis aqueles que apresentavam qualquer tipo de movimento. As lâminas foram confeccionadas a partir de 5 µL da solução seminal, e analisadas imediatamente após a preparação em microscópio óptico.

A avaliação morfológica consistiu na contagem de 100 células e sua avaliação, sendo classificadas em normais ou patológicas (Cauda enrolada, cauda fortemente enrolada, cauda quebrada, peça intermediária dobrada, peça intermediária quebrada, cabeça micro, cabeça destacada, cabeça de formato anormal). Quando o número total de espermatozoides observados foi inferior a 100, os resultados foram expressos de forma proporcional, a fim de permitir a comparação entre os grupos experimentais. Para a análise morfológica, as lâminas foram preparadas com a adição de 45 µL do corante rosa de bengala e 5 µL da solução seminal, sendo a mistura homogeneizada e depositada em lâmina de vidro para posterior observação em microscópio óptico.

3.5. Avaliação histológica

Os testículos de um animal de cada grupo foram selecionados aleatoriamente para realização de avaliação histológica. Após utilização de porções da cauda do epidídimo para coleta seminal, os testículos foram encaminhados para o Laboratório de Patologia Animal (LPA-IFPB), onde foram seccionados em dois cortes transversais e conservados em formalina a 10% para fixação, sendo então clivados e processados para avaliação histológica.

3.6. Análises estatísticas

Os dados foram obtidos a partir da contagem numérica dos espermatozoides normais e defeituosos dos grupos controle e tratados. A análise foi qualitativa, expressa em média e percentual.

4.RESULTADOS

4.1 Efeitos observados

Os animais do grupo tratado com CaCl_2 a 40% apresentaram sinais moderados de inflamação local, caracterizados por edema escrotal nos primeiros três dias após a aplicação. No sétimo dia, observou-se considerável redução do edema, entretanto os testículos apresentavam diâmetro discretamente aumentado. Em um dos animais, foi observado aparente processo de cicatrização na região da cauda do epidídimo do testículo esquerdo (Figura 6). Os animais do grupo tratado com CaCl_2 a 20% associado ao etanol apresentaram boa tolerância à aplicação, mantendo-se ativos e sem alterações clínicas locais ou sistêmicas observáveis durante o período de avaliação.

Figura 6 - Testículo de animal do Grupo CaCl_2 40% apresentando ligeiro aumento testicular e processo de cicatrização evidente.



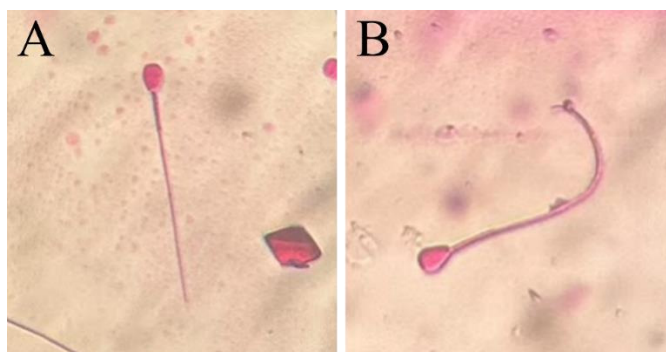
Fonte: Laboratório de Reprodução Animal (LRA-IFPB).

4.2 Avaliação espermática

Quanto à motilidade espermática, no grupo controle, observou-se motilidade de 90% no testículo esquerdo e de 60% no testículo direito. Em contraste, nos animais pertencentes aos grupos tratados com CaCl_2 a 20% associado ao etanol e CaCl_2 a 40%, a motilidade espermática foi ausente (0%) em ambos os testículos. Durante a avaliação da motilidade, o grupo com a maior concentração apresentou uma significativa diminuição no número de espermatozoides visualizados.

No que concerne à morfologia espermática, no grupo controle, 88% dos espermatozoides apresentaram morfologia normal, enquanto 12% apresentaram alterações morfológicas, das quais 10% corresponderam a cauda enrolada e 2% a cauda fortemente enrolada. A Figura 7, ilustra alguns dos achados:

Figura 7 – Fotomicrografias de espermatozoides de cão do grupo controle - Corados por Rosa Bengala. **A)** Espermatozoide normal. **B)** Espermatozoide apresentando cauda curvada com cabeça preservada.



Fonte: Laboratório de Reprodução Animal (LRA-IFPB).

A avaliação da morfologia espermática no Grupo 2 foi realizada por meio da análise de 57 espermatozoides. Observou-se que 15,8% dos espermatozoides apresentaram morfologia normal, enquanto 84,2% apresentaram alterações morfológicas. Dentre as alterações observadas, predominaram defeitos de cabeça, especialmente cabeça destacada (29,8%), além de defeitos de cauda, incluindo cauda fortemente enrolada (24,6%) e cauda enrolada (12,3%). Alterações da peça intermediária também foram observadas, representadas por peça intermediária dobrada (7%) e quebrada (7%). Alterações menos frequentes incluíram cabeça micro (1,8%) e formato anormal (1,8%). A Figura 8 mostra algumas das alterações observadas:

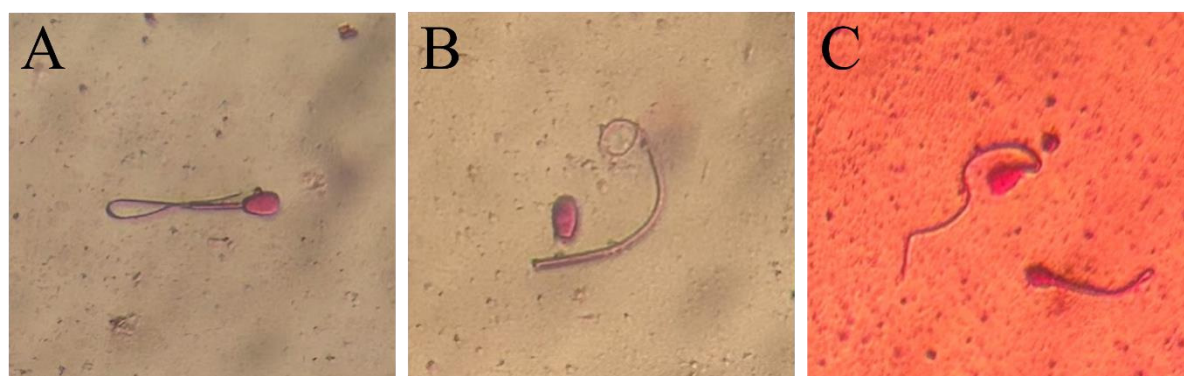
Figura 8– Fotomicrografias de espermatozoides do grupo tratado com CaCl_2 40% - Corados por Rosa Bengala. **A)** Espermatozoide apresentando cabeça bem delimitada, com cauda curta e fortemente curvada, formando ângulo acentuado em relação à peça intermediária. **B)** Espermatozoide com cabeça de contornos definidos e cauda longa, exibindo curvatura distal. **C)** Espermatozoide com cabeça íntegra e cauda fortemente enrolada, posicionada próxima à cabeça, formando múltiplas alças



Fonte: Laboratório de Reprodução Animal (LRA-IFPB).

No grupo 3, 18% dos espermatozoides apresentaram morfologia normal, enquanto 82% apresentaram alterações morfológicas. Dentre estas, observaram-se defeitos de cauda, incluindo cauda enrolada (15%), cauda fortemente enrolada (13%) e cauda quebrada (2%), defeitos da peça intermediária, representados por peça intermediária quebrada (9%), além de alterações de cabeça, como cabeça micro (4%) e cabeça destacada (39%). Como mostra a Figura 9:

Figura 9 – Fotomicrografias de espermatozoides do grupo tratado com CaCl_2 20% + etanol - Corados por Rosa Bengala. **A)** Espermatozoide apresentando cauda dobrada sobre si mesma, formando alça, com cabeça preservada. **B)** Espermatozoide com descontinuidade estrutural, evidenciada por separação da cabeça e cauda, além de cauda encurvada. **C)** Espermatozoide (mais central) exibindo acentuada curvatura da cauda, com aparente fratura na porção final, e peça intermediária curvada, e espermatozoide (abaixo) apresentando cauda dobrada, com formação de alça.



Fonte: Laboratório de Reprodução Animal (LRA-IFPB).

A Tabela 1 mostra a quantidade de alterações observadas nos espermatozoides dos cães dos diferentes grupos experimentais.

Tabela 1 - Distribuição quantitativa e percentual das alterações morfológicas espermáticas nos diferentes grupos experimentais de cães submetidos a esterilização cirúrgica (Grupo 1, Controle) e esterilização química (Grupo 2, CaCl₂ 40%; Grupo 3, CaCl₂ 20% + Etanol).

sptz/grupo	Controle	CaCl ₂ 20% + Etanol	CaCl ₂ 40%
Quantidade (n)	100 (100%)	100 (100%)	57 (100%)
Normal	88 (88%)	18 (18%)	9 (15,8%)
Cauda enrolada/dobrada	10 (10%)	15 (15%)	7 (12,3%)
Cauda fortemente enrolada	2 (2%)	13 (13%)	14 (24,6%)
Cauda quebrada	-	2 (2%)	-
Peça intermediária dobrada	-	-	4 (7%)
Peça intermediária quebrada	-	9 (9%)	4 (7%)
Cabeça micro	-	4 (4%)	1 (1,8%)
Cabeça destacada	-	39 (39%)	17 (29,8%)
Cabeça de formato anormal	-	-	1 (1,8%)

*sptz = espermatozoides

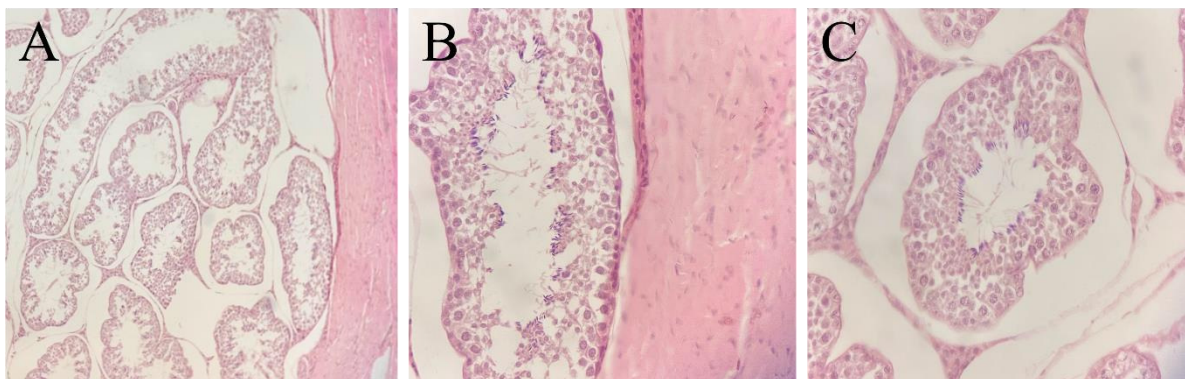
Fonte: Laboratório de Reprodução Animal (LRA-IFPB).

4.3 Avaliação histológica

A avaliação histológica do parênquima testicular permitiu a observação e identificação dos padrões morfológicos, no grupo controle, e das principais alterações teciduais como a necrose, a degeneração tecidual e a inflamação nos grupos tratados.

No grupo controle (Figura 10), o parênquima testicular demonstrou-se com arquitetura preservada, túbulos seminíferos bem delimitados e preservados, epitélio germinativo organizado com espermatogênese ativa. Não foi observado nenhum infiltrado inflamatório significativo, tampouco alterações degenerativas. Entretanto, em túbulos seminíferos isolados observou-se epitélio germinativo raso, bem como redução da celularidade espermática no testículo esquerdo, alterações consideradas discretas e não representativas do padrão geral do grupo. Da mesma forma, o espaço intertubular e a cápsula testicular não apresentaram quaisquer alterações histológica significativa observável, mantendo sua organização e padrão morfológico esperado.

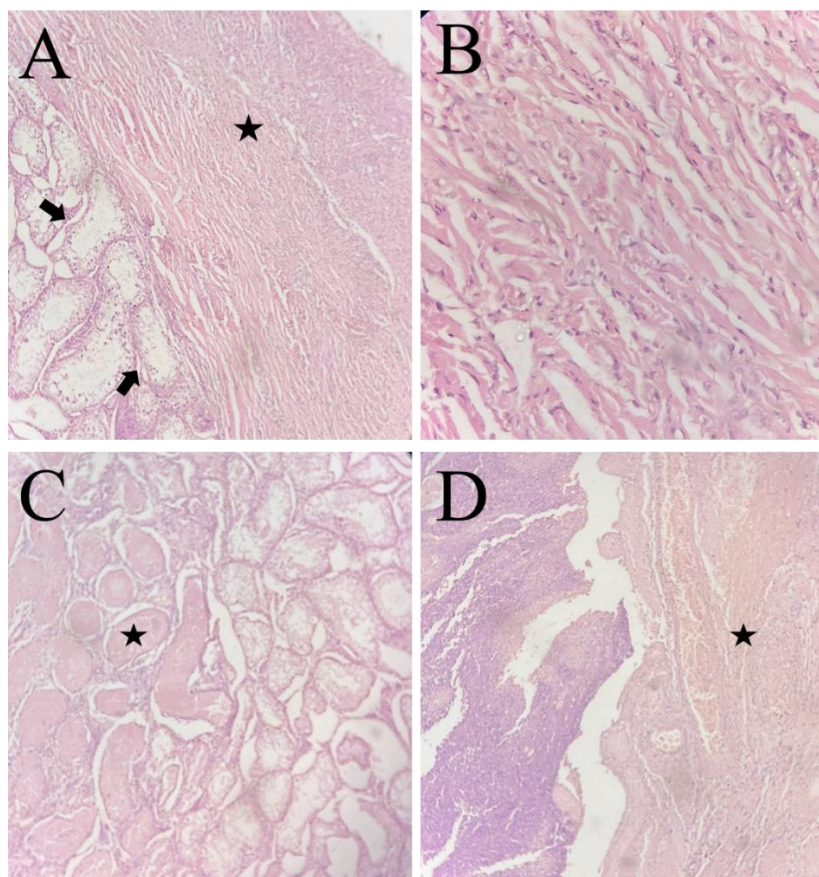
Figura 10 – Fotomicrografias de tecido testicular de animal do Grupo Controle. **A)** Visão panorâmica do parênquima testicular, evidenciando túbulos seminíferos bem delimitados, com arquitetura preservada e interstício discreto. HE, obj. 10x. **B)** Túbulo seminífero, mostrando epitélio germinativo bem organizado, com diferentes estágios da espermatogênese, circundado por cápsula testicular contínua. HE, obj. 40x. **C)** Detalhe de túbulos seminíferos com lúmen evidente e epitélio seminífero espesso, sem alterações morfológicas significativas. HE, obj. 40x.



Fonte: Laboratório de Reprodução Animal (LRA-IFPB).

Nos animais submetidos à formulação de CaCl_2 a 40%, observaram-se alterações histopatológicas de grau acentuado no parênquima testicular. Verificou-se extensa necrose testicular, com comprometimento do tecido remanescente, incluindo áreas de necrose de coagulação e liquefativa, associadas à perda da arquitetura anatômica. Observou-se ainda degeneração acentuada dos túbulos seminíferos, com discreto acometimento da cápsula testicular. O processo inflamatório apresentou-se intenso, caracterizado por infiltrado focalmente extenso na cápsula e inflamação mista no interstício testicular, observou-se neutrófilos, macrófagos e linfócitos. Adicionalmente, constatou-se acentuada redução da celularidade dos túbulos seminíferos, acompanhada de desepitelização, presença frequente de concreções intraluminais e ausência de organização da espermatogênese.

Figura 11 – Fotomicrografias de tecido testicular do animal do Grupo CaCl_2 40%. **A)** Panorama do parênquima testicular, evidenciando espessamento da cápsula testicular (estrela) e presença de infiltrado celular na região capsular, além de túbulos seminíferos com contornos irregulares e redução da celularidade do epitélio germinativo (setas). HE, obj. 10x. **B)** Cápsula testicular em maior aumento, mostrando tecido conjuntivo espessado, e células de núcleos alongados. HE, obj. 40x. **C)** Panorama do parênquima testicular, demonstrando túbulos seminíferos alterados, com áreas de degeneração tubular (estrela) e regiões caracterizadas por preservação do arcabouço tecidual associada à perda de detalhes celulares, citoplasma intensamente eosinofílico e núcleos picnóticos ou ausentes, compatíveis com necrose de coagulação. HE, obj. 10x. **D)** Parênquima testicular, evidenciando extensas áreas necróticas caracterizadas por eosinofilia citoplasmática acentuada, perda da arquitetura celular e ausência ou condensação nuclear, compatíveis com necrose de coagulação, associadas à substituição do parênquima por tecido de aspecto homogêneo (estrela). HE, obj. 40x.

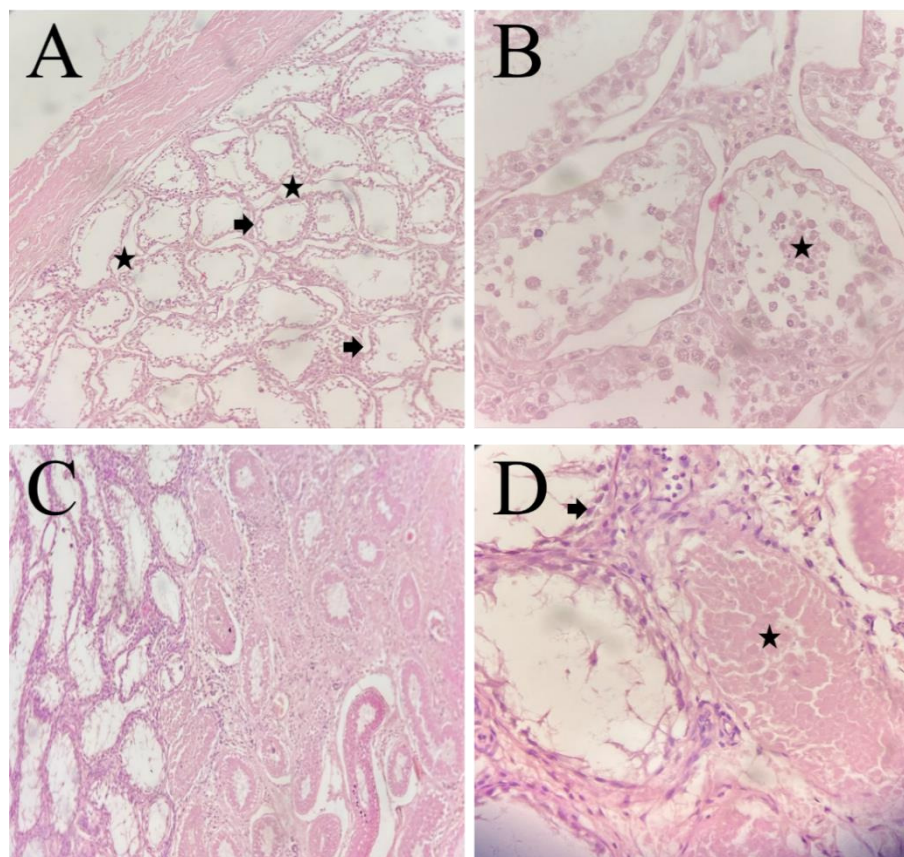


Fonte: Laboratório de Reprodução Animal (LRA-IFPB).

Nos animais submetidos à formulação de CaCl_2 a 20% associada ao etanol, foram observadas alterações histopatológicas de intensidade moderada no parênquima testicular (Figura 12). Verificou-se presença de necrose moderada, restrita ao parênquima, com preservação da cápsula testicular. Observou-se ainda degeneração testicular de grau moderado, associada a infiltrado inflamatório moderado, com discreto acometimento da cápsula testicular em áreas focais. Adicionalmente, constatou-se acentuada redução da celularidade espermática, caracterizada por diminuição do epitélio germinativo, com afinamento e ausência de espermatozoides no lúmen dos túbulos seminíferos. Concreções intraluminais foram observadas em baixa frequência.

Figura 12 – Fotomicrografias de tecido testicular de animal do Grupo CaCl_2 20% + Etanol. **A)** Panorama do parênquima testicular, evidenciando desorganização da arquitetura testicular, com túbulos seminíferos de contornos irregulares, associados a baixa celularidade do epitélio germinativo (setas) e ampliação do espaçamento intertubular (estrelas). HE, obj. 10x. **B)** Túbulos seminíferos mostrando desorganização do epitélio germinativo, redução da celularidade e presença de material eosinofílico intraluminal, caracterizando concreções luminiais (estrela). HE, obj. 40x. **C)** Panorama do parênquima testicular, com acentuada desorganização arquitetural, túbulos seminíferos colapsados e áreas do parênquima

apresentando perda de definição estrutural e redução acentuada da celularidade, compatíveis com área de necrose. HE, obj. 10x. **D)** Parênquima testicular, evidenciando áreas necróticas caracterizadas por perda de detalhes celulares, citoplasma intensamente eosinofílico e núcleos picnóticos ou ausentes (estrela), associadas a aumento do tecido conjuntivo intersticial adjacente (seta). HE, obj. 40x.



Fonte: Laboratório de Reprodução Animal (LRA-IFPB).

A Tabela 2 mostra as alterações encontradas nos diferentes grupos, classificando-as em seu grau de acometimento.

Tabela 2 - Avaliação semiquantitativa dos achados histopatológicos no tecido testicular dos diferentes grupos experimentais de cães submetidos a esterilização química.

	Controle	CaCl₂ 20% + Etanol	CaCl₂ 40%
Necrose	+	++	+++
Degeneração	s/a	++	+++
Inflamação	s/a	++	+++
Concreções luminiais	s/a	+	+++
Baixa celularidade	+	++	+++

Legenda: (+) discreto; (++) moderado; (+++) acentuado; s/a: sem alterações.

Fonte: Laboratório de Reprodução Animal (LRA-IFPB).

5.DISSCUSSÃO

Neste estudo, buscou-se avaliar a eficácia e segurança de uma formulação de Cloreto de Cálcio a 20% associado com etanol absoluto (100%), em comparação com uma concentração mais elevada de Cloreto de Cálcio (40%), e com um animal controle não tratado a fim de avaliar reações adversas nos indivíduos, motilidade espermática, histologia testicular e, como parâmetro diferencial, a morfologia espermática. Em um estudo, Leoci *et al.* (2014b) objetivaram determinar uma concentração adequada para a utilização do Cloreto de Cálcio como esterilizante. No trabalho os grupos estabelecidos receberam as concentrações de 10%, 20%, 30% e 60%, considerando a de 20% eficaz e com poucos efeitos colaterais, enquanto as de 30% e 60% resultaram em efeitos colaterais indesejáveis. Outro estudo de Leoci *et al.* (2014a) avaliou a eficácia da formulação de Cloreto de Cálcio a 20% associado a etanol 95%, com resultados favoráveis. Ambos os trabalhos avaliaram volume seminal, motilidade espermática, dosagem de testosterona sérica, ultrassonografia e histologia.

Neste estudo, o grupo tratado com CaCl_2 20% + Etanol não teve efeitos colaterais observados, onde os cães mantiveram-se ativos, alimentando-se normalmente e sem inflamação local, diferentemente do grupo tratado com CaCl_2 40%, onde nos primeiros dias foi visualizado edema escrotal, que teve diminuição progressiva até o sétimo dia. Os achados clínicos dos animais corroboram os resultados descritos por Hess (2024) e obtidos por Pereira *et al.* (2018), indicando-se que sua ocorrência e grau de acometimento estão relacionadas com a concentração utilizada, sendo mais evidentes no grupo com a maior concentração, e explicados por uma resposta inflamatória local do organismo à lesão. Adicionalmente, embora o edema escrotal tenha diminuído três dias após a aplicação, depois de sua retirada cirúrgica os testículos apresentavam um discreto aumento de tamanho em seu diâmetro, sugerindo-se que essa alteração fosse advinda de edema tecidual do testículo que ainda permanecia mesmo no sétimo dia.

Não foram encontrados estudos que descrevessem processos inflamatórios de cicatrização macroscopicamente em testículos submetidos a injeção intratesticular de CaCl_2 em qualquer concentração ou associação. Sugere-se que a lesão de cicatrização encontrada esteja relacionada à aplicação do agente, bem como um possível erro de técnica na aplicação.

O presente estudo contou com uma amostragem de seis animais, incluindo o controle. Os cães que foram submetidos ao tratamento tiveram seus testículos retirados para avaliação sete dias após a aplicação. Um dos principais questionamentos acerca dos esterilizantes químicos amplamente descritos é sua eficácia a longo prazo. Silva *et al.* (2018), avaliaram uma

injeção intratesticular de Cloreto de Cálcio associado a dimetilsulfóxido (DMSO) em doze cães num período de 60 dias, Oliveira *et al.* (2012) avaliaram a eficácia de injeção intratesticular de gluconato de zinco em 10 cães durante 150 dias, Leoci *et al.* (2019), estudaram por cerca de 270 dias a aplicação de uma formulação de Cloreto de Cálcio no testículo e no epidídimo em 148 cães. Sendo assim, considera-se limitantes a amostragem e o tempo de sete dias de acompanhamento deste experimento para resultados mais conclusivos.

Quanto à motilidade espermática, as alterações descritas por Paranzini *et al.* (2018) em gatos, evidenciam que 80 dias após a aplicação de uma associação de CaCl₂ 20% com DMSO, todos os animais submetidos apresentavam ausência de motilidade. Adicionalmente, Leoci *et al.* (2014a; 2014b) constataram que formulações simples de CaCl₂ à 10% e 20% apresentaram motilidade mínima de 10% e 5%, doze meses depois, e o CaCl₂ à 20%, quando associado com o etanol 95%, durante doze meses, demonstrou motilidade ausente, e portanto, azoospermia. No presente estudo, o grupo controle apresentou motilidade moderadamente adequada (Silva *et al.*, 2002 apud Santos *et al.*, 2016), enquanto nos dois tratamentos estabelecidos a motilidade foi ausente. Os achados se relacionam positivamente aos estudos anteriores e indicam que a associação entre o CaCl₂ à 20% em determinadas associações, possui maior capacidade azoospermica do que quando não associada.

A avaliação morfológica dos espermatozóides realizada no animal controle definiu que 88% eram normais, e 12% eram defeituosos/patológicos, padrão considerado positivo segundo o Manual para Exame Andrológico e Avaliação de Sêmen Animal do Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA. 2013), que define valores $\geq 70\%$ para animais com boa capacidade de fertilização. Enquanto que nos grupos tratados com CaCl₂ 20% + Etanol e no grupo tratado com CaCl₂ 40%, apenas 18% e 15,88%, respectivamente, foram considerados normais. Diante desses resultados, é possível inferir que os cães submetidos às formulações não atingem número aceitável de células normais, e, conseqüentemente, apresentam função reprodutiva comprometida. Esses dados sugerem a ocorrência de falhas na espermatogênese, com possível contribuição e alterações na maturação epididimária, como descrito por UFRGS (2024).

Ainda sobre o estudo morfológico, o grupo tratado com CaCl₂ 20% + etanol apresentou em seus resultados um percentual de 4% para cabeças micro e 39% para cabeças destacadas, ao passo que o grupo tratado com CaCl₂ 40% apresentou 1,8% para cabeças micro, 1,8% para cabeças de formato anormal e 29,8% de cabeças destacadas. Segundo Chenoweth (2005), essas alterações de cabeça estão associadas a falhas transitórias ou permanentes na fase de espermiogênese. As alterações de peça intermediária (PI) corresponderam a 9% para peças quebradas no grupo associado ao etanol, por sua vez, no outro grupo observaram-se 7% para

peças quebradas e 7% para peças dobradas, sendo essas alterações igualmente relacionadas a falhas na espermiogênese (Barth & Oko, 1989). Os achados de cauda estiveram presentes nos animais estudados, correspondendo a 82% dos espermatozoides anormais no grupo do CaCl₂ 20% + etanol, no qual 15% das caudas estavam enroladas, 13% fortemente enroladas e 2% quebradas, entretanto, o grupo CaCl₂ 40% apresentou 24,6% de cauda fortemente enrolada e 12,3% de cauda enrolada. Tais alterações são descritas por Arriola *et al.* (1985) e Blom (1966) como decorrentes de falhas na maturação espermática, associadas a choque térmico, estresse e degeneração testicular.

Os achados histológicos no animal controle demonstraram preservação da arquitetura funcional do parênquima testicular, com túbulos seminíferos íntegros e espermatogênese preservada. Quanto aos animais tratados com ambas as concentrações de CaCl₂, a avaliação foi caracterizada pela presença de alterações e lesões histopatológicas, as quais diferiram quanto à intensidade, uma vez que a concentração de 20% apresentou alterações de grau moderado, enquanto a concentração de 40% exibiu lesões de grau acentuado. Diante do período de avaliação e do padrão morfológico observado, os achados são compatíveis com um processo lesivo em fase aguda a subaguda, uma vez que, apesar da presença de células inflamatórias mononucleares, observa-se desorganização tecidual recente e ausência de fibrose organizada, características que afastam a classificação como processo inflamatório crônico estabelecido (FRANCO *et al.*, 2026; ZACHARY & MCGAVIN, 2018).

Segundo Zachary & McGavin (2018), a necrose coagulativa se origina como resposta inicial à hipóxia, isquemia ou lesão tóxica, podendo evoluir morfológicamente para necrose liquefativa. Adicionalmente, Jana & Samantha (2007) elucidam que o CaCl₂ provoca lesão tóxica abundante, ocasionando estresse oxidativo severo e necrose do tecido testicular. No presente estudo, no animal tratado com a formulação de 20% associada ao etanol, foram observados diversos focos de necrose coagulativa no parênquima testicular, de forma moderada, enquanto no animal tratado com 40% observou-se necrose coagulativa difusa na periferia de extensos focos de necrose liquefativa, de forma acentuada.

A baixa celularidade observada esteve relacionada principalmente às células germinativas dos túbulos seminíferos. No animal submetido à menor concentração, alguns túbulos encontravam-se pouco afetados, apresentando diminuição do epitélio germinativo, enquanto no animal submetido à maior concentração, as células germinativas, em grande parte, haviam desaparecido, juntamente com a arquitetura tubular. Esses achados corroboram os diferentes graus de necrose, degeneração e formação de concreções luminais observados nos

animais tratados, refletindo-se ainda na redução do número de espermatozoides identificados nas lâminas coradas com Rosa-Bengala no animal submetido ao tratamento com CaCl_2 a 40%.

O processo inflamatório também diferiu entre as concentrações, sendo discreto e restrito à cápsula testicular no animal tratado com 20%, enquanto no animal tratado com 40% apresentou-se de forma mais extensa, envolvendo a cápsula e o interstício entre os túbulos seminíferos. Esses achados podem estar relacionados a um processo reparativo mais intenso, o qual pode evoluir, ao longo do tempo, para a deposição de tecido fibrótico, conforme descrito em estudos anteriores (JANA & SAMANTA, 2007; PEREIRA *et al.*, 2018).

Dessa forma, os resultados demonstram que a aplicação intratesticular de cloreto de cálcio compromete de maneira significativa a espermatogênese já no período inicial avaliado, evidenciada pela ausência de motilidade, aumento de alterações morfológicas e lesões histopatológicas proporcionais à concentração utilizada. A formulação de CaCl_2 a 20% associada ao etanol mostrou-se eficaz com menor intensidade de efeitos adversos quando comparada à concentração de 40%. Contudo, o reduzido número amostral e o curto período de acompanhamento indicam a necessidade de estudos adicionais para confirmação da eficácia e segurança a longo prazo.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conclui-se que a aplicação intratesticular de cloreto de cálcio compromete significativamente a espermatogênese em cães, evidenciado pela ausência de motilidade espermática, aumento de alterações morfológicas e lesões histopatológicas testiculares. A formulação de CaCl_2 a 20% associada ao etanol absoluto demonstrou boa tolerância clínica e menor intensidade de alterações teciduais quando comparada à concentração de 40%, que apresentou maior potencial lesivo. Apesar dos resultados promissores, o reduzido número amostral e o curto período de avaliação indicam a necessidade de estudos adicionais para confirmar a eficácia e a segurança do método a longo prazo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARRIOLA, R.P.; JOHNSON, L.; KAPROTH, M.; et al. A specific oligoteratozoospermia in a bull: the sperm tail stump defect. **Theriogenology**, v.23, p.899-913, 1985. DOI: 10.1016/0093-691X(85)90008-1
- BARTH, A.D.; OKO, R.J. **Abnormal morphology of bovine spermatozoa**, Ames: Iowa State University Press, 1989. 285p.
- BLOM, E. A new sterilizing and hereditary defect (the “Dag defect”) located in the bull sperm tail. **Nature**, v.209, p.739-740, 1966.
- CARVALHO, M. P. P.; KOIVISTO, M. B.; PERRI, S.H.V.; SAMPAIO, T. S. M. C. Estudo retrospectivo da esterilização em cães e gatos no município de Araçatuba, SP. **Rev. Ciência em Extensão**. v.3, n.2, p.81, 2007.
- CAVALCANTE, A. M. J. **Efeitos comportamentais à orquiectomia em cães domésticos**. 2022. 27f. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) - Centro Universitário de Brasília
- CBRA (2013) Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**, 3 ed., Belo Horizonte: CBRA, 2013 p. 104.
- CHENOWETH, P.J. Genetic sperm defects. **Theriogenology**, v.64, n.3, p.457-468, 2005.
- CRUZ, T. P. de M. **Estudo retrospectivo de orquiectomia em cães e gatos atendidos em hospital veterinário escola no período de cinco anos**. 2015. 49f. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) - Universidade Federal da Bahia
- DE ARAÚJO, A. A.; KEHL, E. C.; SILVA, I. L. M. et al. Morfologia e patologias espermáticas em mamíferos domésticos. **Ciência Animal**, v. 35, n. 2, p. 96-119, 2025.
- DE ARAÚJO, E. A. B.; SILVA, L. F. M. C.; OLIVEIRA, S. N. et al. Ação das Espécies Reativas de Oxigênio nos Espermatozoides. **Veterinária e Zootecnia**, v. 24, p. 70-83, 2017.
- DOS SANTOS, J. F. P.; GOSMES, E. T.; SIQUEIRA, A. K. M. et al. Andrologia e criopreservação de sêmen em cães. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 40, n. 4, p. 167-179, 2016.
- DUKES, H.H.; REECE, W.O. **Fisiologia dos animais domésticos**. 13. ed., Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan, 2017.
- FERNANDES, D. R.; PASSOS, B. Y. F.; TURQUE, B. M. G. Análise Comparativa entre Orquiectomia e Vasectomia em Cães e Gatos: Revisão de Literatura. **Revista científica de Medicina Veterinária do Uniceplac**, [S. l.], v. 8, n. 1, p. 50–58, 2025. DOI: 10.59370/revet.v8i1.245.
- FOSSUM, T. W. **Cirurgia de pequenos animais**. 5. ed. Rio de Janeiro: GEN Guanabara Koogan, 2021. 1584p.

FRANCO, R. M.; PINTO, F. R. M.; DIAS, E. H. V. et al. Inflamação e dor: uma breve revisão sobre mecanismos e terapêutica. **O Mundo da Saúde**, v. 50, 2026. DOI: 10.15343/0104-7809.202650e18302025P

HESS, R.A.; PARK, C. J.; SOTO, S. et al. Male animal sterilization: history, current practices, and potential methods for replacing castration. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 11, p 1409386, 2024. DOI:, n. 10.3389/fvets.2024.1409386

HIB, J. **Histología de Di Fiore**: texto y atlas, 2. ed. Buenos Aires: Promed, 2008. 560p.

JANA, K.; SAMANTA P. K. Clinical evaluation of non-surgical sterilization of male cats with single intra-testicular injection of calcium chloride. **BMC veterinary research**. v.7, p.39, 2011.

KÖNIG, H. E.; LIEBICH, H.-G. (2014) Órgãos Genitais Masculinos. In: KÖNIG, H. E.; LIEBICH, H.-G. **Anatomia dos animais domésticos: texto e atlas colorido**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014, p. 413-428.

KUTZLER, M. Possible Relationship between Long-Term Adverse Health Effects of GonadRemoving Surgical Sterilization and Luteinizing Hormone in Dogs. **Animals**, v. 10, n.4, p.599. 2020.

KUTZLER, M.; WOOD, A. Non-surgical methods of contraception and sterilization. **Theriogenology**, v. 66, n. 3, p. 514–525, 2006.

LEOCI, R.; AIUDI, G.; CICIRELLI, V. et al. Effects of intratesticular vs intraepididymal calcium chloride sterilant on testicular morphology and fertility in dogs. **Theriogenology**, v. 127, p. 153–160, 2019.

LEOCI, R.; AIUDI, G.; SILVESTRE, F. et al. A dose-finding, long-term study on the use of calcium chloride in saline solution as a method of non-surgical sterilization in dogs: evaluation of the most effective concentration with the lowest risk. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 56, n. 63, p. 1–9, 2014.

LEOCI, R.; AIUDI, G.; SILVESTRE, F. et al. Alcohol diluent provides the optimal formulation for calcium chloride non-surgical sterilization in dogs. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 56, n. 62, p. 1–10, 2014.

LIMA, A. F M.; LUNA, S. P. L.. Algumas causas e consequências da superpopulação canina e felina: acaso ou descaso? **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, [S. l.], v. 10, n. 1, p. 32–38, 2012. DOI: 10.36440/recmvz.v10i1.258.

LOPES, K. R. F.; SILVA, A. R. Castração química de mamíferos machos: revisão. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 38, n. 1, p. 49–53, 2014.

MARTELLI, A; ROUSSELET, E.; DYCKE, C. et al. Cadmium toxicity in animal cells by interference with essential metals. **Biochimie**, v. 88, n. 11, p. 1807-1814, 2006.

MOHAMED, A. M.; FATHI, M.; EL-SHAHAT, K. H. et al. Chemical castration in dogs using calcium chloride: effects on testicular hemodynamics and semen characteristic and serum levels of testosterone. **BMC Veterinary Research**, [S.l.], v. 20, n. 1, p. 511, 2024. DOI: 10.1186/s12917-024-04353-9.

OLIVEIRA, A. L. de A. **Cirurgia Veterinária em Pequenos Animais**. 1. ed. Santana de Parnaíba: Manole, 2022. 384p.

OLIVEIRA, E.C.; MULLER, P.M.; SILVA, F.L. et al. Oral administration of an anti-inflammatory does not compromise the efficacy of intratesticular injection of zinc gluconate as a contraceptive for dogs. **Animal Reproduction Science**, v. 132, n. 3-4, p. 207-212, 2012. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2012.05.003

PARANZINI, C.S.; SOUSA, A. K.; CARDOSO, G.S. et al. Effects of chemical castration using 20% CaCl₂ with 0.5% DMSO in tomcats: evaluation of inflammatory reaction by infrared thermography and effectiveness of treatment. **Theriogenology** v. 106, p. 253-258, 2018. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2017.10.013

PAULA, S. A. **Política pública de esterilização cirúrgica de animais domésticos, como estratégia de saúde e de educação**. 2012. 40 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

PEREIRA, L.F.; DIAS, F.G.; MIGUEL, M.P. et al. Testicular histological evaluation and serum testosterone concentrations of bulls after chemical castration with calcium chloride. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, p. 1554-1563, 2018. DOI: 10.1590/1678-5150-PVB-4945

PINTO, V. A. P. **Métodos químicos para promover esterilização de cães e gatos machos**. 2018. 71f. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) – Universidade de Brasília.

ROMAGNOLI, S. K., N.; CRAMER, K.; KUTZLER, M. et al.. Diretrizes da WSAVA para o controle da reprodução em cães e gatos. **Journal of Small Animal Practice**, v. 65, n. 7, p. 424–459, 2024.

ROMANO, J. E.; BRINSKO, S. P. (2021) Fisiologia Reprodutiva do Macho. In: KLEIN, B. G. **Cunningham Tratado de Fisiologia Veterinária**, 6ª ed.; GEN Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, Brasil, 2021, p. 451-459.

SENGER P. L. **Pathways to pregnancy and parturition**, 3rd edition. Current Conceptions, Inc., Washington, DC, USA, 2015.

SILVA, C. M.; DIAS, S. M. C. Bem-estar de cães e gatos dos centros urbanos. **Átrio**, v. 6, n. 1, 2023.

SILVA, R. C. A.; PARANZINI, C. S.; FRANCO, L. G. et al. Calcium chloride combined with dimethyl sulphoxide for the chemical sterilization of dogs. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 53, n. 6, p. 1130-1338, 2018. DOI: 10.1111/rda.13252

UFRGS. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. **Célula espermática - Defeitos da célula espermática**. Disponível em: <http://penta3.ufrgs.br/veterinaria/celula/1.5-def/def_prin.htm> Acesso em: 24 jan. 2026.

YU. I.; LEIBO, S. P. Recovery of motile, membrane-intact spermatozoa from canine epididymides stored for 8 days at 4 °C. **Theriogenology** v. 57, n. 3, p. 1179-1190, 2002. DOI: 10.1016/s0093-691x(01)00711-7

ZACHARY, J. F.; MCGAVIN, M. D. **Bases da patologia veterinária**. 6. ed. Rio de Janeiro: GEN Guanabara Koogan, 2018. 1408p.

	INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DA PARAÍBA
	Campus Sousa - Código INEP: 25018027
	Av. Pres. Tancredo Neves, S/N, Jardim Sorrilândia III, CEP 58805-345, Sousa (PB)
	CNPJ: 10.783.898/0004-18 - Telefone: None

Documento Digitalizado Ostensivo (Público)

Trabalho de Conclusão de Curso - TCC

Assunto:	Trabalho de Conclusão de Curso - TCC
Assinado por:	Joao Queiroz
Tipo do Documento:	Anexo
Situação:	Finalizado
Nível de Acesso:	Ostensivo (Público)
Tipo do Conferência:	Cópia Simples

Documento assinado eletronicamente por:

- Joao Marcos Queiroz Barbosa, DISCENTE (202118730017) DE BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA - SOUSA, em 09/03/2026 10:20:21.

Este documento foi armazenado no SUAP em 09/03/2026. Para comprovar sua integridade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse <https://suap.ifpb.edu.br/verificar-documento-externo/> e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 1793996
Código de Autenticação: 97f07c712a

