

EVANDRO PAZ BARCELOS

**RELATÓRIO DO ESTÁGIO CURRICULAR SUPERVISIONADO EM
MEDICINA VETERINÁRIA**

Relatório do Estágio Curricular Supervisionado em Medicina Veterinária apresentado ao Curso de Medicina Veterinária, Campus Uruguiana da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária.

Orientador: Fabricio Desconsi Mozzaquatro
Médico Veterinário, Prof. Dr.

**Uruguiana
2017**

EVANDRO PAZ BARCELOS

Relatório do Estágio Curricular Supervisionado em Medicina Veterinária apresentado ao Curso de Medicina Veterinária, Campus Uruguaiana da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária.

Área de concentração: Manejo e Reprodução Equina.

Relatório apresentado e defendido em 07 de Dezembro de 2017

Prof. Dr Fabricio Desconsi Mozzaquatro
Orientador

Prof. Dr. Claudia Acosta Duarte
Universidade Federal do Pampa - UNIPAMPA

Prof. Dr. Guilherme de Medeiros Bastos
Universidade Federal do Pampa - UNIPAMPA

DEDICATÓRIA

Dedico este relatório a minha família que sempre esteve ao meu lado, em especial aos meus pais, que nunca mediram esforços para que eu realizasse este sonho.

Obrigado por confiarem em mim!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer a Deus, por sempre ter me dado forças para chegar até aqui. Por sempre fazer com que a coragem e a força de vontade se sobressaíssem diante dos obstáculos da vida.

Meu especial agradecimento aos meus pais, pois sem eles, nada seria possível. À minha mãe, por ter sido uma verdadeira guerreira na criação e educação dos seus filhos, trabalhando duro para isso e nunca lhes deixando faltar nada, oferecendo-lhes muito além daquilo que lhe era possível. Ao meu pai, que mesmo enfrentando problemas cardíacos durante minha graduação, sempre se fez presente. Não é só um coração valente, mas sim um grandioso coração, um exemplo para mim. Pai e mãe, muito obrigado pela confiança, serei eternamente grato a vocês.

Aos meus irmãos Ivan e Bernardo por sempre estarem ao meu lado, mesmo nos momentos mais difíceis. À minha irmã Poliana, um agradecimento especial, não só por todo carinho e apoio para comigo, mas por ter dado a luz a um anjo chamado Heitor, que veio para trazer muitas alegrias à nossa família. Obrigado por ter vocês em minha vida!

Aos meus avós, pois são meus exemplos todos os dias. Exemplos de caráter, de idoneidade e de seres humanos.

À minha namorada Luisa, por ser uma grande incentivadora e entusiasta. Muitas vezes me mostrando um caminho de luz nos momentos mais difíceis. Muito obrigado pelo carinho, amizade e compreensão.

Aos meus dois fiéis companheiros nessa jornada, Chico e Julica. Não são apenas cães para mim, são anjos de quatro patas, meus melhores confidentes em troca apenas de um pouco de carinho e atenção.

Aos grandes amigos da minha querida cidade de Osório, lugar onde fui criado e tenho imenso carinho. Aos amigos que fiz em Uruguaiana, pois foram minha família neste período. Muito obrigado, sempre terão um espaço especial em meu coração.

Aos amigos e Médicos Veterinários Renato Duarte Icart e Thiago Andreolla Persici, muito obrigado pela oportunidade de estágio, pelos ensinamentos e pela confiança.

Ao Professor Orientador Fabrício Desconsi Mozzaquatro, por ter abraçado este desafio junto comigo.

A todos os professores e funcionários do Curso de Medicina Veterinária, por me proporcionarem um ensino de qualidade excelente.

Enfim, gostaria de agradecer a todos que contribuíram para que eu chegasse até aqui.

RELATÓRIO DO ESTÁGIO CURRICULAR SUPERVISIONADO EM MEDICINA VETERINÁRIA - ÁREA DE MANEJO REPRODUTIVO EQUINO

O presente relatório descreve as atividades desenvolvidas e acompanhadas durante a realização do Estágio Curricular Supervisionado em Medicina Veterinária. Este foi realizado na área de Manejo e Reprodução Equina. Como local de estágio optou-se pela Reconquista Agricultura e Pecuária, com sedes nas cidades de Alegrete e Uruguaiana-RS, sob orientação do Professor Dr. Fabrício Desconsi Mozzaquatro e supervisionado pelos Médicos Veterinários Renato Duarte Icart e Thiago Andreolla Persici. O estágio foi realizado entre 31 de julho de 2017 e 05 de novembro de 2017, com um total de 560 horas, sendo cumpridas em 14 semanas, com 40 horas semanais. Todo manejo reprodutivo equino da Reconquista Agropecuária era realizado na Estância Sarandi, que é localizada no Município de Uruguaiana. Neste local é onde foram realizadas a maior parte das atividades durante o Estágio Curricular Supervisionado em Medicina Veterinária e, dentre estas, podemos destacar como principais as seguintes: palpções retais para controles foliculares, seleções de receptoras, colheitas de sêmen, inseminações artificiais, transferências de embrião e diagnósticos de gestação.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 – Exame ginecológico das éguas que foram trabalhadas no ECSMV. A: modelo de ficha de controle folicular contendo número do registro, nome da égua e exame do dia. B: momento de controle folicular com palpação retal e ultrassonografia. Fonte: arquivo pessoal, 2017.....18
- Figura 2 – Ilustração dos procedimentos de coleta de sêmen e manejo dos garanhões durante o ECSMV. A: preparo da vagina artificial modelo Hannover com água aquecida a 52°C e passagem de pequena quantidade de vaselina sólida sem sal na região de penetração. B: rufiação para excitação do garanhão com uma égua em cio. Fonte: arquivo pessoal, 2017.....20
- Figura 3 – Manejo do ejaculado pós coleta de sêmen. A: cavalo em momento de descida do manequim após ejaculação. B: mesa térmica com copo coletor já com o sêmen coletado, lâminas, lamínulas e diluente em pré-aquecimento e microscópio para posterior avaliação seminal Fonte: arquivo pessoal, 2017.....21
- Figura 4 – Técnica de coleta de embrião equino. A: materiais utilizados para auxiliar na involução. Espéculo vaginal de Polanski e pinça de Albrechtsen higienizados com álcool 70%. B: lavagem da região vulvar e perineal com água corrente e sabão neutro. Fonte: arquivo pessoal, 2017.....23
- Figura 5 – Materiais utilizados na coleta de embrião equino. A: soluções Ringer Lactato em banho maria a 37°C. B: sonda siliconada de duas vias submersa em solução de Gluteraldeído. Fonte:arquivo pessoal, 2017.....24
- Figura 6 – Técnica de coleta de embrião. A: lavagem uterina através da sonda siliconada de duas vias, com duas torneiras. Pedestal para solução e fixação do copo coletor com filtro. Jarra com medida para controle da quantidade de líquido após lavagem uterina. B: momento de rastreamento do embrião no copo coletor. Fonte: arquivo pessoal, 2017.....25

- Figura 7 – Procedimentos laboratoriais utilizados para a limpeza e manipulação embrionária. A: pré-aquecimento da placa de Petri descartável com gotas de meio Holding para lavagem do embrião. B: lavagem do embrião nas diversas gotas de meio Holding através de uma palheta de 0,5ml de sêmen acoplada em uma seringa de insulina. Fonte: arquivo pessoal, 2017.....25
- Figura 8 - Visualização de um Blastocisto expandido grau 1. Fonte: arquivo pessoal, 2017.....27
- Figura 9 - Dois embriões em uma gota de meio Holding, pré-aquecidos a 37°C. Fonte: arquivo pessoal.....28
- Figura 10 - Esquemática do processo de fixação do cateter no corpo uterino e da recuperação embrionária. Fonte: Squires, (1993).....34
- Figura 11 – Esquema representando a manipulação cervical durante o procedimento de transferência de embriões equinos. A: abertura da vagina com o espéculo de Polanski e pinçamento da região externa do colo uterino com a pinça de Albrechtsen, com o auxílio de uma lanterna. B: tração caudal do cérvix para redução das tortuosidades e passagem da pipeta para inovulação. É possível observar a camisa sanitária protegendo a pipeta. Fonte: Allen & Wilsher (2004).....35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Atividades desenvolvidas durante o Estágio Curricular Supervisionado em Medicina Veterinária (ECSMV) na propriedade Reconquista Agropecuária, no município de Uruguaiana, RS, no período de 31 de julho a 05 de novembro de 2017.....	14
Tabela 2. Divisão das categorias de éguas e números de palpações retais e controles foliculares por ultrassonografia.....	17
Tabela 3. Escala de qualidade embrionária utilizada durante o ECSMV. Fonte McCue (2011).....	26
Tabela 4. Procedimentos de transferência de embrião realizados durante o Estágio Curricular Supervisionado em Medicina Veterinária.....	28
Tabela 5. Tabela com diagnósticos de gestação realizados até o dia 05/11/2017.....	29

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS.....	13
2.1 Local de estágio	13
2.2 Seleção de doadoras e receptoras.....	15
2.3 Controle folicular	16
2.4 Sincronia doadora e receptora	18
2.5 Colheita de sêmen.....	19
2.6 Inseminação artificial	22
2.7 Colheita, classificação e transferência de embrião	23
2.7.1 Colheita	24
2.7.2 Classificação embrionária	26
2.7.3 Transferência embrionária	27
2.8 Diagnóstico de Gestação.....	28
3. DISCUSSÃO	30
3.1 Sincronia doadora e receptora	30
3.2 Transferência de Embrião	32
4. CONCLUSÃO	37
REFERÊNCIAS.....	38
ANEXO A.....	42

1. INTRODUÇÃO

A equideocultura tem mostrado significativo desenvolvimento nos últimos anos, não só no número de animais produzidos e comercializados, como nos números gerais de mercado, dentre empregos ofertados e negócios realizados. O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), relata o crescimento do setor, destacando o aumento do faturamento que, em 2009 era em torno de 7,3 bilhões, para os 16 bilhões de reais atingidos no ano de 2016, segundo levantamento feito pelo Canal Rural (MAPA, 2009).

Só a raça Crioula, segundo a Associação Brasileira de Criadores de Cavalos Crioulos (ABCCC), movimenta cerca de 1,28 bilhões por ano, registrando mais de 400 mil animais espalhados por todo território nacional (ABCCC, 2017).

Estes números da equideocultura refletem diretamente na economia do país, gerando em torno de 610 mil empregos diretos e 2,5 milhões de empregos indiretos, sendo responsável assim por mais de 3 milhões de postos de trabalho (MAPA, Equideocultura 2016). A partir desses dados, entende-se o importante papel, que ocupa o médico veterinário nesse meio, se tornando ferramenta fundamental para obtenção de melhor eficiência reprodutiva e esportiva desses animais, além de ter um importante papel no controle de doenças infectocontagiosas que podem causar grandes perdas econômicas nesse setor e danos ao bem estar dos animais. Dentre as áreas da equideocultura, uma das que mais se desenvolvem são as biotecnologias da reprodução e a busca por resultados e gerações de animais de alto valor genético.

O presente relatório procura descrever as atividades realizadas durante o Estágio Curricular Supervisionado em Medicina Veterinária (ECSMV), realizado na Reconquista Agropecuária. Foi supervisionado pelos Médicos Veterinários Thiago Andreolla Persici e Renato Duarte Icart, sob orientação do Prof. Dr. Fabrício Desconsi Mozzaquatro, sendo realizado no período de 31 de julho de 2017 a 05 de novembro de 2017, totalizando 560 horas, cumpridas 40 horas semanais, num período de 14 semanas.

Dentre os diversos estágios e experiências realizadas ao longo do curso, nas mais diferentes áreas de atuação do Médico Veterinário, escolheu-se por maior afinidade e oportunidades profissionais, a área de Manejo e Reprodução Equina para realização do ECSMV e, futuramente, especialização na mesma.

Dos principais objetivos, destacam-se o aprimoramento dos conhecimentos teórico-práticos obtidos durante o curso, além do acompanhamento rotineiro de um Veterinário, possibilitando um contato direto com o ambiente de trabalho.

2. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

2.1 Local de estágio

O estágio curricular para conclusão do Curso de Medicina Veterinária na Universidade Federal do Pampa foi realizado no período de 31 de julho de 2017 a 05 de novembro de 2017, na Reconquista Agropecuária, localizada na Rodovia RST 377, km 20, Alegrete/RS. A propriedade possui mais duas sedes no município de Uruguaiana, sendo a Estância Sarandi e a Estância Paineiras.

A Estância Reconquista conta com aproximadamente 3.000 hectares de campo que são destinados ao plantio de soja, cria e recria de gado e recria de equinos. A sede conta com a casa dos proprietários, casas para os funcionários, mangueira com tronco específico para bovinos que também pode ser usado para equinos, galpão para máquinas e dois galpões com 30 baias em cada, para animais que estão no período de doma, treinamento, preparo morfológico ou em preparos para serem comercializados.

A Estância Paineiras, conta com aproximadamente 500 hectares, uma casa para o capataz e mangueira para gado. Este campo é destinado exclusivamente para a criação de gado.

Na Estância Sarandi, onde foram realizadas as principais atividades do ECSMV, era feito o manejo reprodutivo das éguas e onde ficam os garanhões que irão cobrir na temporada reprodutiva. A mesma conta com aproximadamente 800 hectares de campo, com baias e poteiros específicos para os garanhões, sendo os poteiros separados por fios de choque e corredores com dois metros entre um poteiro e outro; baias para fêmeas que estão em preparo morfológico e serão doadoras de embrião; baias para animais que estão em preparo para serem comercializados; mangueira com dois troncos cobertos específicos para equinos e bovinos, separadamente; manequim para colheita de sêmen; laboratório contendo microscópio, lupa, mesa aquecedora, banho maria, dois botijões de criopreservação, torneira com aquecimento, prateleiras com medicamentos, uma jarra elétrica, materiais para colheita de sêmen e transferência de embrião.

O estágio foi supervisionado pelos Médicos Veterinários Thiago Andreolla Persici e Renato Duarte Icart, sendo em período integral, totalizando 560 horas.

A estância conta com veterinários para clínica e reprodução equina e com veterinários responsáveis pelo manejo sanitário e reprodutivo bovino. Nos equinos, os responsáveis são os Médicos Veterinários Thiago Andreolla Persici e Renato Duarte Icart.

Durante o Estágio Curricular Supervisionado em Medicina Veterinária (ECSMV), realizado na Reconquista Agropecuária, foram acompanhadas atividades em diversas áreas de atuação do médico veterinário, conforme demonstrado na TABELA 1 com dados de números de casos atendidos e o percentual que cada uma das diferentes atividades representou no total destes atendimentos.

TABELA 1 – Atividades desenvolvidas durante o Estágio Curricular Supervisionado em Medicina Veterinária (ECSMV) na propriedade Reconquista Agropecuária, no município de Uruguaiana, RS, no período de 31 de julho a 05 de novembro de 2017.

Atividades realizadas	Número de casos	Percentual %
Controle folicular/palpações retais	988	63,61%
Seleção das receptoras	48	3,09%
Colheita de sêmen	168	10,81%
Inseminação artificial	152	9,78%
Transferência de embrião	09	0,57%
Diagnóstico de gestação	102	6,56%
Radiografias articulares	04	0,25%
Infiltrações intra-articulares	03	0,19%
Bloqueios perineurais	05	0,32%
Orquiectomias	12	0,77%
Síndrome de cólica	01	0,06%
Tratamento de ferida aberta	05	0,32%
Colheita de sangue para exames de AIE e Mormo	56	3,60%
Total de atividades	1553	100%

A equipe é responsável por todo manejo equino da propriedade, que conta com um número aproximado de 600 animais, dentre animais de serviço, éguas de cria, garanhões, potros, animais em treinamento funcional, animais em preparo morfológico e animais sendo preparados para dois leilões anuais da propriedade.

A convivência com o ambiente de estágio referido acima, teve como objetivo o aprimoramento dos conhecimentos teóricos adquiridos durante o curso de Medicina Veterinária, colocando em prática os conhecimentos adquiridos ao longo do curso de Medicina Veterinária e a troca de experiências e estudos com estes profissionais.

2.2 Seleção de doadoras e receptoras

Na propriedade em que foi realizado o ECSMV, as doadoras eram escolhidas pelo proprietário. A metodologia de seleção era realizada através do material genético da doadora, dos títulos que ela possui e, caso ela esteja em preparo para exposições morfológicas ou em treinamento para o ciclo do Freio de Ouro. Na raça Crioula, a cada período gestacional todas as éguas confirmadas poderão gerar um produto, seja no próprio ventre ou por transferência de embrião. Já as éguas inscritas no Registro de Mérito; as classificadas em primeiro, segundo, terceiro e quarto lugares do Freio de Ouro da Associação Brasileira de Criadores de Cavalos Crioulos (ABCCC) e da Federação Internacional de Criadores de Cavalos Crioulos (FICCC); as quatro melhores fêmeas da competição morfológica da Expointer e da FICCC; e as éguas classificadas em primeiro, segundo, terceiro ou quarto lugares da categoria geral da Marcha Oficial da ABCCC e da FICCC e as éguas Tríplice Coroadas, têm a possibilidade de gerar dois produtos a cada temporada reprodutiva (ABCCC, 2017).

Já a seleção das receptoras, é realizada pelos médicos veterinários durante o início da temporada reprodutiva, sendo que a propriedade dispõe de um grupo com aproximadamente 48 receptoras (uma média de 3 receptoras para cada égua), podendo haver troca de algumas no dia da seleção. Porém, todas devem ser confirmadas e ter registro genealógico na Associação Brasileira de Criadores de Cavalos Crioulos.

A escolha da receptora é de extrema importância para o sucesso de um programa de TE. Devem ter boa habilidade materna, escore corporal entre dois e meio e três (na escala de um a

cinco), devem estar livres de doenças infectocontagiosas e possuir um bom histórico reprodutivo.

Previamente ao início das transferências embrionárias, as receptoras passavam por um exame clínico, onde eram avaliados os seguintes parâmetros: escore corporal, tempo de preenchimento capilar (TPC), coloração das mucosas, temperatura, frequência cardíaca e respiratória.

Logo em seguida, realizava-se um exame clínico reprodutivo, começando por uma avaliação externa dos órgãos, tais como: integridade da glândula mamária, palpação do úbere para avaliar conformação e consistência dos tetos. Também se observava o posicionamento vulvar, a presença ou não de secreção e a coaptação dos lábios vulvares.

Posteriormente à avaliação externa, as fêmeas eram submetidas a um exame ginecológico interno, iniciando com a palpação retal do corpo e dos cornos uterinos, logo em seguida os ovários eram palpados. Como diagnóstico complementar, utilizava-se ultrassonografia transretal, o que possibilita ter visão interna de tamanho, forma, localização e consistência de todo aparelho reprodutor.

Para o exame interno da vagina, higienizava-se a região do períneo e da vulva com água corrente e detergente neutro e posteriormente a secagem com papel toalha. Após isso, passava-se o espéculo vaginal e, com o auxílio de uma lanterna em formato de caneta, avaliava-se a abertura do canal da cérvix, a coloração vaginal, o grau de umidade, a presença de líquido e a classificação deste, caso houvesse.

2.3 Controle folicular

Os exames através de palpação retal e ultrassonografia permitem ao veterinário identificar qual é o melhor momento para realizar a inseminação artificial, porém, para isto é preciso técnica e conhecimento da fisiologia do ciclo estral.

As fêmeas equinas apresentam ciclo reprodutivo dividido em um período ovulatório durante a primavera/verão e um anovulatório no outono/inverno.

Num período que compreende da metade da primavera, até o verão, as éguas ciclam regularmente, ou seja, cada ciclo estral tem duração média de 21 dias. No ECSMV, previamente ao início dos exames ultrassonográficos de controle folicular de

cada dia, o Médico Veterinário reavaliava as anotações e os exames do dia anterior e formulava uma tabela com os animais que seriam examinados posteriormente.

Já com o início dos exames, as éguas com folículo ≥ 40 mm e edema uterino entre dois e três, eram separadas para serem inseminadas após a coleta dos garanhões e retornavam para acompanhamento da ovulação no próximo dia de exames. Algumas éguas com folículo ≥ 35 mm eram induzidas com Deslorelina (Sincrorelín®, Ouro Fino) na dose de 1mg/IM e inseminadas 36 horas após.

Já as éguas que apresentavam Corpo Lúteo e textura uterina compatível com diestro, ao sétimo dia após a ovulação recebiam Dinoprost Trometamina (Lutalyse®, Pfizer, 5 mg/IM por animal) para luteólise do Corpo Lúteo.

No diestro, a cérvix apresentava-se seca, com coloração rósea pálida e fechada, o que evita a entrada de contaminantes no útero. O hormônio predominante neste período é a progesterona, que é produzida pelo corpo lúteo e tem como principal função manter a gestação no período inicial.

Durante o ECSMV, foram realizados 988 exames de acompanhamento ultrassonográfico de dinâmica folicular, como mostra a TABELA 2.

TABELA 2 – Divisão das categorias de éguas e números de palpações retais e controles foliculares por ultrassonografia: em um total de 166 éguas de cria, foram realizados 806 exames de controle folicular com palpação retal e ultrassonografia; as 16 doadoras de embrião foram examinadas 60 vezes; já as 48 receptoras, foram submetidas 122 vezes a exames ultrassonográficos de controle folicular.

CATEGORIAS				
	Éguas de cria	Doadoras	Receptoras	Total
Números de éguas	166	16	48	230
Controle folicular	806	60	122	988

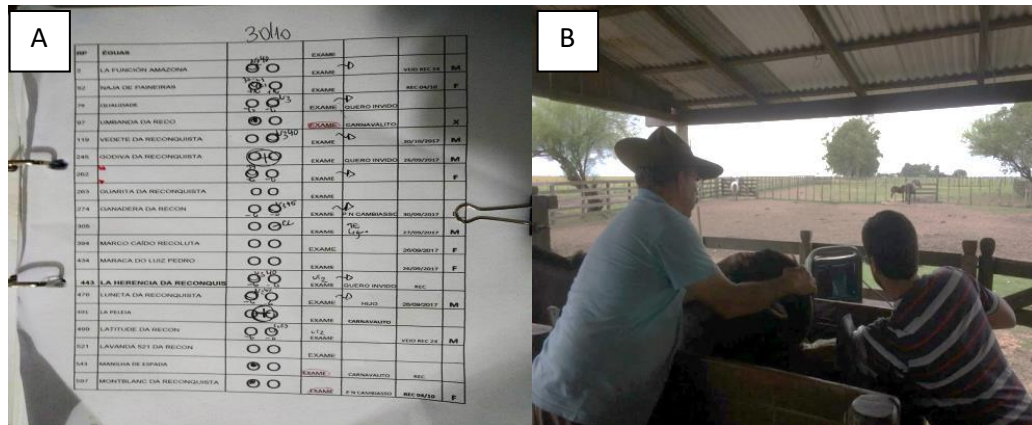


FIGURA 1 – A: modelo de ficha de controle folicular contendo número do registro e nome da égua. B: momento de controle folicular com palpação retal e ultrassonografia. Fonte: arquivo pessoal, 2017.

Os dias de exames eram segundas, quartas e sextas feiras, pois eram os dias em que os garanhões eram coletados para enviar sêmen e, para inseminar as éguas da propriedade. Após a colheita, priorizavam-se os envios de sêmen.

2.4 Sincronia doadora e receptora

Assim como uma receptora bem escolhida, a sincronia entre doadora e receptora é um dos principais pontos para o sucesso de uma TE. Durante o ECSMV, quando uma doadora estava prestes a apresentar cio, examinava-se as doadoras e então eram selecionadas duas ou três receptoras cujo período estral mais se aproximasse da doadora.

A doadora que estivesse com foliculo $\geq 35\text{mm}$ e edema uterino entre dois e três, era induzida à ovulação com 1 mg/IM de Deslorelina (Sincrorelina®, Ouro Fino) e inseminada. Sua ovulação era acompanhada nas próximas 24 e 48 horas. A lavagem uterina na doadora era realizada entre sete, ou sete dias e meio após a ovulação (D7) e, preconizava-se que a receptora estivesse no quarto dia após ovulação (D4).

Durante o ECSMV, no início da temporada reprodutiva e dos programas de TE, o número de receptoras é relativamente farto, no entanto, a sincronia entre doadora / receptora era feita pelo acompanhamento natural do ciclo estral, ou seja, quando a doadora entrava em

cio, examinava-se as receptoras e escolhia-se três que estivessem nessa mesma fase do ciclo estral.

Quando uma égua doadora ovulava, na ausência de receptora ovulada espontaneamente, era induzida a ovulação de uma receptora com Deslorelina na dose de 1mg/IM (Sincrorelín®, Ouro Fino). Com isso a receptora ovulava em torno de 36 a 48 horas após a doadora, ficando dentro da janela de sincronização entre a ovulação da doadora e da receptora.

2.5 Colheita de sêmen

Os garanhões eram coletados sempre três vezes por semana, sendo segunda, quarta e sexta, exceto quando havia alguma doadora de embrião para ser inseminada, então poderiam ser coletados em outro dia.

O método utilizado para coleta de sêmen era através de vagina artificial do modelo Hannover, revestida internamente com uma mucosa plástica esterilizada e descartável, a qual era fixada na extremidade da vagina em que o garanhão introduz o pênis por uma amarra de borracha, na outra extremidade era fixado o copo coletor com filtro para reter o gel seminal e alguma sujidade presente no sêmen, pois essas partículas apresentam efeitos nocivos para os espermatozoides.

A água era aquecida em uma jarra elétrica até uma temperatura de aproximadamente 52°C, para que o interior da vagina ficasse em torno de 42 a 45°C (Figura 2 - A). Previamente às coletas de sêmen, eram realizadas as ultrassonografias de controle folicular, então, uma égua em cio era pega para ajudar nas colheitas de sêmen (Figura 2 - B). Esta égua era contida próximo ao manequim e quando a vagina artificial estivesse pronta, trazia-se o garanhão.



FIGURA 2 – A: momento de preparo da vagina artificial modelo Hannover com água aquecida a 52°C e passagem de pequena quantidade de vaselina sólida sem sal na região de penetração. B: momento de rufião para excitação do garanhão com uma égua em cio. Fonte: Arquivo pessoal, 2017.

Após a exposição do pênis, era avaliada a sujidade do mesmo. Sendo necessário, era lavado com água morna e posteriormente seco com papel toalha. Enquanto esses procedimentos eram realizados, dentro do laboratório colocavam-se as lâminas, lamínulas e o diluente Botu-Sêmen® sobre a mesa térmica, a uma temperatura em torno de 38°. Quando o garanhão estivesse bem excitado, era levado até o manequim e seu pênis era desviado para a vagina artificial e a colheita era realizada. A ejaculação era detectada pelos pulsos ejaculatórios uretrais na base ventral do pênis, pois a mão que realizava o desvio peniano, ficando com o dedo indicador levemente encostado na base do pênis. A partir de então retirava-se a pressão através da abertura da válvula da vagina.

Após a colheita (Figura 3 - A), o sêmen era levado ao laboratório e o copo coletor era retirado da vagina artificial, separando o filtro com gel e descartando este conteúdo. Após isso, eram avaliados parâmetros como: volume, coloração e aspecto. Logo em seguida, uma gota com 20 μm de sêmen era colocada sobre uma lâmina e coberta por uma lamínula, ambas pré-aquecidas a aproximadamente 37°C (Figura 3 - B). Logo em seguida eram realizadas as avaliações de motilidade, motilidade progressiva, vigor e concentração.

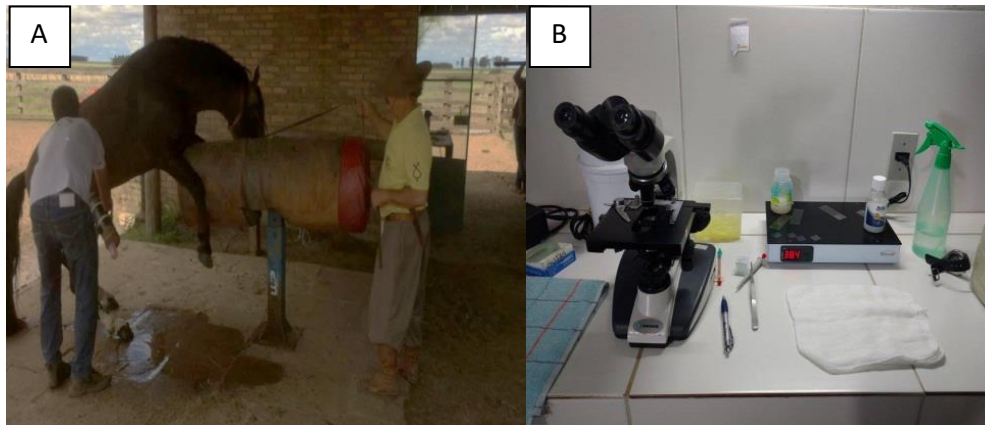


FIGURA 3 – A: garanhão em momento de descida do manequim após ejaculação. B: mesa térmica com copo coletor já com o sêmen coletado, lâminas, lamínulas e diluente em pré-aquecimento e microscópio para posterior avaliação seminal. Fonte: arquivo pessoal, 2017.

A coloração normal é branco acinzentado a branco leitoso e quaisquer alterações podem ser significativas de patologias. A consistência pode ser classificada como cremoso, leitoso, opalescente e aquoso. Onde o ideal é de aquoso a leitoso e está diretamente relacionado com a concentração

A motilidade era realizada a partir de uma contagem em pelo menos três campos da lâmina, utilizando microscópio (200X) e, posteriormente feita uma média do percentual de células móveis presentes, sendo a motilidade total ideal para um garanhão em torno de 70%.

A motilidade progressiva era feita através da percentagem de células com movimentos progressivos dentre as células móveis.

O vigor espermático é uma avaliação subjetiva da força de deslocamento, ou seja, a velocidade com que as células cruzam o campo avaliado. É realizado em uma escala de um a cinco, onde um é o vigor mínimo e cinco é o vigor máximo desejado. É considerado bom o vigor de três a cinco.

A concentração era feita através da diluição de 1:10 (20 μm de sêmen e 200 μm de solução salina) em câmara de Neubauer, utilizando microscópio (400X).

Após todas as avaliações feitas, o sêmen era dividido em doses, respeitando os valores mínimos, sendo 1000×10^6 spz/ml para as doses que seriam resfriadas para serem enviadas e 500×10^6 spz/ml para o sêmen que seria utilizado na estância para inseminar as éguas a fresco. Após era realizada a diluição do sêmen com Botu-Sêmen® (Botupharma) em uma diluição mínima de 1:1 (uma porção de diluente e uma porção de sêmen) para o sêmen utilizado a fresco na propriedade e uma diluição de 2:1 (duas porções de diluente para uma

porção de sêmen) para o sêmen que seria enviado. O sêmen para envio era armazenado em caixas de isopor do modelo Botu-Flex® (Botupharma) e refrigerado a 5°C. Para inseminação na propriedade, utilizava-se sempre sêmen a fresco.

Os componentes do diluente, além de nutrir os espermatozoides, ajudam a manter o pH e a osmolaridade, protegendo também contra bactérias.

Os diluentes mais utilizados são a base de leite sem gordura, glicose e/ou sacarose, água deionizada, bicarbonato de sódio a 7,5% e antibióticos, tais como, sulfato de Estreptomicina e/ou sulfato de Gentamicina.

2.6 Inseminação artificial

A Inseminação Artificial é a biotecnologia da reprodução mais importante e a mais utilizada atualmente em busca do melhoramento genético. Dentre as principais vantagens desta biotecnologia estão o melhoramento genético, o controle de doenças transmitidas via coito, a ampliação do leque de garanhões que podem ser utilizados e aumentar os descendentes de um garanhão, sem exceder o número de colheitas e montas.

A inseminação artificial pode ser utilizada com sêmen sob diferentes tipos de processamento, tais como: sêmen in natura, diluído, diluído resfriado e congelado.

No ECSMV realizava-se exame de ultrassonografia das éguas que estavam no grupo de controle folicular e fazia-se uma mensuração do tamanho do folículo pré-ovulatório, assim como a flutuação do mesmo e o edema uterino. Esse exame era anotado em uma tabela onde constavam os nomes e os números de registro das éguas que seriam avaliadas neste dia.

Em éguas com folículo pré-ovulatório ≥ 35 mm de diâmetro, ausência de corpo lúteo e com edema uterino, era realizada a indução da ovulação. Para indução era utilizado Deslorelina (Sincrorelín®, Ouro Fino), sendo esse um análogo sintético do hormônio liberador de gonadotrofina (GNRH), com dose de 1mg IM. Este hormônio atua no hipotálamo como GNRH e estimula a secreção de Hormônio Luteinizante (LH) e Hormônio Folículo Estimulante (FSH) na hipófise anterior. A inseminação artificial era realizada 24 horas após a indução de ovulação.

Previamente à inseminação, era realizada higienização da vulva e períneo com água corrente e sabão neutro, secando com papel toalha. A inseminação era realizada utilizando luva de palpação retal, introduzindo-se a mão com a pipeta acoplada a seringa contendo o

sêmen, com a mão enluvada guia-se a pipeta pela passagem da cérvix até o corpo uterino, onde o sêmen é depositado.

2.7 Colheita, classificação e transferência de embrião

A transferência de embrião visa colher uma estrutura fertilizada de uma doadora e a inovulação no útero de uma receptora, para que esta leve a gestação a termo. Previamente ao início do processo, todos os materiais do laboratório eram higienizados com álcool 70% e organizados, evitando contaminações da doadora, da receptora e do próprio embrião (Figura 4 - A). Retiravam-se as fezes do reto e posteriormente realizava-se a lavagem da região vulvar e perineal com água corrente e sabão neutro (Figura 4 - B).



FIGURA 4 – A: instrumentos utilizados para auxiliar na inovulação. Espéculo vaginal de Polanski e pinça de Albrechtsen higienizados com álcool 70%. B: momento de lavagem da região vulvar e perineal com água corrente e sabão neutro. Fonte: arquivo pessoal, 2017.

As soluções de Ringer Lactato para lavagem uterina eram colocadas em uma caixa térmica submersas em água a 37°C (Figura 5 - A). À direita do tronco, continha um pedestal para pendurar a solução e para fixar o copo com filtro coletor. O frasco de Ringer Lactato era

conectado à sonda siliconada de duas vias, contendo duas torneiras, onde uma permitia a descida da solução para o útero e a outra que permitia a descida da solução de lavado uterino até o copo coletor com filtro.

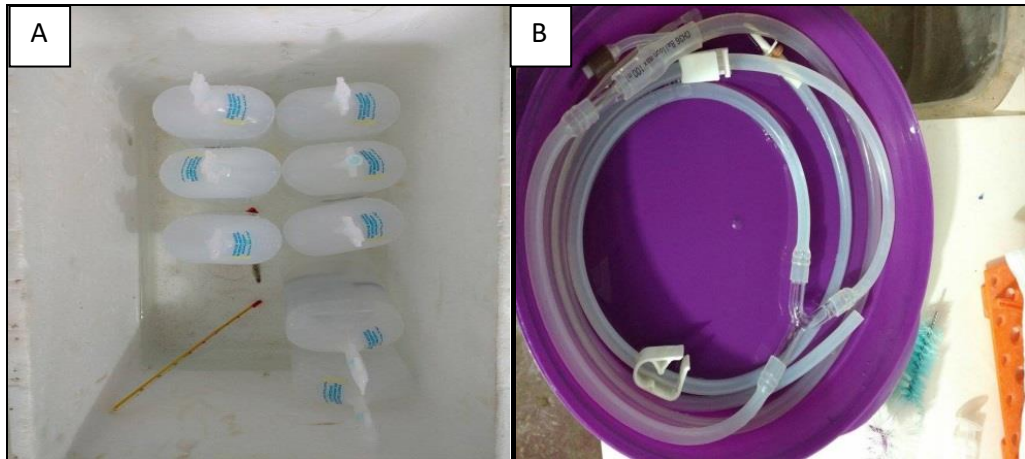


FIGURA 5 – Imagem A: soluções de Ringer Lactato em banho maria a 37°C. Imagem B: sonda siliconada de duas vias submersa em solução de Gluteraldeído. Fonte: arquivo pessoal, 2017.

2.7.1 Colheita

Com a mão enluvada segurando a sonda de silicone esterilizada introduzia-se na vulva e, com o auxílio do dedo indicador, passava-se o cateter pelo colo cervical, ficando este no corpo do útero. Logo após, o balão era inflado com 0,03 a 0,04 L de ar, fixando assim o cateter no corpo uterino. Em seguida, a mão era retirada da vagina e introduzida no reto, para realizar a massagem uterina. Então, abria-se a torneira para descida do meio até o útero.

Através da palpação e da experiência do profissional, tinha-se noção do enchimento do útero, e isto que demandava a quantidade a ser infundida até a primeira lavagem (Figura 6 - A). Nunca passava de dois litros de infusão, sem que houvesse a retirada do líquido.

Este procedimento era repetido três vezes e então o filtro era desconectado e levado até o laboratório para que o embrião fosse procurado na lupa com aumento de 10X (Figura 6 - B). Caso não fosse encontrado, o procedimento de lavagem era repetido mais uma vez.



FIGURA 6 – A: momento de lavagem uterina através da sonda siliconada de duas vias, com duas torneiras. Pedestal para solução e fixação do copo coletor com filtro. Jarra com medida para controle da quantidade de líquido após lavagem uterina. B: momento de rastreamento do embrião no copo coletor. Fonte: arquivo pessoal, 2017.

Quando o embrião era encontrado no copo coletor, retirava-o com auxílio de uma palheta de sêmen acoplada a uma seringa de insulina e colocado em outra Placa de Petri, que contem 10 gotas de meio Holding para lavagem e classificação do embrião. O embrião era lavado nestas 10 gotas de meio Holding através de outra palheta de sêmen de 0,5ml, esterilizada (Figura 7 – A e B).

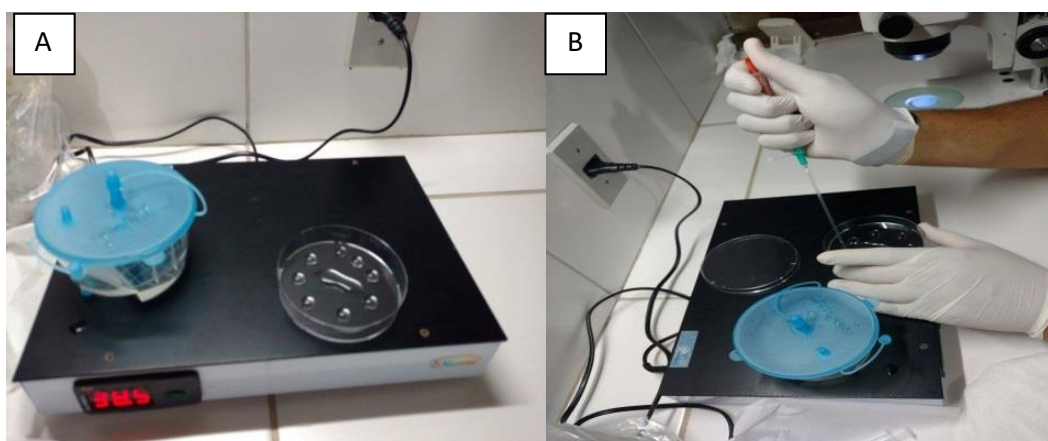


FIGURA 7 - Imagem A: momento de pré-aquecimento da placa de Petri descartável com gotas de meio Holding para lavagem do embrião. Imagem B: lavagem do embrião nas diversas gotas de meio Holding através de uma palheta de 0,5ml de sêmen acoplada em uma seringa de insulina. Fonte: arquivo pessoal, 2017.

Após a lavagem ser realizada, o embrião era colocado em uma pipeta de inseminação na seguinte ordem: meio Holding-ar-meio Holding com o embrião-ar-meio Holding. A pipeta seguia vestida com sua capa plástica original, que cumpria o papel da camisa sanitária e ficava sobre a mesa térmica até o preparo da receptora para inovulação.

2.7.2 Classificação embrionária

Em coletas realizadas entre seis e oito dias após ovulação, podem ser encontrados mórula, blastocisto inicial, blastocisto e/ou blastocisto expandido. A avaliação da qualidade embrionária leva em consideração a morfologia relacionando-a com sua viabilidade. Durante o ECSMV, era atribuído um escore de um a cinco, avaliando o embrião quanto ao formato, simetria, coloração, extrusão celular e integridade de zona pelúcida. Onde um é considerado excelente (Figura 15) e cinco ovócito não fertilizado, como mostra a tabela a seguir (Tabela 3).

TABELA 3- Escala de qualidade embrionária utilizada durante o ECSMV. Fonte McCue (2011).

Escala	Qualidade Embrionária
1 Excelente	Sem anomalias visíveis; formato esférico; células uniformes; tamanho e desenvolvimento adequados para a idade da ovulação
2 Bom	Alguns blastômeros extrusados; pequenas irregularidades; pouca separação entre a camada trofoblástica e a zona pelúcida
3 Ruim	Nível moderado de imperfeições; grande quantidade de blastômeros extrusados; afastamento do trofoblasto da zona pelúcida
4 Degenerado	Problemas graves de fácil identificação; alto percentual de blastômeros extrusados; colapso total da blastocele; ruptura da zona pelúcida
5 UFO	Ovócito não fertilizado

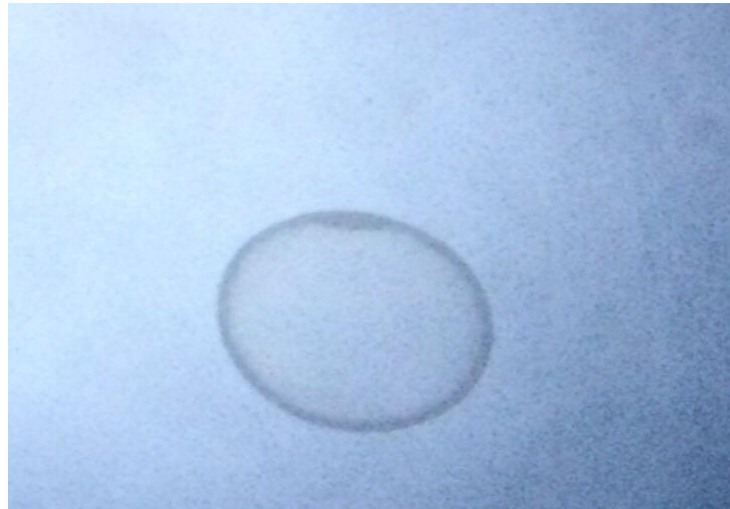


FIGURA 8- Visualização de um Blastocisto expandido grau 1. Fonte: Arquivo pessoal, 2017.

2.7.3 Transferência embrionária

Sedava-se a receptora com Cloridrato de Detomidina (Dormium V – Agener União), com uma dose de 0,8mL/EV. O procedimento de higienização da receptora assemelhava-se ao da doadora.

Após a higienização, passava-se o espéculo vaginal de Polanski para abertura da mesma e visualização da cérvix. Com uma pinça de Albrechtsen que continha uma lanterna em formato de caneta em sua superfície superior, a região externa da cérvix era pinçada e levemente tracionada para que, então, a pipeta fosse introduzida transpassando o colo cervical e o embrião fosse então inovulado.

Com o intuito de bloquear a síntese de prostaglandina, hormônio que, se liberado na corrente sanguínea, causa a lise do Corpo Lúteo e conseqüentemente a morte embrionária, administrava-se 8mL/EV de Flunixin meglumina (Flunixin Injetável Chemitec) na receptora.

Até o último dia do ECSMV, foram realizadas nove lavagens uterinas, porém, apenas sete obtiveram embriões, porém, a última lavagem uterina acompanhada obteve dois embriões (Figura 16), somando um total de oito embriões inovulados (Tabela 4).

TABELA 4 – Procedimentos de transferência de embrião realizados durante o Estágio Curricular Supervisionado em Medicina Veterinária.

Transferência de embrião			
Procedimentos de Colheita	Nº de Doadoras com Embriões	Nº de Embriões Coletados	Taxa de Recuperação Embrionária
09	07	08	88,88%

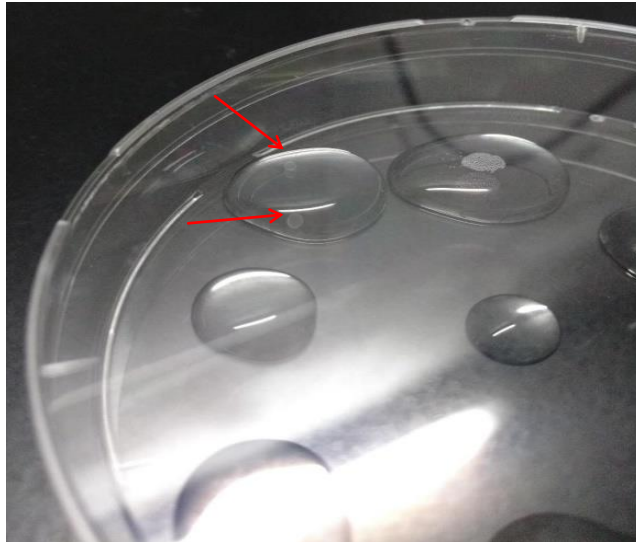


FIGURA 09 – Detalhamento de dois embriões em uma gota de meio Holding, pré-aquecidos a 37°C.
Fonte: Arquivo pessoal.

2.8 Diagnóstico de Gestação

Quando se faz um manejo reprodutivo, é essencial realizar o diagnóstico precoce de gestação. No ECSMV realizava-se o diagnóstico de gestação por palpação retal e por exame ultrassonográfico entre os dias 14 e 15 após ovulação. As éguas que tinham diagnóstico negativo de gestação recebiam 5mg/IM de Dinoprost Trometamina (Lutalyse® - Pfizer) para

que esses animais iniciassem uma nova onda folicular, retornando então ao grupo de éguas de controle folicular.

Já as éguas com diagnóstico positivo de gestação, eram separadas para outro campo e só retornam 30 dias após, ou seja, nos 45 dias após ovulação.

Até o momento da confecção deste relatório, tinham sido realizados 102 diagnósticos de gestação, sendo 81 positivos para prenhes e 21 negativos, como mostra a TABELA 5.

TABELA 5 – Tabela de diagnósticos de gestação. Até o dia 05/11/2017 foram realizados 102 diagnósticos de gestação, sendo 94 diagnósticos em éguas de cria que haviam ovulado até 36 horas após sua inseminação e 08 diagnósticos nas éguas receptoras de embriões.

	Diagnósticos positivos de prenhes	Diagnósticos negativos de prenhes	TOTAL DE DIAGNÓSTICOS
Éguas de cria ovuladas	75	19	94
Receptoras de embrião	06	02	08
Total de éguas	81	21	102
PERCENTUAL	79,4%	20,6%	100%

3. DISCUSSÃO

3.1 Sincronia doadora e receptora

Nas fêmeas equinas a sincronização de estro e da ovulação é mais complexa do que nas outras espécies domésticas, pois as éguas possuem uma longa fase folicular e também por ser difícil o controle de seu crescimento folicular.

A sincronia entre doadora e receptora é um dos principais fatores que implicam no sucesso de um programa de transferência de embriões. Segundo Vanderwall e Wods (2007), o período de sincronia ideal entre doadora e receptora é de -1 a +3 dias, ou seja, a receptora pode ovular um dia antes, ou até três dias depois da ovulação da doadora, sem diminuir as taxas de prenhes. Para Squires (1993), a égua receptora pode ovular um dia antes ou até dois dias depois da égua doadora.

Durante o ECSMV, utilizavam-se receptoras que, preferencialmente, ovulassem dois dias após a doadora (+2). Quando uma égua doadora ovulava, na ausência de receptoras ovuladas espontaneamente, induzia-se a ovulação de uma receptora com análogos de GNRH (hormônio gonadotrófico), fazendo com que ela ovulasse aproximadamente 48 horas após a doadora, ficando dentro da janela de ovulação, que vai de um dia antes, até três dias depois da ovulação da doadora, concordando com o descrito por Squires & Seidel (1995) e McKinnon & Squires (2007). O método mais apropriado para a indução da ovulação é o acompanhamento do desenvolvimento folicular através da palpação retal e ultrassonografia, pois, segundo Palmer (1993), os melhores resultados para utilização de agentes indutores de ovulação é quando se tem um foliculo com diâmetro ≥ 35 mm, pois ele encontra-se responsivo ao Hormônio Luteinizante (LH).

A onda de crescimento folicular compreende um conjunto de fenômenos que obedecem a seguinte sequencia: recrutamento, seleção, dominância e ovulação ou atresia folicular. Durante o período de recrutamento, os foliculos estão sensíveis ao Hormônio Foliculo Estimulante (FSH). Este é o hormônio mais atuante neste período, pois é ele quem estimula o crescimento folicular. Já no período de seleção, alguns foliculos começam a regredir. Nas espécies monovulatórias, o foliculo que continua a crescer é considerado

dominante e este secreta estrógeno e é sensível ao estímulo ovulatório desempenhado pela liberação de LH (Driancourt, 2001). Durante o estro, os folículos dominantes fazem com que ocorram alterações comportamentais e no trato reprodutivo, além de fazerem com que a fêmea fique receptiva ao garanhão. Efeito da produção folicular de estrógeno.

A atividade folicular é influenciada significativamente pelas condições do meio ambiente, podendo torna-la lenta ou bastante ativa (Merkt *et al.*, 1996).

Conforme Vanderwall (2007), e Allen (2005), o protocolo rotineiramente mais utilizado é a aplicação de PGF2 α (Lutalyse®, Pfizer, 5 mg/IM por animal), porém, a resposta a este agente luteolítico depende da presença de corpo lúteo funcional. Por isso pede-se sua aplicação no momento em que a doadora e a receptora estiverem em diestro, ou seja, do D5 a D14, considerando D0 como o dia da ovulação. Para este protocolo de sincronia doadora / receptora, aplica-se na doadora e, 24 horas após, aplica-se na receptora. O período entre a aplicação de PGF2 α e a manifestação de cio ocorre entre três a seis dias, e a ovulação entre nove e dez dias, porém, segundo Meira (2007), se já houver um folículo dominante, a ovulação pode ocorrer em períodos menores. Este protocolo, embora seja um dos mais utilizados para sincronia entre doadora e receptora, não era utilizado no local de estágio pela forma de manejo das éguas, que era extensivo e, devido ao grande número de receptoras, dificultando assim o controle exigido por este protocolo.

Outra alternativa para sincronia é a associação de análogos da Prostaglandina associados ao hCG (Gonadotrofina Coriônica humana), resultando em ovulação num período de até 48 horas. Porém, o hCG quando utilizado em diversas aplicações, promove o desenvolvimento de anticorpos que acabam tornando-o ineficiente como indutor de ovulação. Segundo Melo *et al.*, (2005), a Deslorelina (GNRH sintético), da mesma forma que o hCG também é um composto muito eficaz na indução da ovulação em tempo pré-determinado. Porém tem como vantagem a não formação de anticorpos que atuam contra seu efeito, podendo assim ser utilizada em vários ciclos consecutivos em programas de transferência de embrião.

Vanderwall, *et al.*, Marquardt e Woods (2007), relatam outro protocolo bem menos utilizado, com receptoras ovariectomizadas. Este protocolo não carece da sincronização entre doadora e receptora, mas demanda da aplicação semanal de Progesterona de longa ação em uma dose de 1500 mg/IM nas receptoras que irão receber embrião, estendendo este tratamento até os 100 dias de gestação, período em que a placenta começa a manter a gestação através de sua produção endógena de Progesterona.

3.2 Transferência de Embrião

Tendo início em 1972, através de pesquisadores japoneses, a transferência de embriões em equinos se tornou uma importante ferramenta para acelerar o desenvolvimento genético e o processo de seleção animal. Segundo Carneiro (2005), o Brasil é um dos líderes mundiais em transferência de embriões equinos, com cerca de 3500 embriões transferidos por ano.

Segundo Lira (2009), o desenvolvimento dessa técnica proporcionou o melhor aproveitamento dos animais, tornando possível o aprimoramento das raças e seus cruzamentos.

O primeiro método para colheita do embrião foi descrito por OGURI & TSUTSUMI no ano de 1972. Estes eram pesquisadores japoneses e descreveram o método não cirúrgico para colheita de embriões, utilizando um cateter de 3 vias para coletar o embrião no lúmen uterino. Já no ano de 1975, Allen & Rowson descreveram o método cirúrgico para colheita de embriões, com intuito de colher embriões em seu período inicial, quando ainda estão no oviduto.

A colheita no método não cirúrgico deve ser realizada a partir do 6º dia pós-ovulação, pois segundo Oguri (1972), os embriões na égua migram para o útero com 5 ou 6 dias de idade. Em casos de inseminações com sêmen congelado, onde as éguas são inseminadas muito próximas, ou até mesmo após sua ovulação, o período de entrada do embrião no útero pode ser mais demorado que o esperado (Lisa & Meadows, 2008), o que acaba retardando o desenvolvimento embrionário. Nesses casos, de acordo com Cuervo-Arango *et al* (2009), o lavado uterino não deve ser realizado antes do oitavo dia.

Segundo Allen (2001), no 5º dia após a fecundação, o embrião começa a secretar PGE2, este hormônio atua nas ampolas do oviduto e proporciona o relaxamento das fibras musculares, permitindo assim a entrada do embrião para o útero. A partir de então, começa o processo de migração embrionária e o início do reconhecimento materno da gestação.

Entre os dias sete e oito do desenvolvimento embrionário, o embrião encontra-se no período de blastocisto inicial ou blastocisto expandido e, conforme Ginther (1998) ocorre formação de uma capsula externa à zona pelúcida, sendo então a estrutura mais externa do embrião. Essa capsula é uma camada de glicoproteínas que fornece resistência às contrações uterinas e elasticidade ao embrião, prevenindo-o contra aderências e facilitando sua mobilidade. Ela permanece até os 21 dias, quando então ocorre sua degeneração.

No local de realização do estágio curricular, as lavagens uterinas sempre eram realizadas e entre os dias 7 e 8 do desenvolvimento embrionário, porém, preconizava-se o dia 7,5, concordando com o descrito por Vanderwall (2000), que relatou que quando a lavagem uterina na doadora é realizada entre os dias 7 e 8, colhendo o embrião neste período, geram maiores taxas de prenhes do que com embriões colhidos em períodos que antecedem, tais como os embriões de 6 dias. Segundo Squires & Seidel (1995), embriões coletados nesse intervalo têm maiores chances de sucesso do que embriões coletados no dia 9, pois estes já estão maiores e mais volumosos para serem transferidos.

A colheita do embrião no método não cirúrgico é realizada através de lavagem uterina transcervical utilizando uma sonda (cateter) de silicone com balão. O cateter deve ser inserido no corpo do útero através da mão enluvada por via transvaginal e o balão deve ser inflado com até 60 ml de ar, porém, durante o ECSMV o balão era inflado com no máximo 40 ml, sendo que em doadoras mais novas, o volume de ar utilizado era de 20 ml, devido ao tamanho do útero das doadoras, que eram da raça Crioula. Após inflar o balão, o operador deve tracionar o cateter caudalmente para se ajusta-lo ao óstio cranial da cérvix (Figura 17), permitindo então a lavagem dos dois cornos uterinos simultaneamente (Squires *et al.*, 2003 e Silva 2003). Após o cateter estar inserido no corpo uterino, conforme Vanderwall (2000), o órgão deve ser lavado três ou quatro vezes com solução salina acrescida com fosfato puro modificado (meio DPBS) previamente aquecido de 30 a 37°C. O meio contém soro fetal bovino, penicilina e estreptomicina. Porém, durante o estágio curricular, o meio utilizado para lavagem uterina era Ringer Lactato, pois segundo Alvarenga *et al.*, (1992), essa é solução mais utilizada no Brasil e não altera as taxas de prenhes, pois é um meio isotônico e que mais se aproxima do fisiológico.

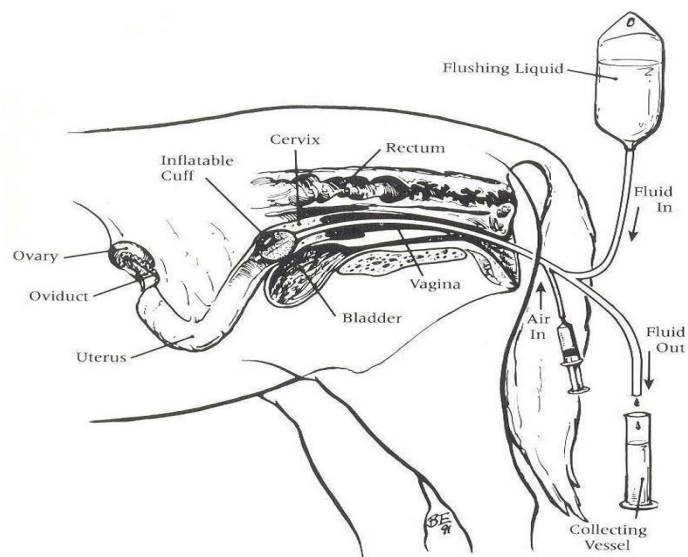


FIGURA 10 – esquemática do processo de fixação do cateter no corpo uterino e da recuperação embrionária.

Fonte: Squires, (1993).

O útero é infundido com um a dois litros em cada lavado, sendo levemente pressionado através de massagem por via retal para que o líquido chegue a todas as porções do útero, este procedimento deve ser repetido três vezes. O líquido que passa pelo filtro deve ficar retido em um recipiente para controle da quantidade de líquido retirada do útero. Conforme Imel (1981), Carvalho (2000) e Silva (2003), o volume retirado corresponde de 95 a 98% do volume infundido.

A procura dos embriões foi realizada com o auxílio de um microscópio estereoscópio (lupa), sob o aumento de 10X e o processo de classificação embrionária pode ser realizada sob o aumento de 40X. Segundo McKinnon & Squires (1988), no processo de avaliação deve-se atribuir um processo de 1 a 5 avaliando o embrião quanto ao formato, simetria, coloração, extrusão celular e integridade da zona pelúcida. A qualidade do embrião é o principal fator sobre as taxas de prenhes (Squires & Seidel, 1995).

Após o processo de avaliação, o embrião deve ser lavado em 10 passagens consecutivas de meio de manutenção embrionária (Fleury *et al.*, 2001) com o auxílio de uma palheta de sêmen de 0,25 ou 0,5 ml e um micropipetador, ou uma seringa de insulina (como era realizado no local do ECSMV), para retirar dele sujidades que possam estar aderidas à zona pelúcida (Hartman, 2011). Após o procedimento de lavagem do embrião, ele pode ser envasado em porções alternadas de meio de manutenção e ar, este procedimento minimiza os movimentos do embrião dentro da palheta e assegura sua perfeita expulsão para dentro do

útero (Silva, 2003). Durante o estágio curricular, o embrião era envasado em uma pipeta de inseminação, em uma ordem meio-ar-meio com o embrião-ar-meio.

Segundo Squires (1982), a pipeta deve estar coberta por uma bainha plástica, também chamada de camisa sanitária, para proteger o embrião de contaminação vaginal no momento da inovulação.

A técnica menos invasiva e com alto percentual de prenhes consiste em introduzir a mão enluvada na vagina, segurando a pipeta que contém o embrião, coberta por sua camisa sanitária, tracionando a camisa sanitária ao chegar no cérvix e efetuando a passagem da pipeta para deposição do embrião no lúmen uterino através da compressão do material inovulador (Hartman, 2011). A dificuldade da técnica consiste em romper a camisa sanitária no momento certo e a manipulação da pipeta para passagem no canal do cérvix, que está sem excessiva dilatação. Esta manipulação pode ser facilitada colocando o cérvix firmemente entre os dois dedos e tracionando-o com o intuito de diminuir suas tortuosidades (Stout, 2006).

Durante o ECSMV, era utilizado um espéculo de Polanski e uma pinça de Albrechtsen, concordando com o descrito de Allen e Wilsher (2004), que relataram ser possível utilizar um espéculo bico de pato para abertura da vagina e visualização da região externa do colo uterino e uma pinça dente de rato para tracionar e reduzir as tortuosidades do mesmo (Figura 11), facilitando a passagem da pipeta pelo cérvix, tendo os mesmos efeitos da operação descrita acima.

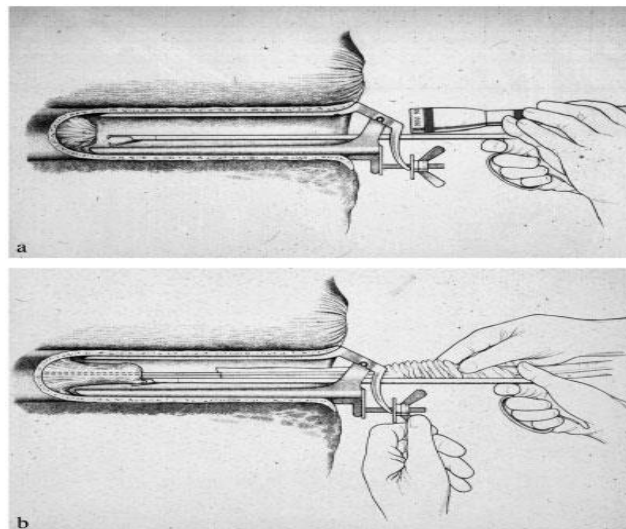


FIGURA 11 – Imagem A: abertura da vagina com o espéculo de Polanski e pinçamento da região externa do colo uterino com a pinça de Albrechtsen, com o auxílio de uma lanterna. Imagem B: tração caudal do cérvix para redução das tortuosidades e passagem da pipeta para inovulação. É possível observar a camisa sanitária protegendo a pipeta. Fonte: Allen & Wilsher (2004).

Sabe-se que traumatismos, ou somente muitos estímulos mecânicos no trato genital podem ativar a cascata do ácido araquidônico, resultando na síntese e liberação de mediadores da inflamação que, dentre estes, estão a Prostaglandina ($PGF2\alpha$) e substâncias relacionadas (Higgins & Lees, 1984). A $PGF2\alpha$ além de ser um hormônio luteinizante, causa a lise do Corpo Lúteo e é um marcador biológico dos processos inflamatórios.

De acordo com Kask, Odensvik & Kindahl (1997), as éguas respondem à manipulação do trato genital com liberação de $PGF2\alpha$, mas a luteólise não é induzida, apesar de elevadas quantidades de metabólitos de $PGF2\alpha$. Entretanto, a possibilidade de que esse hormônio cause danos ao embrião e ao seu ambiente não pode ser ignorada.

Em geral, na transferência embrionária transcervical, existem duas causas importantes na perda da gestação, sendo uma delas a contaminação bacteriana do útero e/ou alterações hormonais causadas pela dilatação ou manipulação excessiva do cérvix (Handler, Königshofer, Kindahl, Schams & Aurich, 2003). Durante o ECSMV, após a inovulação do embrião na receptora, aplicava-se 80mg/EV de Flunixin meglumina (Flunixin Injetável Chemitec) com intuito de inibir a cascata do ácido araquidônico e conseqüentemente a liberação de Prostaglandina, tentando evitar assim a lise do corpo lúteo que mantém a gestação em seu período inicial.

4. CONCLUSÃO

O Estágio Curricular Supervisionado em Medicina Veterinária foi de suma importância, permitindo colocar em prática os conhecimentos adquiridos durante o período de graduação na Universidade Federal do Pampa.

O ECSMV tem ainda o importante papel de proporcionar o convívio direto com a área de trabalho, preparando o aluno para se portar como um profissional diante de proprietários e demais funcionários, sendo isso fundamental para obter o resultado esperado.

Acompanhar esses experientes profissionais colaborou não só para a vida profissional, mas também para a vida pessoal, ensinando a lidar com os mais diversos desafios do dia-a-dia. É preciso ter conhecimento e sabedoria para cumprir os objetivos e obter resultados positivos..

O contato direto com a área de trabalho durante o ECSMV proporcionou ter uma ampla visão do que será encontrado na rotina de um profissional, preparando o aluno para isto. Os objetivos foram alcançados, aprimorando os conhecimentos teórico-práticos obtidos ao longo do curso, em uma área em que o ser humano e o trabalho se juntam por um só ideal, o bem estar dos animais.

Dentre as atividades desenvolvidas, podemos ressaltar as nove transferências de embriões, com uma taxa de recuperação embrionária chegando aos 88,88% e os 102 diagnósticos de gestação, com a porcentagem de prenhes chegando a 79,4%. São números considerados ótimos se tratando de Manejo e Reprodução Equina.

REFERÊNCIAS

ALLEN, W. R. Fetomaternal interactions and influences during equine pregnancy. **The Journal of the Society for Reproduction and Fertility**, Ed April 1. Newmarket, UK. V. 121, p. 513-527. 2001

ALLEN, W. R. The development and application of the modern reproductive Technologies to horse breeding **Reproduction in Domestic Animals**, 4° Ed, Berlin v. 40 p.310-329. 2005

ALLEN, W.R.; WILSHER, S.; TIPLADY, C.; BUTTERFIELD, R.M. **The influence of maternal size on pre- and postnatal growth in the horse: III Postnatal growth.** *Reproduction*, 127 (1), 67-77. 2004

ALVARENGA M.A.; ALVARENGA F.C.L.; MEIRA C. **Some modifications in the technique used to recover equine embryo.** Resumos 13rd Internaional Symposium on Equine Embryo Transfer, Buenos Aires, Argentina. p. 34-35. 1992

CARNEIRO, G.F. **Transferência de embriões em equinos.** In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 16, 2005, Goiânia. Anais, 2005.

CARVALHO G.R. **Estudos de alguns aspectos da transferência de embriões equinos.** Tese de doutorado, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa- MG. 102p. 2000

CUERVO-ARANGO J.; AGUILAR J.; NEWCOMBE J.R. **Effect of type of semen, time of insemination relative to ovulation and embryo transfer on early equine embryonic vesicle growth as determined by ultrasound.** *Theriogenology* 71:1267-1275. 2009

DRIANCOURT , M.A. **Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals: implications for manipulation of reproduction.** *Theriogenology* v.55, p.1211-1239, 2001

FLEURY J.J.; PINTO A.J.; MARQUES A., LIMA C.G.; ARRUDA R.P. **Fatores que afetam a recuperação embrionária e os índices de prenhez após transferência transcervical em equinos da raça Mangalarga.** *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 38:29-33. 2001

HANDLER, J.; KONIGHOFER, M.; KINDAHL, H.; SCHAMS, D.; AURICH, C. **Secretion patterns of oxytocin and PGF₂alpha-metabolite in response to cervical dilatation in cyclic mares.** *Theriogenology*, 59 (5-6), 1381-91. 2003

HARTMAN, D. L. Embryo transfer. IN McKINNON, A. O. et al. **Equine Reproduction.** 2^o Ed. Oxford: Wiley-Blackwell. V.2, cap. 303, p. 2871-2879. 2011.

HIGGINS, A.J.; LEES, P. **The acute inflammatory process, arachidonic acid metabolism and the mode of action of anti-inflammatory drugs.** *Equine Vet. J.*, 16 (3),163-75. 1984

IMEL K.J. **Recovery, culture and transfer of equine embryos.** MS Thesis, Colorado State University, Fort Collins, CO, USA. 1981

KASK, K.; ODENSVIK, K.; KINDAHL, H. **Prostaglandin F₂alpha release associated with an embryo transfer procedure in the mare.** *Equine Vet.J.*, 29 (4), 286-9. 1997

LISA H.M.; MEADOWS S. **Essential management practices in commercial equine embryo transfer.** Proceedings 7th International Symposium on Equine Embryo Transfer, Cambridge, UK. p.101-102. 2008

LIRA, R. A.; PEIXOTO, G.C.X.; SILVA, A.R. **Transferência de embrião em equinos: Revisão.** *Acta Veterinária Brasileira*, v.3, n.4,, p.132-140. 2009

MCCUE, P. M. **Transferência de embriões em equinos: avaliação do embrião.** XII Conferência anual da Associação Brasileira de Médicos Veterinários de Equídeos (ABRAVEQ), Campinas, SP. 2011.

MCKINNON A. O.; SQUIRES E. L. **“Morphologic assessment of the equine embryo”** *J. Am. Med. Vet. Ass.* 192, 401-406. 1998

MCKINNON A.O; SQUIRES E.L. Embryo transfer and related technologies, p.319-334. In: **Current Therapy Equine Reproduction.** Saunders, Missouri. 2007

MCKINNON A.O.; SQUIRES E.L.; CARNEVALE E.M. **Ovariectomized steroid-treated mares as embryo transfer recipients and as a model to study the role of progestins in pregnancy maintenance.** Theriogenology 29:1055-1063. 1988

MEIRA, C. **Endocrinologia da Reprodução, Dinâmica Folicular, Superovulação e Transferência de Embriões na Espécie Equina** (Área da Reprodução) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Botucatu, SP. 2007

MELO, C. M. **Efeito da criopreservação por 24 horas em diferentes sistemas de refrigeração sobre a viabilidade e fertilidade de sêmen congelado equino.** 104p. Tese (Mestrado) faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. 2005

MERKT, H.; MOURA, J. C. A. – **A Ultrassonografia na Reprodução Equina.** Editora Universitária Americana, Salvador, Bahia, 1996.

OGURI N.; TSUTSUMI Y. **Nonsurgical recovery of equine eggs, and an attempt at nonsurgical egg transfer in horses.** J. Reprod. Fertil. 31:187-195. 1972

PALMER, E. **Induction of ovulation.** In: MCKINNON, A.O.; VOSS, J.L. **Equine Reproduction.** Baltimore: Williams & Wilkins. p. 344-347, 1993.

Revisão do Estudo do Complexo do Agronegócio do Cavalo. Brasília, MAPA, 2016. Acesso em: 20/10/2017, encontrado em <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/camaras-setoriais-tematicas/documentos/camaras-setoriais/equideocultura/anos-antiores/revisao-do-estudo-do-complexo-do-agronegocio-do-cavalo>

Regulamento do registro geneológico da raça equina crioula. MAPA, 20017. Acesso em: 10/10/2017, encontrado em <http://www.cavalocrioulo.org.br/admin/assets/upload/regulamentos/7058986020.pdf>

SILVA, L.A. **Técnica ultra-sonográfica de injeção intrauterina para transferência de embriões em equinos.** Tese (Pósgraduação em Medicina Veterinária), Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa - MG, Brasil, 145 p. 2013.

SQUIRES, E.L.; SEIDEL, G.E. Jr.; Superovulation. In:___ Colletion and transfer of

equine embryos. **Anim. Reprod. And Biotechnology** Lab., Bulletin n.8, Fort Collins, Colorado, P. 32-38. 1995.

SQUIRES, E.L. **Embryotransfer**. In: McKINNON, A.O.; VOSS, J.L. Equine reproduction. Philadelphia: Lea & Febiger, p. 357-367. 1993

SQUIRES E.L.; CARNEVALE E.M.; MCCUE P.M.; BRUEMMER J.E. **Embryo technologies in the horse. Theriogenology** 59:151- 170. 2003

SQUIRES E.L.; IMEL K.L.; JULIANO M.F.; SHIDELER R.K. **Factors affecting reproductive efficiency in equine embryo transferprogramme.** J. Reprod. Fertil.32:409-414 1982

STOUT, T.A. **Equine embryo transfer: review of developing potential.** Equine Vet. J., 38 (5), 46-78. 2006.

VANDERWALL D.K.; WOODS G.L. **Embryo transfer and newer assisted reproductive thecniques for horses. In: Youngquist R.S. &Threlfall W.R. (Eds).** 2000

VANDERWALL, D. K; MARQUARDT, J. L; WOODS, G. L. Use of a Compounded Long-Acting Progesterone Formulation for Equine Pregnancy Maintenance. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.27, n. 2, p. 62-66. 2007

ANEXO A

Certificado do Estágio Curricular Supervisionado em Medicina Veterinária

Certifico que o acadêmico **EVANDRO PAZ BARCELOS** concluiu o Estágio Curricular Supervisionado em Medicina Veterinária, na área de Manejo e Reprodução Equina, sob supervisão dos Médicos Veterinários Renato Duarte Icart e Thiago Andreolla Persici. O estágio realizou-se na **RECONQUISTA AGROPECUÁRIA**, com início no dia 31/07/2017 e término no dia 05/11/2017, totalizando 560 horas, que foram cumpridas em 14 semanas, com 40 horas semanais.

Méd. Vet. Renato Duarte Icart
Supervisor

—
Méd. Vet. Thiago Andreolla
Persici