

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA
CAMPUS URUGUAIANA
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

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

Orientadora: Daniela dos Santos Brum

Natália Picoli Folchini

Uruguaiana, julho de 2015.

NATÁLIA PICOLI FOLCHINI

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

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.

Orientador: Daniela dos Santos Brum
Médica veterinária, Dra.

**Uruguaiana
2015**

NATÁLIA PICOLI FOLCHINI

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: Reprodução Animal

Relatório apresentado e defendido em 08 de julho de 2015.

Prof. Dra. Daniela dos Santos Brum
Orientadora

Prof. Dr. Fábio Gallas Leivas
Universidade Federal do Pampa - UNIPAMPA

M. V. Inácio Brandolt
Universidade Federal do Pampa - UNIPAMPA

AGRADECIMENTO

Agradeço a Deus por estar aqui e poder desfrutar das oportunidades.

À minha família, em especial aos meus pais Orlando e Dinaci, os quais sempre apoiaram minhas decisões e me proporcionaram todas as condições para chegar até onde cheguei.

Aos amigos distantes, que entenderam a ausência em diversos momentos. Aos amigos de Uruguaiana, que tornaram esta fase agradabilíssima.

À Universidade Federal do Pampa, por ter sido meu lar durante 5 anos e aos colegas de turma, pela parceria durante a graduação.

Aos professores coordenadores do BIOTECH, Daniela dos Santos Brum e Fábio Gallas Leivas, pela oportunidade concedida, amizade construída e ensinamentos desta área fascinante que é a reprodução animal. Aos colegas e Mestres do laboratório, pela convivência e aprendizado compartilhados nestes 4 anos.

À Universidade de São Paulo e ao Professor Rubens Paes de Arruda pela supervisão do estágio curricular, convivência agradável e, sobretudo, ensinamentos de profissionalismo. Aos demais professores do VRA, aos colegas e amigos que fiz em Pirassununga, em especial à Helen, Gabriel, Talita, Vitor Hugo, Fernanda, Giovana e demais pós-graduandos. O período que passei na USP não seria o mesmo sem vocês!

Todos tiveram grande importância na minha caminhada em busca desta conquista. Tudo que sei e sou hoje devo um pouco a cada um de vocês. **MUITO OBRIGADA!**

ESTÁGIO CURRICULAR SUPERVISIONADO EM MEDICINA VETERINÁRIA – ÁREA DE REPRODUÇÃO ANIMAL

O presente relatório visa descrever as atividades acompanhadas e realizadas durante o Estágio Curricular Supervisionado em Medicina Veterinária, realizado de 23 de fevereiro a 5 de junho de 2015, no Departamento de Reprodução Animal (VRA) da Universidade de São Paulo – Campus de Pirassununga, sob orientação da Prof^a Dr^a Daniela dos Santos Brum e supervisão do Prof. Dr. Rubens Paes de Arruda. O período envolveu atividades relacionadas à reprodução animal, com enfoque na estação de monta dos equinos e avaliação de machos bovinos. Foram realizados procedimentos com equinos como controle ovariano, exame ginecológico, processamento e análise de sêmen, inseminação artificial, lavagem e infusão uterina, diagnóstico de gestação por palpação e ultrassonografia transretal, diagnóstico e tratamento de patologias reprodutivas e, adicionalmente, exames andrológicos de touros, totalizando 560 horas. A realização deste estágio possibilitou a consolidação das competências e habilidades adquiridas na graduação e em estágios extracurriculares realizados durante o período do curso, acrescentando para o crescimento profissional, pessoal e desenvolvimento das relações interpessoais.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1: Local de fornecimento de ração para as éguas	11
FIGURA 2: Baias dos garanhões e jumento.....	12
FIGURA 3: Exame ginecológico	13
FIGURA 4: Realização de controle reprodutivo ultrassonográfico.	14
FIGURA 5: Higienização do pênis do garanhão, prévia à coleta de sêmen.....	15
FIGURA 6: Inseminação artificial	16
FIGURA 7: Vesícula embrionária compatível com 14 dias de gestação	17
FIGURA 8: Imagem ultrassonográfica de embrião compatível com 35 dias.	17
FIGURA 9: Secreção expelida através da vagina	18
FIGURA 10: Avaliação laboratorial.....	20
FIGURA 11: Eventos que ocorrem na regulação hormonal.....	22
FIGURA 12: Distribuição de afecções diagnosticadas nas fêmeas equinas.	25
FIGURA 13: Espermatozoide corado por sondas fluorescentes.	37

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: Atividades acompanhadas\realizadas no LBSA durante o Estágio Curricular Supervisionado em Medicina Veterinária, de 23 de fevereiro a 5 de junho de 2015.....	10
--	----

SUMÁRIO

1 – INTRODUÇÃO.....	8
2 - ATIVIDADES DESENVOLVIDAS	10
2.1 Estação de monta dos equinos	10
2.1.1 Exame ginecológico	12
2.1.2 Controle reprodutivo	13
2.1.3 Indução da ovulação.....	14
2.1.4 Coleta de sêmen	14
2.1.5 Processamento do sêmen.....	15
2.1.6 Inseminação artificial	16
2.1.7 Diagnóstico de gestação	17
2.1.8 Lavagem e infusão uterina	18
2.2 Exame andrológico de touros.....	19
3 – DISCUSSÃO	21
3.1 Reprodução da fêmea.....	21
3.1.1 Fisiologia reprodutiva de fêmeas equinas	21
3.1.2 Cio do potro.....	24
3.1.3 Patologias reprodutivas e o impacto na fertilidade	25
3.1.3.1 Cisto endometrial.....	26
3.1.3.2 Folículo anovulatório (FA).....	27
3.1.3.3 Endometrite	28
3.2 Reprodução do macho	31
3.2.1 Fisiologia reprodutiva	31
3.2.3 Importância do exame andrológico	32
3.2.4 Técnicas de avaliação de sêmen e impacto na fertilidade	33
3.2.4.1 Cinética espermática.....	34
3.2.4.2 Morfologia espermática.....	35
3.2.4.3 Integridade da célula espermática.....	35
3.2.4.4 Outras análises	37
4 - CONCLUSÃO	39
REFERÊNCIAS	40

1 – INTRODUÇÃO

O efetivo de equídeos no Brasil no ano de 2011 foi estimado, segundo o IBGE, em 5.508.546 equinos, 974.532 asininos e 1.269.198 muares. O efetivo bovino, por sua vez, em 212.797.824 animais. A produção de cavalos movimenta bilhões de reais e envolve diversos segmentos, assim como a bovinocultura, a qual é responsável atualmente por colocar o país em uma posição de destaque nas exportações de carne. Ligada à produção destas espécies e seu melhoramento genético encontra-se a reprodução animal, área que cresce exponencialmente e mostra sua importância nas criações. Neste contexto, esta foi a área escolhida para a realização do estágio curricular, envolvendo também as biotecnologias associadas.

Pela excelência nas atividades e serviços, o local de escolha para a realização foi o Laboratório de Biotecnologia do Sêmen e Andrologia (LBSA), da Universidade de São Paulo (USP), Campus de Pirassununga. A USP possui dentro da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) diversos departamentos, dentre eles o Departamento de Reprodução Animal (VRA) que foi criado no ano de 1988. Este departamento, hoje, é administrado por três Professores Titulares, quatro Professores Associados e sete Professores Doutores. Estes, por sua vez, estão distribuídos e alocados em São Paulo e em Pirassununga. Existe ainda o Centro de Biotecnologia da Reprodução Animal (CBRA), que foi criado dois anos mais tarde, no campus de Pirassununga. O CBRA compõe uma área de 210.000m² e possui laboratórios de biotecnologia do sêmen e andrologia, de fisiologia e endocrinologia molecular, de endocrinologia e farmacologia da reprodução e de biotecnologia de ovinos e caprinos. O LBSA é coordenado pelo Prof. Dr. Rubens Paes de Arruda e conta com diversos equipamentos para coleta, avaliação e processamento de sêmen de diversas espécies e também presta assessoria externa às criações de bovinos e equinos de outros setores do Campus, de propriedades públicas e privadas da região, com a execução de outras biotecnologias como inseminação artificial, transferência e criopreservação de embriões.

A cidade de Pirassununga, onde está alocado o LBSA, está localizada na região centro-leste, no interior do estado de São Paulo e fica a 206 km da capital. Possui 70.138 habitantes (IBGE, 2010) e sua economia é baseada no setor sucroalcooleiro, com usinas de açúcar e álcool, indústrias de aguardente, além da produção de laranjas.

As atividades descritas e discutidas neste relatório fazem parte do Estágio Curricular Supervisionado em Medicina Veterinária, que foi realizado durante 23 de fevereiro a 5 de junho de 2015, totalizando 560 (quinhentas e sessenta) horas, sob supervisão do Prof. Dr. Rubens Paes de Arruda e orientação da Prof^a. Dra. Daniela dos Santos Brum, na área de Reprodução Animal.

Durante o período do estágio puderam ser realizadas atividades relacionadas à reprodução animal, com enfoque na estação de monta dos equinos e avaliação de machos bovinos. Foram desenvolvidos procedimentos com equinos como controle folicular, exame ginecológico, processamento e análise de sêmen, inseminação artificial, lavagem e infusão uterina, diagnóstico de gestação por palpação e ultrassonografia transretal, diagnóstico e tratamento de patologias reprodutivas e, adicionalmente, exames andrológicos de touros.

2 - ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

As atividades descritas neste trabalho (Tabela 1) fazem parte do Estágio Curricular Supervisionado em Medicina Veterinária, o qual teve início em 23 de fevereiro de 2015 e término em 5 de junho de 2015, totalizando 560 (quinhentas e sessenta) horas na área de Reprodução Animal. Foi supervisionado pelo Prof. Dr. Rubens Paes de Arruda, sob orientação da Prof^a. Dr^a. Daniela dos Santos Brum.

TABELA 1 - Atividades acompanhadas/realizadas no LBSA durante o Estágio Curricular Supervisionado em Medicina Veterinária, de 23 de fevereiro a 5 de junho de 2015.

Atividades	Nº de atividades realizadas	Nº de atividades acompanhadas	Total	Distribuição (%)
Palpação transretal	52	96	148	43,6
Exame ginecológico completo	1	1	2	0,6
Ultrassonografia transretal	20	88	108	31,8
Lavagem uterina	0	4	4	1,2
Infusão uterina	1	2	3	0,9
Exame andrológico	39	5*	44	13,0
Coleta de sêmen para IA	2	8	10	2,9
Análise de sêmen para IA	8	2	10	2,9
Inseminação artificial	2	8	10	2,9
Total	125	214	339	100%

*1 (um) exame andrológico de garanhão

2.1 Estação de monta dos equinos

As fêmeas (Figura 1) que compunham o plantel eram de responsabilidade da Prefeitura do Campus de Pirassununga, totalizando 27 animais e as atividades ligadas à reprodução foram realizadas sob coordenação do Prof. Dr. Rubens Paes de Arruda. Três fêmeas pertencentes à UNESP – Botucatu e quatro pertencentes a alguns funcionários da USP foram inclusas nos procedimentos para que as mesmas concebessem.

O princípio da estação de monta foi no mês de outubro, quando os animais iniciaram a parição das crias. Cinco dias após o parto, as fêmeas foram examinadas para detecção e controle do cio do potro e, além disso, examinaram-se os indícios de involução uterina ou possível afecção através de palpação transretal, ultrassonografia e vaginoscopia. As fêmeas que foram utilizadas na estação de monta acompanhada (2014/2015) pertenciam a diferentes raças, havendo éguas Brasileiro de Hipismo, 1/2 sangue Apaloosa, 1/2 sangue Bretão, 1/2 sangue Lusitano, com idades variando entre 3 e 18 anos. Os potros, mulas e burros foram desmamados com cerca de seis meses de forma gradual e alguns destes animais foram leiloados em evento promovido pela USP anualmente.

O manejo sanitário relatado por funcionários incluiu vacinação contra Tétano, Influenza, Raiva e Leptospirose, além de vermifugação trimestral. A dieta fornecida consistia de sal mineral *ad libitum*, 2 kg de concentrado ofertados pela manhã e consumo de volumoso ao decorrer do dia, sendo capim “Coast-cross”, *Urochloa spp.* e *Tifton spp.* as principais pastagens dos piquetes.



FIGURA 1 - Local de fornecimento de ração para as éguas. Fonte: Arquivo pessoal

Cinco garanhões e um jumento (Figura 2) foram disponibilizados para a coleta de sêmen, sendo dois da raça Puro Sangue Árabe, um Mangalarga Marchador, um Brasileiro de Hipismo, um Puro Sangue Inglês e um jumento da raça Pêga. O exame andrológico foi realizado na pré-estação de monta a fim de verificar as condições reprodutivas dos machos e detectar possíveis alterações que viessem a afetar o sucesso final. No entanto, a realização deste não foi acompanhada.



FIGURA 2 - Baias dos garanhões e jumento. Fonte: Arquivo pessoal

Uma carta de monta, formulada pelo professor de Equideocultura, continha quais éguas deveriam ser inseminadas com sêmen de cada garanhão ou jumento, de acordo com a finalidade das crias.

As atividades descritas a seguir, ligadas à estação de monta, foram acompanhadas do final do mês de fevereiro até, aproximadamente, metade do mês de abril.

2.1.1 Exame ginecológico

Todas as éguas externas ao Campus (de funcionários da USP) que chegaram ao VRA foram submetidas a um exame ginecológico para conhecimento do status reprodutivo e, a partir disto, determinação dos procedimentos a serem feitos. As éguas foram avaliadas quanto ao escore corporal e, então, contidas em tronco. Através da palpação e ultrassonografia

transretal examinou-se a condição dos ovários, útero e cérvix. Após, o períneo foi higienizado para realização da vaginoscopia. Um espéculo (modelo Polanski, Figura 3) foi utilizado para avaliação da abertura e secreções no óstio cervical, coloração da parede vaginal, procurando, ainda, por lesões ou anormalidades.



FIGURA 3 - Exame ginecológico. Fonte: Arquivo pessoal

2.1.2 Controle reprodutivo

Cinco dias após os partos, as éguas foram acompanhadas para verificação das condições reprodutivas e também para constatação do cio do potro. Realizaram-se mensurações (Figura 4) de estruturas ovarianas (tamanho de folículos e flutuação variando de 1-sem flutuação até 4-máximo), tônus uterino (1-máximo de tônus a 4-mínimo) e morfoecogenicidade uterina através de ultrassonografia com aparelho da marca SIUI® (1-sem dobras endometriais a 4-muitas dobras endometriais) e abertura cervical (1-fechada a 4-máximo de abertura).



FIGURA 4 - Realização de controle reprodutivo ultrassonográfico. Fonte: Arquivo pessoal

2.1.3 Indução da ovulação

O crescimento dos folículos ovarianos foi acompanhado até que o maior atingisse cerca de 35mm de diâmetro. Além disso, caso o edema uterino (avaliado no aparelho de ultrassom pela morfoecogenicidade) fosse classificado como 3 ou 4, palpação do tônus uterino fosse 3 ou 4, abertura cervical de 2 ou mais e houvesse flutuação folicular, procedia-se, então, a aplicação de indutor da ovulação. Na estação em questão, utilizaram-se 250 μ g IM de acetato de deslorelina (Sincrorrelin®), um análogo sintético do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) ou 2.500UI IV de hCG (Vetecor®-gonadotrofina coriônica humana), que age na liberação de hormônio luteinizante (LH). As induções foram realizadas pela manhã e a inseminação artificial à tarde, visto que apenas sêmen fresco foi utilizado.

2.1.4 Coleta de sêmen

As coletas de sêmen foram realizadas com o auxílio de vagina artificial modelo Botucatu e, dependendo do animal, foi utilizado manequim ou égua estrogenizada contida por peias, e, ainda, urina de égua em estro para estímulo sexual. Após a exposição do pênis, higienização com água morna a 37°C com o auxílio de algodão foi realizada (Figura 5).

Procedeu-se a montagem da vagina artificial com mucosa plástica, colocação do copo coletor aquecido, lubrificação do orifício de entrada e introdução de água a 50°C pela válvula, para que no momento da coleta a temperatura interior fosse de aproximadamente 45°C. A pessoa responsável pela contenção do macho conduziu, então, até o manequim ou égua-manequim após a exposição peniana. O responsável pela coleta propriamente dita posicionou-se ao lado direito do animal. Após a monta deste no manequim, o pênis foi desviado para o interior da vagina artificial e uma pressão constante contra a base do pênis foi realizada até que a ejaculação ocorresse. A válvula da vagina foi, então, aberta para retirada da água e diminuição da pressão interna e verificou-se no copo coletor se havia sêmen.



FIGURA 5 - Higienização do pênis do garanhão, prévia à coleta de sêmen. Fonte: Arquivo pessoal

2.1.5 Processamento do sêmen

Depois de realizadas as coletas, o copo coletor foi levado até o laboratório para processamento. Inicialmente, a fração de gel foi retirada através de filtragem e o volume ejaculado livre de gel estimado. Um diluidor a base de leite (BotuSêmen®) aquecido a 37°C foi adicionado ao sêmen na proporção de 1:1 e a partir desta diluição colocou-se uma gota entre lâmina e lamínula aquecidas para verificação de parâmetros como motilidade total, motilidade progressiva e vigor. Uma amostra do sêmen também foi coletada para análise de morfologia e concentração espermática (diluição de 1:100). Como os machos foram coletados durante toda a estação, a concentração espermática do sêmen já era conhecida, sendo de 100 a

300×10^6 espermatozoides/mL para os garanhões e de 400×10^6 espermatozoides/mL para o jumento. Quando mais de uma égua foi inseminada, procedeu-se a avaliação da concentração para determinação da quantidade de diluidor necessário. Já, quando apenas uma égua foi inseminada, não se realizaram cálculos pelo conhecimento prévio da quantidade de espermatozoides no ejaculado.

2.1.6 Inseminação artificial

A utilização de sêmen fresco foi o método de eleição para a inseminação artificial. Os garanhões ou jumento foram coletados com auxílio de vagina artificial, o sêmen foi processado no laboratório e, então, procedeu-se a inseminação que podia ser no corpo uterino ou na extremidade do corno uterino, próximo à papila útero-tubárica. Enfaixou-se a cauda da fêmea e uma higienização da área perineal foi realizada com água, sabão e desinfetante. O técnico responsável pela inseminação vestiu luva de palpação retal de forma asséptica, lubrificada com gel não espermicida, e introduziu a mão segurando a pipeta através dos lábios vulvares via canal vaginal até que o óstio cervical fosse encontrado. A pipeta então foi introduzida no óstio com o auxílio do dedo indicador até que toda a cérvix fosse transpassada e o local de deposição fosse alcançado (Figura 6). No caso de inseminação na papila útero-tubárica, após passar o corpo uterino, o inseminador introduziu a mão no reto e desviou a pipeta para o corno uterino desejado e, então, depositou o sêmen. Dois dias após a inseminação, as éguas foram novamente avaliadas por ultrassonografia para confirmação da ovulação e verificação de possível endometrite pós-cobertura.



FIGURA 6 - Inseminação artificial. Fonte: Arquivo pessoal

2.1.7 Diagnóstico de gestação

Os diagnósticos de gestação procederam-se aos quatorze, trinta e cinco e sessenta dias pós-ovulação, através de palpação retal e confirmação com ultrassonografia. No décimo quarto dia palpava-se apenas o útero com tônus acentuado e na ultrassonografia visualizava-se a vesícula embrionária compatível com o estágio (Figura 7).



FIGURA 7 - Vesícula embrionária compatível com 14 dias de gestação. Fonte: Arquivo pessoal

Aos trinta e cinco dias já se palpava aumento de volume na porção ventral do corno esquerdo ou direito, ainda com tônus, mas menos acentuado e na ultrassonografia visualizava-se o embrião e batimento cardíaco (Figura 8). No sexagésimo dia, a gestação era novamente avaliada, onde nesse estágio o útero estava bastante aumentado de tamanho, mais flácido e a imagem de ultrassom já revelava o feto. A taxa de prenhez final foi de 88,4%.



FIGURA 8 - Imagem ultrassonográfica de embrião compatível com 35 dias. Fonte: Arquivo pessoal

2.1.8 Lavagem e infusão uterina

Algumas das fêmeas expulsaram secreção pela vagina estimuladas pela palpação realizada (Figura 9) ou, ainda apresentaram acúmulo de secreção\líquido intrauterino detectado pela ultrassonografia.



FIGURA 9 - Secreção expelida através da vagina. Fonte: Arquivo pessoal

Dependendo do caso, o tratamento escolhido foi lavagem e\ou infusão intrauterina. No caso da lavagem, após a cauda ser enfaixada, o períneo foi higienizado. O operador responsável pelo procedimento vestiu luva de forma estéril e com o auxílio de um lubrificante introduziu uma sonda (modelo Bivona®) pelo canal vaginal até o fundo deste, alcançando o óstio cervical. Junto ao dedo indicador, transpassou a sonda pela cérvix até o corpo do útero. Um auxiliar inflava o *cuff* da sonda para que esta permanecesse fixa no local. A solução de Ringer Lactato aquecida foi acoplada à sonda e o líquido transfundido para cornos e corpo uterino. O operador retirou a mão enluvada do canal vaginal e a introduziu pelo reto para realizar uma massagem dos cornos e corpo, de forma que a solução atingisse toda a extensão. Após, o líquido foi retirado do útero por gravidade e por massagem. A quantidade recuperada era apontada, assim como anormalidade de coloração e celularidade. Ao final, 20 UI IV de ocitocina (Ocitocina Forte UCB®) foram aplicadas para auxiliar na expulsão do líquido restante.

Alguns animais foram submetidos à infusão uterina de antibióticos a base de gentamicina ou de solução iodada a 1% a fim de auxiliar na terapia da endometrite. Os mesmos princípios e procedimentos de inseminação\lavagem uterina foram utilizados. Uma

bainha descartável de inseminação foi utilizada para infundir a solução contida em uma seringa. Após, via retal, uma massagem dos cornos e corpo foi realizada para garantir que a solução atingisse toda a extensão uterina. A escolha do tratamento dependeu de cada caso, onde algumas éguas necessitaram de apenas lavagem ou apenas infusão e, em casos mais severos, as duas terapias foram associadas.

2.2 Exame andrológico de touros

Alguns animais que foram utilizados em projetos de pesquisa e alguns leiloados pela USP foram submetidos ao exame andrológico prévio à comercialização. Os exames dividiram-se em duas partes, sendo a primeira a identificação, avaliação do animal e coleta do sêmen e a segunda, o espermograma realizado no laboratório. Um certificado foi destinado a cada animal com as informações acerca do exame. Após a identificação, conduziu-se uma anamnese e obtiveram-se dados referentes ao histórico, manejo, sanidade, nutrição e objetivo do exame andrológico. Posteriormente, os aprumos foram avaliados em estação e em movimento, ao mesmo tempo em que se estimou o escore de condição corporal. Quanto ao exame específico do sistema reprodutor, este foi conduzido com o animal contido em tronco para a segurança do técnico. Inicialmente, palpou-se e inspecionou-se o escroto procurando indícios de alterações, como lesões e parasitas. Os testículos foram palpados verificando consistência (1-flácida a 5-firme), sensibilidade e mobilidade dentro do escroto. Cabeça e cauda de cada epidídimo também foram avaliadas, assim como o cordão espermático e o anel inguinal. O perímetro escrotal foi mensurado com uma fita métrica própria para este fim. A próstata, glândulas vesiculares e ampolas dos ductos deferentes foram examinadas por palpação transretal. Finalizado o exame clínico, procedeu-se a coleta seminal com eletroejaculador. Estímulos elétricos graduais foram emitidos pelo comando do técnico até que a protrusão peniana e a ejaculação ocorressem. O sêmen foi coletado em tubo graduado e levado ao laboratório próximo para realização do espermograma. No laboratório, estimou-se o volume e uma amostra de sêmen foi depositada sobre lâmina aquecida a 37°C para estimativa do turbilhonamento (movimento em massa graduado de 0 a 5). Outra amostra foi avaliada sob lamínula aquecida para os parâmetros de motilidade total, progressiva e vigor (Figura 10).



FIGURA 10 - Avaliação laboratorial. Fonte: Arquivo pessoal

Em uma diluição de 1:100, foram contados os espermatozoides em 5 quadrados de cada lado da Câmara de Neubauer e realizou-se a média e cálculo para mensurar a concentração do ejaculado em milhões por mL. Quanto à análise da morfologia espermática, foi realizada em microscópio de contraste de interferência diferencial, sob aumento de 1000x, utilizando óleo de imersão. Os parâmetros foram classificados de acordo com as normas do CBRA (2013), sendo aceita motilidade $\geq 60\%$, vigor ≥ 3 , turbilhonamento ≥ 3 , defeitos maiores $\leq 10\%$ e defeitos menores $\leq 20\%$. A conclusão do certificado de exame andrológico variou de acordo com os dados obtidos durante o exame, sendo os animais classificados pelo potencial de fertilidade.

3 – DISCUSSÃO

3.1 Reprodução da fêmea

A estação de monta iniciou efetivamente em outubro, porém o acompanhamento das atividades se deu apenas a partir do final do mês de fevereiro e se estendeu até a metade do mês de abril. Devido a isso e ao fato de que o Prof. Dr. Rubens Paes de Arruda, supervisor deste estágio, era o responsável pela reprodução das éguas do Campus de Pirassununga, foram acompanhadas atividades relacionadas à reprodução de fêmeas equinas.

3.1.1 Fisiologia reprodutiva de fêmeas equinas

Apesar de algumas éguas ciclarem o ano todo, a fêmea equina é considerada poliéstrica sazonal. Esta ciclicidade em períodos determinados se dá principalmente pelo efeito da duração dos dias e da produção de melatonina no eixo hipotalâmico-hipófise-gonadal (Figura 11), além da condição corporal (HAFEZ e HAFEZ, 2004). Durante o início da primavera os dias tornam-se mais longos e, com isso, a produção de melatonina pela glândula pineal diminui. A melatonina é conhecida pelo seu efeito antigonadotrópico nas éguas, ou seja, suprime a liberação de GnRH pelas células neurosecretoras do hipotálamo. Desta forma, quando aumenta o período de luminosidade (primavera e verão), os menores níveis de melatonina desbloqueiam a inibição da secreção do GnRH, fazendo com que este estimule a produção de FSH (hormônio folículo estimulante) e LH pela hipófise, dando início à estação reprodutiva.

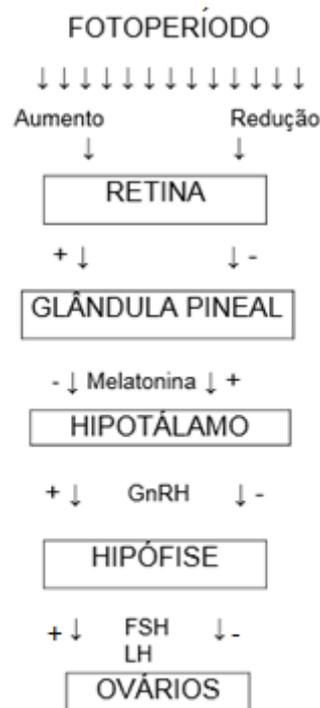


FIGURA 11 - Eventos que ocorrem na regulação hormonal. Traduzido de BRINSKO et al. (2011)

O FSH e o LH são hormônios glicoproteicos que têm funções distintas. O primeiro possui receptores nas células da granulosa e é responsável pelo crescimento folicular. O segundo possui receptores tanto nas células da granulosa quanto nas células da teca e permite a maturação final, ovulação e luteinização. Além destes hormônios, existem outros que possuem importante função no ciclo estral. Um deles é a inibina, que é uma proteína produzida principalmente pelas células da granulosa e que age como um sinalizador para a hipófise sobre a quantidade de folículos em desenvolvimento, gerando um feedback negativo na secreção de FSH. Também, a ativina que modula os níveis de FSH e estimula a proliferação e esteroidogênese de células da granulosa. (BRINSKO et al., 2011; HAFEZ e HAFEZ, 2004; MCKINNON et al., 2011).

No início da estação reprodutiva, antes da égua ovular pela primeira vez, uma série de alterações ocorre no padrão hormonal e ovariano até que o ciclo estral normal se estabeleça. No período de transição da primavera, a fêmea pode apresentar sinais comportamentais de estro e o ovário pode apresentar grandes folículos anovulatórios. Cerca de 45 dias são necessários para que a ovulação ocorra de fato. A tentativa de induzir uma ovulação e cobrir ou inseminar o animal pode levá-lo a desenvolver endometrite, posterior aborto devido à insuficiência na manutenção do corpo lúteo, além do uso desnecessário do ganhão (MCKINNON et al., 2011). Para diminuir o período de transição e tentar adiantar a primeira

ovulação alguns tratamentos têm sido realizados. GnRH, progesterona, combinação de estradiol, progesterona, prostaglandina e hCG ou deslorelina foram pesquisados demonstrando diferentes níveis de eficácia. Com o mesmo objetivo, são instituídos programas de luz artificial. O mais comum é a exposição totalizando de 14 a 16 horas diárias de luz, na intensidade de 100lux, por 8 a 10 semanas, associado à hormonioterapia (ALEXANDER e IRVINE, 1991; MCCUE et al., 1992; MCCUE et al., 2001; MOREHEAD; COLON; BLANCHARD, 2001; PALMER; DRAIN COURT; ORTAVANT, 1982; SQUIRES, 2003).

Após o início da estação, o ciclo estral possui um padrão de eventos. Na égua existem uma ou duas ondas foliculares. Nos que desenvolvem apenas uma onda, o folículo dominante é selecionado cerca de sete dias antes da ovulação. Nos que desenvolvem duas ondas, o folículo dominante é selecionado na primeira onda que inicia no final do estro ou no início do diestro e pode ovular, gerando assim a chamada ovulação de diestro. Este processo pode aumentar o intervalo de um ciclo em relação aos animais que apenas têm uma onda. Prévio ao início da emergência folicular há um aumento nas concentrações de FSH. Os folículos crescem até o momento em que a divergência se inicia. O maior folículo continua a crescer e os demais diminuem ou cessam seu desenvolvimento. (BRINSKO et al., 2011; GASTAL, 1999). Esta fase folicular dura de 4 a 7 dias e este crescimento aumenta as concentrações de estradiol pelas células da granulosa, o que leva a um *feedback* negativo na secreção de FSH. Os folículos subordinados apresentam receptores para FSH e, com essa diminuição nos níveis, iniciam a regressão. Já o processo de aquisição de dominância envolve muitos mecanismos ainda não totalmente esclarecidos, porém, segundo revisão feita por GURGEL et al. (2008), há indícios de que o folículo dominante apresenta maiores concentrações de ativina, inibina A, IGF-1 (fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1), VEGF (fator de crescimento do endotélio vascular) e menores de IGFBP (proteína ligadora de IGF).

Com cerca de 24 a 48 horas antes do fim do estro, ocorre a ovulação do folículo dominante em resposta a um aumento de LH na circulação. Para isso, os níveis de progesterona devem estar baixos, caso contrário o folículo regride (SAMPER; PYCOCK; MCKINNON, 2007). Na égua, diferentemente de outras espécies, o pico de LH se dá após a ovulação e isso ainda não é totalmente esclarecido. Na sequência da ovulação e liberação do oócito se dá a formação do corpo hemorrágico e, posteriormente, do corpo lúteo. As células da granulosa tornam-se as células luteínicas grandes e as da teca tornam-se as células luteínicas pequenas. Segundo SALLES e ARAÚJO (2010), a conversão para a produção, agora, de progesterona nestas células se dá por uma diminuição na expressão da enzima P450 aromatase, responsável pela transformação da androstenediona em estrógeno. Estas células

luteínicas, além dos fibroblastos, células do sistema imunológico e vasos sanguíneos compõem o corpo lúteo, que se mantém por aproximadamente 14 a 17 dias. Caso não haja fecundação, os folículos, com sua secreção de estradiol, estimulam a síntese de receptores de ocitocina no endométrio. O corpo lúteo libera ocitocina, que se liga aos receptores endometriais estimulando a secreção e liberação de $PGF2\alpha$ (prostaglandina dois-alfa), que, diferentemente da vaca, sofre metabolização pulmonar. O efeito final é luteolítico, causando diversos eventos que culminam na regressão do corpo lúteo, incluindo diminuição da perfusão sanguínea (PATE, 1994).

Fechando a estação, há o período de transição de outono, caracterizado por diminuição nas concentrações de GnRH e LH devido à diminuição da duração dos dias. No início do outono as éguas ciclam normalmente, posteriormente começam a demonstrar ciclos irregulares com grande número de pequenos folículos nos ovários, estruturas estas que não ovulam e tornam-se folículos hemorrágicos anovulatórios culminando, por fim, em inatividade ovariana (MCKINNON et al., 2011; NEQUIN et al., 2000).

3.1.2 Cio do potro

Logo após o parto, em duas semanas, a maioria das éguas pode ovular após o cio do potro e ciclar normalmente a partir disto. Em alguns casos, elas não apresentam ou têm pouco crescimento folicular, ou, ainda, podem não ovular ou ovular e passar por um período de anestro até que o ciclo seja novamente reestabelecido. Há controvérsias quanto ao sucesso de cobrir ou inseminar o animal nesta época, pois taxas de fertilização menores (cerca de 10 a 20% menores) são atribuídas a este período. BRINSKO et al. (2011) explica que isso pode ser devido a uma falha no endométrio em se reestabelecer para sustentar um embrião. Um estudo realizado por BELL e BRISTOL em 1987 demonstrou que animais que ovularam 10 dias pós-parto tiveram maiores taxas de prenhez comparados aos animais que ovularam antes desta data, o que reforça a ideia de que é necessário este intervalo para que os constituintes histológicos do endométrio se reestabeleçam, para que o fluido uterino presente seja expulso e as condições para a implantação embrionária sejam adequadas. O VRA optava pela utilização deste estro, com o intuito de emprenhar as éguas mais rapidamente e as taxas de prenhez eram satisfatórias.

Segundo CAMILLO et al. (1997), as razões para não utilizar o cio do potro são quando se optar pela utilização de um sêmen congelado ou de baixa fertilidade, além da possibilidade da égua ter apresentado algum problema no parto ou ter alguma patologia uterina. Animais com complicações no parto parecem ter a fertilidade reduzida no cio do potro. ISHII et al., 2001 demonstrou que períodos prolongados de retenção de placenta parecem afetar a taxa de prenhez quando comparada ao cio posterior. MALSCHITZKY et al. (2003) estudaram o efeito do acúmulo de líquido intrauterino durante o cio do potro, o que aumentou as taxas de perda embrionária.

Com base nisso cabe ao técnico responsável optar ou não pelo uso deste cio, de acordo com as necessidades e condições da criação. Alguns locais, onde não se pretende estender o intervalo entre partos, fazem uso deste período. Contudo, caso não haja o interesse nesta possibilidade outras opções existem para emprenhar o animal no pós-parto. A administração de PGF2 α (prostaglandina dois alfa) para induzir a luteólise após o cio do potro é uma das alternativas (KREIDER et al., 1978). Ainda, alguns tratamentos (Progesterona, Estradiol e PGF2 α ; Altrenogest), iniciados no dia do parto, visam prolongar o início do estro, sem afetar o intervalo para a concepção.

3.1.3 Patologias reprodutivas e o impacto na fertilidade

Boas taxas de gestação dependem de muitas variáveis como nutrição, manejo e sanidade reprodutiva. Algumas alterações no trato reprodutivo da fêmea podem afetar estas taxas e devem ser consideradas dentro da estação de monta. Durante a estação 2014/2015, algumas fêmeas foram diagnosticadas com alterações reprodutivas, descritas na figura 12.

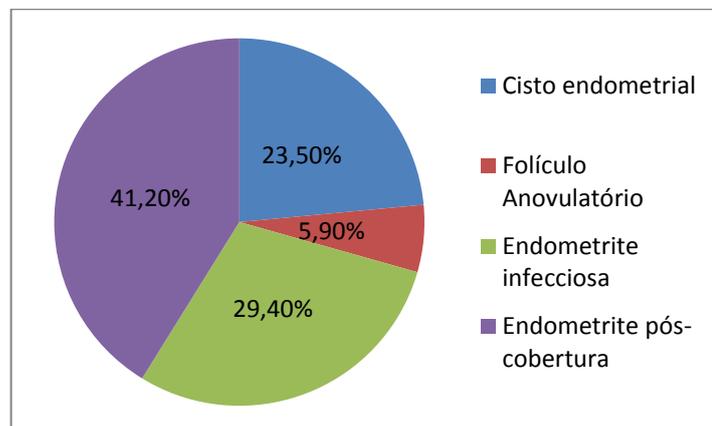


FIGURA 12 - Distribuição de afecções diagnosticadas nas fêmeas equinas.

3.1.3.1 Cisto endometrial

Os cistos endometriais podem ser divididos em glandulares e linfáticos (mais comuns). Os glandulares ocorrem em éguas multíparas e subférteis com histórico de fibrose periglandular, o que faz com que o epitélio glandular se separe e forme um cisto. Já os linfáticos são resultado de uma obstrução de canais linfáticos e úteros mais pendulosos, protruem no lúmen uterino e sua ocorrência aumenta de acordo com a idade e número de partos (STANTON; STEINER; PUGH, 2004).

O real efeito destas estruturas na reprodução ainda não foi completamente estabelecido. O embrião equino movimenta-se após a descida ao útero para fixar-se em torno de 16 dias. A presença de grande quantidade e tamanho de cistos pode influenciar nesta fixação, diminuindo o aporte sanguíneo no local, além de afetar a movimentação por si só. Além disso, os cistos, quando superficiais, podem resultar no não desenvolvimento dos microcotilédones placentários. BRACHER; MATHIAS; ALLEN (1992) mostraram correlação negativa entre taxa de concepção e cistos quando estes eram mais de cinco. Na realização de diagnósticos de gestação por ultrassonografia os cistos podem confundir o examinador, inicialmente. Por isso, repetidos exames devem ser realizados para diferenciação, uma vez que a vesícula embrionária aumenta de tamanho e o cisto permanece estático. O diagnóstico dos cistos glandulares usualmente é um achado incidental de exames histológicos e histeroscopia. Já os linfáticos podem ser detectados pela palpação intrauterina, histeroscopia, biópsia e pela ultrassonografia, que é o método mais utilizado.

BRINSKO et al. (2011) sugerem que se a vesícula embrionária fixa-se próximo ao cisto, ela pode ter redução do contato com a superfície que possui epitélio glandular normal, visto que o local onde o cisto se encontra não possui glândulas endometriais, o que pode ocasionar perda embrionária. Desta forma, os mesmos autores indicam que não é necessário tratamento quando as estruturas são menos de 5 no total, pequenas (menores de 2 a 3cm) e quando não estão agrupadas na transição do corpo para os cornos uterinos (local usual de fixação embrionária). Além disso, outras causas de infertilidade devem ser descartadas prévias a decisão de tratamento. As opções terapêuticas relatadas por STANTON; STEINER; PUGH (2004) incluem ablação manual por via uterina em éguas em estro, punção e aspiração com agulha guiada por endoscópio, eletrocoagulação por histeroscopia e aplicação de laser. Quatro éguas do VRA apresentavam cistos endometriais e não receberam tratamento. Eram estruturas de pequena dimensão (o maior sendo de 17x18mm), o que possivelmente não

influenciou na concepção. Ao final da estação de monta, apenas uma égua que possuía cisto não concebeu, possivelmente pelo acúmulo de fluido intrauterino diagnosticado concomitantemente. Este acúmulo foi tratado por lavagem uterina, porém não houve sucesso terapêutico.

3.1.3.2 Folículo anovulatório (FA)

Próximo ao final da estação reprodutiva das fêmeas equinas é comum a ocorrência de “folículos de outono”, que não ovulam. Já os chamados folículos hemorrágicos anovulatórios e folículos anovulatórios persistentes são estruturas pré-ovulatórias que falham em ovular durante a estação reprodutiva. A incidência relatada neste período é de 3,1% a 8,2% (SAMPER; PYCOCK; MCKINNON, 2007). Nestes folículos pode ocorrer hemorragia, reorganização do conteúdo e luteinização ou não da parede folicular. Na maioria dos casos (85%) ocorre luteinização das células da granulosa com secreção de progesterona. A diferenciação entre folículos hemorrágicos com ou sem a parede luteinizada se faz pela ultrassonografia, onde o luteinizado apresenta parede com maior espessura e ecogenicidade.

A etiologia ainda não é bem estabelecida. O que se sugere é a insuficiência na produção de estrógeno pelo folículo e deficiência na produção de gonadotrofinas pela hipófise. Pelo fato de não ocorrer ovulação deste folículo, o ciclo estral é inutilizado, caso outro folículo não ovule e GINTHER et al. (2006) relata que animais que apresentam esta condição tendem a apresentá-la novamente em ciclos subsequentes. No caso do luteinizado, a aplicação de PGF2 α 7 a 10 dias após a formação pode causar luteólise e retorno ao estro. Quanto aos não luteinizados, a regressão espontânea pode ocorrer dentro de 1 a 4 semanas. Alguns estudos relatam que a aplicação de hCG ou GnRH não demonstra efeito sobre a estrutura, no entanto KAMADA et al. (2013) obtiveram êxito utilizando hCG. Uma égua do Campus de Pirassununga apresentou FA, possivelmente luteinizado. Doze dias após a detecção, o animal foi novamente examinado e um corpo lúteo foi constatado, sendo, portanto, realizada uma aplicação de 300 μ g IM de PGF2 α (Sincrocio®) e posteriores procedimentos para inseminação. Após quatorze dias, a fêmea foi diagnosticada como vazia, por apresentar acúmulo de líquido intrauterino recorrente.

3.1.3.3 Endometrite

Segundo TROEDSSON (1999), a endometrite é caracterizada como uma inflamação do endométrio uterino e pode ser classificada em endometrite persistente pós-cobertura, endometrite infecciosa crônica, endometrite crônica degenerativa (também denominada endometriose) e endometrite causada por microorganismos sexualmente transmissíveis.

Cerca de cinco dias após a fecundação, para que o embrião consiga entrar em um ambiente uterino adequado, a égua tem uma resposta inflamatória fisiológica à deposição de sêmen e eventual entrada de contaminantes. Metabólitos do ácido araquidônico e migração neutrofílica são gerados a fim de expulsar plasma seminal, espermatozoides excedentes e microorganismos. Para isso, a cérvix se abre e em 48 horas o conteúdo uterino é liberado por contrações miométriais, em éguas férteis. Ao final, a cérvix se fecha e o edema e os constituintes inflamatórios são debelados pela drenagem linfática. (LEBLANC e CAUSEUY, 2009). No caso de éguas que desenvolvem endometrite pós-cobertura este mecanismo fisiológico se prolonga e faz com que líquido fique acumulado no lúmen uterino.

Muitas causas são atribuídas a falha em expulsar o conteúdo. Sugere-se que uma delas seja a diminuição do *clearance* uterino e isso pode estar relacionado, primariamente, a uma disfunção miométrial, fazendo com que o líquido se acumule persistentemente no lúmen. Animais mais velhos e que tiveram muitos partos tendem a ter alterações no *clearance*. Alguns estudos demonstraram que alterações na ação e constituição mucociliar juntamente à contração uterina também podem estar relacionadas à doença, uma vez que lesões crônicas levam à perda destas estruturas e conseqüente maior chance de adesão bacteriana. Ao mesmo tempo, inflamações agudas ou subagudas levam ao aumento na produção de muco, sem a expulsão do mesmo e, ainda, falha nas tentativas de tratamento com antibióticos. Falha na abertura cervical e alterações na drenagem linfática podem fazer com que fluido se acumule e uma endometrite ocorra (LEBLANC e CAUSEY, 2009).

Durante o estro é comum que uma pequena quantidade de edema seja detectada na ultrassonografia, porém em um estudo realizado por PYCOCK e NEWCOMBE (1996) sugeriu-se que, quando esta quantidade chega a aproximadamente 2 cm de distensão luminal, pode ser que a drenagem seja deficiente e estas éguas sejam mais susceptíveis a desenvolver endometrite. Esta deficiência pode ser devido a uma fibroelastose vascular, que diminui o retorno sanguíneo e causa uma linfangiectasia persistente (SAMPER, 2009). Estas alterações são mais comuns de ocorrer em animais múltiparos com mais de 15 anos e acabam por

reduzir a fertilidade. Por fim, a conformação perineal e vulvar, além do relaxamento de ligamentos, favorecem o acúmulo de líquido, entrada de ar e irritação da mucosa. Dentre os animais acompanhados, 03 éguas tinham má conformação e apresentaram acúmulo de fluido intrauterino.

O diagnóstico torna-se, portanto, passo essencial para tratar adequadamente e conseguir reproduzir estes animais susceptíveis. O diagnóstico é definido pelo exame clínico do veterinário, que é, idealmente, acompanhado e complementado pela ultrassonografia, citologia, cultura e biópsia uterina. Algumas vezes o animal pode apresentar descarga na comissura ventral da vulva e esta se estende à cauda. Além disso, pode apresentar menor intervalo entre estros, devido à geração prematura de prostaglandina pela inflamação. No exame ginecológico, ao utilizar espéculo, sinais como descarga cervical, acúmulo de urina e aumento exacerbado da vascularização podem ser indícios da patologia. Quando se utiliza a ultrassonografia, pode-se detectar acúmulo de fluidos intrauterinos, que podem ter ou não característica mais ecogênica. Em alguns casos, devido à manipulação uterina pela palpação retal, o operador faz com que algum conteúdo seja liberado através da vagina, caso haja dilatação cervical.

A cultura pode ser realizada através de *swab* que é exposto apenas no interior do útero ou, ainda, lavagem uterina com pequenas quantidades de PBS (Phosphate Buffered Saline). A presença de microorganismos por si só na cultura não é diagnóstico para endometrite, visto que pode haver contaminação na coleta da amostra. Por isso, os resultados devem ser comparados com os da citologia. Os principais microorganismos envolvidos na endometrite são as bactérias *Streptococcus zooepidemicus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella pneumoniae*, além dos fungos *Candida* spp., *Aspergillus* spp. e *Mucor* spp. Éguas com endometrite possuem sinais de inflamação, por isso a importância de realizar exame citológico. Células epiteliais e neutrófilos degenerados com bactérias ou fungos fagocitados podem ser encontrados nas amostras. Uma citologia normal, em pelo menos 5 campos avaliados sob aumento de 400x, apresenta menos de 1 célula polimorfonuclear por campo analisado; de 1 a 2 polimorfonucleares indica inflamação leve, de 3 a 4 indica inflamação moderada e 5 ou mais, inflamação severa. (RIDDLE; LEBLANC; STROMBERG (2007). Em casos de infecções fúngicas, é mais fácil detectá-las em uma citologia do que em uma biópsia, porque normalmente os fungos atingem superficialmente o útero. Contudo, a biópsia é outro método diagnóstico muito útil para determinar casos de endometrite aguda e crônica. Alterações histológicas como fibrose periglandular, distensão glandular cística e inflamação

crônica podem ser vistas e utilizadas para estimar as chances futuras de uma fêmea conceber (BRINSKO et al., 2011).

No estágio realizado, o diagnóstico foi definido através do exame clínico, ultrassonografia e citologia. Porém, durante o período acompanhado, a técnica de coloração da citologia estava sendo adaptada, não sendo, portanto, realizada. Os exames de cultura e biópsia não foram feitos porque os laboratórios da USP Campus de Pirassununga que processavam as amostras, naquele momento, apresentavam problemas técnicos. Talvez, por esta razão, algumas das infecções tratadas não foram bem sucedidas, já que o diagnóstico era sugestivo e não era confirmado por exames complementares importantes (biópsia, cultura e citologia). Isso fazia com que, ocasionalmente, um tratamento ineficaz fosse instituído.

Durante a realização deste estágio cinco animais foram diagnosticados com fluido intrauterino prévio a cobertura (endometrite infecciosa) e dois deles permaneceram vazios ao final da estação, pois após o tratamento não realizou-se a inseminação novamente. O ideal é que o tratamento de infecções uterinas seja realizado durante o estro, visto que neste período as células inflamatórias estão em maior quantidade na superfície uterina e geram uma maior defesa. No caso de a infecção ser detectada no diestro, uma dose de PGF₂ α pode ser aplicada para fazer com que a fêmea retorne ao estro e possa ser tratada. Para isso, os animais diagnosticados que estavam no diestro receberam terapia que condiz com o indicado acima. Após a luteólise, realizava-se lavagem uterina e aplicação de ocitocina e, em alguns casos, infusão de antibióticos a base de gentamicina. De acordo com MALSCHITZKY et al., (2007), nos animais diagnosticados com má conformação perineal a vulvoplastia é indicada para o tratamento. No VRA, alguns animais tinham indicação para a realização de cirurgia de Caslick, no entanto esta não foi realizada durante o período acompanhado.

Na rotina acompanhada, 48h após a inseminação realizava-se ultrassonografia do trato reprodutivo para avaliar se a ovulação havia ocorrido e, também, para verificar possível acúmulo de líquido intrauterino. Sete fêmeas apresentaram endometrite-pós cobertura e, devido a isso, institui-se uma lavagem intrauterina com solução de Ringer Lactato aquecida e após, administrava-se ocitocina para auxiliar na expulsão do conteúdo. Ao final da estação, duas fêmeas com a condição permaneceram vazias após diversas tentativas de tratamentos. A união da lavagem e aplicação de ocitocina é indicada por diversos autores e visa auxiliar na diminuição de exsudato, debris e sêmen excedente naqueles animais com incapacidade de expulsão de conteúdo. A ocitocina, segundo SAMPER; PYCOCK; MCKINNON (2007) pode ser aplicada já nas primeiras 4 horas e repetida de 24 a 48 horas após a inseminação\cobertura. Ao contrário da prostaglandina, ela não interfere na função posterior do corpo lúteo, podendo,

portanto, ser usada neste período descrito. No 14º dia pós-ovulação, quando as éguas retornavam para o primeiro diagnóstico de gestação, aquelas que ainda apresentavam edema em torno da vesícula eram suplementadas com progesterona injetável de longa ação (manipulada pela empresa Botupharma, indisponível comercialmente). No próximo exame ultrassonográfico (35 dias), caso ainda apresentassem a condição, continuava-se a suplementação.

A lavagem intrauterina antes da inseminação também pode ser realizada, no entanto esta não era instituída. A infusão uterina era realizada de acordo com o histórico e quando o líquido apresentava-se mais ecogênico à ultrassonografia. A indicação de SAMPER; PYCOCK; MCKINNON (2007) é que a infusão seja feita apenas em animais que possuem infecções com microorganismo conhecido pela realização de cultura e antibiograma, mais crônicas e que não respondem à lavagem uterina e ocitocina. Do contrário, seu uso pode criar um ambiente uterino favorável à proliferação fúngica.

3.2 Reprodução do macho

3.2.1 Fisiologia reprodutiva

A reprodução do macho é controlada pelos sistemas endócrino e nervoso, com influências ambientais. Através do sistema portal, o GnRH age na hipófise estimulando a secreção dos hormônios LH e FSH. O FSH mantém a função espermatogênica e quando age nas células de Sertoli estimula a produção de proteínas ligadoras de andrógenos (ABP), além de inibina e ativina. O LH age sobre as células de Leydig, estimulando a produção de estradiol e de testosterona, a qual circula ligada a ABP e determina as características sexuais secundárias aos machos (YOUNGQUIST e THRELFAL, 2007).

Embora o macho não sofra alterações tão marcadas em relação à época do ano, algumas diferenças são encontradas entre raças mais adaptadas ao verão e inverno, principalmente no que diz respeito a conforto térmico (CHACUR et al., 2012).

3.2.3 Importância do exame andrológico

O macho é parte importante e merece atenção dentro de um programa reprodutivo, pois tem a capacidade de acasalar com grande número de fêmeas, seja via monta natural ou inseminação artificial e corresponde a 50% do material genético dos seus descendentes. A presença de touros subfêrteis e infêrteis em um rebanho pode diminuir os índices de fertilidade e ocasionar grandes perdas econômicas e, devido a isso, torna-se indispensável o diagnóstico destas condições (BARBOSA; MACHADO; BERGAMASCHI, 2005).

É através do exame andrológico que se pode estimar e selecionar touros com capacidades produtivas e reprodutivas desejadas no plantel. As indicações para a realização do exame andrológico são para comercialização de reprodutores, diagnóstico de falhas reprodutivas no rebanho e de problemas de fertilidade, entrada nas centrais de inseminação, determinação de puberdade e maturidade sexual, além de avaliação pré-estação de monta (BARBOSA; MACHADO; BERGAMASCHI, 2005), onde 45 a 60 dias antes do início os animais devem ser examinados. A puberdade pode ser determinada quando o touro apresentar 10 % de motilidade espermática e concentração espermática de no mínimo de 50 milhões de espermatozoides e a maturidade sexual quando o animal apresentar 70% dos espermatozoides morfolologicamente normais, sendo que os zebuínos são considerados mais tardios do que os taurinos (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

O diagnóstico de alterações reprodutivas é um dos objetivos principais e com a detecção precoce destes distúrbios o animal pode ser afastado da reprodução sem interferir nos resultados ou transmitir sua condição. Muitas alterações adquiridas, congênicas e hereditárias que interferem na fertilidade podem ser detectadas, dentre elas as orquites, espermatocelos, alterações em glândulas anexas, desvio de pênis e persistência de frênulo peniano (BICUDO; SIQUEIRA; MEIRA, 2007). No entanto, a degeneração testicular ainda é a mais importante e recorrente e pode levar a danos irreversíveis no tecido. Ela pode ser ocasionada por alterações de temperatura, nutrição, traumas, infecções, obstrução de condutos, lesão de vasos, inflamação, toxinas e hormônios. Inicialmente o testículo se apresenta com alterações na consistência tornando-se flácido, o tamanho pode estar normal ou diminuído e conforme há progressão ocorre fibrose do órgão, diminuição da concentração espermática e aumento do número de células com alterações morfológicas. Algumas linhagens celulares como espermatogônias, células de Leydig e de Sertoli são mais resistentes aos danos e dependendo do grau da lesão podem dar reinício à atividade reprodutiva normal,

variando em meses (NASCIMENTO e SANTOS, 2003). Na hipoplasia testicular, apenas um ou os dois testículos podem estar diminuídos, parcial ou totalmente. A contagem de células espermáticas com defeitos morfológicos é alta e ocorre diminuição do número de espermatozoides no ejaculado. O grande problema é que a maioria dos animais que possuem esta condição apresenta alteração de forma unilateral, o que faz com que o macho consiga ainda se reproduzir, contudo ser subfértil. Desta maneira, pode transmitir o gene autossômico recessivo responsável pela hipoplasia a sua prole e perpetuá-la, assim como as baixas taxas de fertilidade. Sendo esta uma condição bastante grave, a retirada destes animais da reprodução e descarte são altamente recomendados (BICUDO; SIQUEIRA; MEIRA, 2007).

Outra avaliação importante do exame andrológico e que está relacionado com seleção e melhoramento genético é a mensuração do perímetro escrotal. É fácil de ser realizada e repetida e apresenta vantagens como alta herdabilidade e correlação genética, conforme revisado por SIQUEIRA; GUIMARÃES; PINHO (2013). A mensuração é favorável em relação a características reprodutivas de fêmeas e machos, como por exemplo, medidas de peso, idade ao primeiro parto, número de dias para o parto e duração da gestação (PEREIRA; ELER; FERRAZ, 2000 E 2002) e correlaciona-se maior peso testicular a produção e qualidade espermática (YOUNGQUIST e THRELFAL, 2007). Portanto, esta é mais uma ferramenta que pode ser utilizada para seleção de animais melhoradores no rebanho. A USP Campus de Pirassununga realiza anualmente avaliação dos animais destinados à comercialização em leilões e daqueles que serão utilizados nas estações de monta. Atualmente, os touros são utilizados para repasse após realização de programas de IATF (Inseminação Artificial em Tempo Fixo) e ressincronização. Por motivos de inadequação de local, testes de libido e de capacidade de serviço não eram executados, porém ressalta-se a grande importância dos mesmos.

Os benefícios trazidos com a realização do exame andrológico são muito maiores quando comparados com o custo, que é baixo. Mesmo sabendo das vantagens comprovadamente eficientes, ainda poucos produtores utilizam desta ferramenta (MENEGASSI et al., 2011). No entanto, ela possibilita a seleção de animais com bom desempenho e deve ser componente fundamental do manejo reprodutivo a fim de melhorar as taxas de fertilidade (PEÑA ALFARO, 2011).

3.2.4 Técnicas de avaliação de sêmen e impacto na fertilidade

Muitas técnicas vêm sendo desenvolvidas para a avaliação de espermatozoides. Elas visam estimar o potencial fértil do sêmen, no entanto nenhum teste isolado é capaz de prever este potencial e, por isso, diversas pesquisas são focadas neste tema. A associação de várias técnicas é a melhor forma para esta avaliação complexa, visto que o espermatozoide é uma célula que necessita de muitos atributos para realizar sua função com eficiência.

3.2.4.1 Cinética espermática

As avaliações das células espermáticas usualmente feitas incluem parâmetros como motilidade (número de células móveis), motilidade progressiva (número de células móveis com movimento progressivo) e vigor (força de movimentação da célula). No entanto, ARRUDA et al. (2007) relatam que estas análises por serem subjetivas são imprecisas e resultam em alta variação, mesmo sendo realizadas por técnicos treinados. Devido a isso, nos últimos anos desenvolveram-se programas computadorizados a fim de realizar uma avaliação mais precisa e com maior repetibilidade. Algumas pesquisas desenvolvidas no VRA da USP de Pirassununga utilizavam sistemas computadorizados para avaliar o movimento espermático. Os sistemas disponíveis eram SCA® (Sperm Class Analyzer, Espanha) e Hamilton Thorne® (Estados Unidos).

O grande desafio ainda é determinar quais parâmetros gerados contribuem para estimar o potencial do sêmen (ARRUDA et al., 2007). Conforme revisado por VERSTEGEN; IGUER-OUADA; ONCLIN (2002), alguns dados fornecidos pelos programas computadorizados de análise espermática sugerem correlação com a fertilidade, assim como outros não apresentam efeito. Por exemplo, espermatozoides com maiores valores para linearidade e batimento flagelar cruzado apresentam melhor migração e penetração no muco cervical; espermatozoides com maior Velocidade curvilinear e Amplitude lateral da cabeça resultaram em melhor taxa de prenhez e aqueles com maior Velocidade curvilinear, Velocidade linear progressiva e Velocidade média da trajetória produziram mais de 50% de oócitos fecundados.

Mesmo sendo uma ferramenta útil, MATOS et al. (2008) destacam que alguns fatores influenciam os dados da análise, como por exemplo a experiência do observador, câmara utilizada, temperatura, concentração, diluidores, método de processamento, dentre outros. Por

isso é importante que seja realizada uma padronização no processamento e análise para que os resultados obtidos sejam o mais próximo da realidade e não sofram interferência externa.

3.2.4.2 Morfologia espermática

FRENEAU et al. (2010) compararam diferentes técnicas de avaliação da morfologia espermática e concluíram que a câmara úmida avaliada em microscópio de contraste de fase ou de contraste de interferência diferencial (DIC) apresentou diferença no diagnóstico de defeitos maiores e menores em relação ao esfregaço corado avaliado em microscópio óptico de campo claro. As análises de morfologia realizadas pelo LBSA são feitas no microscópio de DIC e possibilitam melhor detecção das alterações nas células, o que é essencial visto que este tipo de avaliação espermática mostra correlação com a fertilidade.

FRENEAU (2011) destaca que a análise da morfologia é o ponto mais relevante pela sua relação com a fertilidade, pela necessidade da interação de células viáveis com o oócito. Através dela podem-se relacionar os quadros seminais com a puberdade, maturidade e alterações. Outras pesquisas revisadas por ARRUDA et al. (2015) também demonstram correlação entre a porcentagem de células lesionadas com a fertilidade. Por exemplo, grande número de células apresentando gota citoplasmática proximal sugere distúrbio epididimário, o que reduz taxas de fertilidade; Defeitos de cabeça que são relacionados com a condensação da cromatina e a isso são atribuídas baixas taxas de clivagem e desenvolvimento embrionário, bem como alterações na peça intermediária interligadas com produção de energia, batimento flagelar e consequentemente motilidade espermática.

3.2.4.3 Integridade da célula espermática

Os compartimentos dos quais são constituídos os espermatozoides e suas funcionalidades podem ser monitorados pelo uso de sondas fluorescentes e mostram correlação com a fertilidade. Estas sondas podem ser lidas e interpretadas por microscópios de epifluorescência ou por citometria de fluxo, o que torna esta análise mais voltada pra pesquisa e para locais que dominem a técnica e possuam estes equipamentos (ARRUDA et al., 2011).

No intuito de determinar a integridade dos compartimentos espermáticos, muitas sondas foram testadas para marcação de determinadas áreas do gameta masculino. A integridade da membrana plasmática (MP), por exemplo, pode ser avaliada por diversos tipos de sonda. O Iodeto de Propídeo (IP) é bastante utilizado e cora o núcleo de células com MP lesada em vermelho. O Hoescht 33258 não atravessa MP intacta, enquanto o Hoescht 33342 marca MP intacta. O SYBR-14 cora em verde o núcleo de células com MP intacta, assim como o diacetato de carboxifluoresceína. A integridade do acrossomo pode ser analisada por aglutininas que têm especificidade por glicoproteínas de membrana acrossomal. Dentre estas aglutininas se destacam a *Pisum sativum* (PSA), *Arachis hypogea* (PNA) e *Concanavalia ensiformis* (ConA). Estas substâncias são associadas ao isotiocionato de fluoresceína (FITC) para visualização em microscópio e emitem fluorescência verde amarelado. A função mitocondrial pode ser mensurada pela Rodamina 123, no entanto este fluorocromo não diferencia o potencial de membrana. O JC-1 (iodeto de 5,5',6,6'-tetracloro1,1',3,3'-tetraetilbenzimidazolocarbocianina) faz esta diferenciação por códigos de cor que mudam de verde (baixo potencial) para laranja ou vermelho (alto potencial). O corante MITO Tracker Green FM se acumula na mitocôndria e é usado para estimar a massa mitocondrial. Todas estas sondas podem ser avaliadas pelo microscópio de fluorescência, no entanto cerca de 100 a 200 células são rotineiramente contabilizadas nesta técnica. Quando se utiliza a citometria de fluxo, um grande número de espermatozoides pode ser qualiquantificado em pouco tempo, sendo uma técnica com maiores vantagens (CELEGHINI, 2005; GARCIA, 2005).

ARRUDA et al. (2007) ressalta que as associações de sondas fluorescentes são uma ferramenta importante porque permitem avaliar concomitantemente mais do que um compartimento da célula espermática. CELEGHINI (2005) estudou a avaliação simultânea de parâmetros morfofuncionais de espermatozoides e demonstrou que o uso de IP, FITC-PSA, JC-1 (com Hoescht 33342 para contraste) foi a que obteve maior eficácia. Tanto o LBSA quanto outros laboratórios do VRA utilizavam as sondas fluorescentes com sucesso. Em um experimento de doutorado acompanhado utilizava-se a chamada “tripla coloração”, a qual era constituída das sondas citadas acima. A leitura era realizada em microscópio de epifluorescência e as células eram classificadas de acordo com lesão ou integridade de membrana plasmática e acrossomo e o potencial de membrana mitocondrial.

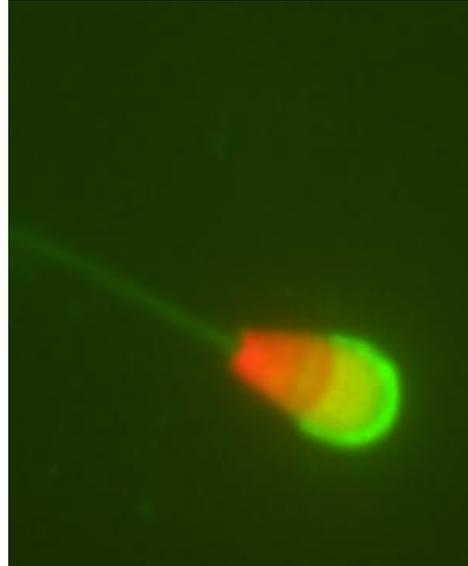


FIGURA 13: Espermatozoide corado por sondas fluorescentes. Fonte: CELEGHINI (2005)

3.2.4.4 Outras análises

Segundo PAPA et al. (2008), nenhuma técnica isolada apresenta sensibilidade para determinar a fertilidade, sendo portanto necessária a união de diversos métodos. Muitas técnicas foram e são desenvolvidas para estimar a fertilidade. Além das discutidas anteriormente, pode-se, ainda, destacar a avaliação de estresse oxidativo, testes de ligação espermática, choque hiposmótico, testes de separação espermática e integridade de cromatina.

O estresse oxidativo é o desequilíbrio entre geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) e proteção antioxidante. É responsável por causar danos à membrana, DNA e pode ser avaliado através de produtos antioxidantes como SOD (enzima superóxido dismutase), GSH (glutaciona), GPx (glutaciona peroxidase), formação de EROs e de produtos da peroxidação lipídica pela mensuração de TBARS (substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico) e com a sonda lipofílica C11-BODIPY (CELEGHINI, 2005; GUIMARÃES et al., 2014). Algumas pesquisas do VRA envolviam a avaliação do estresse oxidativo.

Os testes de ligação espermática são importantes para prever a capacidade fecundante. A membrana perivitelina da gema do ovo de galinha possui glicoproteínas semelhantes às da zona pelúcida, podendo ser, portanto, utilizada para avaliar a capacidade de ligação de espermatozoides. Existe, ainda, a possibilidade desta mesma avaliação à ligação à

zona pelúcida de oócitos, penetração oocitária e produção de embriões *in vitro* (SANTOS, 2010).

Os testes envolvendo separação espermática, com enfoque para o *Swim up* e gradiente descontínuo de Percoll, também são utilizados. O Percoll por envolver centrifugação pode causar danos aos espermatozoides, devido a isso o *Swim up* é mais comumente utilizado. Esta última técnica baseia-se na capacidade de migração da célula espermática e de transpor diferentes barreiras, semelhante ao que ocorre no trato reprodutivo feminino (PAPA et al., 2008).

O choque hiposmótico avalia a integridade da membrana plasmática, onde a célula é exposta a uma solução com baixa osmolaridade. Aqueles espermatozoides que possuem uma membrana funcional enrolam a cauda, indicando transporte de água normal. É um teste prático e fácil de ser incorporado na rotina laboratorial (ARRUDA et al., 2011).

Por fim, a integridade da cromatina que pode ser avaliada por técnicas que demandam mais tempo e equipamentos específicos como o método TUNEL, que usa fluorescência, método Cometa que usa eletroforese e, ainda, o uso do fluorocromo Acridina laranja, que se intercala à dupla fita de DNA e permite a quantificação da desnaturação do DNA (CELEGHINI, 2005).

4 - CONCLUSÃO

O sucesso de qualquer empreendimento seja ele haras, fazenda ou uma central de reprodução depende de um conjunto de fatores que devem estar em equilíbrio. Além de boas práticas de manejo, sanidade, nutrição, a eficiência está intimamente ligada à reprodução.

A reprodução animal apesar de área específica do conhecimento mostra-se bastante ampla e com uma importância fundamental para o melhoramento do rebanho. Portanto, poder acompanhar e realizar atividades relacionadas à espécie equina e bovina e participar tanto da parte de pesquisa quanto da parte aplicada ao campo confirma o interesse pela área. Aliado a isso, a possibilidade de estagiar em uma universidade como a USP, de renome não só no cenário nacional como internacional, e trocar experiências com profissionais de referência foi essencial para o sucesso do estágio, o que motiva a continuação pela busca e aperfeiçoamento de conhecimento constantes.

A realização deste estágio também foi fundamental para consolidar as competências e saberes adquiridos durante os anos da graduação e dos estágios extracurriculares realizados durante minha formação, além de desenvolver as relações interpessoais e, principalmente, pensamento crítico.

REFERÊNCIAS

- ALEXANDER, S. L.; IRVINE, C. H. G. Control of the onset of the breeding season in the mare, its artificial regulation by progesterone treatment. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 44, p.307-318, 1991.
- ARRUDA, R. P. et al. Biotécnicas aplicadas à avaliação do potencial de fertilidade do sêmen equino. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.31, n.1, p.8-16, 2007.
- ARRUDA, R. P. et al. Métodos de avaliação da morfologia e função espermática: momento atual e desafios futuros. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**,v.35, n.2, p.145-151, 2011.
- ARRUDA, R. P. et al. Morfologia espermática de touros: interpretação e impacto na fertilidade. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.39, n.1, p.47-60, 2015.
- BARBOSA, R. T.; MACHADO, R.; BERGAMASCHI, M. A. C. M. A importância do exame andrológico em bovinos. São Carlos, SP. **Embrapa**. Circular técnica 41, dez., 2005.
- BELL, R. J.; BRISTOL, F. M. Fertility and pregnancy loss after delay of full estrous with progesterone and estradiol-17 β . **Journal of Reproduction and Fertility**, v.35, p.667-668, 1987.
- BICUDO, S. D.; SIQUEIRA, J. B.; MEIRA, C.. Patologias do sistema reprodutor de touros. **Biológico**, v.69, n.2, p.43-48, 2007
- BRACHER, V.; MATHIAS, S.; ALLEN, W. R. Videoendoscopic evaluation of the mare's uterus: II. Findings in subfertile mares. **Equine Veterinary Journal**, v.24, p.279-84, 1992.
- BRINSKO et al. **Manual of Equine Reproduction**. 3 ed. Maryland: Mosby Elsevier, 2011.
- CAMILLO, F. et al. Fertility at the first post partum estrous compared with fertility at the following estrous cycles in foaling mares and with fertility in nonfoaling mares. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.17, n.11, p.612-616, 1997.
- CELEGHINI, E.C.C. Efeito da criopreservação do sêmen bovino sobre as membranas plasmáticas, acrossomal e mitocondrial e estrutura da cromatina dos espermatozoides

utilizando sondas fluorescentes. Tese de Doutorado. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2005.

CHACUR, M. G. M. et al. Influência da estação do ano nas características do sêmen e na concentração de hormônios em touros Nelore e Simental. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.64, n.3, p.540-546, 2012.

FRENEAU, G. E.; CHENOWETH, P. J.; ELLIS, R.; RUPP, G. Sperm morphology of beef bulls evaluated by two different methods. **Animal Reproduction Science**, v.118, p.176-181, 2010.

FRENEAU, G. E. Aspectos da morfologia espermática em touros. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.35, p.160-170, 2011.

GARCIA, A. R. O uso de sondas fluorescentes na avaliação morfofuncional de espermatozoides bovinos. **Revista Ciências Agrárias**, n. 43, 2005.

GASTAL, E. L. **Selection of the dominant follicle in mares: role of follicle – diameter differences, gonadotropins, and estradiol.** Tese de Doutorado. University of Wisconsin, Madison, 1999.

GUIMARÃES, A. C. G. et al. Reduction of centrifugation force in discontinuous percoll gradients increases in vitro fertilization rates without reducing bovine sperm recovery. **Animal Reproduction Science**, v.146, p.103-110, 2014.

GURGEL, J. R. C. et. al. Dinâmica folicular em éguas: aspectos intrafoliculares. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.32, n.2, p.122-132, 2008.

HAFEZ, B.; HAFEZ, E. S. E. **Reprodução Animal**. 7^a. ed. Barueri: Manole, 2004.

IBGE. **Censo Demográfico 2010**. Disponível em: <<http://www.censo2010.ibge.gov.br>>
Acesso em: 31 maio 2015.

IBGE. **Produção pecuária municipal 2011**. Disponível em:
<<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2011/default.shtm>>. Acesso em 21 junho 2015.

ISHII, M. et al. Reproductive performance and factors that decrease pregnancy rate in heavy draft horses bred at the foal heat. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.21, n.3, p.131–136, 2001.

KAMADA, A. M. et al. Tratamento de folículo anovulatório persistente em égua: relato de caso. **Journal of Health Sciences Institute.**, v.31, n.1, p.109-12, 2013.

KREIDER, J. L. et al. Control of estrus in the lactating postpartum mare with fluprostenol. **Theriogenology**, v.10, n.5, p.371-380, 1978.

LEBLANC, M. M.; CAUSEY, R.C. Clinical and Subclinical Endometritis in the Mare: Both Threats to Fertility. **Reproduction in Domestic Animals**, v.44, p. 10–22, 2009.

MALSCHITZKY, E. et al Intrauterine fluid accumulation during foal heat increases embryonic death. **Pferdeheilkunde**, v.19, n.6, p.246-249, 2003.

MALSCHITZKY, E. et al. Vulvoplastia pré ou pós-cobertura e sua influência na fertilidade . **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, v. 14, n. 1, p. 56-58, 2007.

MANUAL para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. 3ª ed. Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 2013. 104p.

MATOS, D. L. et al. Análise computadorizada de espermatozoides: revisão de literatura. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.32, n.4, p.225-232, 2008.

MCCUE, P. M. et al. Pregnancy rates following administration of GnRH to anestrous mares. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.12, p.21-23, 1992.

MCCUE P. M. et al. **Effect of altrenogest on luteinizing hormone concentrations in mares during the transition period.** Proceedings of the annual convention of the AAEP, v.47, p.249-251, 2001.

MCKINNON, A. O. et al. **Equine Reproduction.** Oxford: Wiley-Blackwell. 2ª ed. 2011.

MENEGASSI, S. R. O. et al. Bioeconomic impact of bull breeding soundness examination in cow-calf systems. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.2, p.441-447, 2011.

MOREHEAD, J. P.; COLON, J. L.; BLANCHARD, T.L. Clinical experience with native GnRH therapy to hasten follicular development and first ovulation of the breeding season, **Journal of Equine Veterinary Science**, v.21, n.54, 81-88, 2001.

NASCIMENTO, E.F.; SANTOS, R.L. **Patologia da reprodução dos animais domésticos**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003.

NEQUIN, L.G. Uncoupling of the equine reproduction axes during the transition into the anestrus. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.56, p.153-161, 2000.

PALMER, E.; DRAIN COURT, M. A.; ORTAVANT, R. Photoperiodic stimulation of the mare during winter anestrus. **Journal of Reproduction and Fertility**., v.32, p.275-282, 1982.

PAPA, F. O. et al. **Impacto do sêmen no sucesso dos programas de IATF: métodos básicos e avançados de avaliação**. In: 3º SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL APLICADA, 2008, Londrina. Anais... São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2008. p.78-94.

PATE, J. L. Cellular components involved in luteolysis. **Journal of Animal Science**, v.72, p.1884-1890, 1994.

PEÑA ALFARO, C. E. Importância da avaliação andrológica na seleção de reprodutores a campo. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.35, n.2, p.152-153, 2011.

PEREIRA, E.; ELER, J. P.; FERRAZ, J. B. S. Correlação genética entre perímetro escrotal e algumas características reprodutivas na raça Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.29, n.6, p.1676-1683, 2000.

PEREIRA, E.; ELER, J. P.; FERRAZ, J. B. S. Análise genética de características reprodutivas na raça Nelore. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.37, n.5, p.703-708, 2002.

RIDDLE, W. T.; LEBLANC, M. M.; STROMBERG, A. J. Relationships between uterine culture, cytology and pregnancy rates in a Thoroughbred practice. **Theriogenology**, v.68, p.395-402, 2007.

SALES, M.G.F.; ARAÚJO, A.A. Corpo lúteo cíclico e gestacional: revisão. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**., v.34, n.3, p.185-194, 2010.

SAMPER, J.C.; PYCOCK, J. F.; MCKINNON, A. O. **Current therapy in equine reproduction**. 1ª ed. Missouri: Saunders, 2007.

SAMPER, J. C. **Equine Breeding Management and Artificial Insemination**. 2ª ed. St Louis: Saunders Elsevier, 2009.

SANTOS, M. C. R. **Métodos alternativos para análises da capacidade de ligação dos espermatozoides caprinos**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2010.

SIQUEIRA, J.B.; GUIMARÃES, J. D.; PINHO, R.O. Relação entre perímetro escrotal e características produtivas e reprodutivas em bovinos de corte: uma revisão. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.37, n.1, p.3-13, 2013.

SQUIRES, E.J. **Applied animal endocrinology**. 1ª ed. Wallingford: Cabi Publishing, 2003.

STANTON, M. B.; STEINER, J. V.; PUGH, D. G. Endometrial Cysts in the Mare. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.24, n.1, p.14-19, 2004.

TROEDSSON, M.H.T. Uterine clearance and resistance to persistent endometritis in the mare. **Theriogenology**, v.52, p.461-71, 1999.

VERSTEGEN, J.; IGUER-OUADA, M.; ONCLIN, K. Computer assisted semen analyzers in andrology research and veterinary practice. **Theriogenology**, v.57, n.1, p.149-179, 2002.

YOUNGQUIST, R. S.; THRELFAL, W. R. **Current therapy in large animal theriogenology**. 2ª ed. Missouri: Elsevier. 2007.

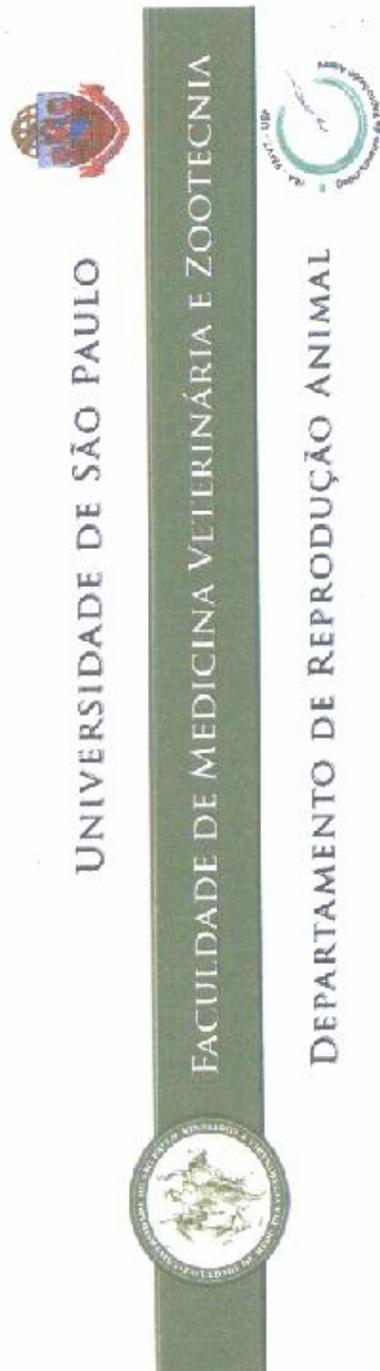
APÊNDICE A – Modelo de certificado andrológico emitido pelo LBSA.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia Departamento de Reprodução Animal - Centro de Biotecnologia em Reprodução Animal Laboratório de Biotecnologias do Sêmen e Andrologia Av. Duque de Caxias Norte, 225 - CEP: 13630-000 - Caixa Postal: 23 - Pirassununga / SP (0xx19) 3565-4262 / 3565-4221 - Fax: (0xx19) 3565-4060 - e-mail: arrudarp@usp.br			
CERTIFICADO ANDROLÓGICO			
A - IDENTIFICAÇÃO DO REPRODUTOR			
Nome:	Raça:	Data Nasc:	Reg:
Proprietário:			
Localização:			
B - EXAME CLÍNICO			
1. Histórico e Anamnese:			
2. Geral: Condição corporal (1-9):			
3. Genitais: Perímetro Escrotal (cm):		Consistência testicular (1-5):	
4. Comportamento Sexual:			
5. Aprumos:			
C - ESPERMOGRAMA			
I - MÉTODO DE COLHEITA:		PATOLOGIA DA PEÇA INTERMEDIÁRIA: *fibrilação, fratura total e parcial, edema, pseudogotas, outros PATOLOGIA DA CAUDA: Fortemente dobrada ou enrolada Dobrada com gota protoplasmática distal (anexa) TOTAL (Defeitos Maiores) 2 - DEFEITOS MENORES (%)	
II - CARACTERÍSTICAS FÍSICAS		PATOLOGIA DA CABEÇA: Delgada Gigante, curta, larga, pequena normal Isolada normal ABAXIAL, RETROAXIAL, OBLIQUA CAUDA DOBRADA OU ENROLADA GOTA PROTOPLASMÁTICA DISTAL TOTAL (Defeitos Menores) TOTAL DE ANOMALIAS Observações:	
1. Volume do Ejaculado (mL) 2. Turbilhonamento (0-5) 3. Motilidade (%) 4. Vigor (1-5) 5. Concentração (x10 ⁶ /mL) 6. Outros		IV - OUTROS ELEMENTOS Medusas Células primordiais Células gigantes Leucócitos Hemácias Epiteliais	
III - CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS			
1 - DEFEITOS MAIORES (%)			
ACROSSOMA			
GOTA PROTOPLASMÁTICA PROXIMAL			
PATOLOGIA DA CABEÇA: Subdesenvolvida Cauda enrolada na cabeça Cabeça isolada patológica Estreita na base Piriforme Pequena anormal Coloração anormal Contorno anormal "Pouch formation" FORMAS TERATOLÓGICAS			
D - CONCLUSÃO			
Pirassununga, de de 2015.			
Prof. Dr. Rubens Paes de Arruda Médico Veterinário Responsável			

ANEXO A – Relação de medicamentos utilizados.

Nome comercial	Princípio ativo	Laboratório
Sincrorrelin®	Acetato de deslorelina	Ouro Fino
Vetecor®	Gonadotrofina coriônica humana	Hertape Calier
BotuSêmen®	Diluidor à base de leite desnatado	Botupharma
Ocitocina Forte UCB®	Ocitocina sintética	UCB
Sincrocio®	Cloprostenol sódico	Ouro Fino
Indisponível comercialmente	Progesterona	Manipulado pela Botupharma

ANEXO B - Certificado do Estágio Curricular Supervisionado em Medicina Veterinária.



CERTIFICADO

Certifico que a acadêmica **NATÁLIA PICOLI FOILCHINI**, graduanda do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Pampa, Campus Uruguaiana - RS, realizou Estágio Curricular Supervisionado no Centro de Biotecnologia em Reprodução Animal do Departamento de Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, área de **Biotecnologia da Reprodução Animal**, no período de 23 de fevereiro de 2015 a 05 de junho de 2015, perfazendo 560 horas-estágio, com frequência regulamentar nos dias letivos, sob minha orientação.

Pirassununga, 05 de junho de 2015.

Prof. Dr. Rubens Hayes de Arruda
Orientador do Estágio