

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA
CAMPUS URUGUAIANA**

ALEXANDRE DOS SANTOS FLORES

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

Área de concentração: Reprodução em bovinos

**Uruguaiana
2023**

ALEXANDRE DOS SANTOS FLORES

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

Relatório do Estágio Curricular
Supervisionado em Medicina Veterinária
da Universidade Federal do Pampa,
apresentado como requisito parcial para
obtenção do Título de Bacharel em
Medicina Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Fabrício Desconsi Mozzaquatro

**Uruguaiana
2023**

ALEXANDRE DOS SANTOS FLORES

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

Relatório do Estágio Curricular
Supervisionado em Medicina Veterinária
da Universidade Federal do Pampa,
apresentado como requisito parcial para
obtenção do Título de Bacharel em
Medicina Veterinária.

Relatório defendido e aprovado em: 26 de janeiro de 2023.

Banca examinadora:

Prof. Dr. Fabrício Desconsi Mozzaquatro
Orientador
UNIPAMPA

Profa. Dra. Francielli Weber Santos Cibin
UNIPAMPA

Prof. Dr. Guilherme de Medeiros Bastos
UNIPAMPA

Dedico este trabalho ao meu avô Jorge Flores (*in memoriam*) por ter sido o esteio que me deu coragem e me motivou para que me tornasse quem eu sou hoje.

AGRADECIMENTO

Agradeço primeiramente a Deus por ter me acompanhado sempre e minha família, em especial aos meus pais Angelo e Luciana e meu irmão Angelo Jr., vocês foram essenciais em toda essa trajetória.

À todos os meus colegas da turma XVIII de Medicina Veterinária da UNIPAMPA, com certeza fiz grandes amizades que levarei pra vida toda.

Aos meus amigos do famoso “ o 6 vem “ , grupo de amigos que sempre estive junto para estudos, trabalhos, festas, tragos e viagens para Rosário; Obrigado André, Anna, Bruno, Catherine, Elise, Guilherme, Maria Eduarda, Mateus, Patrícia e Rafael.

À minha parceira de vida e morada durante praticamente toda faculdade, Maria Eduarda, ou Duda, sou grato pela parceria em todos os mates, pelos tragos, pitos, cantorias, prosas aleatórias, ajuda em momentos difíceis e por tudo que criamos juntos, desde gatos (fumaça), plantas (que tu matavas), poesias e principalmente, nossa amizade.

À minha amizade mais intensa e mais conturbada ao mesmo tempo, Elise, obrigado por ter se tornado uma pessoa tão importante no meu dia - a - dia, principalmente por todas as tardes ou manhãs que compartilhamos no laboratório, as indiadas que nos metemos juntos, os conhecimentos que adquirimos um com o outro, e por essa parceria que levarei por toda vida, gracias vet de horses.

À minha parceira de momentos e amores, Patrícia, ou Pati, mesmo que eu nunca tenha te chamado assim, desde sempre fomos muito próximos e sou grato por tudo que vivemos e construímos juntos, tu foste muito importante em diversos momentos nesta caminhada, seja como ouvinte ou como conselheira (apesar de eu não ouvir muito os teus conselhos), sempre pensamos e evoluímos juntos, gracias.

À todas as pessoas que passaram pela minha vida durante essa etapa, tenho certeza que cada uma contribuiu um pouquinho para que chegar até o final fosse possível, e mais do que isso, seguir em frente de agora em diante, muito obrigado!

Aos laboratórios e locais de estágio que passei durante a graduação: setor de gestão pecuária do CTPEC, Biotech, MV. Natan Carvalho, PET veterinária, MV. Januário Amaral, Laboratório de anatomia animal, Haras Bagé do sul e setor de equinos do HVU-UFSM.

Ao laboratório de produção e reprodução equina - LPEq, meu atual local de estágio na Unipampa, obrigado pelas oportunidades no acompanhamento de projetos e pelas rotinas de aprendizado, principalmente a campo.

Aos professores que me orientaram durante o trajeto, especialmente àqueles responsáveis pelos laboratórios que estagiei, e pôr fim ao meu orientador Fabricio Mozzaquatro pelos ensinamentos práticos, teóricos e desafios propostos.

À empresa Pró Fértil Embriões *in vitro*, Alexandre, Mariza, Rodrigo e Otávio, obrigado pela oportunidade, paciência e ensinamentos durante o estágio.

“Cada sonho que você deixa para trás, é um pedaço do seu futuro que deixa de existir.”

Steve Jobs

RESUMO

O presente relatório tem o objetivo de descrever as atividades acompanhadas e/ou realizadas durante o Estágio Curricular Supervisionado em Medicina Veterinária (ECSMV) realizado na área de reprodução animal, especialmente na produção *in vitro* de embriões. Além disso, serão discutidos dois temas: Transferência de embriões em tempo fixo e Aspiração folicular guiada por ultrassonografia. O ECSMV foi realizado na empresa Pro Fértil Embriões *in vitro*, localizada na região da fronteira oeste do Rio Grande do Sul, sob supervisão do Médico Veterinário Alexandre Bragança Vargas no período de 12 de setembro a 02 de dezembro de 2022. Acompanhou-se as atividades de Aspiração folicular guiada por ultrassonografia (OPU), transferência de embriões em tempo fixo (TETF), alguns processos da produção *in vitro* de embriões (PIVE), inseminação artificial em tempo fixo (IATF), diagnóstico de gestação (DG) e exame andrológico, sendo estas realizadas em 25 propriedades que a empresa presta serviços. O ECSMV totalizou a carga horária de 480h, sob orientação do Prof. Dr. Frabécio Desconsi Mozzaquatro.

Palavras-Chave: embriões, oócitos, doadoras, receptoras.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fotografia da fachada da empresa Pró Fértil Embriões <i>in vitro</i> .	14
Figura 2 – Fotografia do escritório da empresa Pró Fértil embriões <i>in vitro</i> .	14
Figura 3 – Fotografia da sala destinada ao estoque de material e equipamentos da empresa Pró Fértil embriões <i>in vitro</i> .	15
Figura 4 – Fotografia da estrutura de campo montada com os equipamentos necessários para realizar a OPU.	17
Figura 5 – Fotografia do aparelho ultrassonográfico com imagem de um ovário contendo vários folículos (estruturas hipoecóicas).	18
Figura 6 – Fotografia da estrutura do laboratório de campo montado na propriedade.	19
Figura 7 – Fotografia do auxiliar técnico realizando a procura e seleção dos CCOs em laboratório de campo montado na propriedade.	19
Figura 8 – Fotografia exemplificando o grau dos CCOs durante a procura e seleção: grau I (1), grau II (2), grau III (3) e desnudos (4).	21
Figura 9 – Fotografia do relatório de aspiração preenchido.	22
Figura 10 – Esquema exemplificando o protocolo hormonal utilizado para TETF pela empresa Pró Fértil Embriões <i>in vitro</i> .	23
Figura 11 – Fotografia da estrutura estabelecida na propriedade para a montagem do inovulador de embriões, neste caso, embriões a fresco.	24
Figura 12 – Fotografia do aparelho ultrassonográfico contendo a imagem de um corpo lúteo sendo avaliado no modo <i>Doppler</i> , apresentando grau 1 de vascularização.	25
Figura 13 – Imagem ultrassonográfica de um corpo lúteo sendo avaliado no modo Doppler, apresentando grau 4 de vascularização.	25
Figura 14 – Fotografia da planilha de acompanhamento dos manejos de TETF.	26
Figura 15 – Fotografia do Médico veterinário realizando a inovulação de embrião em receptora devidamente contida em tronco apropriado.	27
Figura 16 – Fotografia dos brincos de identificação animal contendo a logo da empresa e o cruzamento do embrião transferido.	28
Figura 17 – Esquema exemplificando o protocolo hormonal utilizado para IATF pela empresa Pró Fértil Embriões <i>in vitro</i> .	29
Figura 18 – Imagens exemplificando os achados ultrassonográficos no diagnóstico gestacional: A – Gestação de 30 dias com a visualização do embrião (seta), B e C –	

Gestação de 60 dias com visualização do feto e seu coração (círculo) e dos placentomas (seta), respectivamente.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –Atividades acompanhadas e desenvolvidas durante o ECSMV, no período entre 12 de setembro a 02 de dezembro de 2022.	16
Quadro 1 - Classificação morfológica dos complexos cumulus-oócitos (CCOs) bovinos.	20
Tabela 2 - Diagnósticos de gestações realizados durante o ECSMV em fêmeas bovinas receptoras de embriões aos 30 e 60 dias e porcentagem de concepção.	31

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µL – microlitro

% - Percentual

® - Marca Registrada

ABIEC – Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes

BE – Benzoato de estradiol

CE – Cipionato de Estradiol

CCO – Complexo *cumulus*-oócito

CL – Corpo Lúteo

CO₂ - Dióxido de Carbono

DG – Diagnóstico de Gestação

DT -*Direct transfer*

ECC – Escore de condição corporal

eCG – Gonadotrofina Coriônica Equina

ECSMV – Estágio Curricular Supervisionado em Medicina Veterinária

EUA -Estados Unidos da América

FD – Folículo dominante

FIV – Fertilização *in vitro*

GnRH - hormônio liberador de gonadotrofina

h - Hora

IA – Inseminação artificial

IATF – Inseminação artificial em tempo fixo

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IETS – Sociedade Internacional de Transferência de Embriões

IM – Intramuscular

IV – Intravenosa

Kg – Quilograma

MIV – Maturação *in vitro*

mg – Miligrama

mL – Mililitro

mm - Milímetros

°C – Graus Centígrados

OPU – *Ovum pick-up*, aspiração folicular

PBS – solução salina tamponada

PGF2 α - Prostaglandina

PIV – Produção *in vitro*

PIVE – Produção *in vitro* de embriões

P4 – Progesterona

RS – Rio Grande do Sul

SOV – Superovulação

TE – Transferência de Embriões

TETF – Transferência de Embriões em Tempo Fixo

UI – Unidades Internacionais

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 ATIVIDADES DESENVOLVIDAS	13
2.1 Pró Fértil Embriões <i>in vitro</i>	13
2.2 Descrição das atividades desenvolvidas	16
2.2.1 Aspiração folicular guiada por ultrassonografia (OPU)	16
2.2.2 Transferência de embriões em tempo fixo (TETF)	22
2.2.3 Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF)	28
2.2.4 Exame andrológico em touros	30
2.2.5 Diagnóstico gestacional	31
3 DISCUSSÃO	33
3.1 Pontos chaves da aspiração folicular guiada por ultrassonografia – OPU.	33
3.2 Fatores que afetam o sucesso de um programa de transferência de embriões em tempo fixo (TETF).	36
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	39
REFERÊNCIAS	40
ANEXOS	46

1 INTRODUÇÃO

Atualmente, o rebanho bovino brasileiro possui cerca de 224 milhões de cabeças (IBGE, 2021), correspondendo a 11,72% do rebanho mundial, sendo o maior rebanho comercial. O abate de animais no terceiro trimestre de 2022 foi 11,9 % superior ao mesmo período no ano de 2021, já o número anual de abates superou em 7,1% o ano anterior de acordo com os indicadores disponíveis até o momento. (IBGE, 2022). Além disso, 13,66% da produção de carne bovina mundial provem do Brasil, sendo este o maior exportador da *comodity* no ano de 2021, principalmente para a China, Hong Kong e Estados Unidos. O movimento do agronegócio da pecuária de corte neste mesmo ano foi de mais de R\$ 913 bilhões, mostrando a importância do agronegócio para o setor econômico brasileiro. (ABIEC, 2022).

Com isso, cada vez mais há a necessidade de se obter animais produtivos e geneticamente superiores a fim de aumentar a eficiência do rebanho bovino. Neste sentido, as biotecnologias da reprodução ganham destaque nas pesquisas por possibilitarem esse incremento na produtividade. Os primeiros estudos foram referentes à multiplicação facilitada do material genético masculino por meio da inseminação artificial (IA). Logo em seguida, houve o desenvolvimento de biotecnologias que também facilitaram a disseminação do material genético da fêmea, como o controle farmacológico do ciclo estral, a superovulação (SOV) e a transferência de embriões (TE) (DAYAN, 2001). Na multiplicação de animais geneticamente superiores, destaca-se a produção *in vitro* de embriões (PIVE), onde há possibilidade de uma maior produção de bezerros por matriz em um menor período de tempo. (SILVA et al., 2015)

Viana, (2019), observou que no ano de 2018 houve queda na produção de embriões *in vivo* comparado à produção *in vitro* (-5,1 e +2,6%), conforme dados da Sociedade Internacional de Transferência de Embriões (IETS), fato este, que demonstra a grande utilização de PIVE no mundo. Na América do Sul, 86,9 % foram embriões produzidos *in vitro* com destaque para o Brasil que ocupa a segunda colocação mundial na PIVE, ficando atrás somente dos EUA.

Com isso, dentre as biotecnologias da reprodução, há um destaque para a PIVE associada à colheita de oócitos pelo método de punção folicular guiada por ultrassonografia (ovum pick-up - OPU). Objetivando aumentar o potencial produtivo dos rebanhos, a técnica permite que animais jovens, em gestação inicial, subférteis e

senis sejam utilizados. Há o aumento na produção de descendentes de uma mesma matriz, promovendo a disseminação de animais de reposição e reprodutores geneticamente superiores (VARAGO et al., 2008).

A escolha do local de estágio levou em conta o potencial produtivo do rebanho bovino de corte e leiteiro no Brasil, a demanda por profissionais especializados e treinados em novas biotecnologias. Assim, optou-se por realizar o Estágio Curricular Supervisionado em Medicina Veterinária (ECSMV) na empresa Pro Fértil embriões *in vitro*, na área de produção e transferência de embriões fertilizados *in vitro*.

O estágio foi realizado no período de 12 de setembro a 02 de dezembro de 2022, totalizando uma carga horária de 450h (ANEXO-A). Este relatório tem como objetivo demonstrar as atividades desenvolvidas durante o período de estágio bem como, discutir as principais biotecnologias utilizadas.

2 ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

2.1 Pró Fértil Embriões *in vitro*

A Pró Fértil Embriões *in vitro* é uma empresa especializada na produção *in vitro* de embriões (PIVE) bovinos e está localizada no município de São Gabriel, fronteira oeste do Rio Grande do Sul. O médico veterinário fundador da empresa presta serviços na área de reprodução animal desde 2006, sendo mais voltado para atendimentos a campo. O empreendimento teve início no ano de 2018 e atualmente, devido a estrutura física do laboratório, além das atividades a campo, a empresa atende a demanda laboratorial.

A empresa atua em mais de 50 municípios nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná. Oferece serviços de aspiração folicular guiada por ultrassonografia (OPU), transferência de embriões em tempo fixo (TETF), produção *in vitro* de embriões (PIVE), criopreservação de embriões e sêmen bovino, inseminação artificial em tempo fixo (IATF), diagnóstico de gestação (DG) e exame andrológico.

Atualmente a equipe é composta pelo médico veterinário Alexandre Bragança Vargas, proprietário da empresa e responsável pela administração e organização das atividades a campo; uma bióloga e uma médica veterinária, responsáveis por toda atividade laboratorial da PIVE, além de um técnico laboratorista de campo e três médicos veterinários auxiliares.

A estrutura física da empresa (figuras 1, 2 e 3) conta com cinco cômodos, sendo um destinado ao escritório, dois destinados à estoque de material e equipamentos, um vestiário e uma sala laboratorial, esta última contendo todo equipamento necessário para PIVE.

Figura 1 – Fotografia da fachada da empresa Pró Fértil Embriões *in vitro*.



Fonte: o autor.

Figura 2 – Fotografia do escritório da empresa Pró Fértil embriões *in vitro*.



Fonte: o autor.

Figura 3 – Fotografia da sala destinada ao estoque de material e equipamentos da empresa Pró Fértil embriões *in vitro*.



Fonte: o autor.

Os materiais da empresa para utilização nos procedimentos de OPU foram: um ultrassom (Mindray® DP50), um transdutor microconvexo (Mindray®), uma bomba de vácuo (WTA®), um estereomicroscópio, duas mesas aquecedoras (WTA®), um aquecedor de tubos (WTA®), três transportadoras de oócitos (Lab Mix®) e equipamentos auxiliares (micropipetadores, ponteiras, seringas, agulhas, tubos, placas, entre outros). Além disso, para os demais manejos conta com um ultrassom (Mindray® DP 2200 vet), um transdutor linear retal (Mindray®), dois descongeladores de sêmen e embriões (WTA®), duas transportadoras de embriões (WTA®), um eletroejaculador (Neovet® AUTOJAC3) e equipamentos auxiliares.

O estágio curricular supervisionado em medicina veterinária (ECSMV) deu-se no período de 12 de setembro a 2 de dezembro de 2022, totalizando 480h, sob

orientação do professor Fabrício Desconsi Mozzaquatro e supervisão do médico veterinário Alexandre Bragança Vargas.

2.2 Descrição das atividades desenvolvidas

Durante o estágio, as atividades acompanhadas foram referentes às biotecnologias da reprodução, em específico, a reprodução assistida com a produção *in vitro* de embriões. A maior carga horária de atividades foi em OPU, TETF, DG e IATF, tendo apenas uma pequena parcela dedicada às atividades laboratoriais, conforme a tabela 1.

Tabela 1 – Atividades acompanhadas e desenvolvidas durante o ECSMV, no período entre 12 de setembro a 02 de dezembro de 2022.

Atividade	nº de procedimentos	Carga horária	% de procedimentos	% de horas
Transferência de embriões	1081	126	37,5%	38,7%
OPU	295	106	10,2%	32,5%
Diagnóstico gestacional	560	30	19,5%	9,2%
Outros	6	24	0,2%	7,4%
IATF	579	16	20,1%	4,9%
Início de protocolo hormonal	278	16	9,7%	4,9%
Exame andrológico	80	8	2,8%	2,5%
Total	2879	326	100%	100%

Fonte: o autor

2.2.1 Aspiração folicular guiada por ultrassonografia (OPU)

Ao longo do ECSMV, foi possível acompanhar a execução técnica da OPU, que visa a obtenção de oócitos diretamente do ovário da fêmea por aspiração do conteúdo folicular de maneira não cirúrgica. Para tal, se utilizou uma guia de aspiração acoplada à um transdutor microconvexo do ultrassom, em conjunto com uma agulha de aspiração no mandril da guia. Todo este equipamento foi conectado à uma bomba de vácuo e uma linha de aspiração, onde o líquido folicular e os complexos *cumulus-*

oócitos (CCOs) foram armazenados em um tubo coletor e mantidos à temperatura de 36,5°C.

A técnica de aspiração folicular iniciava com a montagem dos equipamentos (figura 4). Logo após realizava – se a calibragem da pressão da bomba de vácuo (regulada para 140 mmHg) e esperava-se a estabilização da temperatura (36,5 °C).

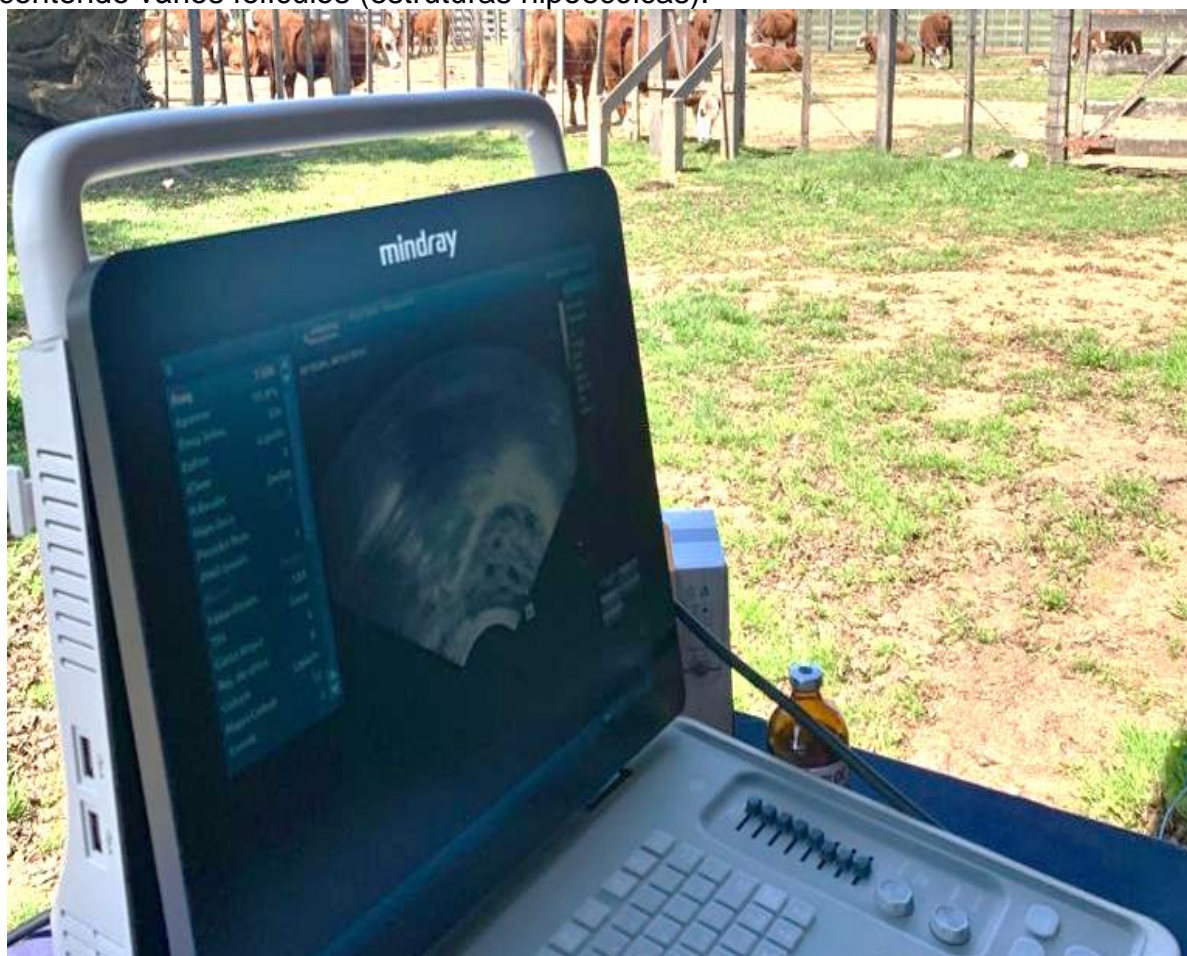
Decorrido este primeiro momento de organização, as doadoras eram direcionadas ao tronco de contenção para ser realizada a anestesia epidural. Foi utilizado associação medicamentosa contendo lidocaína e xilazina 0,2mg/kg e 0,004mg/kg, bólus, via epidural (BLOC®). Logo após, foi feita a limpeza do reto e higienização perivulvar sendo inserida a guia de aspiração devidamente higienizada e lubrificada na vulva do animal até que atingisse o fundo de saco vaginal. Concomitantemente, o veterinário por meio da palpação retal identificava os ovários, posicionando-o na extremidade da guia de aspiração para que os folículos pudessem ser visualizados no ultrassom. O técnico manipulava os ovários de forma que os folículos ficassem alinhados à entrada da agulha para que fosse realizada a aspiração (figura 5).

Figura 4 – Fotografia da estrutura de campo montada com os equipamentos necessários para realizar a OPU.



Fonte: o autor.

Figura 5 – Fotografia do aparelho ultrassonográfico com imagem de um ovário contendo vários folículos (estruturas hipoeecóicas).



Fonte: o autor.

Após o término da colheita, identificava-se o tubo com o número do animal sendo levado até o laboratório de campo montado na propriedade (figura 6) para dar início a procura e seleção dos CCOs (figura 7).

Figura 6 – Fotografia da estrutura do laboratório de campo montado na propriedade.



Fonte: o autor.

Figura 7 – Fotografia do auxiliar técnico realizando a procura e seleção dos CCOs em laboratório de campo montado na propriedade.



Fonte: o autor.

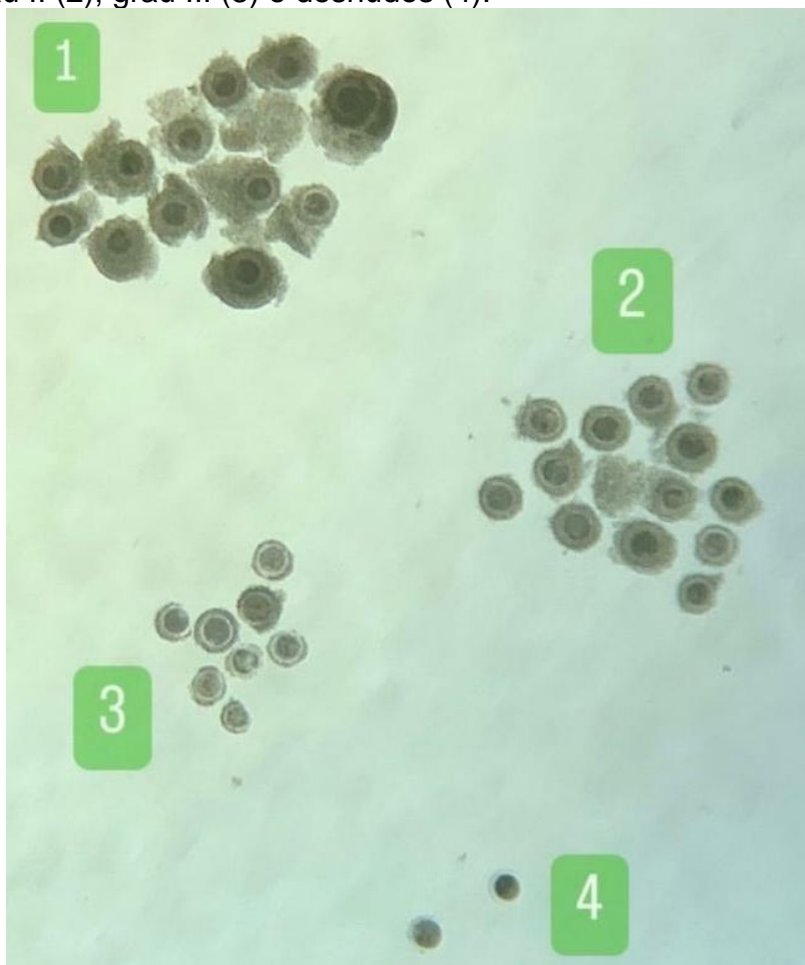
Nesta etapa, o conteúdo do tubo era filtrado em minifiltro para oócitos TED® e lavado com auxílio de seringa de 20,0 mL contendo solução salina tamponada (PBS) e heparina, posteriormente o conteúdo retido no filtro era transposto à uma placa de Petri 90,0 x 15,0mm riscadas. Com isso, dava-se início a busca dos CCOs em estéreomicroscópio (aumento 40x), sendo selecionados os oócitos grau I, II, III e IV (desnudos) com o citoplasma homogêneo, (quadro 1) e (figura 8) descartando os degenerados.

Quadro 1 - Classificação morfológica dos complexos cumulus-oócitos (CCOs) bovinos.

Classificação	Características dos CCOs
I	Citoplasma homogêneo com cúmulos completos, compactados e com várias camadas.
II	Citoplasma homogêneo com alguns pontos de pigmentação irregular, cúmulos menores que os encontrados no grau 1 porém com mais de 5 camadas.
III	Citoplasma heterogêneo, apresentando vacuolizações, ZP recoberta por até 5 camadas de células do cúmulos, porém, apresentando porções desnudas.
IV	Citoplasma heterogêneo, sem a presença de células do cúmulos.

Fonte: adaptado de Stojkovic et al. (2001).

Figura 8 – Fotografia exemplificando o grau dos CCOs durante a procura e seleção: grau I (1), grau II (2), grau III (3) e desnudos (4).



Fonte: imagem cedida por Otávio Faria.

Os oócitos selecionados então, foram transferidos para outra placa de Petri contendo três gotas de meio de lavagem comercial (Vitrogen®) sendo lavados uma vez em cada gota. Logo após, eram transferidos para microtubos contendo meio comercial de maturação *in vitro* (MIV Vitrogen®) coberto com óleo mineral e acondicionados na transportadora de embriões (LabMix®), mantidos à 38,5°C e 5% de CO₂, em ar e temperatura saturada.

Nos casos em que a produção da doadora ultrapassou 30 oócitos, os mesmos eram divididos em dois microtubos, além disso, anotavam-se todas as informações da procura e seleção dos CCOs em um relatório de aspiração folicular contendo as informações da produção de cada fêmea. (figura 9).

Figura 9 – Fotografia do relatório de aspiração preenchido.

PROfértil RELATÓRIO DE ASPIRAÇÃO
Embrões In Vitro

Nº OPU 389

DATA: 01-11-22 FAZENDA: Pitangui VETERINÁRIO: Alexandre
CIDADE: São Bento PROP. Pedro Monteiro Lopes TÉCNICO: Rodrigo

Nº	DOADORA	RAÇA	HORA	TOURO	RAÇA	DESN.	ATRE.	DEG.	VIÁVEIS	TOTAL
1	R 120	Bo	08:54	Anamã		1	-	2	39	42
2	H 711	Bo	09:07	Anamã		1	1	1	14	17
3	L 831	Bo	09:36	Big Brother		2	-	-	27	29
4	S 5011	Bo	09:52	Big Brother		-	3	-	7	10
5	N 412	Bo	10:23	Big Brother		1	5	-	43	46
6	M 162	Bo	10:35	Anamã		-	-	-	9	9
7	R 354	Bo	10:52	L73		-	5	-	32	37
8	R 258	Bo	11:06	L73		-	-	-	9	9
9	N 064	Bo	11:22	Anamã		1	2	-	15	18
10	R 262	Bo	11:40	Anamã		1	1	-	22	24
11	P 2446	Bo	11:00	Anamã		2	2	-	19	23
12	S 342	Bo	12:25	Anamã		1	4	-	44	49
13	R 100	Bo	13:20	Anamã		4	-	4	51	59
14	L 166	Bo	13:40	Anamã		10	-	4	30	44
15	8794	HP	14:22	segredo		-	-	-	6	6
16	8384	HP	14:40	segredo		-	4	2	67	12
17	8270	HP	14:56	segredo		-	2	1	8	14
18	8380	HP	15:14	segredo		-	1	1	12	14
19	8703	HP	15:34	segredo		-	2	1	10	13
20	8278	HP	15:46	segredo		-	1	1	6	8
21	B 078	Bo	16:10	Anomã		1	4	-	27	32
22	B 079	Bo	16:35	Anamã		1	2	2	21	26
23	B 074	Bo	16:55	Anamã		1	2	3	24	30
24	B 075	Bo	17:14	Big Brother		-	-	4	18	22
25	B 081	Bo	17:30	Big Brother		3	-	-	9	12

	VIÁVEIS	TOTAL
FINAL	509	603

OBSERVAÇÕES: Relatório emitido com o 390

VITRIFICAR EMBRIÕES EXCEDENTES

QTD. RECEPTORAS 100

55 99151 1709
www.profertilembrios.com.br
profertil@profertilembrios.com.br

DOSES DE SEMEN ENVIADAS	
QTD	TOURO
10	Anamã

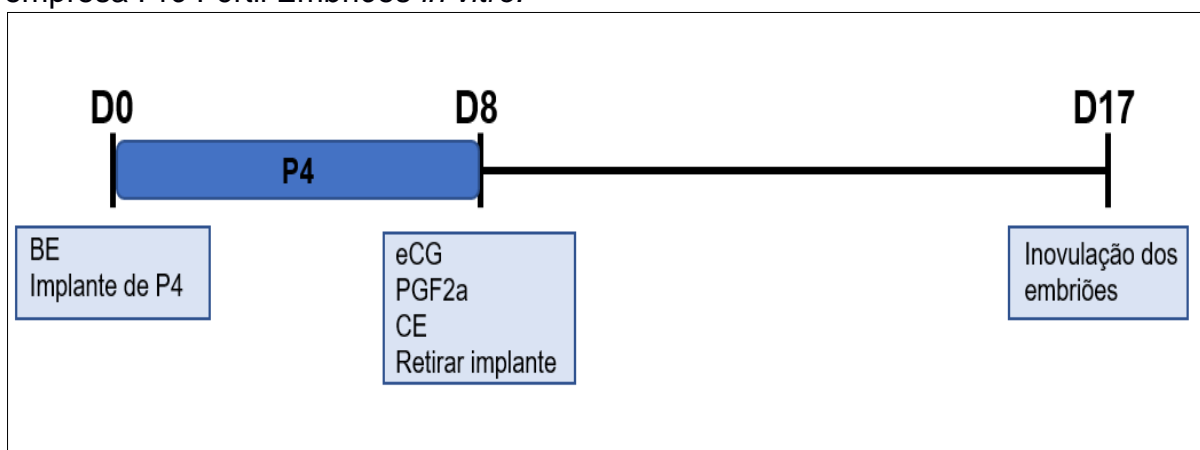
Fonte: o autor.

2.2.2 Transferência de embriões em tempo fixo (TETF)

Durante o ECSMV foram realizados procedimentos de transferência de embriões em bovinos. Esta biotecnologia consiste na inovação de embriões de fêmeas bovinas geneticamente superiores em receptoras previamente selecionadas e sincronizadas, a fim de aumentar o ganho genético do rebanho com maior produção de bezerros por animal. Devido a organização dos trabalhos a campo e sincronização com o laboratório de FIV, utilizavam-se protocolos hormonais para manipulação do ciclo estral. Assim os procedimentos de TE eram programados em data pré-determinada, ou seja, em tempo fixo (figura 10).

Para seleção das receptoras priorizava-se a utilização de vacas multíparas, em boas condições nutricionais e reprodutivas. Além disso, orientava-se aos produtores que fossem selecionadas 10 a 20% a mais de receptoras do que o número de embriões previstos para TE. Este fato era importante pois nem todas as vacas protocoladas estavam aptas para realizar o procedimento no dia da transferência.

Figura 10 – Esquema exemplificando o protocolo hormonal utilizado para TETF pela empresa Pró Fértil Embriões *in vitro*.



Fonte: o autor

O manejo iniciava com a avaliação ginecológica ultrassonográfica da fêmea. Verificava-se escore de condição corporal (ECC), aprumos, úbere, dentição, idade e habilidade materna anterior. Estando o animal aprovado para realização do procedimento, eram identificadas com brinco.

O protocolo hormonal iniciava, em todas as vacas consideradas aptas, com a aplicação de 2mg/animal de benzoato de estradiol (BE), via IM e inserção do dispositivo intravaginal com liberação lenta de progesterona (P4). Posteriormente, no oitavo dia após o início do protocolo, foi retirado o dispositivo intravaginal. E foram aplicados ainda 400 UI/animal de gonadotrofina coriônica equina (eCG), via IM, 0,500mg/animal de prostaglandina F2 α (PGF2 α), via IM e 2mg/animal de cipionato de estradiol (CE), via IM. Geralmente, o retorno à propriedade dava-se somente no dia da inovulação, sendo o manejo do oitavo dia feito pelos colaboradores ou técnicos da fazenda.

A inovulação foi realizada 9 dias após a retirada do dispositivo intravaginal e aplicação dos hormônios. Após a montagem da estrutura de campo e do auxiliar (figura 11), os animais foram contidos em tronco para ruminantes sendo realizada a

anestesia epidural com associação medicamentosa contendo lidocaína e xilazina 0,2mg/kg e 0,004mg/kg, bólus, via epidural (BLOC®).

Figura 11 – Fotografia da estrutura estabelecida na propriedade para a montagem do inovulador de embriões, neste caso, embriões a fresco.



Fonte: o autor.

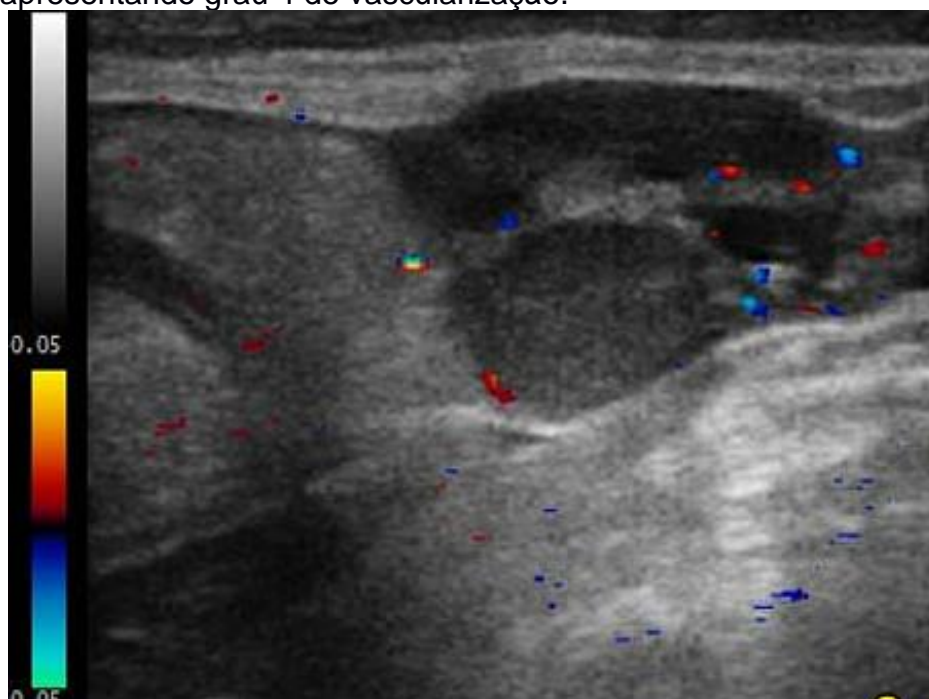
Neste momento, foi realizada nova avaliação ginecológica com auxílio do ultrassom, onde buscou-se identificar a presença ou não do corpo lúteo (CL). Registrava-se qual o lado da ovulação e realizava-se uma avaliação do grau de vascularização do CL via *Doppler* (grau 1 (figura 12) ótima vascularização e grau 4 (figura 13) sem vascularização). Além disso, o tamanho do CL também foi avaliado pelo técnico, porém essa informação não era anotada em tabela de acompanhamento. (figura 14).

Figura 12 – Fotografia do aparelho ultrassonográfico contendo a imagem de um corpo lúteo sendo avaliado no modo *Doppler*, apresentando grau 1 de vascularização.



Fonte: o autor.

Figura 13 – Imagem ultrassonográfica de um corpo lúteo sendo avaliado no modo Doppler, apresentando grau 4 de vascularização.



Fonte: adaptado de Pugliesi et al., (2017).

Figura 15 – Fotografia do Médico veterinário realizando a inovulação de embrião em receptora devidamente contida em tronco apropriado.



Fonte: o autor.

Ainda, em todos os manejos acompanhados, as receptoras inovuladas foram brincadas com identificação adicional da empresa (figura 16), contendo o cruzamento do embrião transferido e no verso, a data de transferência e o número da receptora, facilitando o controle posteriormente.

Figura 16 – Fotografia dos brincos de identificação animal contendo a logo da empresa e o cruzamento do embrião transferido.

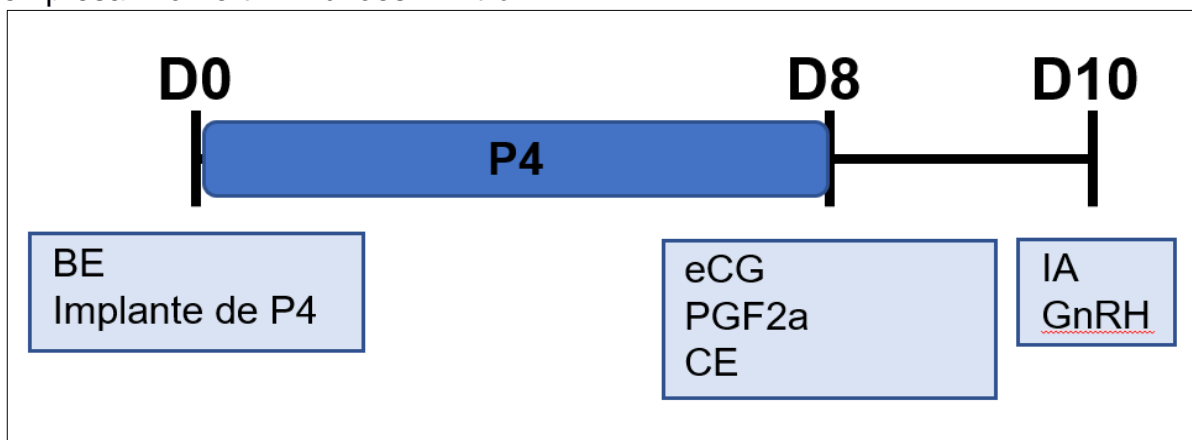


Fonte: o autor.

2.2.3 Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF)

A Inseminação artificial em tempo fixo (IATF) foi outra atividade acompanhada durante o ECSMV. Esta biotecnologia consiste na deposição do sêmen do touro diretamente no corpo do útero da fêmea sem que aja o coito, ou seja, o técnico através do equipamento correto consegue realizar o mesmo processo artificialmente. Além disso, neste caso o ciclo estral das fêmeas foi sincronizado para que o manejo possa ser feito em um considerável número de animais na mesma data, tendo assim, uma estação reprodutiva mais eficiente, além de uma maior padronização dos bezerros. Foram feitas IATFs em 579 fêmeas bovinas de corte, sendo este manejo, na maioria das vezes, realizado pelos médicos veterinários auxiliares da empresa. Da mesma forma que nos protocolos de TETF, o serviço prestado contemplava manejos de avaliação ginecológica e início de protocolo hormonal (figura 17) e o manejo de inseminação artificial.

Figura 17 – Esquema exemplificando o protocolo hormonal utilizado para IATF pela empresa Pró Fértil Embriões *in vitro*.



Fonte: o autor.

Inicialmente, no manejo de avaliação ginecológica e início do protocolo hormonal os animais eram contidos em tronco para ruminantes onde pela técnica de palpação retal e avaliação ultrassonográfica verificava-se a condições uterinas da fêmea. Além disso, observava-se o escore de condição corporal (ECC) e peso.

Após esta avaliação, dava-se início ao protocolo hormonal nas aptas com a aplicação de 2 mg/animal de benzoato de estradiol (BE), via IM e inserção do dispositivo intravaginal com liberação lenta de progesterona (P4).

No oitavo dia do protocolo, era feita a aplicação de 400 UI/animal de gonadotrofina coriônica equina (eCG), via IM, 0,500mg/animal de prostaglandina F2 α (PGF2 α), via IM, 2mg/animal de cipionato de estradiol (CE), via IM e na região sacrocígena aplicava-se uma marcação com tinta afim de identificação de cio. Da mesma maneira que nos serviços de TETF, geralmente o manejo de retirada do dispositivo e aplicação dos hormônios ficava a cargo dos colaboradores e/ou técnicos da propriedade.

No décimo dia do protocolo, iniciava-se o manejo de inseminação artificial com organização do equipamento e contenção dos animais em tronco apropriado. Descongelava-se as palhetas de sêmen em um descongelador de sêmen (WTA®) à 36°C durante 30 segundos e, após a montagem do aplicador de sêmen, o mesmo era inserido na vulva da fêmea até o fundo de saco vaginal. Após a identificação da cérvix, o veterinário realizava a transposição dos anéis cervicais e depositava o sêmen no corpo do útero.

Além disso, as fêmeas que continham tinta remanescente na região sacrocóccigea, ou seja, a tinta não foi removida com a monta das demais, receberam acetato de buserelina (análogo ao GnRH) 0,0105 mg/animal via IM.

2.2.4 Exame andrológico em touros

No ECSMV, foi possível acompanhar a realização de exame andrológico de 80 touros em uma mesma propriedade, não sendo um manejo recorrente durante o estágio. O exame consiste em verificar a aptidão reprodutiva dos machos bovinos destinados à reprodução por meio de avaliações externas e internas do indivíduo, além de análise seminal em microscopia óptica.

Inicialmente, fazia-se a avaliação clínica dos animais por escore de condição corporal, aprumos, correção de prepúcio, entre outros. Posteriormente, já com o animal no tronco de contenção, iniciava-se a avaliação do sistema reprodutivo externo pela palpação da bolsa escrotal buscando possíveis lesões, aderências, e observando a mobilidade testicular, simetria, consistência e temperatura. Além disso, palpava-se os epidídimos, avaliando consistência e morfologia e após, era feita a mensuração da circunferência escrotal e avaliação externa de pênis e prepúcio, verificando possíveis lesões e/ou aumento de volume. Em seguida, fazia-se a avaliação do sistema reprodutivo interno por palpação retal, analisando consistência e morfologia/simetria da próstata, vesículas seminais e ampolas dos ductos deferentes.

Após isso, realizou-se a coleta de sêmen, feita na maioria das vezes com a utilização do eletroejaculador (Neovet® AUTOJAC3). O material coletado passava por avaliação das suas características físicas: cor, aspecto e odor, além de avaliação em microscópio óptico no aumento de 100x sem lamínula para observação do movimento em massa (turbilhonamento), e com lamínula no aumento de 200x para observação de motilidade e vigor.

Foram considerados aptos, os animais sem alterações clínicas no sistema reprodutivo tanto na avaliação externa quanto interna. Quanto à avaliação seminal, os animais deviam possuir turbilhonamento igual ou superior a 3, em escala de 1 a 5; motilidade igual ou superior a 60%; e vigor igual ou superior a 3, em escala de 1 a 5.

Neste manejo, 77 animais foram aprovados, um animal foi sugerido reavaliação e dois foram descartados por apresentarem sinais característicos de degeneração testicular.

2.2.5 Diagnóstico gestacional

Acompanhou-se também, o procedimento de diagnóstico gestacional em fêmeas bovinas, sendo em algumas propriedades, nas receptoras de embriões transferidos pela empresa (tabela 2). A técnica consiste na avaliação do sistema reprodutor da fêmea, a fim de verificar a existência ou não dos sinais de gestação (assimetria dos cornos uterinos, presença de placentomas, presença de CL gravídico, presença do embrião/feto) e em bovinos pode ser feita por palpação retal (a partir dos 45 dias), ou com o exame ultrassonográfico (a partir dos 22 dias com o modo *Color-Doppler* e dos 30 com o modo B).

O exame foi feito por palpação transretal com o auxílio do aparelho ultrassonográfico, realizado aos 30 e 60 dias após a data de transferência. Bem como, no exame aos 60 dias realizava-se a sexagem fetal observando a posição do tubérculo genital.

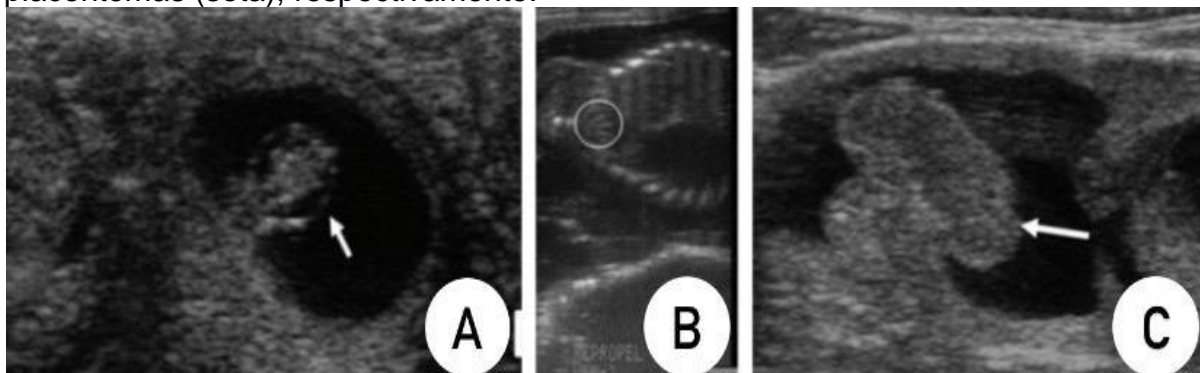
Tabela 2 - Diagnósticos de gestações realizados durante o ECSMV em fêmeas bovinas receptoras de embriões aos 30 e 60 dias e porcentagem de concepção.

Dias de gestação	nº de animais	% média de prenhez
30	244	51
60	47	48

Fonte: o autor

Inicialmente, após a montagem da mesa com o aparelho ultrassonográfico, os animais eram contidos em tronco e o veterinário realizava a palpação retal para verificação das estruturas do sistema reprodutor. Após, realizava-se o exame ultrassonográfico onde se observava a presença ou não do embrião/feto e placentomas (figura 18), bem como, a avaliação da vascularidade do CL em alguns casos, sendo o diagnóstico anotado em planilha de controle conforme o brinco do animal.

Figura 18 – Imagens exemplificando os achados ultrassonográficos no diagnóstico gestacional: A – Gestação de 30 dias com a visualização do embrião (seta), B e C – Gestação de 60 dias com visualização do feto e seu coração (círculo) e dos placentomas (seta), respectivamente.



Fonte: adaptado de Gasperin, et al.

3 DISCUSSÃO

3.1 Pontos chaves da aspiração folicular guiada por ultrassonografia – OPU.

A técnica de aspiração folicular guiada por ultrassonografia (OPU) é um método pouco invasivo para a colheita de oócitos *in vivo*, principalmente em vacas e éguas. A técnica inicialmente foi desenvolvida para aplicação na espécie humana como auxílio na infertilidade sendo utilizada pela primeira vez em fêmeas bovinas na Holanda na década de 80. (LÓPEZ, 2020).

Por ser uma técnica flexível e possibilitar a sua aplicação em fêmeas a partir dos seis meses de idade e em vacas prenhes no terço inicial da gestação (GALLI et al. 1996), é uma das mais utilizadas na obtenção de oócitos para PIVE em escala comercial (DAYAN, 2001). Ainda, evidencia-se o potencial de aumento na produção de descendentes de uma fêmea com alto valor genético, podendo ser de 50 a 100 bezerros/ano, considerando as taxas usuais de PIVE e TE. (SAYID, 2021)

O ciclo estral das fêmeas bovinas tem duração média de 21 dias e possui duas ou três ondas de crescimento folicular (D'ENJOY et al., 2012). O corpo lúteo é a principal estrutura ovariana utilizada para classificar a fase do ciclo estral da fêmea. (PENITENTE-FILHO et al., 2014 ; PFEIFER et al., 2009). Ainda, os autores destacam o folículo dominante (FD) como outro influenciador da dinâmica ovariana. Pois, o FD é responsável pela liberação de estradiol, ativina, folistatina e principalmente a inibina, que promove atresia dos folículos menores por atuar inibindo o hormônio folículo estimulante (FSH), sendo este, primordial para o crescimento dos folículos até a fase de diferenciação.

Para a realização da OPU, é preferível que os animais estejam na fase luteínica, uma vez que haverá folículos de diversos tamanhos e fases de crescimento. Já na fase folicular, há a presença de um folículo dominante, o que indica que os outros folículos estão sofrendo ou já sofreram atresia (REIS et al., 2006). Gonçalves et al., (2008) ressalta que o diâmetro ideal dos folículos a serem aspirados para PIVE é entre 2 a 8 mm. Folículos menores que 2 mm apresentam incompetência citoplasmática o que dificulta o seu desenvolvimento *in vitro*, já os folículos maiores encontram-se em processo de maturação avançado. Ao decorrer do ECSMV, as fêmeas bovinas submetidas à OPU encontravam-se em diferentes fases do ciclo estral. Além disso, o técnico realizava a aspiração do líquido folicular de todos os

folículos visíveis na imagem ultrassonográfica, independentemente do tamanho, discordando dos autores citados acima.

A condição nutricional da doadora é um fator de grande influência na produção de oócitos, principalmente na qualidade dos mesmos. (CHRENEK et al., 2014). Kouamo et al., (2014) observaram em programas de PIVE com animais ECC 3, ou seja, nem muito magros nem obesos, obtiveram maior número de oócitos viáveis por coleta quando comparados a animais com ECC 1-2 ou ECC 4-5. Bem como, animais com alto ECC tendem a apresentar maior casuística de cistos ovarianos, o que afeta a qualidade e a quantidade de oócitos coletados por sessão. (STADNIK et al., 2017)

No ECSMV, foi possível observar presença de cistos ovarianos em alguns animais obesos. Este fato corrobora a afirmação feita por Stadnik et al., (2017) que verificaram alta incidência de cistos ovarianos em animais super alimentados.

A idade das fêmeas é outro fator importante a ser observado quando realizamos a OPU. Os resultados obtidos de produção de embriões em fêmeas pré-pubescentes são menos favoráveis quando comparado à vaca adulta. Há estudos relatando que oócitos advindos de fêmeas jovens têm diferente composição comparada aos oócitos de animais adultos. Possuem atividades metabólica e enzimática distintas (WARZYCH et al. 2017), arranjo diferente das proteínas e concentrações de estradiol e LH divergentes no meio folicular (KHATIR et al., 1997). Por isso, as fêmeas jovens costumam apresentar baixas taxas de clivagem e de formação de blastocistos, ou seja, mesmo com uma boa produção de oócitos viáveis, a taxa de conversão oócito/embrião fica abaixo do desejado. Porém, ainda há um potencial considerável de ganho genético devido à redução no intervalo de gerações, o que justifica a aplicação da técnica nesses casos (BALL; PETERS, 2004; LANDRY et al., 2016).

Em animais senis (acima de 15 anos de idade), há menor produção de oócitos viáveis por coleta, além de baixa formação de blastocistos, ou seja, não só a taxa de conversão diminuiu, mas também, a produção em geral. Fato este, a ser levado em consideração no momento de avaliar a viabilidade de manter vacas de idade avançada no rebanho (SU et al., 2012).

Em relação a raça, as fêmeas zebuínas levam vantagem na PIVE quando comparado às fêmeas taurinas. Os animais *Bos indicus* manifestam maior produção de oócitos (totais e viáveis) e qualidade superior dos oócitos, além de se observar maior taxa de clivagem dos gametas. (SALES et al., 2015).

Além disso, o cruzamento *Bos indicus* x *Bos taurus* também apresenta melhor eficiência na recuperação de oócitos por coleta quando comparado à doadoras taurinas (GRÁZIA et al., 2016). Ao longo do ECSMV, obteve-se maior aplicação da técnica em animais oriundos do cruzamento *Bos indicus* x *Bos taurus* (Braford). O resultado do número médio de CCOs viáveis por coleta foi superior aos dados encontrados em estudos realizados com a raça: 25 vs 11,7 e 7,8 (RAMOS et al., 2013; RIBAS et al., 2018).

Gimenes et al., (2015), em um estudo onde realizaram 6 sessões de OPU em fêmeas bovinas a cada 14 dias, salientaram que a perfuração dos ovários ao decorrer das sessões gera diversas lesões e pode ocasionar a diminuição do número de folículos e de oócitos, o que traz grande relevância ao intervalo entre os procedimentos. Do mesmo modo, fêmeas com alta produção de oócitos apresentam um risco mais alto de danos aos ovários por conta da maior quantidade de perfurações sofridas por coleta (MONTEIRO et al., 2017). Porém, os autores acrescentam que apesar da diminuição no número de oócitos, foi observado aumento no montante de blastocistos por OPU. Ao longo do ECSMV, o intervalo entre procedimentos de OPU foi em média de 30 dias.

Referente aos equipamentos, Viana e Bols (2005) destacam a bomba de vácuo com um papel primordial na aspiração dos oócitos, principalmente no que diz respeito à regulagem da pressão utilizada. Pois, estruturas como as células do *cumulus oophorus* podem ser comprometidas, sendo estas, essenciais durante a etapa de FIV (BARUSELLI et al., 2012). Na literatura foi possível encontrar diversos autores que citam níveis de pressão consideradas ideias para o procedimento: de 50 a 60 mmHg (PARK et al., 2021), de 72 a 78 mmHg (RENESTO, 2004) e de 70 a 90 mmHg (KADAM et al., 2022).

Nos procedimentos acompanhados ao decorrer do ECSMV, a pressão da bomba de vácuo utilizada foi de 140mmHg, muito acima do descrito na literatura. O veterinário relata que utiliza essa pressão para dar agilidade ao processo e evitar a permanência de estruturas ou formação de coágulos na linha de aspiração. Ainda, destaca que não observou diferença no êxito da PIVE comparado a quando utilizou pressões menores.

Por ser uma técnica que depende do desempenho das pessoas envolvidas, há uma variação no número de CCOs coletados de acordo com a mudança da equipe, visto que, cada profissional aborda diferentes protocolos para realizar a técnica. Ainda,

possuir uma equipe sincronizada é de suma importância, pois os resultados gerais da PIVE são diretamente afetados pelo desempenho da OPU. (MERTON, 2003).

Ao decorrer do ECSMV, não houve a troca do profissional responsável pela realização da OPU, porém, ocorreu a mudança do técnico responsável pela procura e seleção dos CCOs, e com isso, observou-se ligeiro aumento no número de CCOs obtidos em colheitas recorrentes em doadoras com histórico de produção conhecido.

3.2 Fatores que afetam o sucesso de um programa de transferência de embriões em tempo fixo (TETF).

Sabe-se que para a eficácia de um programa de transferência de embriões em tempo fixo depende de diversos fatores, tais como: qualidade da receptora, nutrição, manejo, controle do ciclo estral e qualidade dos embriões (JONES; LAMB, 2008); (ANDRADE et al., 2012).

Sartori e Guardieiro (2010) destacam que a nutrição é um fator crucial na reprodução de fêmeas bovinas, pois influencia diretamente na fisiologia reprodutiva da fêmea, seja por déficit mineral/vitamínico, excesso de dieta energética e/ou dietas em alta concentração proteica. Do mesmo modo, animais no chamado balanço energético negativo (BEN), ou seja, com queda no peso e ECC apresentam menores taxas de concepção (BEDERE et al., 2018).

Durante o ECSMV, todas as receptoras foram avaliadas no início do protocolo principalmente, visando descartar animais com um baixo ECC. Além disso, pode-se observar que em lotes de fêmeas ECC muito baixo ou muito elevado obteve-se um menor índice de concepção geral quando comparado a lotes de animais com ECC entre 2 e 3 em boa oferta de alimento, indo de acordo com Stroud e Hasler (2006) e Bedere et al., (2018). Porém, é um dado subjetivo por ser apenas uma observação do médico veterinário responsável, uma vez que, o ECC não era tabulado nos dias da inovulação dos embriões.

Ainda, Jelonschek et al. (2018) evidenciam uma relação diretamente inversa do número de vezes de exposição a TE e a eficiência reprodutiva da fêmea. Ou seja, aqueles animais expostos a quatro procedimentos ou mais sem que se obtenha prenhez, possuem menor chance de sucesso e deveriam ser descartados do programa de TE. O que pôde ser observado durante o estágio, visto que, todas as vacas inovuladas recebiam brinco e eram cadastradas no sistema de controle da

empresa, podendo ser feita a avaliação individual ao decorrer da estação, facilitando a conduta do veterinário na tomada de decisão juntamente com o proprietário.

A utilização da ultrassonografia, possibilitou a avaliação de órgãos reprodutivos para várias finalidades, tais como: diagnóstico de gestação, diagnóstico de patologias, verificação da viabilidade embrionária/fetal, acompanhamento da dinâmica folicular e exame de morfologia do CL. (GINTHER, 1995). Atualmente, com a melhora dos níveis de qualidade dos equipamentos, da capacitação dos técnicos e da acessibilidade para aquisição dos aparelhos, se observa maior incorporação da técnica na rotina dos programas reprodutivos em bovinos de corte e leiteiros.

Recentemente, a utilização do modo *Doppler* ganhou espaço nas pesquisas de avaliação do sistema reprodutivo da fêmea bovina e equina. Principalmente por possibilitar a análise de viabilidade dos órgãos através dos níveis de perfusão sanguínea. Com isso, a ultrassonografia *Color-Doppler* tornou-se uma opção prática e não invasiva para verificar a funcionalidade e qualidade do CL na seleção de receptoras em programas de TETF. Visto que, a avaliação em escala-de-cinza comumente utilizada para determinar o tamanho do CL não garante que o mesmo esteja funcional e, deste modo, o embrião pode ser transferido para um ambiente uterino não receptivo. Pois, um CL com pouca função ou afuncional pode afetar diretamente nos níveis de P4 liberados. (PUGLIESI, et al., 2017)

Em um estudo feito por Pinaffi et al., (2015), receptoras bovinas foram avaliadas pelo modo *Doppler* no dia da transferência de embriões, classificando-as como baixa ($\leq 40\%$ de coloração no CL) e alta vascularização ($> 40\%$). Verificou-se que a taxa de concepção foi de 48,4% no grupo com alta vascularização, e nenhuma gestação foi detectada no grupo definido por baixa vascularização do CL no dia da inovulação. Outro dado interessante do estudo foi que, houve semelhança no diâmetro médio do CL entre os dois grupos (17,0mm e 17,5mm) para o grupo com alta e baixa vascularização, respectivamente. Ressaltando a eficiência da utilização do modo *Doppler* em programas de TETF quando comparado à ultrassonografia em escala-de-cinza.

Nesse sentido, ao longo do ECSMV todas as fêmeas protocoladas para TETF, no dia da transferência passavam por avaliação ultrassonográfica com o modo *Doppler*, preconizando a inovulação somente em fêmeas com grau de vascularização do CL 1, 2 e 3.

Quanto a manipulação hormonal, segundo Barusseli et al., (2000), os protocolos utilizando benzoato de estradiol (BE), dispositivos intravaginais de progesterona (P4), prostaglandina F2 α (PGF2 α) e gonadotrofina coriônica equina (eCG) mostraram bons resultados de taxa de prenhez em receptoras de embrião. Além disso, Morais et al., (2013) em um estudo com mais de 1000 receptoras, não observaram diferenças nas taxas de concepção do grupo de TETF e do grupo com observação de cio. O protocolo utilizado pelos autores no grupo tratamento foi o de 3 manejos (semelhante ao representado pela figura 10), já no grupo controle foi observado sinais de cio nas fêmeas, sendo a inovulação realizada 7 dias após. Com isso, obteve-se taxa de concepção aos 30 dias no grupo controle e 30,1% no grupo TETF, sem diferenças estatísticas. Dessa forma, as principais vantagens na utilização de programas de TETF são a exclusão do manejo de observação de estro, a possibilidade de programação do dia da inovulação e a diminuição considerável da estação reprodutiva.

Durante o ECSMV, em todas as propriedades assistidas aplicou-se o manejo de TETF com a utilização do método descrito na figura 10, alcançando concepção média de 51% aos 30 dias. O veterinário opta pela utilização do protocolo por possuir histórico de bons resultados nas propriedades atendidas pela empresa, além de destacar a praticidade de entendimento dos colaboradores por ter os manejos iniciais iguais aos do manejo de IATF, comumente realizado nestes locais.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A associação das biotecnologias OPU-FIV-TETF mostra grande potencial como uma das formas mais eficientes para o aumento na produção de animais geneticamente superiores. A OPU destaca-se como uma ferramenta eficaz na colheita de oócitos desde que, se mantenha um bom manejo com as doadoras, equipe de campo e laboratório. Já a TETF mostra seu grande potencial de implantação, facilitando o manejo de TE e aumentando a disseminação de genética nos rebanhos.

Dessa forma, a realização do ECSMV proporcionou vivenciar a rotina de uma empresa atuante em diversas regiões do estado, e com isso, conhecer diferentes realidades dentro da cadeia produtiva. Além disso, foi possível pôr em prática os conhecimentos vistos durante a graduação acompanhando profissionais especializados e conhecidos na área pela sua excelência na reprodução de bovinos de corte.

REFERÊNCIAS

- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE EXPORTADORES DE CARNES (ABIEC). Beef report: Perfil da Pecuária no Brasil. São Paulo: ABIEC, 2022. Disponível em: <<https://www.abiec.com.br/publicacoes/beef-report-2022/>>. Acesso em 16 jan. 2023.
- ANDRADE G.A. et al. Fatores que afetam a taxa de prenhez de receptoras de embriões bovinos produzidos in vitro. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v. 36, n. 1, p. 66-69, 2012.
- BALL, P. J. H.; PETERS, A. R. **Reproduction in Cattle**. 3. ed. Oxford: Blackwell Publishers. 2004.
- BARUSELLI, P. S. et al. Superestimulação ovariana de receptoras de embriões bovinos visando o aumento de corpos lúteos, concentração de P4 e taxa de prenhez. **Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS**, v. 28, p. 218, 2000.
- BARUSELLI, P. S. et al. Manipulation of follicle development to ensure optimal oocyte quality and conception rates in cattle. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 47, p. 134-141, 2012.
DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2012.02067.x>. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1439-0531.2012.02067.x>>. Acesso em: 14 ja. 2023..
- BEDERE, N. et al. Meta-analysis of the relationships between reproduction, milk yield and body condition score in dairy cows. **Livestock Science**, v. 210, p. 73-84, 2018.
DOI:10.1016/j.livsci.2018.01.017. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S187111318300246?via%3Dihub>> Acesso em: 12 jan. 2023.
- CHRENEK, P. et al. Effect of body condition and season on yield and quality of in vitro produced bovine embryos. **Zygote**, v. 23, n. 6, p. 893-899, 2014.
DOI: 10.1017/S0967199414000604.
Disponível em: <<https://www.cambridge.org/core/journals/zygote/article/effect-of-body-condition-and-season-on-yield-and-quality-of-in-vitro-produced-bovine-embryos/F154C1F85A38EF72F132638442685CC5>> Acesso em 12 jan. 2023.
- DAYAN, A. **Fatores que interferem na produção de embriões bovinos mediante aspiração folicular e fecundação in vitro**. 2001. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) –Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia –Botucatu, 2001.
- D'ENJOY, D. et al., Dinâmica Folicular Ovárica Durante el Ciclo Estral en Vacas Brahman. **Revista de la Facultad de Ciencias Veterinarias**. v. 53, n. 1, p. 39-47, 2012. Disponível em: <<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=373139079005>>. Acesso em 14 jan. 2023
- GALLI, C.; LAZZARI, G. Practical aspects of IVM/IVF in cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 42, n. 1-4, p. 371-379, 1996.

DOI:[https://doi.org/10.1016/03784320\(96\)01530-8](https://doi.org/10.1016/03784320(96)01530-8). Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378432096015308>>. Acesso em: 10 jan. 2023.

GASPERIN, B. G. et al. Ultrassonografia reprodutiva em fêmeas bovinas e ovinas. **Documentos / Embrapa Clima Temperado**, Pelotas, p. 20-22, abr. 2017. Disponível em < <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1080568>>. Acesso em: 11 jan. 23.

GIMENES, L. U. et al. The interval between the emergence of pharmacologically synchronized ovarian follicular waves and ovum pickup does not significantly affect in vitro embryo production in *Bos indicus*, *Bos taurus*, and *Bubalus bubalis*. **Theriogenology**, v. 83, n. 3, p. 385-393, 2015.

DOI: 10.1016/j.theriogenology.2014.09.030. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X14005391?via%3Dihub>>. Acesso em 14 jan. 2023

GINTHER, O. J. **Ultrasonic imaging and animal reproduction: Book 2, Horses. Cross Plains**, Madinson, Equiservices Publishing, 394p, 1995.

GONÇALVES, P.B.D. et al. **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. São Paulo, p. 408, 2008.

GRÁZIA, J. G. V. et al. Desempenho de doadoras leiteiras mestiças F1 (Gir x Holandês) no sistema de produção in vitro de embriões. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 68, n. 3, p. 605-610, 2016.

DOI:<https://doi.org/10.1590/1678-4162-8317>. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/abmvz/a/WrgNBfjhVFs54nZRDyCLP3Q/abstract/?lang=pt>>. Acesso em: 13 jan 2023.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. Produção agropecuária – bovinos. 2022. Disponível em: < <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/bovinos/br>> Acesso em 16 jan. 2022.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. Pesquisa trimestral do abate de animais - 3tri. 2022. Disponível em: < <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9203-pesquisas-trimestrais-do-abate-de-animais.html?=&t=destaques>> Acesso em 16 jan. 2023.

JELONSCHEK, J. P. et al. Fatores que afetam a taxa de gestação de receptoras de embriões produzidos in vitro. **Scientific Electronic Archives**. v. 11, n. 6, p. 173-179,, 2018.

JONES, A. L.; LAMB, G. C. Nutrition, synchronization, and management of beef embryo transfer recipients. **Theriogenology**, v. 69, n. 1, p. 107-115, 2008. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.09.004>. Disponível em:<<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0093691X07005547>>. Acesso em: 03 jan. 2023.

KADAM, H. D. et al. Estudo comparativo da recuperação de oócitos e produção de embriões usando técnicas de OPU-IVP em seis raças bovinas indígenas da Índia. **Reprodução Animal (AR)**, v. 19, n. 2, pág. 0-0, 2022. Disponível em <<https://www.animal-reproduction.org/journal/animreprod/article/62fe8df4a95395028602cc34>> Acesso em 13 jan. 2023.

KHATIR, H. et al., Characterization of calf follicular fluid and its ability to support cytoplasmic maturation of cow and calf oocytes. **Journal Reproduction Fertil**, v.111, p.267-275, 1997.

KOUAMO, J. et al. Evaluation of bovine (*Bos indicus*) ovarian potential for in vitro embryo production in the Adamawa plateau (Cameroon). **Open Veterinary Journal**. v. 4, p. 128–136, 2014.

DOI:10.5455/OVJ.2014.v4.i2.p128

Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/pmid/26623353/>>. Acesso em 12 jan. 2023.

LANDRY, D. A. et al. Effect of cow age on the in vitro developmental competence of oocytes obtained after FSH stimulation and coasting treatments. **Theriogenology**, v. 86, n. 5, p. 1240-1246, 2016.

DOI:10.1016/j.theriogenology.2016.04.064.

Disponível

em:<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X16301030?via%3hub>>. Acesso em 12 jan. 2023.

LÓPEZ, S. R. Ovum Pick-Up (OPU) in Cattle: An Update. *In*: GARDÓN, J. C.; SATUÉ, K. **Biotechnologies Applied to Animal Reproduction**. 1ed. Nova York: Apple Academic Press, 2020. p. 139-183.

MERTON, J. S. et al. Factors affecting oocyte quality and quantity in commercial application of embryo technologies in the cattle breeding industry. **Theriogenology**, v. 59, p. 651–674, 2003.

MONTEIRO, F. M. et al. Beef donor cows with high number of retrieved COC produce more in vitro embryos compared with cows with low number of COC after repeated ovum pick-up sessions. **Theriogenology**, v. 90, p. 54-58, 2017.

DOI:10.1016/j.theriogenology.2016.11.002

Disponível

em:<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X16305350?via%3DiHub>> Acesso em 14 jan. 2023.

PARK, Y. S. et al. "Effects of Donors and in Vivo Ovum Pick-up Conditions on in Vitro Embryo Development in Korean Native Cow." **Korean Journal of Veterinary Service**, v. 44, p. 227–237, 2021.

DOI:10.7853/kjvs.2021.44.4.227

Disponível em <<https://koreascience.kr/article/JAKO202107554717004.page>> Acesso em 13 jan. 2023.

PENITENTE-FILHO, J. M. et al. Influence of dominant follicle and corpus luteum on recovery of good quality oocytes for in vitro embryo production in Cattle. **British Biotechnology Journal**, v. 4, n. 12, p. 1305, 2014.

DOI: 10.9734/BBJ/2014/13829 Disponível em
<https://www.researchgate.net/profile/Jurandy-Penitente-Filho/publication/265960701_Influence_of_Dominant_Follicle_and_Corpus_luteum_on_Recovery_of_Good_Quality_Oocytes_for_In_vitro_Embryo_Production_in_Cattle/links/5469437d0cf20dedafd0d7c8/Influence-of-Dominant-Follicle-and-Corpus-luteum-on-Recovery-of-Good-Quality-Oocytes-for-In-vitro-Embryo-Production-in-Cattle.pdf> Acesso em 14 jan. 2023

PFEIFER, L. F. M. et al. Effect of circulating progesterone on in vitro developmental competence of bovine oocytes. **Animal Reproduction**, v. 6, n. 3, p. 473-480, 2009.

Disponível em:
<<http://www.cbpa.org.br/portal/downloads/publicacoes/animalreproduction/issues/download/v6n3/AR301%20Pfeifer%20pag473-480.pdf>>. Acesso em 14 jan. 2023.

PINAFFI, F. L. V. et al., Follicle and corpus luteum size and vascularity as predictors of fertility at the time of artificial insemination and embryo transfer in beef cattle. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 35, p. 470-476, 2015.

PUGLIESI, G. et al., Uso da ultrassonografia Doppler em programas de IATF e TETF em bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 41, n. 1, p. 140-150, 2017.

Disponível em
<[http://www.cbpa.org.br/portal/downloads/publicacoes/rbra/v41/n1/p140-150%20\(RB662\).pdf](http://www.cbpa.org.br/portal/downloads/publicacoes/rbra/v41/n1/p140-150%20(RB662).pdf)> Acesso em 14 jan. 2023

RAMOS, R. S. et al. Determinação Do Potencial De Produção De Oócitos De Vacas Braford Para Produção In Vitro De Embriões. In: SALÃO INTERNACIONAL DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO, 1, 2013, Bagé. **Anais eletrônicos...** Bagé: UNIPAMPA, 2013. Disponível em:

<<https://periodicos.unipampa.edu.br/index.php/SIEPE/article/view/62138>>. Acesso em: 14 jan. 2023.

REIS, A. et al., Efeito da estrutura ovárica e da idade de bovinos da raça Holstein Friesian na quantidade e qualidade de ovócitos e de embriões produzidos in vitro. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 43, n. 5, p. 629-636, 2006.

DOI:10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2006.26571.

Disponível em: <<http://www.revistas.usp.br/bjvras/article/view/26571>>. Acesso em 14 jan. 2023.

RENESTO, A. **Associação das biotécnicas: aspiração folicular guiada por ultrassonografia e superovulação na produção in vitro e in vivo de embriões bovinos**. 2004. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Jaboticabal, 2004.

RIBAS, B. N. et al., Superstimulation with eCG prior to ovum pick-up improves follicular development and fertilization rate of cattle oocytes. **Animal Reproduction Science**, v. 195, p. 284 - 290, 2018.

DOI:10.1016/j.anireprosci.2018.06.006 Disponível em
<<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378432018302616>> Acesso
em 14 jan. 2023.

SALES, J. N. S. et al. Effects of a high-energy diet on oocyte quality and in vitro embryo production in *Bos indicus* and *Bos taurus* cows. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 5, p. 3086-3099, 2015.

DOI:10.3168/jds.2014-8858. Disponível em:
<[https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(15\)00137-X/fulltext](https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(15)00137-X/fulltext)>. Acesso em 14 jan. 2023

SARTORI, R.; GUARDIEIRO, M. M. Fatores nutricionais associados à reprodução da fêmea bovina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 422-432, 2010.

SAYID, A. Advances in Bovine Follicular Aspiration Technique. **World Scientific News**, v. 157, p. 169–188. 2021. Disponível em
<<https://yadda.icm.edu.pl/yadda/element/bwmeta1.element.psjd-a1499d44-bdbe-4435-bce7-9c977434bfe0>> Acesso em 13 jan. 2023.

SILVA, J. S. et al., Aspectos comerciais da transferência de embriões e fertilização in vitro em bovinos – revisão. **Nutri Time**, v. 12, n. 5, 2015. Disponível em <<https://nutritime.com.br/wp-content/uploads/2020/02/Artigo-332.pdf>> Acesso em 16 jan. 2023.

STADNIK, L. et al. Effects of body condition score and daily milk yield on reproduction traits of Czech Fleckvieh cows. **Animal Reproduction**. v.14, p.1264-1269. 2017.

DOI:10.21451/1984-3143-AR944

Disponível em:<[http://www.cbra.org.br/portal/downloads/publicacoes/animalreproduction/issues/download/v14/v14s1/p1264-1269%20\(AR944\).pdf](http://www.cbra.org.br/portal/downloads/publicacoes/animalreproduction/issues/download/v14/v14s1/p1264-1269%20(AR944).pdf)> Acesso em 12 jan. 2023.

STOJKOVIC, M. et al. Mitochondrial distribution and adenosine triphosphate content of bovine oocytes before and after in vitro maturation: correlation with morphological criteria and developmental capacity after in vitro fertilization and culture. **Biology of reproduction**, v. 64, n. 3, p. 904-909, 2001.

DOI:<https://doi.org/10.1095/biolreprod64.3.904>. Disponível em:

<<https://academic.oup.com/biolreprod/article/64/3/904/2723403?login=true>>. Acesso em: 16 jan. 2023.

STROUD, B.; HASLER, J. F. Dissecting why superovulation and embryo transfer usually work on some farms but not on others. **Theriogenology**, v. 65, n. 1, p. 65- 76, 2006.

SU, L. et al. Effect of Donor Age on the Developmental Competence of Bovine Oocytes Retrieved by Ovum Pick Up. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 47, n. 2, p. 184-189, 2012.

DOI:10.1111/j.1439-0531.2009.01349.x.

Disponível em:<<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1439-0531.2009.01349.x>> Acesso em 13 jan. 2023.

VARAGO, F. C et al., de A. Produção in vitro de embriões bovinos: estado da arte e perspectiva de uma técnica em constante evolução. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 32, n. 2, p. 100-109, 2008.

VIANA, J. H. M.; BOLS, P. E. J. Variáveis biológicas associadas a recuperação de complexos cumulus-oócitos por aspiração folicular. **Acta Scientiae Veterinariae**. v.33, n. 1, p.1-4, 2005.

VIANA, J., 2018 Statistics of embryo production and transfer in domestic farm animals. **Embryo Technology Newsletter**, v. 36, n. 4, p. 17, 2019. Disponível em <https://www.iets.org/Portals/0/Documents/Public/Committees/DRC/IETS_Data_Retrieval_Report_2018.pdf>Acesso em 16 jan. 2023.

WARZYCH, E. et al., Prepubertal heifers versus cows – The differences in the follicular environment. **Theriogenology**, v.87, p.36-47, 2017.

ANEXOS

ANEXO A – Certificado de conclusão do Estágio Curricular Supervisionado em Medicina Veterinária.

**CERTIFICADO**

Alexandre dos Santos Flores

Realizou o Estágio Supervisionado em Medicina Veterinária na empresa Pro Fértil embriões *in vitro* no período de 12 de setembro á 02 de dezembro, perfazendo a carga horária de 480 horas.

São Gabriel, 02 de Dezembro de 2022.

ALEXANDRE BRAGANÇA Assinado de forma digital por
VARGAS.292749050001 ALEXANDRE BRAGANÇA
31 VARGAS.292749050001.01
Data: 2022.01.18 19:55:25 -03'00'

Alexandre Bragança Vargas
Médico Veterinário
CRMV – RS 10701