

**UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL
ÁREA DE CONHECIMENTO DE CIÊNCIAS DA VIDA
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

VINICIUS ONZI GRAZZIOTIN

**RELATÓRIO DE ESTÁGIO CURRICULAR OBRIGATÓRIO:
ÁREA DE REPRODUÇÃO EQUINA**

CAXIAS DO SUL

2022

VINICIUS ONZI GRAZZIOTIN

**RELATÓRIO DE ESTÁGIO CURRICULAR OBRIGATÓRIO:
ÁREA DE REPRODUÇÃO EQUINA**

Relatório de estágio curricular obrigatório apresentado a Universidade de Caxias do Sul como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em Medicina Veterinária, na área de reprodução equina.

Orientadora: Profa. Dra. Luciana Laitano Dias de Castro

Supervisor: M.V. Dr. Fernando Paixão Lisboa.

CAXIAS DO SUL

2022

VINICIUS ONZI GRAZZIOTIN

**RELATÓRIO DE ESTÁGIO CURRICULAR OBRIGATÓRIO:
ÁREA DE REPRODUÇÃO EQUINA**

Relatório de estágio curricular obrigatório apresentado a Universidade de Caxias do Sul como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em Medicina Veterinária, na área de reprodução equina.

Orientadora: Profa. Dra. Luciana Laitano Dias de Castro

Supervisor: M.V. Dr. Fernando Paixão Lisboa

Aprovado em: 02/12/2022.

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Luciana Laitano Dias de Castro
Universidade de Caxias do Sul - UCS

Prof. Dr. Fábio Antunes Rizzo
Universidade de Caxias do Sul - UCS

Prof. Dr. Leandro do Monte Ribas
Universidade de Caxias do Sul - UCS

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por estar concretizando este sonho e por ter me acompanhado até aqui.

Aos meus pais Valdir Grazziotin e Cátia Onzi Grazziotin, que foram meus pilares e não mediram esforços para que este sonho se realizasse, obrigado por todos esses anos de apoio, sem vocês não chegaria neste ponto.

Ao meu primeiro cavalo, Rosilho, por ter despertado a paixão por eles e pela Medicina Veterinária.

A minha namorada, Vitória pelo grande apoio e auxílio nesse momento, e período que passei longe.

Agradeço a todos meus colegas de graduação que se tornaram grandes amigos nessa jornada. A todos Médicos Veterinários e mestres que pude estar ao lado e compartilharam seus conhecimentos durante estes 5 anos, seus papéis foram fundamentais neste trajeto, obrigado por todos ensinamentos.

Ao meu supervisor de estágio Fernando Paixão Lisboa, por todos ensinamentos e por ter depositado toda confiança em mim, aos novos amigos feito neste período, e a Estancia La República por ter aberto as portas para mim.

A professora Vitória Guazzelli pelo auxílio na confecção do início deste documento e a professora Luciana L. Dias de Castro pela orientação do mesmo.

Por fim, agradeço de todas as formas a todas pessoas que contribuíram para minha formação acadêmica.

RESUMO

O estágio curricular obrigatório foi realizado na área de Reprodução Animal com ênfase na espécie equina, sob supervisão do Médico Veterinário Dr. Fernando Paixão Lisboa e orientação da Prof. Dra. Luciana L. Dias de Castro. O estágio foi realizado na Central de Reprodução e Cabanha Estancia La Republica, localizada na cidade de Luján, província de Buenos Aires, Argentina. Durante o período de 15 de agosto a 05 de novembro de 2022, totalizando 440 horas. Pode-se acompanhar a rotina da central de reprodução equina, todas suas atividades, tais como suas biotecnologias aplicadas a reprodução, controle folicular, diagnóstico de gestação, inseminação artificial, coletas e manipulação de sêmen, congelamento de sêmen entre outras atividades de rotina reprodutiva. Este trabalho consta a descrição do local de estágio, as atividades desenvolvidas e um relato de caso de endometrite em égua.

Palavras-chave: Reprodução equina. Endometrite. Égua. Sêmen. Garanhão.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Localização aérea da Estancia La Republica na Província de Buenos aires.....	13
Figura 2 - Cocheiras para alojamento de garanhões, éguas doadoras de embrião e animais em treinamento esportivo (A); Subdivisões da propriedade divididos em 23 piquetes (B).....	14
Figura 3 - Laboratório de Reprodução equina da Estancia la Republica.....	15
Figura 4 - Mangueira, brete e tronco adaptados para realização das biotecnologias empregadas com equinos.....	15
Figura 5 - Piquetes e lote éguas doadoras de embrião.....	17
Figura 6 - Vagina artificial modelo Botucatu (A); Coleta seminal de garanhão com uso de manequim natural e vagina artificial (B).....	19
Figura 7 - Palhetas de sêmen na máquina resfriadora estabilizada a 5°C.....	21
Figura 8 - Exemplo de planilha utilizada para controle do ciclo estral na Estancia la Republica.....	24
Figura 9 - Imagem ultrassonográfica de útero em estro (A) e de útero em diestro (B).....	25
Figura 10 - Imagem ultrassonográfica de folículo dominante com diâmetro maior que 35mm atingido.....	26
Figura 11 - Imagem ultrassonográfica de folículo pré-ovulatório, 24 horas antes da ovulação.....	26
Figura 12 - Imagem ultrassonográfica de corpo hemorrágico (A) e corpo lúteo (B).....	27
Figura 13 - IA com sêmen fresco (A), IA com sêmen congelado (B).....	31
Figura 14 - Embrião visualizado a olho nu no copo coletor (A). Figura esquemática do procedimento de recuperação embrionária (B).....	34
Figura 15 - Lupa e Placa de Petri prontas para a manipulação do embrião (A). Embrião identificado com auxílio da lupa (B).....	35
Figura 16 - Figura esquemática mostrando a passagem pela cérvix no momento da inovulação.....	36
Figura 17 - Imagem ultrassonográfica de embrião com 12 dias (A), 30 dias (B) e 45 dias (C).....	37
Figura 18 - Resultado da cultura e antibiograma em égua com endometrite.....	39

Figura 19 - Imagens ultrassonográficas uterina do 1º dia (A), 2º (B), 3º (C), 4º (D) e 5º (E) dia de tratamento.....40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Atividades desenvolvidas durante o período de estágio na Estancia la Republica.....	18
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CL	Corpo lúteo
CBRA	Colégio Brasileiro de Reprodução Animal
E2	Estrógeno
FSH	Hormônio folículo estimulante
GnRH	Hormônio liberador de gonadotrofinas
Hcg	Gonadotrofina coriônica humana
IM	Intramuscular
IV	Intravenoso
LH	Hormônio luteinizante
Mg	Miligrama
MI	Mililitro
PGF	Prostaglandina
PGF2 α	Prostaglandina
P4	Progesterona
SID	Uma vez ao dia
μ g	micrograma
VA	Vagina artificial

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 DESCRIÇÃO DO LOCAL DE ESTÁGIO	13
2.1 ESTRUTURA DA ESTANCIA LA REPÚBLICA.....	14
2.2 ROTINA DA CENTRAL	16
2.2.1 Manejo dos garanhões	16
2.2.2 Manejo das éguas	16
3 ATIVIDADES DESENVOLVIDAS	17
3.1 COLHEITA E MANIPULAÇÃO DE SÊMEN.....	18
3.1.1 Criopreservação de sêmen.....	20
3.2 CONTROLE DO CICLO ESTRAL.....	22
3.2.1 Exame ultrassonográfico e acompanhamento do ciclo estral.....	23
3.2.2 Útero	24
3.2.3 Ovários e folículos	25
3.2.4 Corpo lúteo.....	27
3.3 MANIPULAÇÃO DO CICLO ESTRAL	27
3.3.1 Prostaglandina	27
3.3.2 Ocitocina.....	28
3.3.3 Indutores de ovulação	28
3.3.4 Gonadotrofina coriônica humana (hCG)	29
3.3.5 Hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH).....	29
3.4 INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL (IA)	30
3.5 TRANSFERENCIA DE EMBRIÃO (TE)	31
3.5.1 Manejo da doadora.....	32
3.5.2 Seleção da receptora	32
3.5.3 Sincronização.....	32
3.5.4 Coleta e manipulação de embriões.....	33
3.5.5 Inovulação	35
3.6 DIAGNÓSTICO DE GESTAÇÃO COM USO DA ULTRASSONOGRAFIA TRANSRETAL	36

4 CASO CLÍNICO: ENDOMETRITE EQUINA	37
4.1 INTRODUÇÃO.....	39
4.2 RELATO DE CASO.....	40
4.3 DISCUSSÃO.....	41
4.4 CONCLUSÃO.....	42
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	42
REFERENCIAS	43

1 INTRODUÇÃO

A equideocultura ocupa um espaço significativo no mercado brasileiro e argentino, contribuindo na geração de empregos e renda. O complexo do agronegócio equino, em ambos países, envolve mais de trinta segmentos, distribuídos entre criação, insumos e destinação final. No campo e na cidade, gera cerca de 180 mil empregos diretos e indiretos na Argentina (OLIVEIRA, 2012) e aproximadamente 3 milhões de empregos diretos e indiretos no Brasil (MAPA, 2016).

O Brasil possui o 4º maior rebanho de cavalos do mundo, com aproximadamente 5,5 milhões de cabeças, seguido pela Argentina, com 3,6 milhões (FAO, 2016). Esses animais encontram-se em estabelecimentos equestres com distintas finalidades, tais como comercial (criação para vender como produtos), profissional (prestação de serviço) e particular (lazer/uso próprio) (SALES, 2018).

Em todas as espécies de animais domésticos, do ponto de vista econômico, a fertilidade é a característica fisiológica de maior importância, entretanto, os equinos foram considerados por muito tempo como a de menor fertilidade, pelo fato de sua seleção artificial ser realizada por sua aptidão esportiva ou por suas características fenotípicas, e não por capacidade reprodutiva (GINTHER, 1992). No entanto, nas últimas décadas, a evolução das biotecnologias voltadas à reprodução está melhorando o aproveitamento dos animais, tornando possível acelerar o aprimoramento das raças e seus cruzamentos, sendo a inseminação artificial e a transferência de embriões ferramentas promissoras para esta finalidade (ARRUDA, 2001). O Brasil é o país que mais produz embriões equinos no mundo, sendo responsável por 43% do mercado, seguido pela Argentina com 29% (LOSINNO; UROSEVIC, 2015)

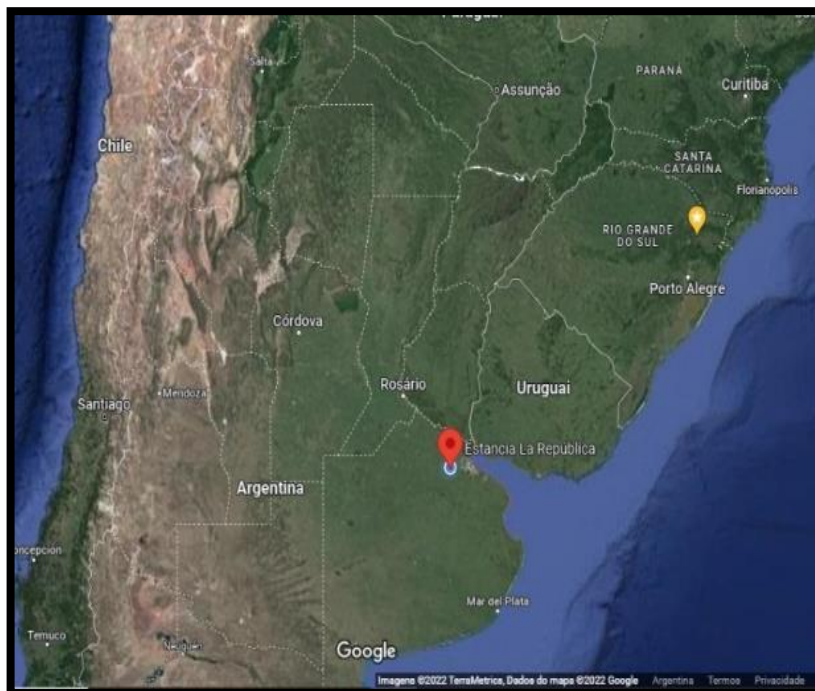
Além disso, o emprego da criopreservação espermática na reprodução equina também representa um grande avanço para o desenvolvimento da espécie, sendo que a utilização de sêmen criopreservado é uma prática amplamente utilizada na maioria das raças equinas. Realizando-se técnicas como refrigeração e congelamento de sêmen, tem-se a manutenção da viabilidade celular e, conseqüentemente, de material genético superior, por tempo indeterminado devido à preservação pelo frio (SILVA, 2017).

Em busca por maior conhecimento na área de reprodução equina, o estágio curricular obrigatório foi realizado em um local de grande importância para a raça crioula na Argentina, a Central de Reprodução Equina e Criatório Estancia La Republica, sob a supervisão do Médico Veterinário Dr. Fernando Paixão Lisboa. O presente trabalho tem como objetivo relatar o local de estágio, as atividades acompanhadas e desenvolvidas durante o período associada a uma revisão bibliográfica sobre o assunto e relatar um caso clínico de endometrite equina.

2 DESCRIÇÃO DO LOCAL DE ESTÁGIO

O estágio curricular obrigatório foi realizado no período de 15 de agosto a 5 de novembro de 2022, totalizando 440 horas, na Central de Reprodução Equina e Cabanha Estancia La República, localizada em Luján, Província de Buenos Aires, Argentina (Figura 1).

Figura 1- Localização aérea da Estancia La Republica (alfinete vermelho) na Província de Buenos Aires, Argentina.



Fonte: Google Maps (2022)

A Cabanha La Republica, fundada em 1980, há mais de 40 anos cria Cavalos Crioulos e se destaca por ser a que mais vezes ganhou o prêmio de “Melhor Cabanha do Ano” na história da raça Crioula. O principal objetivo da propriedade era a reprodução, criação e treinamento dos cavalos. Comercialmente, eram realizados dois leilões anuais para oferta de cavalos, bem como vendas privadas de animais e serviços reprodutivos, como venda de embriões, aluguel de receptoras, envio de sêmen e criopreservação seminal.

Atualmente, a propriedade possuía 70 matrizes próprias e 90 receptoras de embrião. Durante a última temporada reprodutiva, que varia de agosto a março,

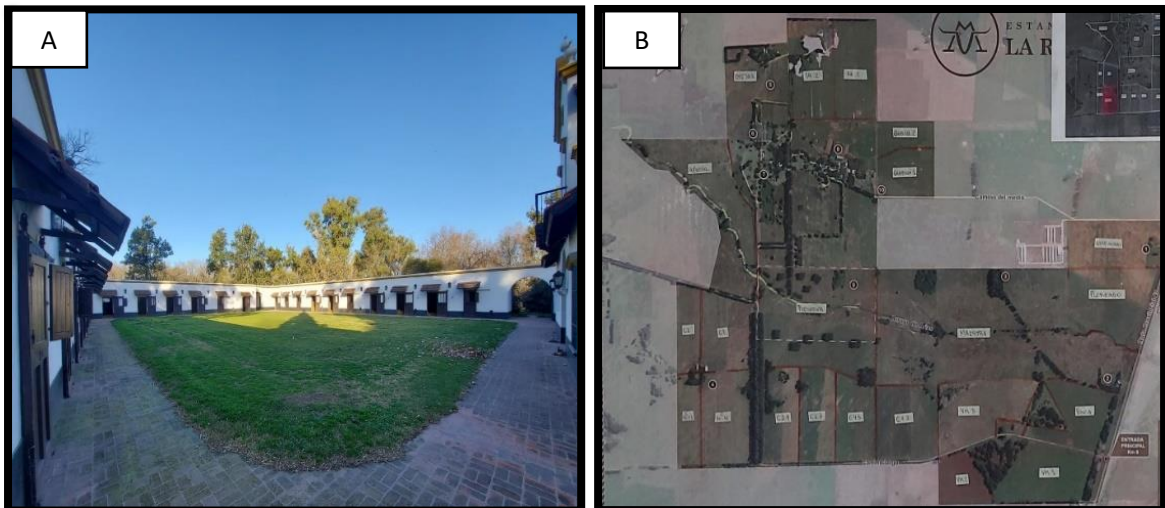
recebeu em torno de 80 doadoras de embrião, 220 éguas para estabelecimento de gestação e cerca de 15 garanhões para serviço.

A estância contava com um Médico Veterinário responsável por todo manejo reprodutivo, vinte e dois funcionários, sendo três responsáveis por vistoriar e manejar as éguas nos piquetes e auxiliar no manejo reprodutivo, e dois funcionários responsáveis pelos garanhões que estavam em serviço de coleta seminal, além de toda equipe responsável pelos outros setores do local.

2.1 ESTRUTURA DA ESTANCIA LA REPUBLICA

A estrutura contava com 70 cocheiras (Figura 2A) para alojamento de garanhões, éguas doadoras de embrião e animais em treinamento esportivo. Apresentava uma área total de 900 hectares divididos em 23 piquetes (Figura 2B), sendo 19 para equinos, 1 para ovinos, 1 para bovinos, 1 para criação de cervos e a sede. Essa última era composta por uma unidade administrativa, laboratório, banheiro, alojamentos, vestiários, depósito, pistas de treinamento, bretes, mangueiras, carregadores e troncos para que os animais sejam manejados e avaliados.

Figura 2- Cocheiras para alojamento de garanhões, éguas doadoras de embrião e animais em treinamento esportivo (A); Subdivisões da propriedade divididos em 23 piquetes (B).



Fonte: Vinícius O. Grazziotin (2022).

O laboratório de reprodução equina (figura 3) contava com uma autoclave, duas centrifugas, geladeira, 10 botijões de congelamento criogênico, farmácia, mesa

aquecedora, banho maria, dois microscópios, uma lupa, aparelho de ultrassom, quadro para anotações, máquina seladora, máquina de resfriamento de sêmen para congelamento, além de todo material necessário para coleta, manipulação e congelamento de sêmen, transferência e manipulação de embriões.

Figura 3- Laboratório de reprodução equina da Estancia La República.



Fonte: Vinícius O. Grazziotin (2022).

Ao lado do laboratório ficava o tronco de contenção, utilizado para palpação retal, exame ultrassonográfico e realização das biotécnicas de inseminação artificial, coleta e transferência de embriões. Além do tronco de contenção, possui mais duas mangueiras e bretes com troncos adaptados para o uso com equinos (Figura 4) onde eram realizadas as palpações transretais.

Figura 4- Mangueira, brete e tronco de contenção adaptados para a realização das biotecnologias empregadas com equinos.



Fonte: Vinícius O. Grazziotin (2022).

2.2 ROTINA DA CENTRAL

A rotina era baseada no manejo reprodutivo das éguas doadoras de embrião, receptoras e matrizes, onde estas eram acompanhadas de três a quatro vezes na semana, ou diariamente, por palpação e exame ultrassonográfico transretal. A finalidade deste manejo era definir a fase do ciclo estral em que se encontram, e assim inseminar com sêmen fresco, resfriado ou congelado; realizar o diagnóstico e acompanhamento de gestação; coletar, manipular e realizar a inovulação de embriões; coletar, manipular e realizar o envio de doses de sêmen refrigerado e criopreservado. Além do manejo reprodutivo, na propriedade, realizava-se alguns atendimentos clínicos conforme a demanda e atendimento reprodutivo em outras propriedades.

2.2.1 Manejo dos garanhões

No período acompanhado, a central contava com a presença de 16 garanhões renomados da raça Crioula, todos em atividade reprodutiva. Estes possuíam idade entre 4 e 28 anos, sendo alguns pertencentes à estância e outros de clientes, que permaneciam por um tempo determinado para a estação reprodutiva e preservação do material genético. Os garanhões eram mantidos confinados em cocheiras e em dias de sol ficavam na área externa durante o dia e estabulados a noite. O manejo nutricional era baseado em feno de alfafa três vezes ao dia e grão de aveia pela manhã e à noite.

Os garanhões possuíam elevada demanda por material genético, havendo grande pedido de doses inseminantes. Alguns eram coletados diariamente, outros conforme a necessidade. Além das doses utilizadas a fresco, eram realizadas coletas para criopreservação e envio refrigerado.

2.2.2 Manejo das éguas

As éguas eram divididas por categoria, sendo elas: éguas prenhas, doadoras de embrião, receptoras de embrião, éguas para estabelecimento de gestação e éguas com cria ao pé. Em alguns casos específicos eram mantidas em cocheira, o restante

das categorias ficavam em piquetes de campo nativo, com espaços sombreados, água canalizada em bebedouros e para complementar a nutrição, recebiam rolo de feno de aveia. As doadoras de embrião ficavam em piquetes próximos a sede (Figura 5) e recebiam concentrado uma vez ao dia. O restante das éguas eram mantidas nos piquetes, sendo realizando rodízio entre eles conforme a disponibilidade de pasto. Éguas prenhas eram vistoriadas todos os dias no período da manhã e quando alguma havia parido, esta era apartada e conduzida a um piquete próximo a sede.

Todas as éguas da Republica, e as que ingressavam, apresentavam adequado escore de condição corporal, este, de extrema importância para alcançar altos índices reprodutivos, tanto à monta natural quanto frente às biotecnologias existentes (BENDER et al., 2014).

Após inseminadas, era realizado o diagnóstico de gestação por ultrassonografia transretal aos 12 dias, se confirmado a prenhez, as éguas retornavam aos 30 dias para nova revisão e aos 45 dias retornavam novamente para a última revisão de prenhez. Confirmada a prenhez aos 45 dias, as éguas de clientes retornavam aos proprietários e as éguas da Republica formavam um novo lote de prenhas, sendo liberadas e soltas no campo.

Figura 5 - Piquete e lote de éguas doadoras de embrião



Fonte: Vinícius O. Grazziotin (2022).

3 ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

Durante o estágio na Estancia La Republica foi possível acompanhar e desenvolver diversas atividades relacionadas às biotecnologias empregadas na reprodução equina, sendo a mais frequente a confecção de palhetas de sêmen congelado e o controle folicular (Tabela 1).

Tabela 1 – atividades desenvolvidas durante o período de estágio na Estancia la Republica.

ATIVIDADES	Nº	%
Palhetas de sêmen congeladas	2932	62
Controle folicular	1012	22
Coleta de sêmen	205	4
Confecção de diluente de congelamento Botucricio	150	3
Aplicação de Gonadotrofina Coriônica Humana	105	2
Avaliação gestacional	83	2
Inseminação artificial (sêmen fresco)	65	1
Aplicação de prostaglandina	55	1
Avaliação de receptoras	43	1
Inseminação artificial (sêmen congelado)	26	1
Aplicação de Ocitocina	19	0,4
Fluxing	15	0,3
Inovulação de embrião	11	0,2
Swab uterino	3	0,1
TOTAL	4.724	100

3.1 COLHEITA E MANIPULAÇÃO DE SÊMEN

O manejo de coleta de sêmen dos garanhões na central era realizado diariamente, geralmente no turno da manhã. Para esta técnica, era utilizado uma vagina artificial (VA) modelo Botucatu® (Figura 6A). Na parte interna da mesma, entre a mucosa de látex e o tubo rígido, era preenchida com aproximadamente dois litros de água e completada com ar. A temperatura da água, de modo geral, no momento do preenchimento deveria estar entre 48°C a 55°C, para que no momento da coleta estivesse com a temperatura interna entre 40°C e 42°C (BRINSKO, 2000). Na parte

interna da VA, era colocado uma mucosa plástica descartável, onde o sêmen coletado ficava armazenado.

O garanhão era então exposto a um manequim natural, ou seja, uma fêmea em estro, ou estrogenizada, devidamente posicionada e contida para evitar acidentes. A utilização de éguas em cio tem o inconveniente de, em alguns casos, não possibilitarem estabilidade e segurança suficientes ao garanhão e ao veterinário pela movimentação de algumas delas e a possibilidade de acidentes com as peias (LOVE, 1992). Após rufiar a égua e expor o pênis, o mesmo era higienizado com água morna para retirar o esmegma. Ao montar na fêmea, o pênis do garanhão era desviado para a VA (Figura 6B), e após a ejaculação a válvula externa da VA era aberta, diminuindo a pressão interna e liberando o pênis do animal.

Figura 6 - Vagina artificial modelo Botucatu® (A); Coleta seminal de garanhão com uso de manequim natural e vagina artificial (B).



Fonte: Vinícius O. Grazziotin (2022).

Após a coleta, o sêmen era encaminhado ao laboratório, sendo filtrado, medido seu volume com o auxílio de um Becker, acrescentado o diluente Botu-Sêmen® na proporção de 1:1, e então esperava-se 5 minutos para que o diluente pudesse agir e estava pronto para a manipulação. Após, uma gota era retirada e colocada em lâmina para microscopia, previamente mantida em mesa aquecedora a 38°C, para avaliação de vigor, variando de 1 a 5, e motilidade, variando de 0 a 100%. A motilidade é considerada importante para estimativa da viabilidade espermática, e o vigor é avaliado concomitantemente à motilidade, representando a intensidade do

movimento espermático (QUEIROZ, 2003). Para obter a concentração espermática, uma amostra era diluída em água na proporção de 1:20, ou seja, 1 porção de sêmen para 20 de água, e 20 µl eram depositados em cada lado da câmara de Neubauer. Após 5 minutos, com os espermatozoides já decantados, cinco quadrados de cada lado da câmara eram contados no microscópio, o total era somado e dividido por dois, sendo que a diferença entre os lados não poderia ser maior que 10%, assim obtendo a concentração espermática por ml. Após estes processos, o sêmen estava pronto para ser utilizado e/ou manipulado.

3.1.1 Criopreservação de sêmen

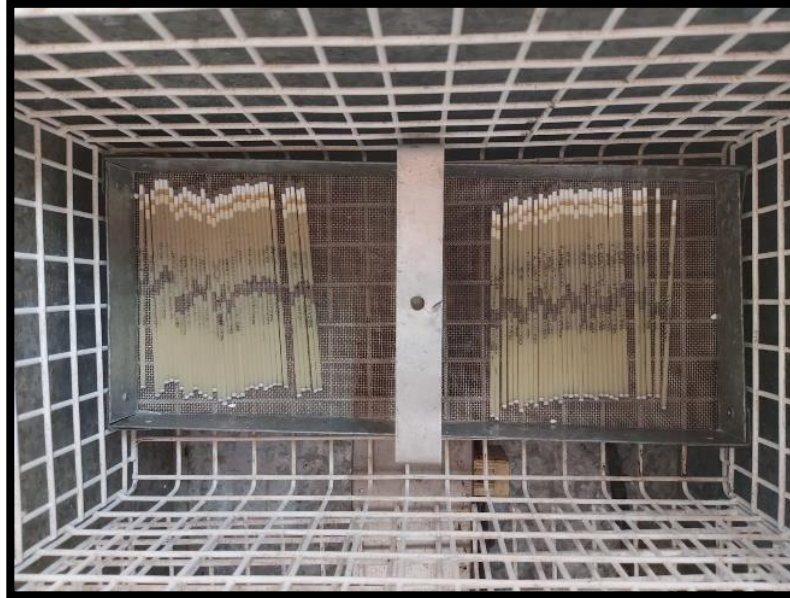
A criopreservação do sêmen equino se trata de um importante instrumento para melhoramento genético da espécie, pela maximização do uso de bons reprodutores, porém, os índices de fertilidade obtidos com equinos ainda são muito baixos (FÜRST, R. et al, 2005). Durante o período de estágio foi possível acompanhar a criopreservação de 2932 palhetas, estas eram congeladas conforme demanda dos proprietários.

Após obter a concentração espermática, motilidade e vigor, o sêmen já diluído era depositado em tubos falcon de 15 ou 50mL, conforme o volume do ejaculado, e centrifugados a 600 g por 10 minutos. A centrifugação tem a finalidade de remoção de grande parte do plasma seminal, concentrando o ejaculado, para posterior adição do diluente de congelamento (ASHWOODSMITH, 1987). Após a centrifugação, o sobrenadante era desprezado e o precipitado de espermatozoides ressuspendido com o diluente Botucrio® já pré-aquecido a 37°C.

As palhetas de 0,5mL eram envazadas e lacradas manualmente com esferas de aço. O próximo procedimento realizado era a refrigeração para estabilização da membrana plasmática. As palhetas eram então dispostas horizontalmente em uma estante e colocadas em uma máquina resfriadora programável (Figura 7), estabilizada a 5°C por 20 minutos e em seguida, conforme descrito por KNEIßL (1993), eram dispostas em vapor de nitrogênio líquido, em uma estante posicionada a 3 cm acima do nível do nitrogênio, por 20 minutos, e mergulhadas imediatamente no nitrogênio líquido a -196°C. Neste sistema, a taxa média de congelamento do sêmen é de -70°C

por minuto, e é o protocolo mais difundido em congelamento de sêmen equino (KNEIBL 1993).

Figura 7 - Palhetas de sêmen na máquina resfriadora estabilizada a 5°C.



Fonte: Vinícius O. Grazziotin (2022).

Uma das questões importantes relacionadas com a eficiência das técnicas de criopreservação é a velocidade de redução da temperatura durante o congelamento. O tipo de curva utilizada no congelamento tem influência direta no grau de lesões celulares, devido a processos de desidratação e formação de cristais de gelo intracelulares (MOORE, 2006)

A refrigeração é uma etapa que quando efetuada de modo inadequado, causa choque térmico que induz a ocorrência de danos parcialmente irreversíveis ao espermatozoide, caracterizados por padrões anormais de movimento (circular ou retrógrado), perda rápida da motilidade, lesões no acrossoma, danos à membrana plasmática, redução da atividade metabólica e perda dos componentes intracelulares. Muitos desses defeitos são decorrentes de alterações da membrana plasmática à medida que os espermatozoides evoluem nas transições de fase, do estado líquido cristalino para o estado de gel e durante a refrigeração (GRAHAM, 1996)

Após a etapa de congelamento, uma palheta era descongelada em banho-maria a 37°C por 30 segundos e analisada quanto ao vigor, motilidade e concentração. Estima-se que somente 30-40% dos garanhões produzam sêmen de boa qualidade

para suportar o processo de congelamento, havendo também variações entre raças (ZIMMERMANN, 2007). Os critérios estabelecidos para o uso de sêmen descongelado na inseminação artificial têm sido preconizados como sendo no mínimo 30% de motilidade total logo depois de finalizado o processo de descongelamento (CRISTANELLI et al., 1984;). No Brasil, o CBRA (1998) estabelece como parâmetro para condenação do sêmen congelado valores inferiores a 30% de motilidade total, vigor menor que três e acima de 40% de espermatozoides com defeitos. Dos garanhões mantidos na República, haviam variações entre eles, de 40% a 80% de motilidade após o descongelamento.

3.2 CONTROLE DO CICLO ESTRAL

O esclarecimento dos mecanismos de desenvolvimento folicular, assim como seleção do folículo dominante, é necessário para a manipulação do ciclo estral e, conseqüentemente, a aplicação de biotecnologias reprodutivas. Na República as éguas eram examinadas por exame transretal de ultrassonografia nas segundas, quartas e sextas-feiras, e algumas eventualmente conforme necessidade, para identificar em qual fase do ciclo estral a égua se encontrava. No exame era possível acompanhar a dinâmica folicular, observar ovários polifoliculares, folículo pré-ovulatório, corpo lúteo, prenhes, ovulação, edema uterino, cérvix e possíveis desordens e patologias do trato reprodutivo da égua, sendo tudo anotado em planilhas para controle.

A dinâmica folicular é o processo contínuo de crescimento e regressão folicular que ocorre nos ovários das éguas, o qual é diretamente influenciada por fatores extrínsecos como nutrição, temperatura, estresse e fotoperíodo, sendo este último o divisor do ciclo reprodutivo em duas estações, a anovulatória e ovulatória. A estação anovulatória é composta de três períodos, que compreendem a transição do outono, o anestro profundo e a transição da primavera, os quais são marcados por pequena concentração sérica de hormônio luteinizante (LH), embora a secreção de hormônio folículo estimulante (FSH) não sofra alterações substanciais. Já a estação ovulatória é marcada pelo processo de seleção folicular, o qual ocorre no fim da fase de crescimento comum em que o folículo dominante cresce em uma taxa contínua, e

os folículos subordinados crescem até o momento da seleção e então regredem (CHINAIT et al.,2008).

Na égua, conforme descrito por Cardoso (2010) o ciclo estral é dividido em estro (5 – 7 dias), que é a fase folicular, e diestro (14 – 16 dias), que é a fase luteolítica. O estro é caracterizado pela presença de folículo dominante, edema uterino, relaxamento de cérvix, edema de vulva e comportamento de receptividade sexual, sinais esses causados pelo aumento de estrógeno circulante que é produzido pelas células da granulosa do folículo dominante, preparando o trato genital da égua para receber e transportar os espermatozóides até a oviduto, onde irá ocorrer a fecundação. O diestro é caracterizado pela formação e presença do corpo lúteo (CL), formado após a ovulação, que tem a função de produzir progesterona (P4). Quando esta se encontra em grandes concentrações no organismo, a égua demonstra relutância ao garanhão, fechamento da cérvix e preparação do útero para receber o embrião. Esta fase chega ao fim quando não ocorre a fecundação do oócito e o endométrio, percebendo a ausência da fixação do embrião, inicia a liberação de prostaglandina (PGF), a qual causa a luteólise do CL para que seja iniciado um novo ciclo estral (COSTA, 2017).

3.2.1 Exame ultrassonográfico e acompanhamento do ciclo estral

Na República, todas as éguas eram examinadas e monitoradas por exame de palpação retal e ultrassonografia transretal em modo-B, que se trata de um exame não-invasivo ou minimamente invasivo, não apresenta efeitos nocivos, apresenta resultados em tempo real, sendo um exame relativamente simples de ser realizado (COSTA, 2017).

Ao realizar o exame, o órgão reprodutivo da égua era classificado em grau de fechamento da cérvix (variando de 1 a 3, sendo 3 o mais aberto), relaxamento do útero (variando de 0 a 3, sendo o 3 mais tenso), edema uterino (variando de 0 a 4, sendo o 4 patológico e 0 ausente), ovário esquerdo e direito (tamanho de folículo, flutuação, ativo, poli-folicular) e observações (tratamento, inseminação, uso de hormônios, líquido uterino, indução), tudo era controlado e anotado em planilhas como no exemplo da Figura 8.

Figura 8 - Exemplo de planilha utilizada para controle do ciclo estral na Estancia la Republica.

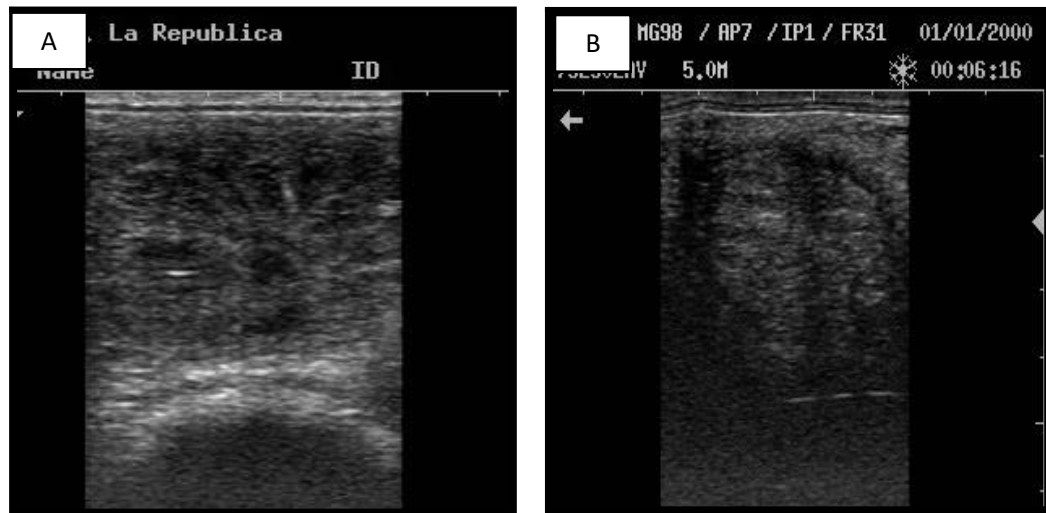
	A	B	C	P	Q	R	S	T	U	V	W	X	Y	Z	AA	AB	AC	AD	AE	AF	AG	AH
1																						
2	Yegua	RP	PAD	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
4	Lonqueo Minera	127	PAT.C	40/ PG F	38/ 28. E		33. 5/3 4.5		31/ 27		29/ 26		A								A	
5	Malarriada Juguetona	144	NEGO		29		27				34	IA	IA	OV								
6		219	JURA		PG F				27		34 5	IA	34 5	IA	37	IA		CL				
7	Marchera	300	CUR		39 5	42	IA	CL												?		
8		476	JURA	33/ PG F	33. 5		31		33/ 35		34	IA	37	IA	CL							
9		643	CUR		41	42	IA	CL												?		
10		659	JURA		41/ PG F		42 5	IA			36 5	IA	45	IA	45	IA		CL				
11	Golilla Niñera	1331	NEGO		PG F				34		33 5/3	IA	CL /C									

Fonte: Arquivo Estancia La Republica (2022).

3.2.2 Útero

A ecotextura uterina é um dos sinais utilizados e mais facilmente visualizado para avaliação do ciclo reprodutivo. Durante o estro o útero sofre ação do estrógeno (E2) produzido pelos folículos dominantes que estão se desenvolvendo nos ovários (MOREL, 2020). Neste período é possível observar no US um aumento de edema nas pregas uterina, as quais, aumentam progressivamente conforme se aproxima a ovulação (Figura 9A). Porém, quando se atinge o período de 48 a 24 horas que antecedem a ovulação, este edema tem uma redução, podendo atingir escores de 0 ou 1 no momento da ovulação. Após ovulação, o edema não deve persistir por mais de 36 horas, em uma situação fisiológica (SAMPER, 2008). No diestro, em virtude dos altos níveis de P4 produzidos pelo CL, o útero se apresenta em formado arredondado a ovalado e homogêneo (SAMPER, 2008) (Figura 9B).

Figura 9 - Imagem ultrassonográfica de útero em estro (A) e de útero em diestro (B).



Fonte: Arquivo Estancia La Republica (2022).

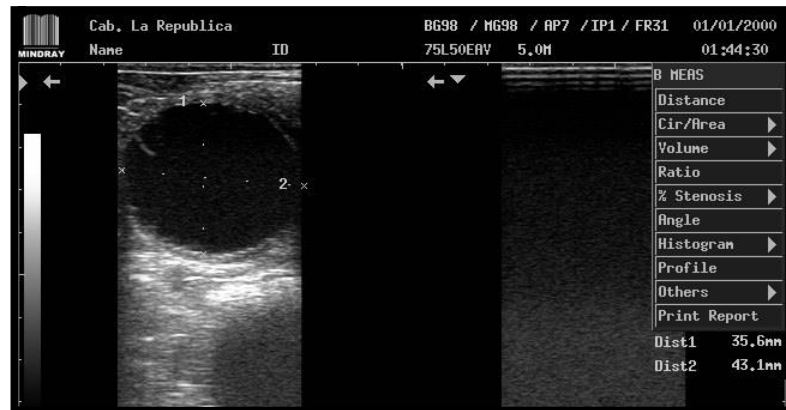
3.2.3 Ovários e folículos

Os ovários são localizados utilizando os cornos uterinos como guia e são sentidos pela palpação ao final de cada corno. Com o US posicionado sobre eles, é possível visualizar os folículos antrais em desenvolvimento.

O acompanhamento do diâmetro folicular é um dos parâmetros mais utilizados para estimar o momento da ovulação. A grande maioria das éguas ovula folículos com tamanho médio de 40-45 mm, porém podem ocorrer variações de 30 – 70 mm de acordo com a raça do animal. Após a emergência da onda folicular, o folículo dominante cresce em torno de 2 – 3 mm por dia (SAMPER, 2008). No exame ultrassonográfico a parede do folículo apresenta uma cápsula, sendo ela composta pela teca externa, interna, membrana basal e pela camada de células da granulosa. Esta parede sofre alterações de conformação no decorrer do desenvolvimento folicular, e esses sinais são utilizados para identificar a proximidade da ovulação (SAMPER, 2008).

O diâmetro folicular é uma informação vital para saber o momento ideal de se utilizar indutores de ovulação no manejo reprodutivo das éguas. Na Republica as éguas eram induzidas a ovulação a partir do momento em que um folículo dominante atingisse o diâmetro de 35mm (Figura 10), pois esse só se torna responsivo aos indutores a partir deste tamanho. Éguas induzidas a ovulação tendem a ovular com diâmetros menores quando comparadas aos folículos de éguas sem o uso de indutores (SAMPER, 2008).

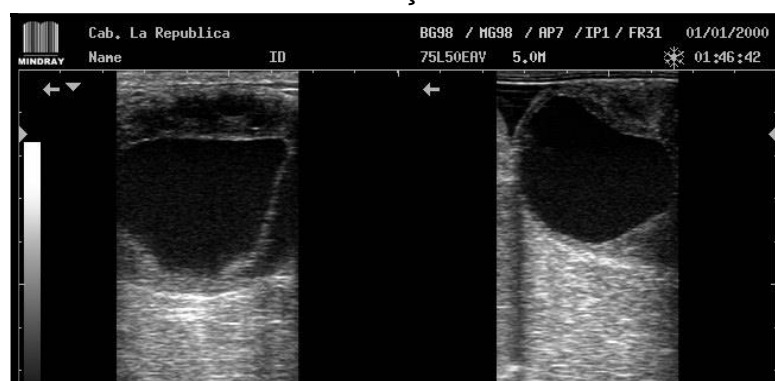
Figura 10 - Imagem ultrassonográfica de folículo dominante com diâmetro maior que 35mm atingido.



Fonte: Arquivo Estancia La Republica (2022).

A partir das 24 horas que antecedem a ovulação, a maioria dos folículos sofrem alteração na sua conformação, passando de esférico para alongado ou irregular (Figura 11). Este processo pode ocorrer devido ao rompimento do estroma ovariano e está associado a migração do folículo para a fossa de ovulação e liberação do oócito (ULIANI, 2012). Sendo assim, no exame ultrassonográfico é possível estimar a eminência da ovulação pela combinação de espessura e ecogênicidade da camada de células da granulosa, diminuição da turgidez com perda do contorno esférico do folículo, destacamento de segmentos da granulosa e manchas ecogênicas no antro, associado à diminuição do edema uterino (CARNEVALE et al., 1988).

Figura 11 – Imagem ultrassonográfica de folículo pré-ovulatório, 24 horas antes da ovulação.

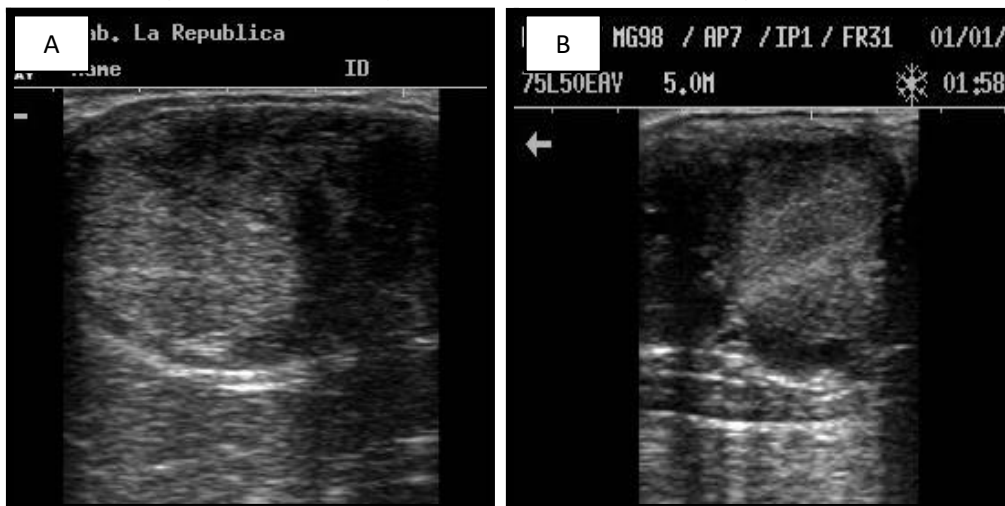


Fonte: Arquivo Estancia La Republica (2022).

3.2.4 Corpo lúteo

Após a ovulação o antro folicular é preenchido por sangue, formando o corpo hemorrágico (Figura 12A). Em 5 dias após a ovulação o corpo lúteo (CL) estará totalmente formado e produzindo progesterona (P4). No exame ultrassonográfico o CL apresenta-se geralmente com forma arredondada (Figura 12B). Sua ecogenicidade é variável em tons de cinza e logo após a ovulação sua ecogenicidade aumenta rapidamente, permanecendo por 24 a 48 horas. A partir desse momento a sua ecogenicidade tende a decair gradativamente, até a luteólise (COSTA, 2017).

Figura 12 – Imagem ultrassonográfica de corpo hemorrágico (A) e corpo lúteo (B).



Fonte: Arquivo Estancia La Republica (2022).

3.3 MANIPULAÇÃO DO CICLO ESTRAL

Diferentes hormônios podem ser utilizados na reprodução equina para diferentes fins. Na Republica, no período estágio curricular, os hormônios mais utilizados foram indutores de ovulação, prostaglandina e ocitocina.

3.3.1 Prostaglandina

Dentre as prostaglandinas, a prostaglandina F2 α (PGF2 α) e seus análogos são os hormônios mais utilizados na reprodução equina. Na República o Cloprostenol Sódico (análogo da PGF2 α) era aplicado em éguas que apresentavam CL funcional.

Sua aplicação era feita por via intramuscular (IM) por apresentar menos efeitos colaterais e maior praticidade, mas pode ser aplicada por via intravenosa (IV), intrauterina (IU) ou intraluteal. A PGF2 α na reprodução equina pode ser utilizada para finalizar uma fase luteal persistente ou anestro lactacional, controlar o tempo de ovulação, induzir a secreção de gonadotrofinas e sincronizar estro. (FARIA; GRADELA, 2010). Para que seja eficaz na lise do CL, é necessário que este esteja sensível a prostaglandina, ou seja, a partir do 6^o dia após ovulação. Em média, após a aplicação, as éguas regressam ao estro em 5 a 7 dias (SAMPER, 2008).

3.3.2 Ocitocina

A ocitocina é um peptídeo sintetizado no hipotálamo e armazenamento na hipófise posterior, sendo responsável pela contração da musculatura lisa do útero e oviduto, e das células mioepiteliais da glândula mamária (FARIA; GRADELA, 2010). A ocitocina na República era aplicada em éguas que apresentavam acúmulo de líquido intrauterino patológico no exame de US. Em casos suspeitos de endometrites, em conjunto era realizada a coleta de material com uso de *swab* para análise, onde era feito citologia e antibiograma para aplicar o tratamento mais adequado.

A ocitocina é capaz de aumentar os índices reprodutivos, pois auxilia na contração miometral e conseqüentemente na limpeza uterina, porém, sua meia vida no organismo é de 6 à 8 minutos e as contrações promovidas por ela duram cerca de 30 minutos, sendo necessário aplicações recorrentes para uma melhor limpeza uterina e eficácia do tratamento (FARIA; GRADELA, 2010).

3.3.3 Indutores de ovulação

Uma técnica empregada para melhorar a eficiência reprodutiva, reduzindo o período de estro e controlando o momento da ovulação é a utilização de indutores da ovulação. O objetivo de induzir a ovulação é aperfeiçoar e sincronizar a ovulação com o momento mais próximo da inseminação ou cobertura (FRAZÃO, 2018). Os indutores mais comuns e que eram utilizados na República são a gonadotrofina coriônica humana (hCG) e a histrelina, um análogo do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH).

3.3.4 Gonadotrofina coriônica humana (hCG)

Devido à ação semelhante ao LH, a hCG é um dos indutores mais utilizados para estimular a ovulação em éguas, reduzindo a fase de estro. Este hormônio é um peptídeo produzido pela placenta humana, apto a estimular a função luteal e promover a manutenção da gestação. O hCG era aplicado via endovenosa na dose de 1000UI (unidades internacionais) em éguas que apresentavam um folículo dominante de no mínimo 35mm de diâmetro, pois tem a capacidade de induzir a ovulação em 36 a 48 horas, em cerca de 80% dos animais (FRAZÃO, 2018.). As éguas induzidas com hCG eram inseminadas 24 horas após aplicação quando utilizado sêmen fresco, e para sêmen congelado, eram monitoradas e inseminadas no momento em que se observava a ovulação.

Os fatores observados para definir o momento da administração do hCG eram diâmetro do folículo dominante maior ou igual a 35mm, edema uterino, tônus uterino e cervical.

Apesar de ser um ótimo indutor de ovulação, o hCG pode ser ineficiente se for administrado diversas vezes na mesma estação. Segundo Roser et al. (1979), após duas a cinco aplicações em equinos, ocorre formação de anticorpos, pois se trata de uma proteína exógena. Durante o período de estágio, houve um grande número de éguas que não respondiam a aplicação de hCG, diminuindo o percentual de ovulações, geralmente eram éguas com idade avançada (mais de 15 anos). Autores como McCue et al. (2004) também ressaltam uma diminuição no percentual de ovulação quando doses repetidas de hCG são aplicadas na mesma estação de monta. Para essas éguas não responsivas, o hCG era substituído pela histrelina, um análogo do GnRH.

3.3.5 Hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH)

O GnRH é um decapeptídeo sintetizado e armazenado no hipotálamo basal médio. Este indutor determina a ligação entre o sistema humoral e os sistemas nervoso e endócrino, de forma que, quando ocorre estimulação nervosa, pulsos de

GnRH são verificados no sistema porta-hipotálamo-hipofisário, induzindo a liberação de LH e FSH ao atuar na hipófise anterior (adenohipófise) (HAFEZ; HAFEZ, 2004).

O GnRH pode ser utilizado para estimular o crescimento de folículos ao induzir a secreção de FSH e também como alternativa para substituição do hCG e indução da ovulação de folículos pré-ovulatórios, sendo interessante como uma opção não antigênica (MCCUE et al., 2004). Análogos de GnRH são mais potentes e apresentam meia vida mais longa que o GnRH endógeno, sendo considerados mais eficientes para sincronizar e induzir a ovulação em equinos, dentre eles a histrelina era opção disponível para o uso no período de estágio.

A histrelina é um análogo sintético do hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH), sua aplicação era por via IM com uma aplicação de dose única de 1 ml (250 µg) quando o folículo apresentava tamanho maior que 35 mm. A ovulação ocorre dentro de 40 a 46 horas após a administração (MCCUE et al.,2004)

3.4 INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL (IA)

Realizado o exame ultrassonográfico, éguas que apresentavam características de estro, como folículo maior ou igual a 35mm e grau de edema uterino, eram apartadas e induzidas com uso de hCG ou histrelina, conforme o histórico do animal. No dia seguinte, éguas que seriam inseminadas com sêmen fresco, eram inseminadas. Éguas de escolha por sêmen congelado induzidas à ovulação eram observadas a cada 6 horas no período pré-ovulatório, pois nessa técnica a égua deve ser inseminada no máximo até 6 horas após a ovulação, pelo fato de o sêmen congelado ter menor viabilidade no oviduto da fêmea (HOFFMANN et al., 2011).

No momento da inseminação as éguas eram preparadas, sendo colocado uma faixa de proteção na cola para evitar contaminação por pelos, feita lavagem da região perineal com água e sabão neutro e enxague com água, e por fim secagem com papel toalha, pois a presença de água ou sabão pode ter efeito espermicida, prejudicando a técnica (MCKINNON et al.,2011).

Após a égua ser lavada, uma luva de palpação era virada ao avesso para que a emenda não provocasse lesão na vagina e por não estar em contato com o ambiente externo. A pipeta de inseminação estéril era pega com a mão enluvada e coberta pelos dedos na parte em que seria introduzida na égua, e a mão e o braço eram lubrificados

com solução de ringer lactato para facilitar a introdução na vagina. A mão era introduzida e com auxílio dos dedos, localizava-se a cérvix, que por estar em estro, possuía dilatação, permitindo a passagem do dedo e da pipeta. Com uso de sêmen fresco, após passar a pipeta pela cérvix, o sêmen era depositado lentamente no corpo do útero com o auxílio de uma seringa estéril (figura 13A).

Para éguas inseminadas com sêmen congelado, a pipeta deve ser mais maleável, com uma ponteira específica para acoplar a palheta e o aplicador em seu interior, esta, era então desviada para o corno uterino ipsilateral ao ovário que apresentava o folículo pré-ovulatório e o sêmen era depositado (Figura 13B). Todas as éguas inseminadas voltavam no dia seguinte para serem examinadas, avaliadas quanto ao edema uterino e à ocorrência de ovulação nos casos de sêmen fresco.

Figura 13 – IA com sêmen fresco (A) e IA com sêmen congelado (B).



Fonte: Vinícius O. Grazziotin (2022).

3.5 TRANSFERENCIA DE EMBRIÃO (TE)

A transferência de embrião (TE) é uma biotécnica reprodutiva que consiste na retirada de um embrião do útero de uma égua doadora e posterior transferência para o útero de uma égua receptora, a qual será responsável pelo desenvolvimento da gestação e amamentação do potro.

3.5.1 Manejo da doadora

A seleção de uma égua doadora vem por meio de diversos fatores, tais como seu histórico reprodutivo, raça, condição uterina, conformação vulvar, valor do potro desejado e da égua. Boas candidatas ao processo de TE são éguas idosas, devido a patologias decorrentes da idade, falhas na maturação oocitária e processos inflamatórios crônicos, que impedem a manutenção da gestação (ALVARENGA, 2006). As éguas doadoras eram examinadas separadamente do restante, a fim de acompanhar o ciclo estral e constatar o melhor momento para a IA com sêmen fresco ou congelado.

3.5.2 Seleção da receptora

Uma das partes do sucesso na TE é a escolha da receptora correta, que inicia na sua compra até seu controle folicular. Na República, era preconizado o uso de éguas jovens, com aparelho reprodutivo sem alterações, de boa conformação vulvar, bom escore de condição corporal, sem alterações musculo esqueléticas, boa saúde dentária, qualidade de úbere, cíclicas e de tamanho semelhante ao da doadora, pois pesquisas sugerem que receptoras menores que as doadoras possam gerar uma limitação no crescimento fetal, gerando um potro de estatura inferior ao potencial da doadora (MCCUE et al., 2004).

De acordo com LIRA et al. (2009) na República as receptoras também eram examinadas diariamente quando em cio, e pelo menos duas receptoras estavam disponíveis para cada doadora, permitindo que no dia da inovulação fosse escolhida a que apresentava as melhores condições reprodutivas para receber o embrião, sendo aceitáveis éguas com corpo lúteo bem definido, tônus uterino e cervical variando de bom a excelente e nenhuma outra alteração no útero; e marginalmente aceitáveis, quando a imagem do corpo lúteo era pobre ou com pouca tonicidade uterina e cervical.

3.5.3 Sincronização

A interação entre embrião e ambiente uterino deve ser de completa sintonia, fato essencial para o estabelecimento da gestação. A P4 tem o poder de alterar o

ambiente uterino, onde um embrião pode encontrar um local desfavorável, em um útero não sincronizado, que não corresponde à fase na qual ele se encontra. Essa falta de sincronia pode também impedir o embrião de transmitir o sinal para o reconhecimento materno da gestação e, com isso, não suprimir a resposta luteolítica cíclica da égua (SILVA, 2014).

Normalmente a sincronização entre doadoras e receptoras é onde, receptoras encontram-se entre o quarto e oitavo dia de ovulação, ou até mesmo no nono dia, e a doadora no sétimo ou oitavo dia de ovulação, ou seja, a coleta de embrião no dia 7 ou 8 após a ovulação e a receptora então poderia ovular um dia antes até 3 dias depois, sendo considerada apta a receber embriões neste intervalo. O ponto que tem mais importância e que é fundamental no momento da escolha da receptora para a TE, é o momento pós-ovulatório em que a receptora se encontra (SILVA, 2014).

3.5.4 Coleta e manipulação de embriões

O embrião em desenvolvimento na égua doadora migra do oviduto para o útero entre o 5,5 ao 6 dia após ocorrer a ovulação, encontrando-se na fase de mórula compactada, pronto para o desenvolvimento inicial de blastocisto. Quando entra no lúmen uterino, seu tamanho aumenta atingindo o estado de blastocisto expandido (SILVA, 2014).

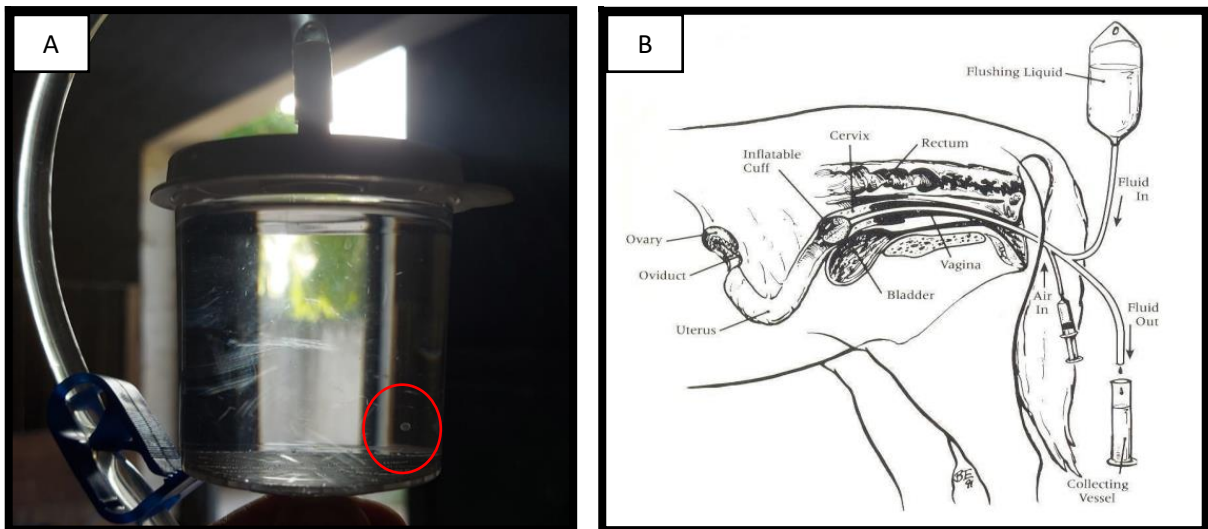
A colheita de embrião é realizada somente após o 6º dia pós ovulação, normalmente são coletados no 7º ou 8º dias após a ovulação, e na República, geralmente eram coletos no 7,5 a 8º dia, pois já podiam ser visualizados a olho nu e é onde são alcançadas as melhores taxas de prenhez. Já em éguas idosas, os embriões não devem ser coletados no 7º dia, pois o trajeto do embrião ao oviduto é mais demorado, no entanto, a coleta pode ser feita até o 9º dia pós-ovulação, pelo fato de que aumentam os riscos de dano embrionário durante a coleta e transferência, devido ao aumento de tamanho do embrião e da zona pelúcida (SQUIRES, 1999).

Para iniciar o procedimento a égua era colocada em um tronco de contenção e lavada da mesma forma de quando era inseminada. Para iniciar a lavagem uterina (flushing) é necessário que todo o material que venha a entrar em contato com o aparelho reprodutor da doadora esteja esterilizado. Então o Médico Veterinário, com uma luva de palpação esterilizada, introduz o cateter de silicone com cerca de 80 cm

de comprimento, um diâmetro de cerca de 8 mm e com um balão de ar próximo da extremidade, cuidadosamente no interior do útero da égua, através do canal cervical. Em seguida o balão é insuflado com aproximadamente 50 – 75 ml de ar e tracionado caudalmente para que fique em contato com a óstio cranial cervical (SILVA, 2014).

Colocado a sonda, era injetado, por gravidade, de um a dois litros de Ringer Lactato (podendo variar conforme a égua) aquecidos a 30° – 37°. Após o preenchimento do útero, o mesmo era massageado por palpação retal e o fluido era drenado através de uma sonda e passado por um filtro de 0,75 µm sendo esse filtro encontrado dentro de um copo coletor, que permite a passagem do líquido e que o embrião fique retido (figura 14A). Este processo era realizado no máximo três vezes, se não houvesse a visualização do embrião no primeiro ou segundo lavado.

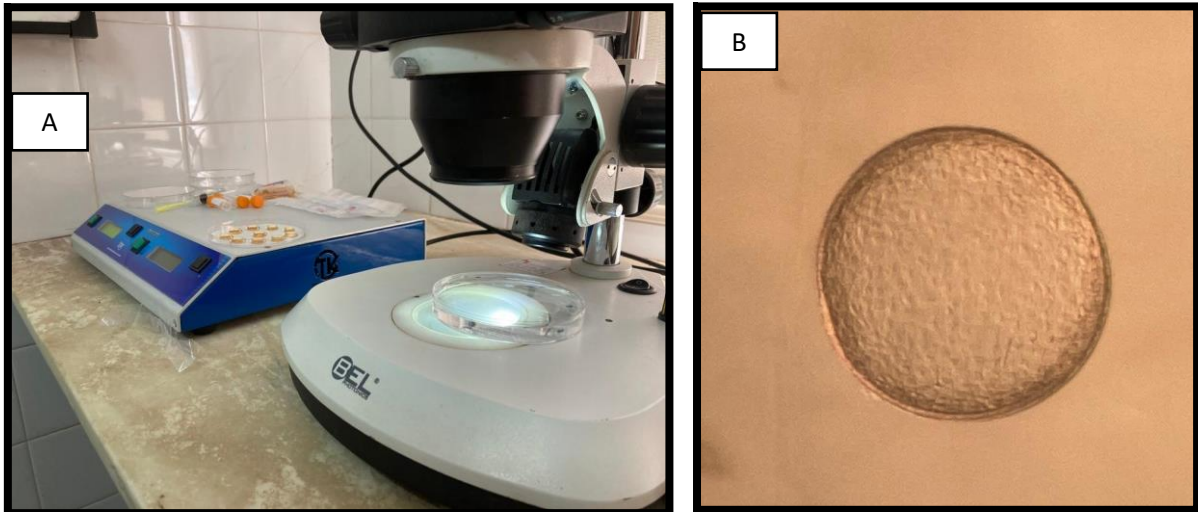
Figura 14 – Embrião visualizado a olho nu no copo coletor (A). Figura esquemática do procedimento de recuperação embrionária (B).



Fonte: (A) Vinicius O. Grazziotin (2022); (B) <http://jumpoffpor.com/wp/> (2022)

Se o embrião não fosse visualizado a olho nu, o filtro deveria ser esvaziado em uma Placa de Petri com marcações e enxaguado com o meio utilizado. O fluido era examinado em busca do embrião com o auxílio de uma lupa (Figura 15A). Identificado o embrião (Figura 15B), o mesmo era manipulado com uma palheta de sêmen estéril, aspirado e removido para outra placa contendo meio de manutenção próprio para embriões. O embrião nesta nova placa contendo 10 gotas do meio, era higienizado gota por gota, a fim de evitar contaminação e diminuir a inflamação uterina na receptora pós inováção.

Figura 15 – Lupa e Placa de Petri prontas para a manipulação do embrião (A).
Embrião identificado com auxílio da lupa (B).



Fonte: Vinícius O. Grazziotin (2022)

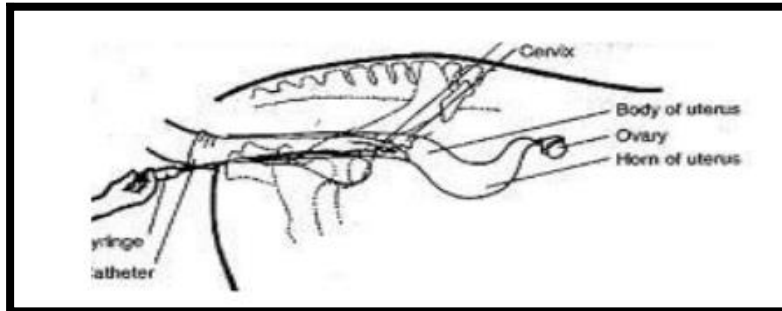
Por fim, o embrião era aspirado e envazado em palheta plástica de 0,25 ou 0,5 ml em porções alternadas de solução de manutenção e ar (meio + ar + meio com embrião + ar + meio), o que reduz os movimentos do embrião dentro da palheta e assegura a perfeita expulsão do embrião para dentro do útero da receptora (SILVA, 2003).

3.5.5 Inovulação

A inovulação é o ato de depositar o embrião no corpo do útero utilizando uma pipeta de inseminação que entra pela vagina e atravessa a cérvix (transcervical) (LIRA et al.,2009). Existem alguns tipos de aplicadores descritos, porém a pipeta de inseminação artificial era a mais utilizada para as inovulações na República.

Na transferência transcervical, todos os métodos de limpeza da doadora são adotados na receptora. Para não levar contaminação para o interior do útero, a colocação de uma camisa de plástico estéril na pipeta é essencial, pipeta esta que será introduzida até o óstio externo da cérvix, onde a camisa é puxada caudalmente, avançando com a pipeta através da porção cranial da cérvix até o lúmen uterino e com o mínimo de dilatação do canal cervical (Figura 16), evitando traumatiza-lo bem como ao endométrio (SILVA, 2014). Chegando com a ponta da pipeta ao corpo do útero, o embrião era expelido.

Figura 16 – Figura esquemática mostrando a passagem pela cérvix no momento da inovulação.



Fonte: <http://jumpoffpor.com/wp/> (2022)

3.6 DIAGNÓSTICO DE GESTAÇÃO COM USO DA ULTRASSONOGRAFIA TRANSRETAL

Para a confirmação da gestação em equinos o uso da ultrassonografia transretal é uma prática padrão. Nos casos de embrião, o diagnóstico de gestação era realizado 3 dias após sua inovulação, ou seja, no 12º dia (Figura 17^a). E para gestações convencionais, era realizado entre o 12º e 15º pós ovulação. Quando o embrião não era visualizado neste período, a égua recebia 263 µg de Cloprostenol Sódico IM, para quebra do CL para retorno antecipado do estro. Aos 30 dias (Figura 17B) de gestação as éguas retornavam para revisão e os 45 dias (Figura 17C) era realizado o último diagnóstico e revisão de gestação e então a égua era liberada aos proprietários, ou caso fosse da própria estância, formava um novo lote de éguas prenhas.

Figura 17 – Imagem ultrassonográfica de embrião com 12 dias (A), 30 dias (B) e 45 dias (C).



Fonte: Arquivo Estancia La Republica (2022).

4 RELATO DE CASO: ENDOMETRITE EQUINA

4.1 INTRODUÇÃO

Uma das afecções do sistema reprodutivo dos equinos consideradas mais importantes é a endometrite, sendo considerada uma das principais causas de infertilidade e subfertilidade em éguas. A endometrite é um estado inflamatório agudo ou crônico do endométrio, que pode estar associada a uma infecção bacteriana ou não (CAMOZZATO, 2010). Fatores intrínsecos fazem com que esta espécie seja predisposta a infecções uterinas (JÚNIOR, 2016) podendo ser classificada de acordo com a fisiopatologia ou etiologia, sendo elas, aguda, crônica, ativa, persistente subclínica, pós-cobertura, pós-parto, bacteriana, fúngica, viral, entre outras (PEREIRA., et al 2014).

O útero da égua é mantido livre de contaminantes através de mecanismos físicos, imunológicos e de um sistema linfático funcional (MALSCHITZKY., et al 2007). Éguas normais eliminam as bactérias e o restos de inflamação rapidamente, algumas, no entanto, não são capazes (JUNIOR, 2016). Alterações na conformação vulvar, útero penduloso, falhas de contratilidade uterina, resposta imune reduzida e outros mecanismos de defesa prejudicados são fatores predisponentes a endometrite, além da idade avançada (ÁVILA, 2020).

Altas concentrações de fluido intrauterino estão ligadas a subfertilidade e as falhas reprodutivas, devido ao ambiente uterino estar incompatível com a sobrevivência do embrião, ou pela liberação constante e alta de prostaglandina-F2a, que leva a lise do corpo lúteo levando a falta de progesterona, necessária para a manutenção da gestação (LEBLANC., et al 2010). De maneira geral éguas susceptíveis apresentam características em comum como idade avançada, histórico de falha reprodutiva em várias temporadas, histórico de episódios anteriores de endometrite e de falhas gestacionais (TROEDSSON., et al 1997).

O diagnóstico para endometrite pode ser feito por meio de exame ginecológico completo que inclui histórico, palpação retal e vaginoscopia, pode ainda ser utilizado como método complementar a citologia endometrial, cultura bacteriológica, biopsia uterina e ultrassonografia, esta última realizada durante a rotina da semana nas cabanhas/haras em época reprodutiva (HAFEZ, et. al., 2004)

Assim o objetivo deste relato foi descrever um caso de endometrite em uma égua da raça crioula de uma central reprodutiva;

4.2 RELATO DE CASO

Na Central de Reprodução Equina e Cabanha Estancia La República, durante o exame reprodutivo de rotina, uma égua, crioula, doadora de embrião, 12 anos, com aproximadamente 450kg, com histórico de infertilidade no lavado de embrião, foi encaminhada para exame ultrassonográfico transretal reprodutivo. Após limpeza do reto, a probe foi introduzida e iniciado o exame, apresentando-se em estro devido presença de folículo dominante no ovário esquerdo e grau de edema uterino 4, sendo identificado presença de líquido no lúmen uterino, suspeitando inicialmente de uma endometrite. Por se tratar de uma égua com histórico de falhas reprodutivas, foi optado por não induzir a égua a ovulação e não inseminar neste ciclo.

Para confirmar o diagnóstico foi realizado coleta de material uterino através de *swab* stéril intrauterino e encaminhado ao laboratório especializado para realizar cultura e antibiograma. Em 48 horas, o resultado do *swab* foi entregue, confirmando a suspeita de endometrite bacteriana pela presença de Cocos Gram positivos e *Staphylococcus* coagulase negativo, o resultado do antibiograma segue na figura 18, indicando sensibilidade a diversos antimicrobianos.

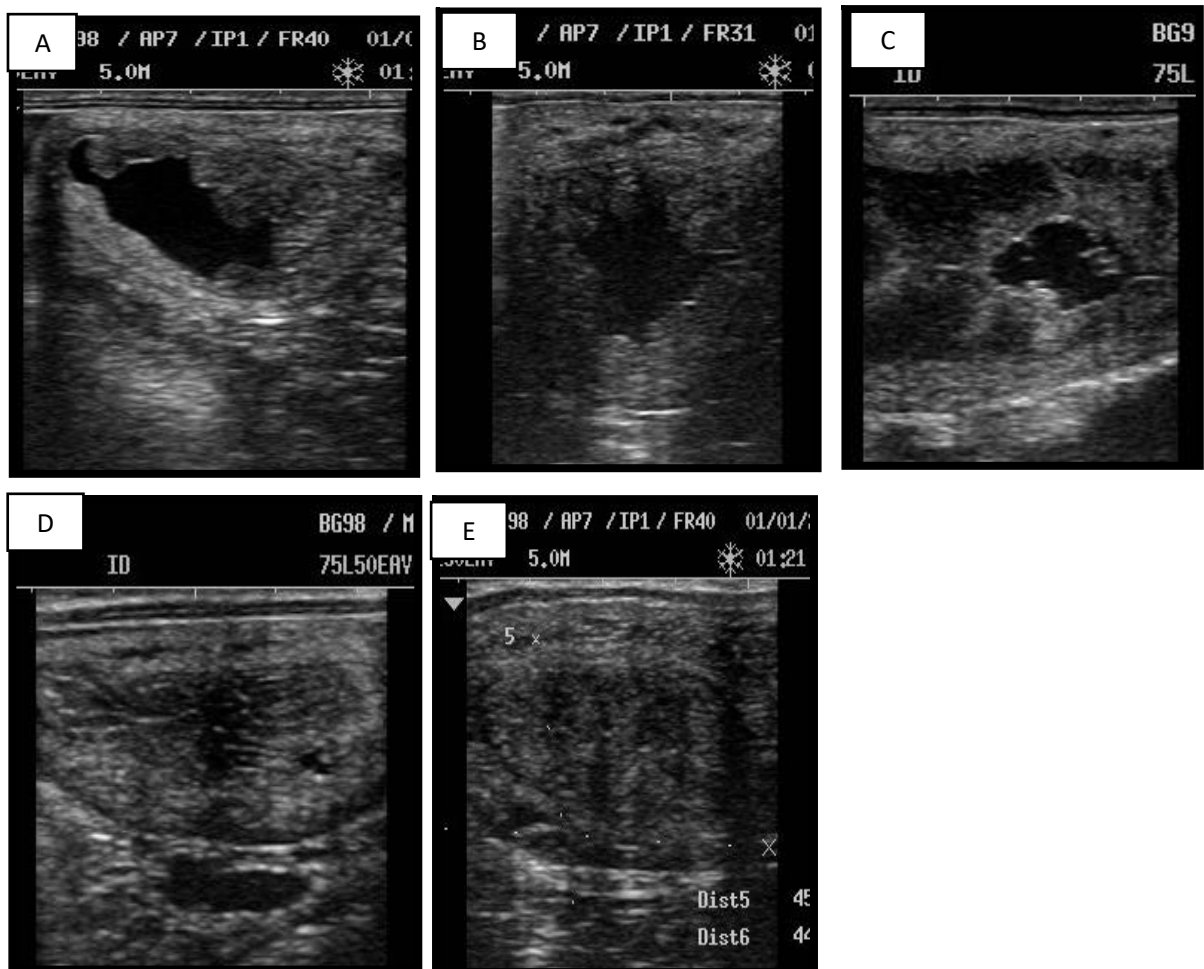
Figura 18 – Resultado da cultura e antibiograma em égua com endometrite.

Muestra remitida:	<i>Hisopado uterino</i>	
Examen directo: Coloración de Gram:	Presencia de Cocos Gram (+).	
Cultivo bacteriológico: Aislamiento e Identificación Bioquímica:	<i>Staphylococcus coagulasa negativo.</i>	
Prueba de susceptibilidad a antimicrobianos para:	<i>Staphylococcus coagulasa negativo.</i>	
Método por difusión en disco: Bauer, Kirby.		
	Antibiótico	
	Ceftazidima	Sensible
	Enrofloxacina	Sensible
	Tetraciclinas	Sensible
	Aminopenicilina + Sulbactama	Sensible
	Trimetoprima + sulfa	Sensible

Fonte: Laboratório Diagnóstico Veterinário (DveLab) (2022).

Conforme o antibiograma, a primeira conduta foi iniciar o tratamento com o uso dos antibióticos Enrofloxacina 7,7 mg/kg por via oral, uma vez ao dia (SID), associado a trimetropim e sulfa (20mg/kg de sulfametazina e 4mg/kg de trimetropin) via intramuscular, SID, durante cinco dias. Neste período a égua foi monitorada através de exame ultrassonográfico transretal, sendo que no quinto dia de tratamento o mesmo se mostrou efetivo (Figura 19), pela ausência de líquido intrauterino.

Figura 19 – Imagens ultrassonográficas uterina do 1º dia (A), 2º (B), 3º (C), 4º (D) e 5º (E) dia de tratamento.



Fonte: Arquivo Estancia La Republica (2022).

Após o tratamento foi recomendada uma pausa no manejo reprodutivo dessa égua por um período de um ciclo estral. Após esse período o controle folicular foi restabelecido e aliado à hormonioterapia com agente luteolítico, quando detectado um folículo de 36 milímetros e edema uterino 3 (escala de 0 a 4), foi induzida a ovulação com hCG (1000UI) IV. A égua foi monitorada no dia seguinte e aproximadamente 46 horas após a indução, foi observada a ovulação e então foi inseminada com sêmen

congelado. No oitavo dia após a ovulação, foi realizado o lavado uterino, obtendo resultado positivo para a coleta de embrião.

4.3 DISCUSSÃO

O índice de prenhez de éguas com bacteriologia positiva é muito inferior à de híbridas, variando de 10% a 37%, o que comprova que a inflamação uterina é uma grande causa de infertilidade da égua, acarretando prejuízos financeiros e genéticos nos programas de transferência de embrião (CAMOZZATO, 2010).

A citologia uterina aliada a cultura bacteriana permite diagnosticar a inflamação através do número dos polimorfonucleares presentes no lúmen uterino e detectar, identificar e caracterizar os microrganismos envolvidos, respectivamente. O resultado positivo desses dois exames é diagnóstico para infecção uterina. A associação entre citologia, cultura bacteriana e antibiograma foi inicialmente elucidada como auxílio diagnóstico há 20 anos e atualmente é o método mais utilizado como forma de diagnóstico (ALVEZ, 2020).

Além da coleta através de *swab's*, amostras podem ser obtidas através de lavagem uterina com baixo volume de solução salina, a qual abrange grande porção do útero, mantendo íntegras as células capturadas, entretanto, esse procedimento causa irritação moderada de endométrio (LEBLANC, 2010).

A cultura bacteriana, baseia-se na detecção do agente etiológico, porém, seu resultado positivo não indica necessariamente a enfermidade, tendo em conta que pode haver contaminação no momento da coleta da amostra, levando a um resultado falso positivo. Logo, o diagnóstico definitivo se dá através da associação dos resultados positivos do exame complementar, aliado aos achados no exame clínico do trato reprodutivo (MCKINNON, 2011).

Segundo um estudo realizado por Silva et al. 1999, a presença do agente causador *Staphylococcus coagulase negativo* é de apenas 6,3% em éguas. O tratamento deve ser de acordo com o agente e a causa encontrada no diagnóstico das endometrites, traçando um planejamento terapêutico específico (LEBLANC, 2010).

Os antibióticos têm sido amplamente utilizados para eliminar a infecção bacteriana do endométrio (CAMOZZATO, 2010). Conforme a literatura a enrofloxacin é um dos antibióticos que apresentam maior sensibilidade antimicrobiana para a

maioria das bactérias (CÂMARA et al.,2013). O uso de enrofloxacinina oral mesmo não sendo recomendada para equinos na bula, mostrou-se efetivo neste caso, contudo, os tratamentos utilizados para endometrite podem ser considerados empíricos e controversos, visto que não há um protocolo específico a ser seguido. Atualmente, há uma grande variedade de estudos existentes na área da teriogenologia equina, realizados através de diversos métodos e com diferentes resultados, que dificultam a tomada de decisões principalmente na hora de determinar protocolos de tratamentos. É comum a presença da dúvida na rotina clínica, sendo assim surgiu a medicina baseada em evidências, que une provas científicas existentes e disponíveis dentro da atualidade, que vão contribuir para a aplicação de seus resultados em tratamentos e intervenções clínicas (ZANDONADI et al, 2021).

4.4 CONCLUSÃO

A endometrite continua sendo uma das principais causas de perdas econômicas na equideocultura, visto que, pode limitar a criação e propagação equina nas propriedades. Acarreta prejuízos econômicos nas criações em decorrência do custo com diagnóstico e tratamento, diminuição da fertilidade, e incapacidade de o útero conseguir levar uma gestação adiante. O tratamento de uma endometrite começa a partir de um correto diagnóstico, portanto, evidencia-se a importância da realização dos exames complementares para combater corretamente a causa de infertilidade em éguas.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização de biotécnicas reprodutivas está cada vez mais presente no mercado Brasileiro e vem crescendo no Argentino. O uso da inseminação artificial em equinos cresce a cada ano devido suas vantagens e distribuição da genética de animais com qualidade superior além de sua viabilidade econômica.

O manejo da égua e do garanhão são importantes pilares para o sucesso da utilização da inseminação artificial. Para aumentar os índices de prenhez, é de fundamental importância dominar as técnicas como o controle do ciclo estral das éguas, saber o momento adequado da inseminação, maneira de como o sêmen é coletado e manipulado, habilidade do inseminador, dose inseminante, tipo de sêmen (congelado, fresco e resfriado), congelação de sêmen e transferência de embrião.

Durante o período de estágio curricular pude vivenciar esta realidade, onde acompanhei a rotina reprodutiva dos equinos, junto ao um profissional qualificado. Tive a oportunidade de fazer do estágio um período de grande aprendizado, conciliando a teoria com a prática, realizando todas atividades que envolvem os equinos citadas a cima.

REFERENCIAS

- ÁVILA, Ana Caroline Araújo. **Ozonioterapia no tratamento de endometrite em éguas. 2020.** Disponível em: <https://repositorio.unb.br/handle/10482/41331> Acesso em 30/10/2022
- ALVES, Lorena Matos Côrtes; SANTOS, Paulo Roberto Curcino; ALVARES, Caio Tácito Gomes. **Endometrite bacteriana por Pseudomonas aeruginosa em égua doadora de embrião: relato de caso.** Brazilian Journal of Animal and Environmental Research, v. 3, n. 2, p. 638-647, 2020. Disponível em https://www.brazilianjournals.com/ojs/index.php/BJAER/article/view/10821?__cf_chl_tk=pikAzuMe_y0wXYVX00yKPfScHMF1bqY1HuiDPkoSTds-1667135610-0-gaNycGzNCuU. Acesso em 30/10/2022.
- ALVARENGA, M. A. TONGU, E.A.O. **Estratégias para melhorar a eficiência reprodutiva em programas de transferência de embrião de equinos.** Rev. Bras. Reprod. Anim., Belo Horizonte, v.41, n.1, p.19-24, 2017. Disponível em [http://www.cbra.org.br/portal/downloads/publicacoes/rbra/v41/n1/p019-024%20\(RB656\).pdf](http://www.cbra.org.br/portal/downloads/publicacoes/rbra/v41/n1/p019-024%20(RB656).pdf). Acesso em 24/10/2022.
- ASHWOOD-SMITH, M. J. **Mechanisms of cryoprotectant action.** In: Symposia of the Society for Experimental Biology. 1987. p. 395-406. Disponível em: <https://europemc.org/article/med/3332494>. Acesso em 24/09/2022.
- ARRUDA, Rubens Paes de et al. **Existem relações entre tamanho e morfoecogenicidade do corpo lúteo detectados pelo ultra-som e os teores de progesterona plasmática em receptoras de embriões eqüinos?.** Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, v. 38, p. 233-239, 2001, <https://www.scielo.br/j/bjvras/a/tFhVy64QJn8Nn7zx7PgYM4w/?lang=pt&format=pdf>. Acesso em 24/10/2022.
- BRINSKO, S. P. et al. **Effects of transport container and ambient storage temperature on motion characteristics of equine spermatozoa.** Theriogenology, v. 53, n. 8, p. 1641-1655, 2000. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0093691X00003046>. Acesso em 24/10/2022.
- BENDER, E. S. C. et al. **Condição corporal e atividade reprodutiva de éguas.** Archivos de Zootecnia, v. 63, n. 241, p. 55-67, 2014. Disponível em <file:///C:/Users/Vin%C3%ADcius/Downloads/590-578-1-PB.pdf>. Acesso em 26/09/2022.
- CÂMARA, W.M.; CANCEMANSI, J.A.N.; SHIMODA, E.; FAGUNDES, B.; BARRETO, M.A.P.; SILVA, J.F.S. **Identificação e perfil de sensibilidade antimicrobiana de bactérias isolada de éguas suspeitas ou não de endometrite.** Agrária- Revista Brasileira de Ciências Agrárias, v.8, n.4, p.669-674, 2013. Disponível em: <http://www.agraria.pro.br/ojs32/index.php/RBCA/article/view/v8i4a2534>. Acesso em 03/11/2022.

CHINAIT, J. et al. **Dinâmica folicular em éguas: aspectos intrafoliculares**. Rev Bras Reprod Anim, v. 32, n. 2, p. 122-132, 2008. Disponível em: <http://cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/download/RB159%20Gurgel%20vr2%20pag122-132.pdf>. Acesso em 27/09/2022.

CAMOZZATO, Giovani Casanova. **Endometrite em éguas. 2010**. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/38780>. Acesso em: 30/10/2022.

CARNEVALE, E. M. et al. **Ultrasonographic characteristics of the preovulatory follicle preceding and during ovulation in mares**. Journal of Equine Veterinary Science, v. 8, n. 6, p. 428-431, 1988. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0737080688800923>. Acesso em 09/10/2022.

COSTA, Luis Henrique Oenning et al. **Utilização da ultrassonografia em modo-b para acompanhamento folicular e da ecotextura uterina na estimativa do momento da ovulação em éguas. 2017**. Disponível em <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/182526>. Acesso em 29/09/2022

CARDOSO, Amanda Milani. **INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM ÉGUAS. 2010**. Disponível em <http://arquivo.fmu.br/prodisc/medvet/amc.pdf>. Acesso em 29/09/2022.

CRISTANELLI, M. J. et al. **Fertility of stallion semen processed, frozen and thawed by a new procedure**. Theriogenology, v. 22, n. 1, p. 39-45, 1984. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0093691X84904710>. Acesso em 24/09/2022.

COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL. **Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal**. 2. ed. Belo Horizonte, 1998. 49p.

FARIA, D. R.; GRADELA, Adriana. **Hormonioterapia aplicada à ginecologia equina**. Revista Brasileira de Reprodução Animal, v. 34, n. 2, p. 114-22, 2010. Disponível em <http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/v34n2/p114-122.pdf?>. Acesso em 16/10/2022.

FÜRST, R. et al. **Efeito do resfriamento do sêmen eqüino sobre sua congelabilidade**. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v. 57, p. 599-607, 2005. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abmvz/a/hVsx9B9XcwKWXFWDxBB9d7q/?lang=pt&format=html> Acesso em: 26/09/2022.

FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. **The Statistics Division of the FAO 2016**. Disponível em: <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QA/E>. Acesso em 10/04/2022.

FRAZÃO, Rafaella Carolina Rodrigues de Ataíde. **Ciclo estral e hormonioterapia aplicada à reprodução de equinos: revisão de literatura**. 2018. Disponível em: <https://bibliotecadigital.uniformg.edu.br:21015/jspui/handle/123456789/637> Acesso em 24/10/2022.

Ginther O.J. 1992. **Reproductive Biology of the Mare, Basic and Applied Aspects**. 2thed. Equiservices Publishing, Cross Plains. 642p. *In*: LIRA, R.A. et al.

Transferência de embriões em equinos. Acta Veterinaria Brasilica, v.3, n.4, p.132-140, 2009. Disponível em: <<https://periodicos.ufersa.edu.br/index.php/acta/article/download/1421/782/>>. Acesso em 10/04/2022.

GRAHAM, James K. **Cryopreservation of stallion spermatozoa.** Veterinary Clinics of North America: Equine Practice, v. 12, n. 1, p. 131-147, 1996. https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0749073917303000?casa_token=1SR3drlto8EAAAAA:Ve9TbQnmGjim4QYoYgiRvU1FQz4KSDtHVMGc19zHkNof3F7yffQlyliBYlxqcNI7UNsSKUyDQoU. Acesso em 24/09/2022.

HOFFMANN, H. et al. **Optimal concentrations of cryoprotective agents for semen from stallions that are classified 'good' or 'poor' for freezing.** Animal Reproduction Science, v.125, p.112-118, 2011. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21470802>. Acesso em: 24/10/2022.

HAFEZ, B.; HAFEZ, E. S. E. **Reprodução animal.** 7. ed. Barueri-SP: Manole, p. 21-24, 59, 193-210, 2004. Disponível em: <https://www.manole.com.br/reproducao-animal-7-edicao/p>. Acesso em 24/10/2022.

JÚNIOR, JOSÉ AURELIO DA CRUZ. "**Processo inflamatório no útero de éguas: Endometrite** (Revisão de literatura)." (2016). Disponível em: http://www.cstroid.sti.ufcg.edu.br/grad_med_vet/tcc_2016.1/13_jose_aurelio_da_cruz_junior.pdf. Acesso em 03/11/2022.

KNEISSL, Sabine. **Tiefgefrierkonservierung von Pferdesperma:: Einfluß der Samenentnahmetechnik, Zentrifugation, Konfektionierungsform und Einfrieremethode auf die Mobilität und Mebranintegrität der Samenzellen.** na, 1993. Disponível em: <https://d-nb.info/978259467/34>. Acesso em 24/10/2022.

LOVE, Charles C. **Semen collection techniques.** Veterinary Clinics of North America: Equine Practice, v. 8, n. 1, p. 111-128, 1992. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0749073917304704>. Acesso em 10/04/2022.

LEBLANC, M. M. **Advances in the Diagnosis and Treatment of Chronic Infectious and Post-Mating-Induced Endometritis in the Mare.** Reproduction in domestic animals, v. 45, p. 21-27, 2010. Acesso em 11/04/2022. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1439-0531.2010.01634.x>

LOSINNO, L.; UROSEVIC, I. M. **Equine embryo transfer: application on horse production programs, experience from south america.** In: 19th INTERNATIONAL CONGRESS ON BIOTECHNOLOGY IN ANIMAL REPRODUCTION (ICBAR), 2015, Novi Sad, Serbia. [Anais]. Disponível em: <https://niv.ns.ac.rs/StariSajt/tr31084/fajlovi/15/37.2015.pdf>. Acesso em 23/10/2022.

MCKINNON, Angus O. et al. (Ed.). **Equine reproduction.** John Wiley & Sons, 2011. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=QPJQT6-g-YMC&oi=fnd&pg=PA165&dq=MCKINNON,+Angus+O.+et+al.+Equine+Reproduction.+2.+ed.+United+Kingdom:+Wiley->

+blackwell,+2011&ots=kmpClc4Wly&sig=yzGvQXI2ZHikhmaCbk5GqenVXeQ#v=onepage&q&f=false. Acesso em 24/10/2022.

MOREL, Mina CG Davies. **Equine reproductive physiology, breeding and stud management**. CABI, 2020. Disponível em <https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=1wIHEAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR3&dq=MOREL,+Mina+C.+G.+Davies.+Equine+Reproductive+Physiology,+Breeding+and+Stud+management.+2%C2%AA+ed.+Aberystwyth+UK:+Cabi+Publishing,+2003.+Bibliografia+recomendada:+.+157.+ISBN+0-85199-643-4.&ots=Ep2pXUOMjw&sig=NmkKQBuvalGVmiXS2HbqcqOcxvA#v=onepage&q&f=false>. Acesso em 02/10/22.

Melo, Cely Marini et al. **Eficiência do acetato de deslorelina e do extrato de pituitária equina na indução da ovulação em éguas**. *Veterinária e Zootecnia*, v. 19, n. 3, p. 392-398, 2012. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/141339>>. Acesso em 04/10/2022.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2016. **Revisão do Estudo do Complexo do Agronegócio Cavalos**. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/camaras-setoriais-tematicas/documentos/camaras-setoriais/equideocultura/anos-anteriores/revisao-do-estudo-do-complexo-do-agronegocio-docavalos/view>. Acesso em 24/10/2022.

MALSCHITZKY, E. et al. **Endometrite na égua, novos conceitos**. *Revista brasileira de reprodução animal*, v. 31, n. 1, p. 17-26, 2007. Disponível em: <http://www.cbpa.org.br/pages/publicacoes/rbra/download/RB132%20Mattos%20pag%2017-26.pdf>. Acesso em 03/11/2022

SILVA, N. et al. **Isolamento e teste de susceptibilidade a antimicrobianos de bactérias em infecções uterinas de éguas**. *Arquivo brasileiro de medicina veterinária e zootecnia*, v. 51, p. 213-216, 1999. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abmvz/a/BwjKXhzvJfJVXNjPKNR7vGD/abstract/?lang=pt>. Acesso em 03/11/2022.

SILVA, Luis Fernando Mercedes Chaves et al. **Mecanismos de ação dos principais antioxidantes utilizados na criopreservação espermática de garanhões**. *Veterinária e Zootecnia*, v. 24, n. 3, p. 418-434, 2017. <https://rvz.emnuvens.com.br/rvz/article/view/277>. Acesso em 24/10/2022.

MCCUE, P. M. et al. **Efficacy of hCG at inducing ovulation: a new look at an old issue**. In: *Proceedings of the 50th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners*, Denver, Colorado, USA, 4-8 December, 2004. American Association of Equine Practitioners (AAEP), 2004. p. 510-513. Disponível em: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20053193848>. Acesso em 24/10/2022.

MOORE, A. I. et al. **Effect of cooling rate and cryoprotectant on the cryosurvival of equine spermatozoa**. *Journal of equine veterinary science*, v. 26, n. 5, p. 215-218, 2006. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0737080606001651?casa_token=XsusOaNQAYQAAAAA:RVHSRZ7IeksGoy9VcZNwgW31gg5U_U7SGIgn8_mmkPtlDmZVtlyVT9UqEkKoGd55uyU8fxicw3y. Acesso em 10/04/2022.

OLIVEIRA, José Evandro Gervásio de et al. **Assimetrias e semelhanças da criação de equinos no Sul do Brasil (RS) e na Argentina: aspectos produtivos, sanitários e comerciais.** 2012. Acesso em 10/10/2022.

PEREIRA, R. et al. **Utilização de ultrassonografia modo doppler como diagnóstico complementar da endometrite em éguas: relato de caso.** Rev. Cient. Eletrôn. Med. Vet, v. 23, p. 1-14, 2014. Disponível em: http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/w3IF5OD1QaDUmWh_2014-8-11-8-33-0.pdf. Acesso em 30/10/2022.

QUEIROZ, Vinicius de Seixas. **Estudo do efeito das condições de manipulação do sêmen de jaguatiricas (Leopardus pardalis, Linnaeus, 1758) sobre a capacitação e a integridade morfológica e funcional dos espermatozoides.** 2003. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10131/tde-09062004-140805/en.php> Acesso em 28/10/2022.

ROSER, Janet Fay et al. **The development of antibodies to human chorionic gonadotrophin following its repeated injection in the cyclic mare.** Journal of reproduction and fertility, 1979. Disponível em: <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=GB19800562272>. Acesso em 24/10/2022

SILVA, Luciano Andrade. **Técnica ultra-sonográfica de injeção intra-uterina para transferência de embriões em eqüinos.** 2003. Disponível em: <https://www.locus.ufv.br/handle/123456789/5206>. Acesso em 25/10/2022.

SILVA, Artur George Pereira Ferreira da et al. **Transferência de embriões em eqüinos (revisão). 2014.** Disponível em: <http://dspace.sti.ufcg.edu.br:8080/jspui/handle/riufcg/24251>. Acesso em 24/10/2022.

SQUIRES, E. L.; MCCUE, P. M.; VANDERWALL, D. **The current status of equine embryo transfer.** Theriogenology, v. 51, n. 1, p. 91-104, 1999. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0093691X98002349>. Acesso em 25/10/2022

SAMPER, Juan C. **Equine breeding management and artificial insemination.** Elsevier Health Sciences, 2008. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=Fyp11ICeiAC&oi=fnd&pg=PP1&dq=EQUINE+BREEDING+MANAGEMENT+AND+ARTIFICIAL+INSEMINATION,+SECOND+EDITION&ots=j1bfbSlvQM&sig=5zwfrCmKWbkA4Ce6OefYvnRkcd0#v=onepage&q=EQUINE%20BREEDING%20MANAGEMENT%20AND%20ARTIFICIAL%20INSEMINATION%2C%20SECOND%20EDITION&f=false>. Acesso em 06/10/2022.

SALES, Adhemar de Araujo Seabra. **O complexo do agronegócio do cavalo: uma análise sistêmica da equinocultura e tendências de mercado.** 2018. https://bdm.unb.br/bitstream/10483/26581/1/2018_AdhemarDeAraujoSeabraSales_tc.pdf. Acesso em 10/04/2022.

TROEDSON M.H.T. **Therapeutic considerations for mating-induced endometritis.** Pferdeheilkunde, v.13, p. 516-520, 1997. Disponível em:

<http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:xmHhSA1Z31sJ:www.hippiatrika.com/download.htm%3Fid%3D19970515+&cd=2&hl=pt-BR&ct=clnk&gl=br&client=firefox-b-d>. Acesso em: 03/11//2022.

ULIANI, Renata Cristina. **Estudo das características foliculares avaliadas através da ultrassonografia Modo-B e Doppler colorido de éguas jovens e idosas e sua relação com agente indutor e momento da ovulação**. 2012.. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/92113>. Acesso em 09/10/2022.

ZIMMERMANN, Marina Ferreira. **Efeito da diluição do crioprotetor dimetilformamida em amostras de sêmen eqüino descongeladas utilizando-se dois diferentes diluentes comerciais**. 2007. Disponível em: <https://repositorio.unb.br/handle/10482/2791> Acesso em 24/09/2022.

ZANDONADI, Francianne Baroni; DE MOURA, Fernando Rafael; AMUDE, Alexandre Mendes. **Medicina Baseada em Evidências: Revisão Sistemática com Metanálise como Ferramenta de Tomada de Decisão em Ciências Veterinárias**. UNICIÊNCIAS, v. 25, n. 2, p. 80-85, 2021. Disponível em: <https://uniciencias.pgsskroton.com.br/article/view/9339>. Acesso em 03/11/2022.