

**UNIVERSIDADE DE CAXIAS DO SUL
ÁREA DO CONHECIMENTO DE CIÊNCIAS DA VIDA**

MARIANA POLESSO MAZZUCHINI

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

**CAXIAS DO SUL
2020**

MARIANA POLESSO MAZZUCHINI

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

Relatório de Estágio Curricular Obrigatório
apresentado para obtenção do título de
Bacharel em Medicina Veterinária pela
Universidade de Caxias do Sul na área de
reprodução equina.

Orientação: Prof. Me. Fernando Paixão
Lisboa.

CAXIAS DO SUL

2020

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, e aos meus anjos da guarda, que iluminam meus caminhos e me protegem.

Aos meus pais, Marta e Roque, meu irmão Rodrigo e minha cunhada Júlia, que sempre me apoiaram e fizeram de tudo para que eu conseguisse realizar meus sonhos.

Aos meus avós maternos, Mário e Marina, que me deram todo apoio e muitas vezes se dispuseram a me ajudar para que eu pudesse realizar diferentes estágios durante a graduação.

Aos meus avós paternos, Florentino (*In memorian*) e Clary, que sempre me apoiaram e torceram por mim.

Aos meus padrinhos, Carolina, Fernando, Marcos e Simone, que sempre se dispuseram a me ajudar no que fosse preciso.

Ao meu namorado, Matheus que me apoia, me estimula incondicionalmente e se fez presente em todos os momentos.

Ao meu professor, orientador e amigo, quem eu me espelho e levo como inspiração, Me. Fernando Paixão Lisboa, que sempre se disponibilizou a me ajudar no que fosse necessário, me proporcionou diversas oportunidades para que eu pudesse me desenvolver como profissional, e que sempre acreditou na minha capacidade, contribuindo para que eu acreditasse nela.

Aos demais professores da graduação que contribuíram com a minha formação profissional.

Aos meus supervisores de estágio, Orpheu e Eunice, que se disponibilizaram a me ensinar, e principalmente, me proporcionaram momentos únicos de aprendizado.

Aos meus amigos que estiveram durante toda graduação ao meu lado, Carina, Caroline, Júlia, Fabrício, Euclides, Giovani, Daniel e Rayan, sem vocês estes 5 anos seriam menos felizes.

Aos mestres, os quais tive a honra de aprender durante toda a graduação.

Às pessoas que tive a oportunidade de conviver durante os estágios curriculares, que sempre se esforçaram em me ajudar e me ensinar: Nathália, Isabela, Rafael, Flávia, Léa, Lucas e Edson na CER, e André, Scarlet, Juliana, Monike e Renata, na UNESP – Botucatu.

RESUMO

O estágio curricular obrigatório foi realizado na área de Reprodução Animal com ênfase na espécie equina, sob orientação acadêmica do Prof. Me. Fernando Paixão Lisboa. A primeira etapa foi realizada na Central Equina de Reprodução (CER), localizada na cidade de Boituva, estado de São Paulo, durante os meses de janeiro e fevereiro de 2020, totalizando 448 horas, sob supervisão do médico veterinário Orpheu Ávila Júnior. A segunda foi realizada no Departamento de Reprodução Animal da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, localizada na cidade de Botucatu, estado de São Paulo em março de 2020, totalizando 174 horas, sob supervisão da Prof. Dra. Eunice Oba. Durante o período de estágio pode-se acompanhar a rotina reprodutiva de uma central de reprodução equina e a rotina clínica reprodutiva de um hospital veterinário, sendo desenvolvidos diferentes temas como manejo sanitário, manejo nutricional, neonatologia, biotecnologias reprodutivas, clínica e cirurgia de equinos, além de atendimento ambulatorial reprodutivo de ruminantes e carnívoros.

Palavras-chave: Estágio curricular. Reprodução equina. Biotecnologias reprodutivas.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Laboratório de manipulação de sêmen e embriões.....	10
-		
Figura 2	(A) Sala de limpeza dos materiais. (B) Sala de montagem da vagina.....	10
-		
Figura 3	Cocheiras das éguas doadoras de embrião.....	12
-		
Figura 4 -	Citologia endometrial apresentando inflamação severa.....	19
Figura 5	Crescimento bacteriano após 48 horas de incubação.....	20
-		
Figura 6	(A) Kit utilizado na realização do antibiograma. (B) Resposta aos agentes antimicrobianos após 24 horas de incubação.....	21
-		
Figura 7	Processo de ozonização do ringer lactato.....	23
-		
Figura 8	Folículo anovulatório hemorrágico (HAF).....	26
-		
Figura 9	Colheita de embrião equino.....	29
-		
Figura 10 -	(A) Embrião grau 1. (B) Embrião grau 2.....	31
Figura 11 -	Ilustração do envasamento do embrião utilizando palheta estéril.....	31
Figura 12 -	Confirmação de gestação de embrião D12.....	32
Figura 13 -	Manequim para coleta de sêmen. (B) Troncos de contenção para palpação de éguas.....	36
Figura 14 -	Sêmen fracionado após a coleta.....	39
Figura 15 -	Lesão na porção externa da uretra. (B) Lesões hemorrágicas na mucosa uretral. (C) Fístula uretral.....	41
Figura 16 -	(A) Primeira coleta seminal após o tratamento. (B) Segunda coleta seminal após o tratamento. (C) Terceira coleta seminal após o tratamento.....	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Atividades desenvolvidas na CER.....	15
Tabela 2 -	Atividades e casos clínicos acompanhados no Departamento de Reprodução Animal FMVZ-UNESP/Botucatu.....	36
Tabela 3 -	Parâmetros seminais.....	39
Tabela 4 -	Patologia espermática.....	40
Tabela 5 -	Patologia espermática após tratamento.....	43

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	8
2	ESTAGIO 1: CENTRAL EQUINA DE REPRODUÇÃO	9
2.1	LOCALIZAÇÃO E ESTRUTURA	9
2.2	ROTINA DA CENTRAL DE REPRODUÇÃO.....	11
2.2.1	Manejo das doadoras.....	11
2.2.2	Manejo de receptoras de embriões.....	12
2.2.3	Manejo do garanhão.....	14
2.2.4	Manejo sanitário	15
2.3	ATIVIDADES DESENVOLVIDAS	15
2.3.1	Manejo de égua problema	16
2.2.1.1	Diagnóstico.....	17
2.2.1.1.1	<i>Citologia endometrial</i>	<i>18</i>
2.2.1.1.2	<i>Cultura e antibiograma</i>	<i>20</i>
2.2.2.1	Principais tratamentos utilizados na CER.....	22
2.2.2.1.1	<i>Ozonioterapia</i>	<i>22</i>
2.2.2.1.2	<i>Lavagem uterina com DMSO</i>	<i>25</i>
2.2.2.1.3	<i>Tratamento com ocitocina</i>	<i>25</i>
2.2.2.1.4	<i>Tratamento para folículo anovulatório hemorrágico</i>	<i>26</i>
2.3.2	Transferência de embrião	27
2.3.1.1	Seleção de receptoras.....	28
2.3.1.2	Colheita do embrião	29
2.3.1.3	Manipulação do embrião	30
2.3.1.4	Inovulação	31
2.3.3	Coleta e manipulação de sêmen	33

3	ESTÁGIO 2: DEPARTAMENTO DE REPRODUÇÃO FMVZ-UNESP/BOTUCATU	35
3.1	DEPARTAMENTO DE REPRODUÇÃO ANIMAL.....	35
3.2	ATIVIDADES DESENVOLVIDAS	36
4	CASO CLÍNICO: HEMOSPERMIA EM GARANHÃO.....	38
5	CONCLUSÃO	46
	REFERÊNCIAS	47

1 INTRODUÇÃO

A equideocultura no Brasil é geradora de cerca de 3 milhões de empregos diretos e indiretos, tendo grande importância no mercado nacional (LIMA; CINTRA, 2016). Em 2014, o rebanho equino brasileiro foi estimado em 5 milhões de cabeças, estando distribuído principalmente nos estados de Minas Gerais e Rio Grande do Sul, porém este número foi atualizado para 5,6 milhões em 2016, o que demonstra a importância do segmento no mercado nacional (LIMA; CINTRA, 2016; IBGE, 2016).

O Brasil é o país que mais produz embriões equinos no mundo, sendo responsável por 43% do mercado, seguido pela Argentina e Estados Unidos da América, com 29 e 18%, respectivamente. (LOSINNO; UROSEVIC, 2015). Dentre as principais atividades que valorizam o médico veterinário na reprodução equina, além da aplicação de biotecnologias reprodutivas tradicionais, relacionam-se o manejo de éguas problema e de patologias do trato reprodutivo de garanhões.

O criptorquidismo, lesões escrotais, hipoplasias e degenerações testiculares, afecções do pênis e prepúcio, epidídimo e das glândulas sexuais acessórias, assim como as neoplasias são comumente descritas em garanhões (EDWARDS, 2008). Já em fêmeas, a endometrite é a principal causadora de infertilidade (LEBLANC; CAUSEY, 2009). Além da inflamação endometrial, piometra, cistos uterinos e alterações anatômicas também são comumente observados na espécie (MCKINNON et al., 2011).

O estagio curricular foi realizado em dois locais de grande importância na reprodução equina brasileira: a Central Equina de Reprodução (CER) e o Departamento de Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual “Júlio de Mesquita Filho”, campus de Botucatu, responsável por pesquisas de grande impacto na área da reprodução animal. O presente trabalho tem como objetivo relatar as atividades realizadas durante o estágio curricular obrigatório realizado na área de reprodução equina, associando-as a uma revisão bibliográfica do assunto.

2 ESTAGIO 1: CENTRAL EQUINA DE REPRODUÇÃO

O estágio foi realizado no período de 02 de janeiro de 2020 à 26 de fevereiro de 2020, sob orientação do médico veterinário Orpheu Ávila Junior, na Central Equina de Reprodução (CER), totalizando 448 horas. Durante o período do estágio pude acompanhar a rotina da central de reprodução, incluindo manejo reprodutivo, nutricional, sanitário e clínico dos animais lá alojados.

2.1 LOCALIZAÇÃO E ESTRUTURA

A CER está localizada no município de Boituva, estado de São Paulo. A estrutura da central conta com um laboratório para manipulação de sêmen e embriões, sala de limpeza e esterilização de materiais, sala para montagem da vagina artificial, manequim para coleta de sêmen, tronco individual para coleta de embriões e inseminação artificial e uma mangueira para manejo dos animais com três troncos para palpação retal de éguas e transferência de embriões. A central abriga principalmente equinos das raças Puro Sangue Lusitano e Puro Sangue Árabe, totalizando 311 animais, sendo 300 fêmeas e 11 machos.

A estrutura é composta por 38 cocheiras, onde alojam-se as éguas doadoras de embriões, machos em treinamento e um garanhão utilizado na reprodução. Ainda, apresenta 20 piquetes, os quais abrigam principalmente éguas receptoras de embrião, éguas com potro ao pé e algumas doadoras de embriões. Além da estrutura geral apresentada acima, a CER conta ainda com quatro piquetes e duas cocheiras para a quarentena, onde são alojadas as receptoras recém-chegadas.

O laboratório para manipulação de sêmen e embriões conta com um microscópio, um monitor acoplado a uma câmera para avaliação de sêmen durante a microscopia, uma geladeira, uma placa aquecedora, um banho-maria, duas centrífugas, uma máquina de congelamento de sêmen, um estereomicroscópio, cinco botijões de nitrogênio, além de material para manipulação e transferência de embriões e manipulação e congelamento de sêmen.

Figura 1 - laboratório de manipulação de sêmen e embriões.



Fonte: Arquivo pessoal.

A sala para limpeza de materiais possui uma bancada contendo uma estufa mantida à 80°C, uma autoclave e instrumentos para higienização dos materiais utilizados na rotina. A sala para montagem da vagina artificial comporta um tanque de água, materiais necessários para montagem da vagina e ainda uma estufa, onde se encontravam as placas de culturas bacterianas coletadas das éguas. A central conta ainda com uma sala para o armazenamento de botijões de nitrogênio.

Figura 2 - (A) Sala de limpeza dos materiais. (B) Sala de montagem da vagina.



Fonte: Arquivo pessoal.

2.2 ROTINA DA CENTRAL DE REPRODUÇÃO

A CER tem uma rotina baseada no manejo das éguas doadoras e receptoras, o que inclui: controle folicular através da palpação retal e avaliação ultrassonográfica; inseminações artificiais com sêmen fresco, refrigerado e congelado; coleta, manipulação de sêmen e envio de amostras de sêmen refrigerado; congelação de sêmen; coleta, manipulação e inovulação de embriões; e diagnóstico e acompanhamento de gestação. Somando a rotina reprodutiva, realizava-se o manejo sanitário do rebanho e ainda alguns atendimentos clínicos conforme a demanda de rotina.

A central de reprodução contava com duas médicas veterinárias residentes que atuavam em tempo integral realizando controle folicular e sincronização de éguas doadoras e receptoras de embriões, inseminação artificial (IA), atendimentos clínicos gerais, diagnóstico de gestação, coleta, manipulação e congelação de sêmen e ainda, coleta, manipulação e transferência de embriões (TE). Além disso, a CER contava com um médico veterinário volante, responsável pelo atendimento das propriedades às quais a central prestava serviços como IA e TE. Este veterinário ainda era responsável pela administração do estabelecimento e por supervisionar o trabalho prestado pelas residentes, auxiliando conforme a necessidade no manejo da propriedade.

2.2.1 Manejo das doadoras

Durante o período de estágio, estiveram alojadas 35 éguas doadoras de embrião, que se dividiam entre as cocheiras e piquete. As éguas confinadas recebiam feno 3 vezes ao dia, ração conforme necessidade individual, semente de linhaça 2 vezes ao dia e sal mineral *ad libitum*. As éguas mantidas nos piquetes tinham acesso ao tifton plantado, sal mineral *ad libitum*, além de receber ração duas vezes ao dia.

Figura 3 - Cocheiras das éguas doadoras de embrião.



Fonte: Arquivo pessoal.

Segundo Rodrigues e colaboradores (2011), o escore de condição corporal (ECC) das éguas está diretamente correlacionado ao tamanho de folículo dominante e consequente recuperação embrionária, sendo um fator a ser controlado no rebanho para que a eficiência reprodutiva seja maior. Além disso, éguas com baixo ECC (<5) tiveram um maior período entre ovulações quando comparadas a éguas com ECC >5 (BENDER et al., 2014). Entretanto, a obesidade também pode ser um fator maléfico na vida das doadoras, uma vez que, o excesso de gordura corporal está correlacionado ao desenvolvimento de resistência à insulina nestes animais (JOHNSON, 2002).

A linhaça é considerada uma fonte rica em ácidos graxos essenciais como ômega 3 e 6, fibras e compostos fenólicos que atuam como agentes antioxidantes (GALVÃO et al., 2008). Segundo um experimento realizado por Soncin e colaboradores, a adição de 10% de semente de linhaça na dieta dos cavalos se demonstrou positiva quando relacionada à digestibilidade de fibra na dieta, ainda que, não tenha influenciado na taxa de crescimento folicular das éguas. A suplementação com linhaça na dieta destes animais tinha como objetivo minimizar os possíveis problemas digestórios agravados pelo sistema de criação intensivo.

Diariamente, antes do início das atividades diárias, as residentes definiam a lista de éguas a serem manejadas, seja para controle folicular, IA ou TE, a qual era repassada para funcionários e estagiários.

2.2.2 Manejo de receptoras de embriões

O rebanho de receptoras era composto por 260 éguas, assim, com a alta densidade de animais, a nutrição das éguas era considerada um desafio para a central. O equino, por ser um herbívoro não ruminante, mantém grande parte da sua demanda nutricional pela ingestão de gramíneas, necessitando de uma grande porcentagem de alimento volumoso na dieta (BRANDI; FURTADO, 2009). Com isso, métodos alternativos de alimentação eram associados para que o escore de condição corporal do rebanho fosse preservado.

As receptoras vazias eram mantidas em três lotes, divididos em três piquetes diferentes com plantação de Tifton 85 e Capim Tanzânia. O manejo alimentar era realizado uma vez ao dia, onde as éguas recebiam silagem de milho, feno, ração e sal mineral *ad libitum*. Já, as receptoras prenhes dividiam-se em dois lotes, os quais também recebiam silagem de milho, feno e ração.

Segundo Santos e colaboradores (2002), a utilização de silagem de milho é uma boa alternativa nas dietas de equinos mantidos em pastagens, não sendo prejudicial ao desenvolvimento dos animais quando produzida e armazenada em condições ideais. Em 2009, Blažková, Homolka e Maršalek comprovaram a eficiência da utilização da silagem de milho relacionada à quantidade de matéria seca fornecida aos animais com alta digestibilidade.

O manejo diário das receptoras vazias dependia da fase do ciclo estral em que elas se encontravam. Diariamente as médicas veterinárias realizavam uma seleção dos animais que necessitavam acompanhamento folicular, aplicações hormonais e tratamentos, ou ainda, que estavam em programa de transferência de embriões. As éguas selecionadas no dia eram avaliadas no turno da manhã, para que no período da tarde fossem realizadas as transferências de embriões.

As receptoras prenhes eram avaliadas uma vez por semana, onde as que apresentavam ciclo artificial ou algum fator de risco para que a gestação se mantivesse apenas com os corpos lúteos, recebiam uma dose de 1,8 g de progesterona IM até completar os 120 dias de gestação. As éguas até os 30 dias de gestação eram avaliadas semanalmente, e as demais, acima de 30 dias eram avaliadas a cada 15 dias. As receptoras de embriões convencionais eram liberadas da central com 60 dias de gestação, já as fêmeas receptoras de embriões de ICSI (injeção intracitoplasmática de espermatozoide) e clone eram liberadas com 90 dias de gestação.

Dentre as principais causas de perdas gestacionais precoces em éguas encontram-se: endometrite, fibrose periglandular e cistos uterinos, deficiência de progesterona, alterações cromossômicas, estresse, local de implantação da vesícula embrionária, nutrição e idade materna (SENA et al., 2016).

2.2.3 Manejo do garanhão

A central conta com a presença 11 equinos machos, entretanto, apenas um único em atividade reprodutiva, assim, o mesmo encontra-se em uma cocheira junto ao conjunto de baias onde se estabelecem as éguas doadoras de embrião. Todos os machos confinados possuíam o mesmo manejo nutricional das doadoras alojadas nas cocheiras. O garanhão utilizado como reprodutor possuía apenas 2 anos e meio de idade, e possivelmente, em função da imaturidade sexual, apresentava um sêmen de baixa qualidade. Com o intuito de promover melhora da qualidade seminal, o reprodutor foi submetido a um tratamento que incluía a utilização de 50 ml de Botumix Garanhão Plus^{®1} (composto vitamínico contendo L-carnitina, selênio e zinco) associado a 18 gramas de pentoxifilina SID por via oral e 0,05 mg de Fertagyl^{®2} (Gonadorelina) BID por via intramuscular durante 20 dias.

Em 2017, Sancier-Silva comprovou a eficiência da administração de 17mg/kg BID de pentoxifilina em garanhões. Segundo o estudo, os equinos tratados com o fármaco tiveram uma maior motilidade total, além de peroxidação lipídica, mecanismo de apoptose e defeitos espermáticos diminuídos.

A pentoxifilina e a L-carnitina foram descritas por estarem relacionadas à motilidade espermática em ratos, além da L-carnitina estar atrelada à glicoconjugação envolvida entre espermatozoide e zona pelúcida nestes animais, influenciando na fertilidade do macho (ALIABADI; KARIMI; TALAEI-KHOZANI, 2013). A administração oral de L-carnitina foi capaz de aumentar a qualidade espermática de garanhões quando administrada na dose de 15 g SID durante 120 dias (LIMA, 2003).

Em um estudo realizado por Contri e colaboradores (2011), a suplementação com substâncias antioxidantes não teve efeito na qualidade seminal, entretanto, os autores ressaltaram que a dose utilizada na pesquisa provavelmente é inferior à

¹ Botumix Garanhão Plus – Botupharma, Botucatu, SP.

² Fertagyl – MSD Saúde Animal, São Paulo, SP.

necessidade dietética dos garanhões. A concentração das substâncias presentes no Botumix^{®3} Garanhão Plus são superiores às fornecidas na pesquisa.

2.2.4 Manejo sanitário

O manejo sanitário é realizado periodicamente em todo rebanho, onde se aplicam vacinas contra a Raiva, Encefalomyelitis equina leste e oeste, Influenza equina, Herpesvírus equino tipo 1 e 4 e Tétano anualmente, Leptospirose a cada 6 meses e ainda, nas éguas prenhes é realizado protocolo contra Herpesvírus tipo 1 e 4 no 5º, 7º e 9º mês de gestação. A aplicação de vermífugo no rebanho era realizada a cada dois meses com rotação de princípio ativo. Os potros iniciavam o protocolo de vacinação e antiparasitário a partir com 6 meses de idade.

2.3 ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

No decorrer do estágio realizado na Central Equina de Reprodução foi possível acompanhar diversos procedimentos relacionados às biotecnologias aplicadas à reprodução equina, os quais estão descritos na tabela abaixo.

Tabela 1 - Atividades desenvolvidas na CER.

Atividade	N	(continua) %
Controle folicular	2530	67,32
Diagnóstico de gestação	33	0,88
Avaliação gestacional	561	14,93
Antibioticoterapia intrauterina	3	0,08
Lavado uterino terapêutico	29	0,77
Inseminação artificial com sêmen refrigerado/fresco	21	0,56
Inseminação artificial com sêmen congelado	11	0,29
Colheita de embrião	38	1,01
		(continuação)
Transferência de embrião	65	1,73
Colheita e manipulação de sêmen	24	0,64

³ Botumix

Congelação de sêmen	2	0,05
Colheita de sêmen da cauda do epidídimo	1	0,03
Tratamento uterino com ozônio	39	1,04
Atendimento cirúrgico	2	0,05
Atendimento clínico	10	0,27
Exame de compra de receptoras	25	0,67
Coleta de sangue e resenhas	78	2,08
Vermifugação e vacinação	259	6,89
Coleta de cultura e antibiograma uterinos	8	0,21
Coleta de citologia uterina	7	0,19
Aspiração folicular	4	0,11
Utilização de implante intravaginal de P4	8	0,21
TOTAL	3758	100

Fonte: Arquivo pessoal.

2.3.1 Manejo de égua problema

Conforme descrito por LeBlanc e McKinnon (2011), uma égua é considerada “problema” quando, mesmo que em condições ideais de manejo reprodutivo e sendo submetida à garantias férteis, não é capaz de conceber, perde a gestação após 60 dias de prenhez ou não apresenta um ciclo estral normal.

A endometrite é a maior causa de infertilidade e subfertilidade em éguas, sendo caracterizada pelo desenvolvimento de uma resposta inflamatória endometrial classificada por sua origem infecciosa ou não infecciosa (COLBERN et al., 1987; TROEDSSON, 2011). Dentre os fatores que predispõe a endometrite encontram-se: falha em conceber um embrião ou gestar em 3 ciclos seguidos utilizando um macho fértil, alterações anatômicas e perda da contratilidade uterina (FERRIS, 2016).

Alterações reprodutivas como acúmulo de líquido intrauterino e edema exacerbado foram observadas em éguas doadoras e receptoras durante o estágio. Assim, essas fêmeas passavam por um manejo específico, a fim de diagnosticar e tratar possíveis alterações reprodutivas que pudessem interferir nos índices de fertilidade do programa.

2.2.1.1 Diagnóstico

O diagnóstico das éguas era estabelecido pela associação de diferentes fatores, dentre eles o histórico da fêmea, alterações anatômicas e avaliação ultrassonográfica.

O histórico da fêmea é importante para iniciar-se o diagnóstico de uma possível patologia. Segundo Zent (2011), a raça, idade, passado reprodutivo, performance atlética, manejo alimentar e sanitário são importantes na avaliação de possíveis interferências na habilidade reprodutiva das éguas.

A avaliação das éguas consideradas “problemas” era realizada diariamente ou conforme a necessidade individual, para que o avanço do quadro clínico fosse observado. A utilização de imagens ultrassonográficas é capaz de mostrar o crescimento folicular e alterações ovarianas, estimar o estágio do ciclo estral pelo aspecto uterino, diagnosticar gestações, realizar sexagem fetal e avaliar possíveis patologias uterinas (PYCOCK, 2011).

Segundo Abd-El-Razek e colaboradores (2019), a ultrassonografia é uma ferramenta indispensável para o diagnóstico de endometrite, sendo capaz de diagnosticar 70% dos casos de endometrite através da avaliação ultrassonográfica uterina. Dentre os fatores avaliados nas imagens estão: espessamento da parede uterina, presença de edema endometrial e fluído intrauterino (ABD-EL-RAZEK et al., 2019).

Através das evidências encontradas no histórico e na avaliação ultrassonográfica (edema exacerbado, presença de fluído intrauterino ou pontos hiperecóticos na mucosa uterina), eram coletadas amostras para realização de citologia, cultura e antibiograma dos animais com suspeita de endometrite.

A associação entre citologia endometrial, cultura e antibiograma era realizada a fim de se diagnosticar se as fêmeas apresentavam endometrite, e qual sua origem: infecciosa ou não infecciosa. Todas as coletas de amostras eram realizadas durante o estro, quando os animais apresentavam edema e crescimento folicular. Durante o estro, as defesas uterinas encontram-se no potencial máximo, uma vez que, estão preparadas para receberem o sêmen do garanhão. Assim, se neutrófilos ou bactérias são encontrados durante este período, indicam um problema existente (LEBLANC, 2011).

Previamente citologia endometrial e cultura, as éguas passavam por uma higienização da região perineal com utilização de clorexidina 2% e água, a fim de minimizar as chances de contaminação do aparelho reprodutor interno e da amostra.

2.2.1.1.1 Citologia endometrial

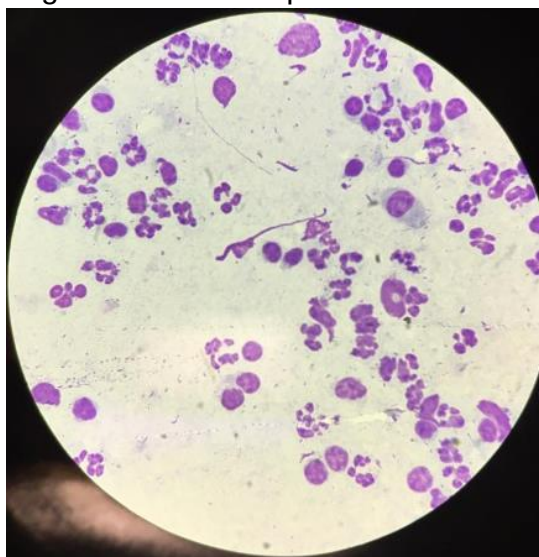
A endometrite é caracterizada pela mobilização de neutrófilos para o lúmen uterino em resposta a um agente inflamatório, podendo utilizar-se da citologia endometrial para diagnóstico da patologia (SILVA-RUA et al., 2016). A citologia é um método rápido para observar-se a reação inflamatória endometrial, e pode ser utilizada como diagnóstico inicial de endometrite, até que se obtenham os resultados da cultura para determinação da etiologia (FERRIS, 2016). Segundo LeBlanc (2011), é uma ferramenta rotineiramente utilizada, entretanto, alguns patógenos não estão relacionados ao desenvolvimento de endometrite com diagnóstico citológico, sendo imprescindível a associação do histórico clínico e outros métodos diagnósticos como a cultura microbiológica.

A coleta da amostra citológica era realizada com auxílio de um coletor citológico uterino estéril para éguas. Introduzia-se o coletor na cérvix da fêmea com auxílio do dedo indicador, após tracionava-se a proteção externa do coletor e realizava-se um movimento de rolagem com a escova citológica, assim, protegia-se novamente a escova e retirava-se o coletor do útero do animal. Este procedimento era realizado a fim de minimizar a coleta de possíveis neutrófilos que não estivessem no endométrio e sim na vagina da égua.

Após a coleta, rolava-se a escova com o material endometrial em uma lâmina de ponta fosca, sem que houvesse reposição celular. Com auxílio de uma mesa aquecedora à 37°C secava-se a amostra e após corava-se com auxílio de corante Panótico rápido⁴, retirava-se o excesso com água e deixava-se secar novamente o material sob a mesa aquecedora.

⁴ Panótico rápido – Laborclin, São Paulo, SP.

Figura 4 - Citologia endometrial apresentando inflamação severa.



Fonte: Arquivo pessoal.

A análise da lâmina era realizada com auxílio de microscópio, utilizando aumento de 1000x com óleo de imersão. A técnica utilizada para contagem celular foi descrita por Riddle, LeBlanc e Stromberg (2007), a qual contava-se o número de polimorfonucleares (PMNs) presentes em 10 campos da lâmina, realizando uma média do número entre o total dos campos e considerando 0-2 PMNs uma citologia normal, 2-5 PMNs inflamação moderada, >5 PMNs inflamação severa do endométrio. Contudo, quando a lâmina não se apresentava uniforme, optava-se pela contagem de 300 células totais, considerando a presença de 2% de PMNs resultado positivo para endometrite (KOZDROWSKI et al., 2015).

Segundo Walter e colaboradores (2012), o número de neutrófilos encontrados na citologia uterina de éguas pode ser relacionado à cultura positiva para *Streptococcus* β -hemolítico, sendo os patógenos mais comuns causadores de endometrite seguido pela *Escherichia coli* (KATILA, 2016). Já, em éguas com histórico de infertilidade há 2 anos, testadas para endometrite bacteriana causada por *Chlamydia abortus*, observou-se apenas um animal com inflamação endometrial visível através de citologia, demonstrando que essa bactéria raramente vai gerar resposta citológica positiva (NERVO et al., 2019).

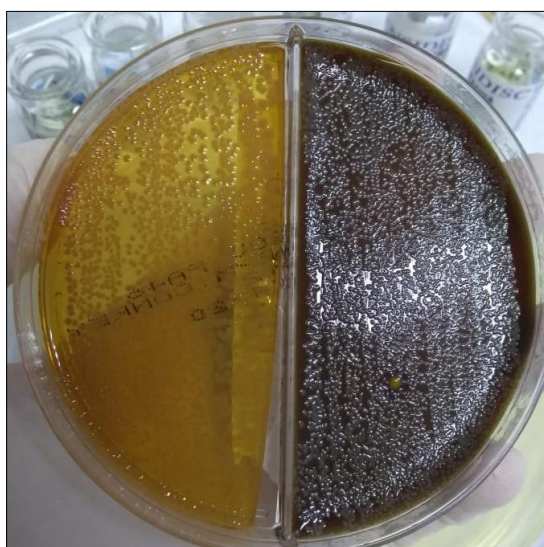
2.2.1.1.2 Cultura e antibiograma

A cultura e o antibiograma eram realizados exclusivamente nas éguas doadoras de embrião devido o seu custo para a central. Assim, éguas receptoras com histórico de endometrite recorrente e perda embrionária precoce após 2 ciclos seguidos eram descartadas. O material para cultura era coletado com auxílio de coletor de swab estéril para éguas, o qual era inserido no útero com auxílio do dedo indicador, e submetido ao movimento de rolagem após a retirada da proteção externa do coletor, assim como para coleta da amostra citológica. Após, protegia-se a amostra novamente e retirava-se o coletor do trato reprodutivo da fêmea.

A amostra era fixada em uma placa de Petri contendo Ágar Sangue e Ágar MacCokey^{®5}. Inicialmente o swab era rolado na porção da placa contendo o Ágar Sangue, e após, no Ágar MacConkey, uma vez que, o segundo é capaz de inibir o crescimento de bactérias gram-positivas podendo alterar o resultado da cultura.

A placa de petri era devidamente identificada com o nome da égua e data de coleta e então armazenada em uma estufa mantida à 37 °C durante 48 horas, sendo as amostras examinadas à cada 48 horas, conforme descrito por Ricketts (2011) (Figura 5). Após as 48 horas, observavam-se as características macroscópicas do crescimento microbiológico e seus aspectos morfológicos.

Figura 5 - Crescimento bacteriano após 48 horas de incubação.

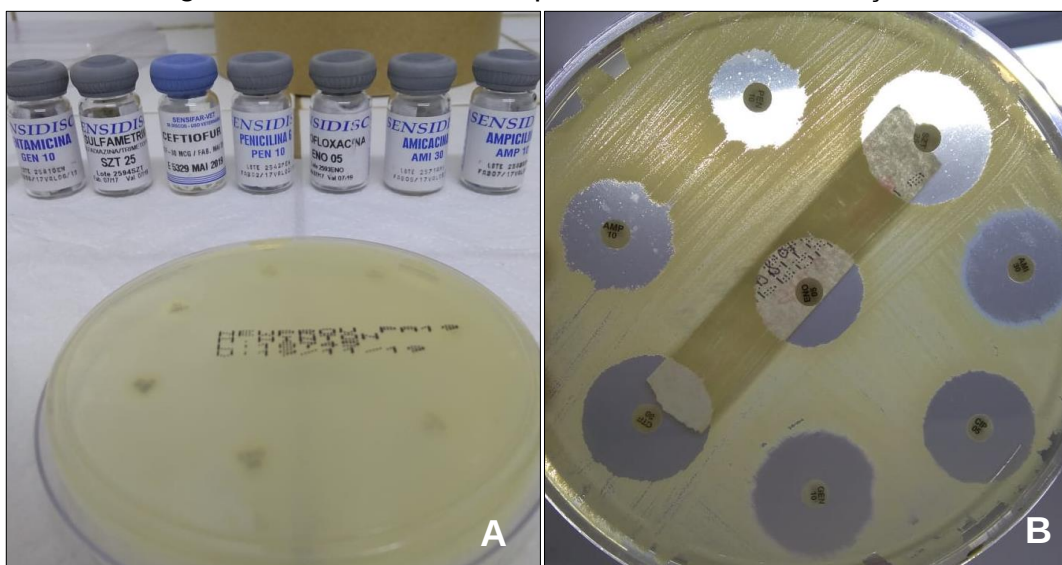


Fonte: arquivo pessoal.

⁵Ágar sangue e Ágar MacConkey – NewProv, Pinhais, PR.

Após 48 horas de crescimento bacteriano, com auxílio de uma alça de inoculação, coletava-se diferentes porções do crescimento bacteriano e diluía-se em solução salina conforme o padrão de turbidez 0,5 da escala nefelométrica de McFarland obtida no Nefelobac^{®6}. Assim, aplicava-se com auxílio de um swab estéril a solução contendo os microorganismos em uma placa de petri com meio Mueller Hinton. Após, utilizando uma pinça, colocavam-se os discos contendo os agentes antimicrobianos na superfície da placa, que era mantida à 37°C durante 24 horas. Dentre os fármacos testados encontravam-se ampicilina, ceftiofur, enrofloxacin, gentamicina, ciprofloxacina, amicacina, sulfadiazina associada à trimetoprim e penicilina (Figura 6).

Figura 6 - (A) Kit utilizado na realização do antibiograma. (B) Resposta aos agentes antimicrobianos após 24 horas de incubação.



Fonte: Arquivo pessoal.

Em 24 horas após a aplicação dos discos contendo os antibióticos, observava-se a resistência do patógeno ao agente farmacológico através da mensuração do raio do halo formado em torno do disco. Assim, determinava-se a susceptibilidade e consequentemente o tratamento de cada animal.

A cultura é importante para o diagnóstico de endometrite, entretanto, ressalta-se a importância da associação dos outros métodos diagnósticos como histórico clínico, citologia endometrial e ultrassonografia, uma vez que, as contaminações ambientais das amostras são comuns, devendo-se investigar se os microorganismos

⁶ Nefelobac – Probac, São Paulo, SP.

presentes são realmente patogênicos para a espécie (KATILA, 2016). Entretanto, é comum observar-se resultados negativos nos casos de endometrite crônica, sendo necessária a realização de PCR para identificação do DNA bacteriano nos casos de éguas com histórico de infertilidade (NERVO et al., 2019).

A observação da susceptibilidade dos patógenos aos fármacos é essencial para que se obtenha um tratamento de sucesso, uma vez que, a resistência bacteriana está cada vez mais presente na rotina clínica (BONEV; HOOPER; PARISOT, 2008). Em uma pesquisa realizada por Silva e colaboradores (1999) foi ressaltada a importância do reconhecimento do patógeno causador de endometrite, uma vez que nenhum fármaco que agiu de forma uniforme a diferentes microrganismos.

2.2.2.1 Principais tratamentos utilizados na CER

Os tratamentos eram programados de acordo com os sinais clínicos de cada égua, ainda que os resultados da cultura e antibiograma não estivessem concluídos. Isso acontecia para que o ciclo das éguas fosse aproveitado, e que durante o próximo ciclo estral, as mesmas pudessem ser colocadas no programa de transferência de embriões no caso das éguas receptoras.

Os principais tratamentos utilizados na CER eram os lavados uterinos com ringer ozonizado ou com DMSO diluído a 10% em ringer, entretanto, algumas éguas doadoras com histórico de infertilidade recebiam infusões de antibióticos conforme o resultado do antibiograma. Todas as éguas doadoras submetidas à lavados uterinos ou que tivessem histórico de acúmulo de fluido intrauterino eram submetidas a um protocolo com administração de 20 UI de ocitocina IM a cada 4 horas até o 3º dia após a ovulação.

Os tratamentos sempre eram realizados durante o período do estro das éguas. Na fase folicular as fêmeas apresentam uma maior resposta imunológica em decorrência dos maiores níveis de estrógeno quando comparados à progesterona (COLBERN et al., 1987). Além disso, neste período a cérvix encontra relaxada e observa-se uma maior defesa uterina, com aumento de linfócitos, fator de necrose tumoral, interleucinas e neutrófilos (LYLE, 2011).

2.2.2.1.1 Ozonioterapia

As éguas, principalmente as receptoras, que apresentavam alterações ultrassonográficas como edema >3 segundo à escala descrita por McCue, Scoggin e Lindholm (2011) e fluído uterino, eram submetidas ao tratamento com ringer lactato ozonizado, o qual era obtido por meio de uma infusão de 50 mcg de ozônio durante 10 minutos dentro de cada litro de soro.

Inicialmente era infundido um litro de ringer lactato através de uma sonda uterina, após, o mesmo era recuperado e era infundido três litros de ringer ozonizado separadamente, o quais permaneciam no útero durante 10 minutos cada um. Ao recuperar o ultimo litro de ringer ozonizado, era mantido no útero de cada animal cerca de 300 microlitros da solução até o próximo lavado uterino. O tratamento era realizado durante três dias, uma vez ao dia, ou até que ocorresse a ovulação. Éguas em diestro não recebiam tratamento.

Figura 7 - Processo de ozonização do ringer lactato.



Fonte: Arquivo pessoal.

O tratamento tinha como objetivo tratar endometrite, ainda que, nem sempre houvesse diagnóstico citológico ou cultura bacteriana, o quadro de endometrite era determinado pelo edema e presença de fluído. No entanto, a observação de pouca quantidade de fluído intrauterino e edema 3 pode ocorrer no estro sem envolvimento patológico (MCCUE; SCOGGIN; LINDHOLM, 2011). Mesmo assim, o veterinário

responsável optava pelo tratamento visto que a ozonioterapia, ainda que utilizada em casos de endometrites infecciosas não favorece a formação de resistência bacteriana.

A utilização de ozônio como terapia alternativa na medicina veterinária ainda está sendo desenvolvida e necessita de estudos para que sejam estipuladas doses e possíveis efeitos adversos no organismo, entretanto, se conhece o papel antioxidante, antimicrobiano e imunoestimulante da molécula (NASCENTE et al., 2019; SCIORSCI et al., 2020).

A molécula de ozônio é capaz de interagir com moléculas orgânicas e inorgânicas, gerando sua oxidação completa. Reage através de ligações biológicas com outras substâncias de ligações duplas e triplas como proteínas, aminoácidos, ácidos graxos e outras partes da membrana celular (REPCIUC; CRECAN; OANA, 2016).

O efeito antimicrobiano da água ozonizada foi evidenciado por Giuliani e colaboradores (2018), a fim de criar uma alternativa à resistência aos antimicrobianos. Os autores testaram a água ozonizada contendo 4000 mcg de ozônio frente a diferentes bactérias como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* sp., *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, observando atividade bactericida em todas amostras com aplicação da solução durante 40 minutos (GIULIANI et al., 2018).

Os principais agentes causadores da endometrite bacteriana são *Streptococcus equi* spp. *zooepidemicus*, *Staphylococcus* sp., *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella pneumoniae* (TROEDSSON, 2011). Sendo assim, a ozonioterapia torna-se uma alternativa de tratamento para a patologia, ainda que se façam necessárias maiores pesquisas relacionadas ao tempo de ação da molécula e concentração inibitória mínima.

Em vacas, a insuflação uterina com ozônio foi capaz de reduzir a endometrite subclínica e aumentar a eficiência reprodutiva pós-parto dos animais. Após a ozonioterapia observou-se a diminuição dos neutrófilos presentes na citologia endometrial, além da diminuição de 23 dias no intervalo entre o parto/concepção (ESCANDÓN et al., 2020).

Das éguas tratadas com ringer ozonizado durante o período de estágio, 60% responderam positivamente ao tratamento e encontram-se gestantes. Entretanto, devido os tratamentos serem realizados apenas quando elas estivessem

apresentando um edema alto, comumente as fêmeas ovulavam antes que os três dias seguidos de tratamento fossem concluídos.

2.2.2.1.2 Lavagem uterina com DMSO

Após a ovulação, as éguas doadoras com histórico de endometrite persistente pós-cobertura, ou ainda, que apresentavam edema ou fluído intrauterino eram submetidas ao lavado uterino com solução de dimetilsulfoxido (DMSO) 10%, diluída em ringer lactato. Inicialmente as fêmeas eram lavadas com dois litros de ringer lactato puro, e após, com dois litros da solução de DMSO durante 3 dias.

O DMSO é um solvente utilizado desde 1950 em humanos e animais. Possui ação analgésica, anti-inflamatória, antifúngica e antibacteriana, além de possuir alta capacidade de penetração de membrana (KATILA, 2016²). Segundo Ley e colaboradores (1989), infusões de 60 ml de DMSO diluído entre 10 e 30% no útero de éguas não causam qualquer alteração histológica uterina, podendo ser utilizadas no tratamento de endometrite.

Esse tratamento tinha como objetivo reduzir a reação inflamatória causada pelo sêmen no trato reprodutivo da fêmea, minimizando a produção de fluído e edema, melhorando a eficiência reprodutiva das éguas. Além disso, o DMSO nas concentrações de 20% e 10% demonstrou-se eficaz no controle do crescimento bacteriano de bactérias como *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa*, respectivamente (FARIAS et al., 2018).

2.2.2.1.3 Tratamento com ocitocina

Tanto as éguas submetidas ao lavado uterino com ozonioterapia quanto as que recebiam o tratamento com solução de DMSO 10% descritos nos itens acima, recebiam aplicação de 20 UI de ocitocina a cada 4 horas até 3 dias após a ovulação. Além disso, algumas doadoras com histórico de acúmulo de fluído intrauterino passavam a receber ocitocina a cada 4 horas, a fim de melhorar o ambiente uterino e consequentemente as taxas de recuperação embrionárias.

A ocitocina é um hormônio capaz de aumentar os índices de fertilidade, uma vez que, auxilia na contração miometrial e consequente limpeza física uterina (FARIA; GRADELA, 2010). Contudo, a meia-vida da ocitocina no organismo das éguas é de 6

à 8 minutos e as contrações uterinas por ela promovidas duram cerca de 30 minutos, sendo necessárias aplicações recorrentes a fim de promover diversas contrações para realização de limpeza mecânica do útero (PACCAMONTI et al., 1999).

2.2.2.1.4 Tratamento para folículo anovulatório hemorrágico

O folículo anovulatório hemorrágico (HAF) consiste em um folículo com tamanho pré-ovulatório (>35 mm) incapaz de colapsar liberando o oócito, ou seja, ovular (CRABTREE, 2020). Cerca de 5% das éguas desenvolvem HAF durante a temporada reprodutiva, e destas, 20% ocorre durante os períodos transicionais, ou seja, no início da primavera e início do outono (GINTHER et al., 2007).

Existem duas formas de HAF em equinos, folículos anovulatórios persistentes (PAFs) os quais persistem durante diversos ciclos, sem que ocorra luteinização e interferência nos demais ciclos, regredindo de forma espontânea, e folículos não rompidos luteinizados (LUFs), considerados funcionais e capazes de secretar progesterona (MCCUE; SQUIRES, 2002). Segundo McCue e Squires (2002), 85% das patologias foliculares consistem na formação de estruturas luteais anovulatórias.

Figura 8 - Folículo anovulatório hemorrágico (HAF).



Fonte: Arquivo pessoal.

O tratamento para que ocorra luteólise destas estruturas ainda não está totalmente esclarecido. Alguns autores sugerem a administração de prostaglandina em altas doses para ocorra a regressão, contudo, não irão responder da mesma

maneira à administração de prostaglandina como um corpo lúteo normal (CRABTREE, 2020).

As éguas doadoras com histórico de desenvolvimento de HAF eram previamente tratadas com Sulpirida 20 mg sid desde a indução da ovulação até o momento da ovulação a fim de que ocorresse um crescimento folicular normal, sem formação de qualquer patologia.

Segundo Mari et al. (2009), a sulpirida é um fármaco antagonista dopaminérgico capaz de aumentar o número de receptores para FSH e LH, além de estimular a atividade ovariana de éguas em anestro profundo. Com isso, a utilização de sulpirida no caso das éguas com histórico de desenvolvimento de HAF tinha o intuito de estimular a luteinização pelo aumento dos receptores de LH, na tentativa de impedir o estabelecimento do folículo anovulatório.

Entretanto, em um estudo realizado por Ginther e colaboradores (2006), fêmeas que desenvolveram HAF não apresentaram divergência entre as concentrações de FSH e LH quando comparadas ao grupo controle. O desenvolvimento de HAF foi associado apenas a uma maior concentração de estradiol e uma maior vascularidade folicular previamente ao dia em que se esperava que ocorresse a ovulação (GINTHER et al., 2006).

Na CER, as éguas que formassem um HAF ganhavam um tempo de descanso de 7 dias, onde não recebiam qualquer tipo de fármaco ou manipulação. Após, eram avaliadas para observação da atividade ovariana e uterina, evidenciando possível regressão do folículo patológico, ou ainda, atividade funcional do mesmo. Assim, nos casos em que fosse observada uma massa luteal funcional, secretora de progesterona, através da ausência de edema uterino, optava-se pela administração de 5 mg de dinoprost ou 0,25 mg de cloprostenol por via intramuscular a cada 5 dias até a regressão completa da estrutura.

2.3.2 Transferência de embrião

A transferência de embrião era o principal serviço prestado pela central, uma vez que, se tratavam de éguas que possuíam alto valor zootécnico, além de pertencerem a raças que permitam o número ilimitado de embriões registrados por égua doadora no caso do Puro-Sangue Árabe, conforme mencionado no Regulamento do Serviço de Registro Genealógico do Cavalo Árabe (2019), ou que

permitam o registro de 3 embriões por ano civil no caso das doadoras Puro-Sangue Lusitano, conforme descrito no Regulamento do Livro Genealógico do Cavalo da Raça Lusitana (2016).

2.3.1.1 Seleção de receptoras

As receptoras de embriões eram selecionadas por diferentes aspectos. Inicialmente, prévio a compra das mesmas, as éguas passavam por uma inspeção, onde era avaliada a altura mínima de cernelha de 1 metro e 40 centímetros e a dentição do animal, a fim de determinar a idade, onde não eram selecionadas éguas com mais de 10 anos. Pesquisas sugerem que a transferência de embriões de doadoras grandes para receptoras menores possa gerar uma limitação no crescimento fetal, gerando um potro de estatura inferior ao potencial genético da doadora, além disso, sugere-se que éguas receptoras tenham entre 3 e 15 anos (MCCUE; SQUIRES, 2015).

Após era realizada a palpação retal e ultrassonografia para avaliação do aparelho reprodutor da fêmea, onde se observavam os ovários, mucosa uterina, presença de cistos ou possíveis alterações como líquido uterino. Realizava-se também a inspeção da genitália externa, onde se avaliava a conformação vulvar e perineal. Uma palpação vaginal era realizada para que a integridade da cérvix fosse aferida, e se a mesma encontrava-se condizente com o que havia sido observado na ultrassonografia uterina.

Segundo McCue, Scoggin e Lindholm (2011), durante o estro espera-se observar edema uterino, crescimento folicular e cérvix relaxada. Já o edema uterino ou relaxamento cervical durante o diestro podem indicar possíveis patologias como endometrite e incompetência cervical, uma vez que, a cérvix só encontra relaxada durante o estro e o parto (TROEDSSON, 2011; LEBLANC; MCKINNON, 2011).

Durante o programa de transferência de embriões, as receptoras eram organizadas conforme o número de embriões esperados a cada semana, de forma programada. Utilizavam-se éguas em D2 até D8, sendo D0 o dia da ovulação ou da aplicação de progesterona, no caso das receptoras de ciclo artificial. Com isso, utilizava-se um quadro onde eram relacionadas todas as receptoras disponíveis no dia da transferência e as mesmas eram examinadas para observação das características uterinas e ovarianas.

A seleção da receptora respeitava características como o dia da ovulação em relação à doadora, dando-se preferência para éguas em D5, qualidade do ciclo estral, presença e qualidade do corpo lúteo, tônus uterino, tônus cervical, ausência de edema uterino e tamanho da receptora em relação à doadora (MCCUE; SQUIRES, 2015). Segundo Lopes (2015) as receptoras podem ser utilizadas com segurança entre D4 e D7, entretanto, esse período pode ser prolongado pela utilização de fármacos como a progesterona.

2.3.1.2 Colheita do embrião

O embrião era colhido através de lavagem uterina utilizando uma sonda bivona, com via simples. Inicialmente, eram retiradas todas as fezes presentes no reto da égua, após, com auxílio de uma corda, a cauda do animal era fixada e protegida com uma bandagem, diminuindo a contaminação pelo contato dos pelos do animal com a vulva. Assim, realizava-se a higienização da vulva e do períneo com digliconato de clorexidina 2% e o enxague com água corrente, após, a mesma era secada e era aplicado gel lubrificante na rima dos lábios vulvares.

Figura 9 - Colheita de embrião equino.



Fonte: Arquivo pessoal.

O médico veterinário que iria realizar a coleta de embrião invertia uma luva de palpação retal para que a contaminação uterina fosse reduzida. Assim, direcionava a sonda bivona através da cérvix e inflava o cuff com 50 mL de ar para que a mesma

fosse fixada no útero. A mão era retirada da vagina e introduzida no reto do animal. Simultaneamente, um assistente introduzia 1 litro de ringer lactato aquecido à 37°C na sonda, e quando o veterinário alertasse que o útero estava completamente distendido, retirava-se o soro acoplado e colocava-se o filtro de embrião para que o ringer fosse retirado. O procedimento repetia-se até que o embrião fosse recuperado, ou por no mínimo 5 vezes. Após a coleta, sendo ela positiva ou não, era administrado 250 mg de Cloprostenol ou 5 mg de Dinoprost por via IM.

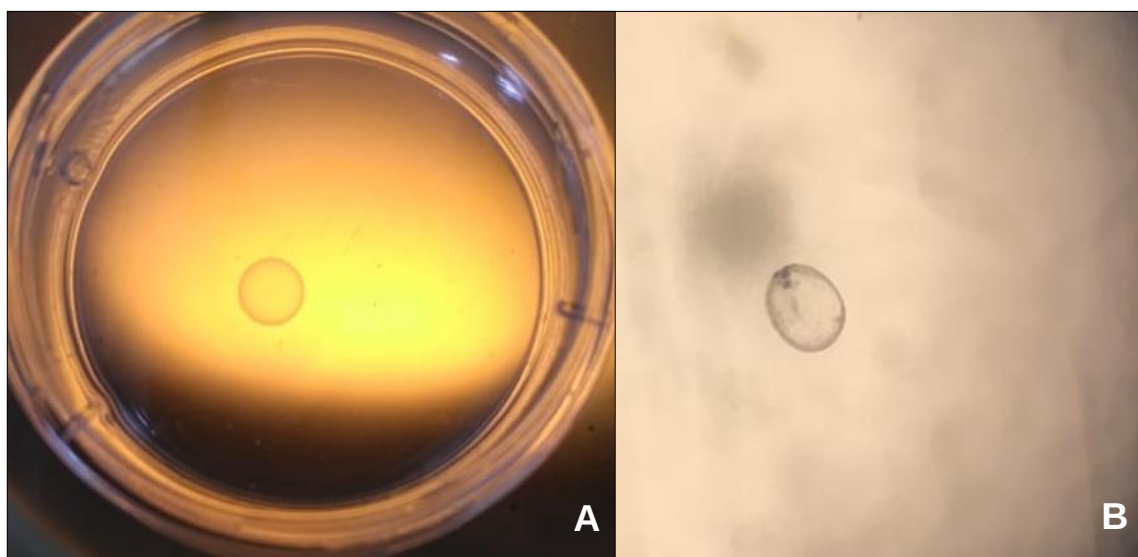
2.3.1.3 Manipulação do embrião

Com a coleta, encaminhava-se ao laboratório o filtro contendo cerca de 15 ml de ringer remanescentes do lavado, transferia-se esse líquido à uma placa de Petri descartável com traços verticais previamente realizados a fim de facilitar a busca pelo embrião. A localização do embrião era realizada com auxílio de estéreomicroscópio com aumento de 10 vezes.

A manipulação do embrião variava conforme a classificação da sua qualidade morfológica e integridade. Assim, o embrião era avaliado conforme o estágio de desenvolvimento, tamanho, formato, integridade da zona pelúcida, uniformidade dos blastômeros, degenerações, anormalidades lesões capsulares ou de zona pelúcida. Através da qualidade embrionária, era classificado entre 4 graus, sendo 1 excelente e 4 degenerado (MCCUE, SQUIRES, 2015).

Os embriões eram manipulados com auxílio de manipulador e palhetas estéreis de 0,5 ou 0,25 ml, conforme o diâmetro do embrião coletado. Os embriões que apresentassem debris celulares eram higienizados numa placa de Petri descartável, de 100 x 20 mm, onde colocavam-se 5 gotas de meio de holding, e conforme a troca de gotas, trocava-se a palheta estéril simultaneamente a fim de minimizar possível reação inflamatória causada no útero das receptoras após a transferência. Nos casos em que fosse visualizada alguma lesão capsular, o embrião era colocado em uma placa de Petri de 35 x 10 mm, imerso em meio holding por cerca de 12 horas, a fim de reestabelecer a integridade. Já nos casos em que o embrião coletado era considerado grau 1, sem debris ou qualquer sujidade aderida, ele era diretamente transferido para a placa de Petri de 35 x 10 mm contendo o meio de manutenção embrionária.

Figura 10 - (A) Embrião grau 1. (B) Embrião grau 2.

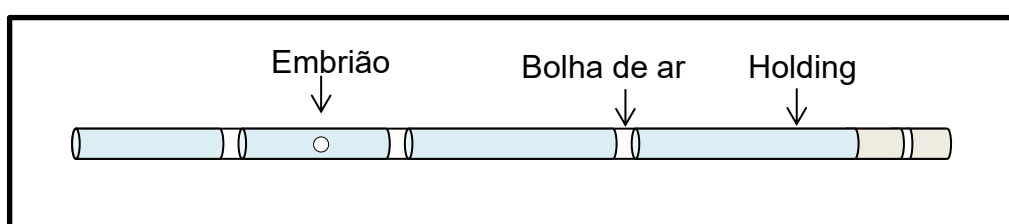


Fonte: Arquivo pessoal.

2.3.1.4 Inovulação

O embrião era inovulado com um inovulador de embrião equino, protegido com uma bainha e uma camisa sanitária. Acoplava-se ao inovulador uma palheta de 0,25 ou 0,5 ml que armazenava o embrião entre gotas de holding e bolhas de ar (Figura).

Figura 11 - Ilustração do envasamento do embrião utilizando palheta estéril.



Fonte: Arquivo pessoal.

Ao realizar-se a inovulação do embrião, evitava-se a manipulação cervical, a fim de minimizar a secreção de prostaglandinas endógenas, contudo, quando as éguas eram muito manipuladas durante a transferência, optava-se pela administração de progesterona ou ainda, dexametasona. A progesterona pode ser utilizada para melhorar-se o ambiente uterino, controlando o tônus e a secretabilidade das glândulas endometriais, já os anti-inflamatórios minimizam a secreção de prostaglandinas,

sendo estas, responsáveis pela realização da luteólise (LOPES, 2015; MCCUE; SQUIRES, 2015).

Na central, todas as colheitas de embrião eram realizadas em D8, quando embriões de sêmen fresco ou refrigerado, e em D9 em embriões de sêmen congelado. Assim, eram geralmente classificados como blastocistos iniciais ou blastocistos expandidos, apresentando de 150 – 300 μm (MCCUE; SQUIRES, 2015). Éguas idosas podem apresentar um desenvolvimento embrionário retardado, sendo recomendada a recuperação do embrião entre D8 e D9 (SQUIRES;MCCUE;VANDERWALL, 1999).

Grande parte dos embriões transferidos na central eram encaminhados por outros médicos veterinários, assim, chegavam na central armazenados em um criotubo contendo holding ou envasados em palhetas estéreis de 0,25 nos casos de embriões de ICSI ou clones. Das 65 transferências de embriões acompanhadas durante o estágio, 74% confirmaram a gestação, e destas, 83% foram transferidas para receptoras entre D4 e D6 após a ovulação, comprovando a indicação de MC Cue e Squires (2015) que D6 e D5 sejam as melhores escolhas para TE.

Figura 12 - Confirmação de gestação de embrião D12.



Fonte: Arquivo pessoal.

A inovulação de blastocistos expandidos, maiores que 1000 μm , coletados após o D9, são incapazes de serem transferidos com a utilização de palhetas estéreis, devido o seu diâmetro. Assim, estes embriões, conforme descrito por McCue e Squires (2015), podem ser inovulados com auxílio de uma pipeta de inseminação artificial para éguas acoplada à uma seringa de 1 ou 3 ml. Através dessa técnica, o embrião também

é envasado com utilização de holding, formando espaços contendo o meio para manutenção embrionária e bolhas de ar, similar ao descrito na Figura 11.

2.3.3 Coleta e manipulação de sêmen

As coletas de sêmen eram realizadas conforme a solicitação de doses, nas segundas, quartas e sextas-feiras, no período da manhã. O garanhão era direcionado ao local de coleta sempre pelo mesmo funcionário. Inicialmente o macho rufiava uma égua em estro, que era posicionada lateralmente ao manequim de coleta. Ao expor o pênis, o mesmo era higienizado com água morna para que o esmegma fosse retirado.

Para que a coleta fosse realizada, utilizava-se uma vagina artificial modelo Botucatu^{®7}. No interior da mesma eram colocados 4 litros de água aquecida a 60° C, uma mucosa plástica e um recipiente acoplado contendo um filtro onde o sêmen seria armazenado. Após a ejaculação, a válvula inferior da vagina era aberta para que parte da água fosse retirada. O recipiente contendo o sêmen era retirado e encaminhado ao laboratório para o mesmo fosse manipulado.

Inicialmente media-se o volume da amostra com auxílio de uma proveta e adicionava-se diluente Botu-Sêmen^{®8} na proporção 1:1, esperando-se 5 minutos para que o diluente pudesse agir. Após, com auxílio de lâmina e lamínula era estimada a motilidade espermática e a concentração espermática com auxílio de uma câmara de Neubauer. Na câmara era colocada uma amostra de sêmen diluída em água destilada, na proporção 1:20. Cinco quadrados de cada lado da câmara eram contados, e ao final, somados e divididos por 2 caso não apresentassem uma diferença maior que 10% entre o total de espermatozoides contados em cada um dos lados.

Após a separação das amostras para análise de motilidade e concentração espermática, transferia-se o sêmen da proveta para tubos falcon de 50 ml, onde adicionava-se na porção inferior, 3 ml de RedCushion^{®9}, meio coloidal de alta densidade para minimizar os efeitos deletérios que a centrifugação possa causar nos espermatozoides, e centrifugava-se a amostra à 1000 G durante 20 minutos. Após, retirava-se o pellet de espermatozoides que se encontrava entre o RedCushion[®] e o plasma seminal, e transferia-se os mesmos para outro tubo falcon de 50 ml. A dose

⁷ Vagina Artificial modelo Botucatu – Botupharma, Botucatu, SP.

⁸ Botu-Sêmen- Botupharma, Botucatu, SP.

⁹ RedCushion – Botupharma, Botucatu, SP.

de sêmen era então preparada com adição de diluente Botu-Sêmen Special^{®10} para que contenha no mínimo 1 bilhão de espermatozoides móveis numa diluição de 50×10^6 de espermatozoides por ml.

O sêmen era armazenado em um recipiente para transporte específico (BotuIA^{®11}) e colocado em uma caixa de isopor para transporte de sêmen (Botuflex^{®12}) contendo 2 gelos recicláveis. Como o volume de uma dose inseminante diluída desta forma fica em torno de 30 a 50 ml, outro frasco contendo água deve ser acondicionado dentro da caixa de transporte, visto que para que a caixa realize uma curva adequada até 5°C é necessário que o volume interno de solução esteja entre 150 e 200 ml.

Conforme descrito por Canisso et al. (2008), a diluição espermática ideal encontra-se na faixa dos 25×10^6 de espermatozoides por ml, entretanto, em alguns casos pode chegar à 100×10^6 , conforme o tempo de armazenamento desejado da amostra.

¹⁰ Botu-Sêmen Special - Botupharma, Botucatu, SP.

¹¹ BotuIA – Botupharma, Botucatu, SP.

¹² Botuflex – Botupharma, Botucatu, SP.

3 ESTÁGIO 2: DEPARTAMENTO DE REPRODUÇÃO FMVZ-UNESP/BOTUCATU

O estágio foi realizado no período de 01 de março de 2020 a 19 de março de 2020, sob orientação da Prof. Dra. Eunice Oba, no Departamento de Reprodução Animal, pertencente à Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP) no campus de Botucatu/SP, totalizando 174 horas. Durante este período pude acompanhar a rotina ambulatorial de reprodução animal de pequenos e grandes animais, incluindo casos clínicos, cirúrgicos e biotecnologias aplicadas à reprodução animal.

3.1 DEPARTAMENTO DE REPRODUÇÃO ANIMAL

O Departamento de Reprodução Animal é constituído por um ambulatório de grandes animais, um ambulatório de pequenos animais, um bloco cirúrgico de pequenos animais, um laboratório para realização de FIV e o laboratório de reprodução (CERAN). A rotina do departamento era desenvolvida por 6 médicos veterinários residentes e 5 estagiários curriculares. Os residentes e estagiários realizavam um rodízio entre as áreas semanalmente, sendo capaz o acompanhamento dos diferentes atendimentos reprodutivos ali prestados.

O ambulatório de pequenos animais era constituído por 3 consultórios, os quais possuíam uma estrutura básica para a realização de uma consulta clínica reprodutiva específica, contendo aparelho de ultrassonografia e microscópio para a realização de citologia vaginal. O bloco cirúrgico era completo, contendo sala de paramentação e limpeza, sala cirúrgica contendo mesa cirúrgica para pequenos animais e aparelho de anestesia inalatória, além de uma área reservada para o primeiro atendimento e estabilização dos neonatos, contendo cilindro de oxigênio e duas incubadoras.

O ambulatório de grandes animais era formado por dois troncos de contenção para equinos, um tronco de contenção para bovinos e uma área paralela, contendo um manequim para coleta de sêmen de bovinos e equinos. Ali era realizada a rotina diária, avaliando-se conforme a necessidade, as éguas ali estabelecidas para realização de experimentos de mestrado e doutorado, com auxílio de palpação retal e ultrassonografia. Ainda, conforme a necessidade era realizada a colheita de sêmen dos garanhões ali alojados e atendimento de animais externos que eram

encaminhados para o departamento. O departamento possuía 15 cocheiras e 9 piquetes para o alojamento dos animais utilizados em experimentos e os pacientes externos.

Figura 13 - (A) Manequim para coleta de sêmen. (B) Troncos de contenção para palpação de éguas.



Fonte: Arquivo pessoal.

3.2 ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

Durante o período de estágio, tive a oportunidade de acompanhar principalmente a rotina de grandes animais, incluindo palpação retal e ultrassonografia em éguas e vacas, coletas de sêmen equino e bovino, inseminações artificiais e colheitas de embrião. Além disso, alguns atendimentos clínicos de pequenos animais e projetos de pesquisa com criopreservação de embriões equinos e coleta e manipulação de sêmen equino.

Tabela 2 - Atividades e casos clínicos acompanhados no Departamento de Reprodução Animal FMVZ-UNESP/Botucatu.

Atividade	N	(continua)
		%
Controle folicular	114	51,1
Inseminação artificial em éguas	4	1,8
Limpeza de ferida	15	6,7
Coleta de sêmen equino	23	10,3
Coleta de embrião equino	4	1,8
Exame andrológico em garanhão	4	1,8

(continuação)

Uretroscopia em garanhão	1	0,4
Histeroscopia em égua	1	0,4
Congelação de sêmen equino	1	0,4
Coleta de sêmen fracionada em garanhão	3	1,3
Fistula uretral em garanhão	1	0,4
Cesárea em cadela	1	0,4
Atendimento de neonatos	6	2,7
Diagnóstico de gestação em cadela	1	0,4
Retirada de pontos em caninos	4	1,8
Piometra em cadela	1	0,4
Coleta de sêmen e IA em canino	1	0,4
Coleta de citologia vaginal em cadela	6	2,7
Palpação retal em vaca	25	11,2
Exame andrológico em touro	4	1,8
Balanopostite em touro	1	0,4
Degeneração testicular em touro	1	0,4
Coleta de sêmen bovino	1	0,4
Total	223	100,0

Fonte: Arquivo pessoal.

4 CASO CLÍNICO: HEMOSPERMIA EM GARANHÃO

A hemospermia é a condição onde o sêmen encontra-se contaminado com sangue. Este fato pode ser decorrente de diferentes causas relacionadas a patologias uretrais, tais como traumas e lacerações (VARNER et al., 2000). Segundo Varner e Schlafer (2015), a presença de sangue no ejaculado pode ser atribuída também por patologias como vesiculite, epididimite e orquite.

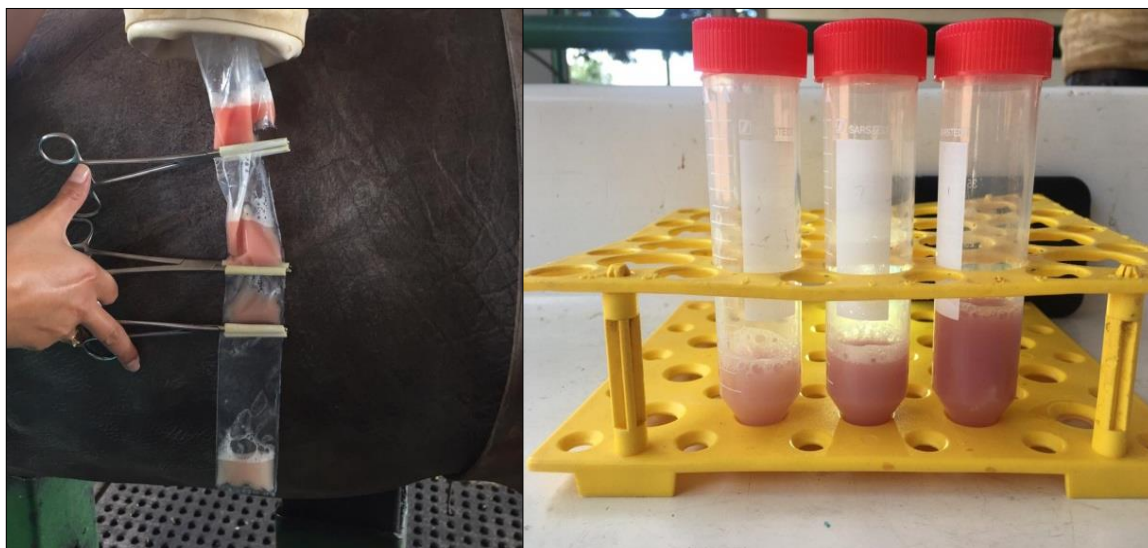
Um garanhão, Quarto de Milha, de 8 anos de idade, com 490 quilos, foi encaminhado ao Departamento de Reprodução Animal da FMVZ com a queixa principal de hemospermia. Segundo o veterinário responsável pelo encaminhamento, o animal era submetido à coleta de sêmen semanalmente, o qual se apresentava com aspecto sanguinolento. O garanhão já havia apresentado o mesmo quadro clínico há 2 anos, quando foi tratado para a presença de uma fístula uretral.

Inicialmente, foi realizado exame físico completo, observando os parâmetros dentro da normalidade. As mucosas encontravam-se róseas, tempo de preenchimento capilar 2, temperatura retal 38,2° C, frequências cardíaca e respiratória de 60 e 16, respectivamente, e motilidade gastrointestinal normal. Após, foi optado para que o sêmen do animal fosse colhido de forma fracionada, a fim de visualizar a porção seminal acometida, possibilitando localizar a possível lesão causadora da hemospermia no garanhão.

Conforme relatado por Oliveira et al. (2015), a coleta de sêmen fracionada auxilia no diagnóstico das patologias reprodutivas dos garanhões, pois nos casos de vesiculite seminal, diagnóstico diferencial para a hemospermia, a terceira fração do ejaculado encontra-se afetada. Segundo Andrade Junior (2017), quando todo sêmen coletado apresenta-se com aspecto sanguinolento, sugere-se sua origem uretral ou testicular.

Previamente ao animal ejacular, já era possível observar o sangramento uretral, comprovando a presença de alguma lesão na uretra distal. Com a coleta, o sêmen foi fracionado em 4 porções, entretanto, devido a semelhança de coloração entre as primeiras duas porções, as mesmas foram armazenadas no mesmo tubo Falcon de 50 ml.

Figura 14 - Sêmen fracionado após a coleta.



Fonte: Arquivo pessoal.

Após a coleta, foi realizada a análise do sêmen. O volume foi mensurado com auxílio de uma proveta, a concentração espermática foi realizada com auxílio de uma câmara de Neubauer, e a motilidade espermática foi obtida através de análise computadorizada de movimento espermático (CASA). Os dados obtidos foram listados na Tabela 3.

Tabela 3 - Parâmetros seminais.

Parâmetro	Resultado
Volume (mL)	25
Concentração espermática ($10^6/\text{mL}$)	230
Motilidade total (%)	89
Motilidade progressiva (%)	33
Espermatozoides rápidos (%)	70

Fonte: Arquivo pessoal.

Foi realizado um esfregaço do sêmen colhido e o mesmo foi corado com Panótico rápido¹³. Nesta avaliação foi possível observar 3% de células da linhagem espermato gênica, sendo elas: 1 célula de Sertoli, 1 espermatócito secundário e 1 espermátide arredondada, além de incontáveis hemácias. Para observação das

¹³ Panótico rápido – Laborclin, São Paulo, SP.

patologias espermáticas foi fixada uma amostra de sêmen em solução de formol salino 10%, avaliada no microscópio com contraste de fase com 1000x de aumento e óleo de imersão. Assim, foram observadas as patologias citadas na Tabela 4.

Tabela 4 - Patologia espermática.

Defeitos maiores		Defeitos menores	
Acrossomo	8	Cabeça	1
Cabeça	2	Cauda	3
Forma teratológica	1	Gota citoplasmática distal	1
Peça intermediária	12		
Cauda	23		
Formas duplas	1		
Total (%)	47	Total (%)	5

Fonte: Arquivo pessoal.

A produção espermática sofre influência de diversos fatores, dentre eles a idade do garanhão, sazonalidade, fatores ambientais e estresse. Os garanhões comumente apresentam cerca de 50 % de espermatozoides normais, entretanto, a tolerância para que os defeitos não influenciem na fertilidade incluem até 10% de células germinativas prematuras e até 30% de defeitos de cabeça e peça intermediária, sendo que a maioria dos garanhões que apresentam 60% de espermatozoides morfolologicamente normais compensam os defeitos observados no ejaculado (CARD, 2005). Contudo, segundo o Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (1998), consideram-se aptos à reprodução os garanhões que apresentarem até 40% de defeitos totais, sendo deles, até 20% de defeitos maiores.

Com a análise completa do sêmen, foi dado segmento ao exame andrológico do equino, onde foi avaliado o aparelho genital externo do animal. Observou-se então assimetria testicular, atribuída a uma rotação do testículo esquerdo, facilmente reversível. O formato dos testículos estava ovóide, a consistência fibroelástica, com ausência de sensibilidade dolorosa e presença de mobilidade, caracterizando um exame genital normal.

A torção testicular pode ser causa de degenerações testiculares em garanhões (EDWARDS, 2008). Entretanto, como o quadro apresentado pelo equino

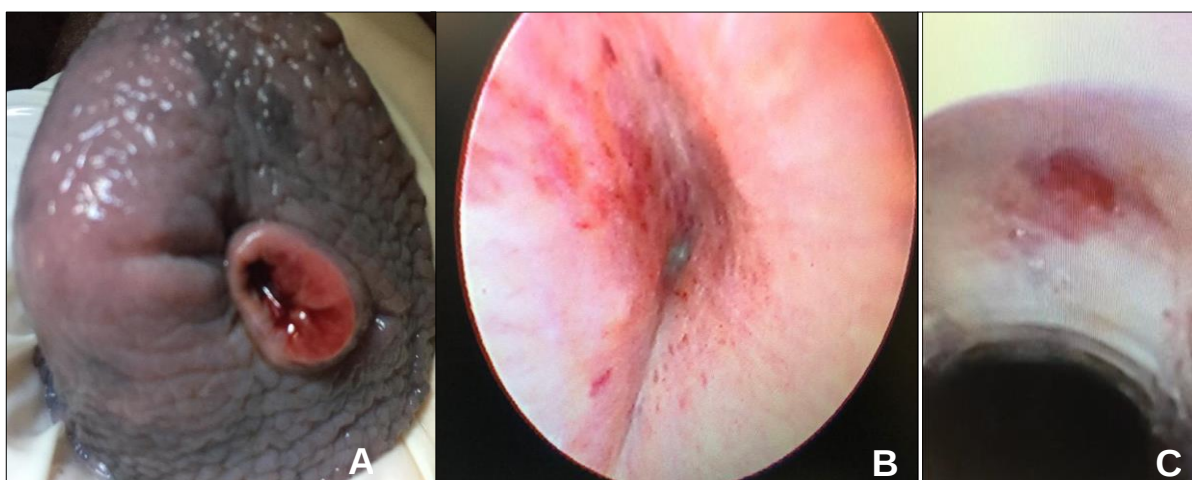
era facilmente reversível e visivelmente recente, não apresentou qualquer efeito negativo no trato reprodutor do animal.

Após a coleta, optou-se pela realização de ultrassonografia testicular, para observar alguma possível alteração de parênquima, entretanto, nenhuma alteração visível foi evidenciada.

A fim de auxiliar na localização da lesão causadora da hemorragia, foi optado pela realização de uretroscopia, a qual foi realizada com o animal sedado, utilizando protocolo com cloridrato de xilazina à 10% e cloridrato de detomidina à 1% associadas, na dose de 0,8 mg/kg e 6 a 10 µg/kg, respectivamente (SCHEEREN et al., 2019). Com a exposição do pênis, foi realizada a assepsia do mesmo com auxílio de água e clorexidina 2%, sendo retirado qualquer tipo de contaminação que pudesse ser transportada com a passagem do endoscópio.

Para realização da endoscopia, utilizou-se um endoscópio flexível de 100 cm de comprimento e 10 mm de diâmetro lubrificado com lidocaína. Ao iniciar-se a endoscopia, além de observar-se uma lesão na porção externa da uretra (Figura 15A), foram evidenciadas diversas lesões hemorrágicas na região da distal da uretra, caracterizando o quadro de uretrite (Figura 15B). Com o seguimento do exame, foi visualizada uma fístula uretral na região do arco isquiático, comprovando a origem do sangramento (Figura 15C).

Figura 15 - (A) Lesão na porção externa da uretra. (B) Lesões hemorrágicas na mucosa uretral. (C) Fístula uretral.



Fonte: Arquivo pessoal.

Ao realizar-se endoscopias uretrais em garanhões, deve-se atentar à passagem do endoscópio na porção uretral localizada próximo ao arco isquiático,

sendo uma região onde comumente evidencia-se a presença de fístulas uretrais de origem idiopática (PEARSON; CAMPBELL; TIBARY, 2013).

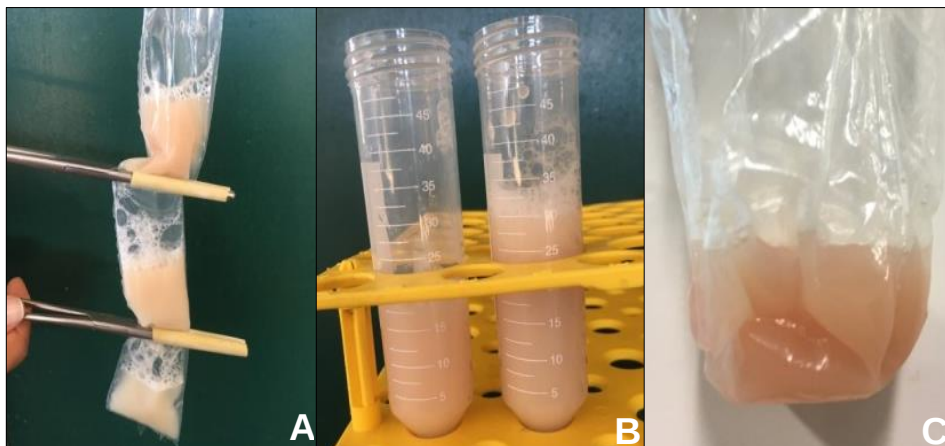
Com o diagnóstico de uretrite e fístula uretral, optou-se pelo tratamento com infusão com solução de Policresuleno 4%, durante 4 dias. O tratamento era realizado com auxílio de uma pipeta flexível de 70 cm, a qual era direcionada até a altura do arco isquiático onde era infundida a solução. Além disso, foi optado pela aplicação tópica de 1 mL da mesma solução na porção externa da uretra, a fim de cauterizar a lesão externa e altamente vascularizada.

A utilização do protocolo com Policresuleno 4% para o tratamento de fístula uretral foi descrito por Sancler-Silva e colaboradores (2018) e demonstrou-se eficiente na cauterização química das lesões, sendo menos invasivo, de menor custo e com recuperação mais rápida que o tratamento cirúrgico convencional. Segundo os autores, não se deve aplicar a solução ácida por um tempo maior que 4 dias consecutivos, uma vez que a mesma pode alterar a microflora uretral, causando uma reação inflamatória (SANCLER-SILVA et al., 2018).

Uma semana após o fim do tratamento, realizou-se a coleta de sêmen do garanhão a fim de verificar a efetividade do protocolo utilizado para tratar as lesões. Uma vez que, conforme descrito por Sancler-Silva e colaboradores (2018), a maioria dos garanhões com fístula uretral, uma semana após o tratamento utilizando a solução ácida de Policresuleno 4%, apresentam lesões devidamente cauterizadas com cicatrização completa em até 3 semanas.

Com isso, realizou-se 3 coletas seguidas, a primeira coleta foi fracionada (Figura), entretanto, não foi observada qualquer diferença de coloração entre as porções do ejaculado, assim, optou-se para que as demais colheitas fossem realizadas sem fracionar o sêmen. Os dois primeiros ejaculados apresentaram coloração levemente avermelhada, entretanto, ao coletar o animal pela terceira vez consecutiva, com intervalo de 15 minutos, foi possível observar uma quantidade maior de sangue na amostra (Figura 16).

Figura 16 - (A) Primeira coleta seminal após o tratamento. (B) Segunda coleta seminal após o tratamento. (C) Terceira coleta seminal após o tratamento.



Fonte: Arquivo pessoal.

Com a primeira amostra de sêmen coletada, foi realizada patologia espermática através do mesmo método descrito anteriormente, com utilização de contraste de fase, e obtiveram-se as características apresentadas na Tabela 5.

Tabela 5 - Patologia espermática após tratamento.

Fonte: Arquivo pessoal.

Defeitos maiores		Defeitos menores	
Acrossomo	9	Gota Citoplasmática Distal	3
Cabeça	5		
Gota Citoplasmática			
Proximal	4		
Peça Intermediária	17		
Cauda	8		
Total	43	Total	3

Em relação ao primeiro resultado da patologia espermática, observou-se uma diminuição na porcentagem de defeitos maiores e menores, ainda que, o número de defeitos maiores de peça intermediária, na segunda patologia, tenha sido maior. Segundo Papa e colaboradores (2018), alterações de acrossomo podem ser atribuídas à manipulação seminal. As alterações de peça intermediária podem ser de origem hereditária assim como as patologias de cauda, que são tanto hereditárias como causadas por choque osmótico ou térmico, disfunções no epidídimo e altos níveis de zinco no ejaculado. As gotas citoplasmáticas tanto distais quanto proximais

ocorrem em decorrência de uma alteração do trânsito do espermatozoide no epidídimo, sendo geralmente de origem hereditária, degeneração testicular ou falhas na termorregulação, que acarretam em um desequilíbrio de sódio e potássio e consequente maturação espermática (PAPA et al., 2018).

Conforme o resultado observado após o primeiro tratamento e a semana de descanso, foi optado pela realização de um segundo protocolo com a infusão de Policresuleno 4% a fim de reduzir ainda mais a hemorragia presente no ejaculado. Após a segunda aplicação do protocolo, o animal retornou a propriedade com a recomendação de repouso reprodutivo durante 30 dias, uma vez que o Departamento de Reprodução Animal iria cessar suas atividades temporariamente, impossibilitando que o mesmo permanecesse internado.

A causa de fístula uretral ainda é desconhecida, entretanto, sugere-se que a predisposição do seu desenvolvimento na região do arco isquiático acontece pela diminuição do diâmetro uretral nessa região, ocasionando uma maior pressão durante a ereção e ejaculação e gerando uma comunicação entre a uretra e o corpo esponjoso, a qual gera hemorragia (TAINTOR et al., 2004).

Segundo Pearson, Campbell e Tibary (2013), a presença de sangue no ejaculado pode reduzir drasticamente as taxas gestacionais, ainda que tal mecanismo seja desconhecido. Andrade Junior (2017) sugeriu que o efeito deletério do sangue no ejaculado seja atribuído às hemácias, uma vez que, éguas inseminadas com sêmen contendo plasma sanguíneo não sofreram alterações de fertilidade. Conforme descrito por Turner e colaboradores (2016), a quantidade de sangue presente no sêmen capaz de prejudicar a fertilidade dos garanhões é desconhecida, entretanto, sabe-se que 5% de contaminação sanguínea não foi capaz de reduzir a fertilidade dos animais.

Dentre os tratamentos para patologias causadoras de hemospermia em garanhões encontra-se o repouso reprodutivo, causando perdas econômicas na indústria equina (PEARSON; CAMPBELL; TIBARY, 2013). Segundo Sancier-Silva e colaboradores (2018), o descanso da atividade reprodutiva é essencial para a efetividade do tratamento, pois o estímulo sexual é capaz de gerar novos sangramentos causando dificuldade na cicatrização da lesão.

Conforme descrito por Turner (2011), o repouso sexual para controlar a hemospermia causada por lesões traumáticas, uretrite e lesões idiopáticas de uretra como a fístula uretral, pode durar de semanas há meses para se tornar eficiente. E

ainda assim, em algumas situações, quando recolocados nos programas reprodutivos, os animais podem apresentar um quadro recorrente, tendo um prognóstico desfavorável (TURNER, 2011).

5 CONCLUSÃO

A utilização de biotécnicas reprodutivas está cada vez mais presente no mercado da equideocultura brasileira, atuando diretamente no crescimento do mercado do cavalo. Assim, técnicas como inseminação artificial, congelamento de sêmen, transferência de embriões, injeção intracitoplasmática de espermatozoides, clonagem, dentre outras, garantem a otimização genética de animais de alto valor zootécnico, promovendo o crescimento das raças através da implementação dos genes desejados no rebanho equino.

Durante o estágio tive a oportunidade de acompanhar e aprender com a rotina de dois centros de referência na reprodução equina brasileira, com profissionais referências e que priorizam a atualização das técnicas e desenvolvimento tecnológico, a fim de garantir um melhor resultado.

Com os estágios fui capaz de adquirir novos conhecimentos e desenvolver a parte teórico-prática relacionada à medicina veterinária na área de reprodução animal, tendo oportunidades de desenvolver principalmente técnicas de tratamentos intrauterinos em éguas, aplicações de medicamentos, inseminação artificial, coletas de sêmen, desenvolvimento e leitura de lâminas de citologia endometrial, congelamento de sêmen, dentre outras oportunidades únicas que me foram proporcionadas.

REFERÊNCIAS

- ABD-EL-RAZEK, E.M.M.; GENEDY, T. M.; ELBAZ, H. T.; ELWEZA, A. E.; ZAGHLOUL, A. H.; FADEL, M. S.; ALMOKHATAR, E. A. Ultrasonographic monitoring and treatment of endometritis in mare. **Journal of Current Veterinary Research**, v. 1, p. 139-145, 2019. Disponível em: https://journals.ekb.eg/article_36562.html. Acesso em: 25 mai. 2020.
- ALIABADI, E.; KARIMI, F.; TALAEI-KHOZANI, T. Effects of L-carnitine and pentoxifylline on carbohydrate distribution of mouse testicular sperm membrane, **Iranian Journal of medical Sciences**, v. 38, p. 107-115, 2013. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3700056/>. Acesso em: 03 mai. 2020.
- ANDRADE JUNIOR, L. R. P. **Manipulação do sêmen de garanhões com diferentes graus de hemospermia**, 2017. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Animal) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Botucatu, 2017. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/152221>. Acesso em: 01 jun. 2020.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CRIADORES DO CAVALO PURO-SANGUE LUSITANO. **Regulamento do Livro Genealógico do Cavalo da Raça Lusitana**, 2016. Disponível em: http://cavalo-lusitano.com/ficheiros_artigos/regulamento-raca-lusitana-versao-aprovada-2016-pt.pdf. Acesso em: 28 mai. 2020.
- BENDER, E.S.C.; SAMPAIO, B.F.B.; NOGUEIRA, B.G.; COSTA-E-SILVA, E.V.; ZUCCARI, E.S.N. Condição corporal e atividade reprodutiva de éguas. **Archivos de Zootecnia**, v.63, 2014.
- BLAŽKOVA, K.; HOMOLKA, P.; MARŠÁLEK, M. **The corn digestibility by horses**. 2009. Disponível em: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.609.1607&rep=rep1&type=pdf>. Acesso em: 30 jan. 2020.
- BONEV, B.; HOOPER, J.; PARISOT, J. Principles of assessing bacterial susceptibility to antibiotics using the agar diffusion method. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 61, p. 1295-1301, 2008. Disponível em: <https://academic.oup.com/jac/article/61/6/1295/739753>. Acesso em: 29 mai. 2020.
- BRANDI, R. A.; FURTADO, C. E. Importância nutricional e metabólica da fibra na dieta de equinos, **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, 2009. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-35982009001300025&script=sci_arttext. Acesso em: 30 jan. 2020.
- CANISSO, I. F.; SOUZA, F. A.; SILVA, E. C.; CARVALHO, G. R.; GUIMARÃES, J.D.; LIMA, A. L. Inseminação artificial em equinos: sêmen fresco, diluído, resfriado e transportado. **Revista Acadêmica Ciência Animal**, v. 6, p. 389-398, 2008. Disponível em: <https://periodicos.pucpr.br/index.php/cienciaanimal/article/view/10622/10019>. Acesso em: 31 mai. 2020.

CARD, C. Cellular associations and the differential spermogram: Making sense of stallion spermatozoal morphology. **Theriogenology**, v. 64, p. 558-567, 2005.

Disponível em:

https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X0500172X?casa_token=EdY415cnLkQAAAAA:gN_VWATbT0Lb_qdhangU9hK9BNJH4c6JrMYpf5BTHPgJ1ZAllagi6RO86Nq5ZuanXoMOlo-RxzGW. Acesso em: 01 jun. 2020.

COLBERN, G. T.; VOSS, J.L.; SQUIRES, E. L.; ELLIS, R. P.; SHIDELER, R. K.; MCCHENNEY, A. E. Development of a model to study endometritis in mares.

Theriogenology, v. 7, p. 73-76, 1987. Disponível em:

[https://doi.org/10.1016/S0737-0806\(87\)80034-5](https://doi.org/10.1016/S0737-0806(87)80034-5). Acesso em: 26 mai. 2020.

COLÉGIO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL. **Manual para Exame Andrológico e Avaliação de Sêmen Animal**, Belo Horizonte, 1998.

CONTRI, A.; AMICIS, I.; MOLINARI, A.; FAUSTINI, M.; GRAMENZI, A.; ROBBE, D.; CARLUCCIO, A. Effect of dietary antioxidante supplementation on fresh semen quality in stallion. **Theriogenology**, v. 75, p. 1319-1326, 2011. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21295825>. Acesso em: 04 mai. 2020.

CRABTREE, J. Update on the management of the anovulatory follicle in horses.

Clinical Practice Equine, v. 43, p. 171-176, 2020. Disponível em:

<https://inpractice.bmj.com/content/42/3/171>. Acesso em: 14 mai. 2020.

EDWARDS, J. F. Pathologic conditions of the stallion reproductive tract. **Animal Reproduction Science**, v. 107, p. 197-207, 2008. Disponível em:

https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378432008001620?casa_token=wldz-BdfdWQAAAAA:k6bwgfiBLJAsScnbR7FiHvuJ-UN9CF-o9tzo3V5oXO7zywcou7aemnnZ5H785VcF1oSk5VNx2VQ.

Acesso em: 03 mai. 2020.

EDWARDS, J. F. Pathologic conditions of the stallion reproductive tract. **Animal Reproduction Science**, v. 107, p. 197-207, 2008. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18541391/>. Acesso em: 01 jun. 2020.

ESCANDÓN, B. M.; ESPINOZA, J. S.; PEREA, F. P.; QUITO, F.; OCHOA, R.; LÓPEZ, G. E.; GALARZA, D. A.; GARZÓN, J. P. Intrauterine therapy with ozone reduces subclinical endometritis and improves reproductive performance in

postpartum dairy cows managed in pasture-based systems. **Tropical Animal Health and Production**, 2020. Disponível em:

<https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11250-020-02298-3>. Acesso em: 29 mai. 2020.

FARIA, D. R.; GRADELA, A. Hormonioterapia aplicada à ginecologia equina.

Revista Brasileira de Reprodução Animal, v. 35, p. 114-122, 2010. Disponível em:

<http://www.cbpa.org.br/pages/publicacoes/rbra/v34n2/p114-122.pdf>. Acesso em: 17 mai. 2020.

FARIAS, C. S.; TRAJANO-RODRIGUES, I. M.; NILDOMARQUE-JÚNIOR, J.;

ROCHA-JUNIOR, A. C. S.; LIMA, Z. N. Potencial antimicrobiano do dimetilsulfóxido

(DMSO) frente à diversas cepas bacterianas. **III Conbracis**, 2018. Disponível em: http://www.editorarealize.com.br/revistas/conbracis/trabalhos/TRABALHO_EV108_MD1_SA3_ID347_21052018145924.pdf. Acesso em: 04 jun. 2020.

FERRIS, R. Endometritis: diagnostic tools for infectious endometritis. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 32, p. 481-498, 2016. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0749073916300402>. Acesso em: 27 mai. 2020.

GALVÃO, E. L.; SILVA, S. C. F.; SILVA, J. O.; MOREIRA, A. V. B.; SOUZA, E. M. B. D. Avaliação do potencial antioxidante e extração subcrítica do óleo de linhaça. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, n. 28, 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/cta/v28n3/a08v28n3>. Acesso em: 02 fev. 2020.

GINTHER, O. J.; GASTAL, E. I.; GASTAL, M. O.; BEG, M. A. Conversion of a viable preovulatory follicle into a hemorrhagic anovulatory follicle in mares. **Animal Reproduction**, v. 3, p. 29-40, 2006. Disponível em: <https://www.animal-reproduction.org/journal/animreprod/article/5b5a607cf7783717068b47b7>. Acesso em: 14 mai. 2020.

GINTHER, O. J.; GASTAL, E. L.; GASTAL, M. O.; BEG, M. A. Incidence, endocrinology, vascularity, and morphology of hemorrhagic anovulatory follicles in mares. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 27, p. 130-139, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2007.01.009>. Acesso em: 14 mai. 2020.

GIULIANI, G.; RICEVUTI, G.; GALOFORO, A.; FRANZINI, M. Microbiological aspects of ozone: bactericidal activity and antibiotic/antimicrobial resistance in bacterial strains treated with ozone. **Ozone Therapy**, v. 3, p. 48-51, 2018. Disponível em: <https://www.semanticscholar.org/paper/Microbiological-aspects-of-ozone%3A-bactericidal-and-Giuliani-Ricevuti/5848050b08e0afa17695de8aadaab61b2aba6bc3>. Acesso em: 29 mai. 2020.

IBGE, PESQUISA PECUÁRIA MUNICIPAL. **Efetivo do rebanho equino brasileiro**, Brasil, 2016. Disponível em: <https://serieestatisticas.ibge.gov.br/series.aspx?vcodigo=PPM01>. Acesso em: 03 mai. 2020.

JOHNSON, L. Techniques for evaluating selected reproductive disorders of stallions. **Animal Reproduction Science**, v. 60, p. 493-509, 2000. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378432000001159>. Acesso em: 25 mar. 2020.

JOHNSON, P. J. The equine metabolic syndrome and Peripheral Cushing's syndrome. **The Veterinary Clinics: equine practice**, p. 271-293, 2002. Disponível em: <https://europepmc.org/article/med/15635908>. Acesso em: 01 jun. 2020.

KATILA, T. Evaluation of diagnostic methods in equine endometritis. **Reproductive Biology**, v. 16, p. 189-196, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1642431X16300195?via%3Di> hub. Acesso em: 29 mai. 2020.

- KATILA, T.²Update on endometritis therapy. **Pferdeheikunde**, v. 32, p. 39-45, 2016. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Terttu_Katila/publication/296716001_Update_on_endometritis_therapy/links/5cec0992299bf109da74f341/Update-on-endometritis-therapy.pdf. Acesso em: 30 mai. 2020.
- KOZDROWSKI, R.; SIKORA, M.; BUCZKOWSKA, J.; NOWAK, M.; RAS, A.; DZIECIOL, M. Effects of cycle stage and sampling procedure on interpretation of endometrial cytology in mares. **Animal Reproduction Science**, v. 154, p. 56-62, 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378432015000214>. Acesso em: 28 mai. 2020.
- LEBLANC, M. M. Uterine Cytology, cap. 204, p. 1923-1930. *In*: MCKINNON, A. O.; SQUIRES, L.; VAALA, W. E.; VARNER, D. D. **Equine Reproduction**. 2 ed. New Delhi, Índia, John Wiley & Sons, 2011.
- LEBLANC, M. M.; CAUSEY, R.C. Clinical and subclinical endometritis in the mare: both threats to fertility. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 44, 2009. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1439-0531.2009.01485.x?casa_token=0Txg6fbcOeUAAAAA%3ATUufCCKIKqAhp-fMMqWMWO2ZyRYSwafUkrZjfWojvfd4NsTg6yg6uupA5bqq3zjRuf6CJTn9zYuQNCu. Acesso em: 03 mai. 2020.
- LEBLANC, M.M.; MCKINNON, A. O. Breeding the problem mare, capítulo 272. *In*: MCKINNON, A. O.; SQUIRES, L.; VAALA, W. E.; VARNER, D. D. **Equine Reproduction**. 2 ed. New Delhi, Índia, John Wiley & Sons, 2011.
- LEY, W. B.; BOWEN, J. M.; SPONENBERG, D. P.; LESSARD, P. N. Dimethyl sulfoxide intrauterine therapy in the mare: effects upon endometrial histological features and biopsy classification. **Theriogenology**, v. 32, p. 263-276, 1989. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0093691X89903178>. Acesso em: 30 mai. 2020.
- LIMA, M; M. **Influência da suplementação oral com L-carnitina na qualidade do sêmen criopreservado de garanhões**. 2003. 76 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias e Veterinárias) – Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal, 2003. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/98209>. Acesso em: 04 jun. 2020.
- LIMA, R. A. S.; CINTRA, A. G. **Revisão do Estudo do Complexo do Agronegócio do Cavalo**. Brasília: MAPA, 2016.
- LOPES, E. P. Transferência de embriões equinos: maximizando resultados com a escolha de receptoras. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 39, p. 223-229, 2015. Disponível em: [http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/v39n1/pag223-229%20\(RB565\).pdf](http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/v39n1/pag223-229%20(RB565).pdf). Acesso em: 30 mai. 2020.

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: 03 mai. 2020

LYLE, S. K. Immunological considerations, cap. 268, p. 2587-2596. *In*: MCKINNON, A. O.; SQUIRES, . L.; VAALA, W. E.; VARNER, D. D. **Equine Reproduction**. 2 ed. New Delhi, Índia, John Wiley & Sons, 2011.

MARI, G.; MORGANTI, M.; MERLO, B.; CASTAGNETTI, C.; PARMEGGIANI, F.; GOVONI, N.; GALEATI, G.; TAMANINI, C. Administration of sulpiride or domperidone for advancing the first ovulation in deep anestrous mares.

Theriogenology, v. 71, p. 959-956, 2009. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.11.001>. Acesso em: 14 mai. 2020.

MCCUE, P. M.; SCOGGIN, C. F.; LINDHOLM, A. R. G. Estrus, cap. 179, p. 1716-1727. *In*: MCKINNON, A. O.; SQUIRES, . L.; VAALA, W. E.; VARNER, D. D. **Equine Reproduction**. 2 ed. New Delhi, Índia, John Wiley & Sons, 2011.

MCCUE, P. M.; SQUIRES, E. L. **Equine Embryo Transfer**, 1 ed., Lexington, Kentucky, USA, Teton Newmedia, 2015.

MCCUE, P. M.; SQUIRES, E. L. Persistent anovulatory follicles in the mare, **Theriogenology**, v. 58, p. 541-543, 2002. Disponível em:

[https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(02\)00769-0](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(02)00769-0). Acesso em: 14 mai. 2020.

MCKINNON, A. O.; SQUIRES, . L.; VAALA, W. E.; VARNER, D. D. **Equine Reproduction**. 2 ed. New Delhi, Índia, John Wiley & Sons, 2011.

NASCENTE, E. P.; CHAGAS, S. R.; CÂNDIDA-PESSOA, A. V.; CHEDIAK-MATOS, M. P.; ANDRADE, M. A.; PASCOAL, L. M. Potencial antimicrobiano do ozônio: aplicações e perspectivas em medicina veterinária. **Pubvet**, v. 13, p. 1-14, 2019. Disponível em: <http://www.pubvet.com.br/artigo/6374/potencial-antimicrobiano-do-ozocircnio-aplicaccedilotildees-e-perspectivas-em-medicina-veterinaacuteria>. Acesso em: 16 mai. 2020.

NERVO, T.; NEBBIA, P.; BERTERO, A.; ROBINO, P.; STELLA, M. C.; ROTA, A.; APPINO, S. Chronic endometritis in subfertile mares with presence of Chlamydial DNA. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 73, p. 91-94, 2019. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0737080618306725?casa_token=sMFN6_zqwl4AAAAA:_0RgJqFyZPoewl6H4KraN6WrF0xqct5KOxKtwHhNvFCOGIPeU4Fv_XEumBrW6-Nhp19QIEmHXCQ. Acesso em: 28 mai. 2020.

OLIVEIRA, S. N.; ARAUJO, E. A. B.; CHAVES-SILVA, L. F. M.; ANDRADE Jr, L. R. P.; DALANEZI, F. M.; PINTO, B. M.; CARNEIRO, J. A. M.; DELLAQUA Jr., J. A.; ALVARENGA, M. A.; PAPA, F. O. Eficiência de uma nova técnica de coleta de sêmen para diagnóstico e controle de piospermia em garanhões: Relato de caso. *In*: **XVI Conferência Anual da ABRAVEQ**. Águas de Lindóia. XVI. p.284-284. 2015.

Disponível em: <https://abraveq.com.br/anais-cientificos-conferencias-anuais-abraveq/>. Acesso em: 01 jun. 2020.

PAPA, F. O.; ALVARENGA, M. A.; DELL'AQUA JR., J. A.; MONTEIRO, G. A.; SANCLER-SILVA, Y. F. R.; RAMIRES-NETO, C. **Manual de Andrologia e Manipulação de Sêmen Equino**, 57 p., 2018.

PACCAMONTI, D. L.; PYCOCK, J. F.; TAVERNE, M. A. M.; BEVERS, M.; VAN DER WEIJDEN, G. C.; GUTJAHR, S.; SCHAMS, D.; BLOUIN, D. PGFM response to exogenous oxytocin and determination of the half-life to oxytocin in nonpregnant mares. **Equine Veterinary Journal**, v. 31, p. 285-288, 1999. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10454085/>. Acesso em: 04 jun. 2020.

PEARSON, L. K.; CAMPBELL, A. J.; TIBARY, A. How to diagnose and treat hemospermia: a review and case series. **Ambulatory Practice**, v.59, p. 40-50, 2013. Disponível em: <https://aaep.org/sites/default/files/issues/AmbulatoryPearson1.pdf>. Acesso em: 01 jun. 2020.

PYCOCK, J. F. Ultrasonography, cap. 203, p. 1914-1921. In: MCKINNON, A. O.; SQUIRES, . L.; VAALA, W. E.; VARNER, D. D. **Equine Reproduction**. 2 ed. New Delhi, Índia, John Wiley & Sons, 2011.

REPCIUC, C.C.; CRECAN, C.M.; OANA, L. I. Ozone therapy in veterinary medicine, **Revista Romana de Medicina Veterinária**, v. 26, p. 49-53, 2016. Disponível em: <http://agmv.ro/wp-content/uploads/2019/10/OZONOTERAPIA-%C3%8EN-MEDICINA-VETERINAR%C4%82.pdf>. Acesso em: 29 mai. 2020.

RICKETTS, S. W. Uterine and clitoral cultures, cap. 208, p. 1964-1978. In: MCKINNON, A. O.; SQUIRES, . L.; VAALA, W. E.; VARNER, D. D. **Equine Reproduction**. 2 ed. New Delhi, Índia, John Wiley & Sons, 2011.

RIDDLE, W. T.; LEBLANC, M. M.; STROMBRG, A. J. Relationships between uterine culture, cytology and pregnancy rates in Thoroughbred practice. **Theriogenology**, v. 68, p. 395-402, 2007. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0093691X07002798>. Acesso em: 28 mai. 2020.

RODRIGUES, P. G.; RAYMUNDO, C. M.; SOUZA, J. C.; MIRANDA, M. C. M.G.; REZENDE, A. S. C. Gordura corporal e eficiência reprodutiva em éguas doadoras de embrião manga-larga marchador. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, p. 1002-1008, 2011. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-70542011000500019. Acesso em: 01 jun. 2020.

SANCLER-SILVA, Y. F. R. **Efeito da pentoxifilina na função testicular e produção espermática de equinos submetidos a estresse térmico escrotal**. 2017. 141 f. Dissertação (Doutorado em Biotecnologia Animal) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Botucatu, 2017. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/151563>. Acesso em: 03 fev. 2020.

SANCLER-SILVA, Y. F. R.; SILVA-JUNIOR, E. R.; FEDORKA, C. E.; SCHEEREN, V. F. C.; CAVALERO, T. S.; PAPA, P.M.; ALVARENGA, M. A.; DELL'AQUA JR., J. A. PAPA, F. O. New treatment for urethral rent in stallions. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 64, p. 89-95, 2018. Disponível em:

https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0737080617307591?casa_token=zPygxnETM18AAAAA:uRVolvozQDNSzFowdy22UjIKZ46SV5Duyq8om58iW-r4dg1evGtGIR_4yME8914kzOo3lj9Di_Iz. Acesso em: 01 jun. 2020.

SANTOS, C. P.; FURTADO, C. E.; JOBIM, C. C.; FURLAN, A. C.; MUNDIM, C. A.; GRAÇA, E. P. Avaliação da silagem de grãos úmidos de milho na alimentação de equinos em crescimento: valor nutricional e desempenho. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 3, 2002. Disponível em:

http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-35982002000500018&script=sci_abstract&tlng=pt. Acesso em: 18 jan. 2020.

SCHEEREN, V. F. C.; SILVA, Y. F. R. S.; GOBATO, M. L. M.; ALVARENGA, M. A.; PAPA, F. O. Endoscopia na avaliação do trato reprodutivo de garanhões. **Revista Brasileira de Medicina Equina**, v. 13, p. 4-8, 2019.

SCIORSI, R. I.; LILLO, E.; OCCHIOGROSSO, L.; RIZZO, A. Ozone therapy in veterinary medicine: a review. **Research in Veterinary Science**, v. 130, p. 240-246, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.03.026>. Acesso em: 16 mai. 2020.

SENA, L. M.; LAZARONI-E-MERCHID, N. C.; ALMEIDA, I. C.; SANTOS, J. D.; MARTINS, C. B. Principais causas de perdas gestacionais na espécie equine: revisão. **Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 10, p. 933-945, 2016. Disponível em: <http://www.pubvet.com.br/artigo/3206/pstrongprincipais-causas-de-perdas-gestacionais-na-espeacutecie-equina-revisatildeostongp>. Acesso em: 11 mai. 2020.

SILVA, N.; BRAGA, C. E.; COSTA, G. M.; LOBATO, F. C. F. Isolamento e teste de susceptibilidade a antimicrobianos de bactérias em infecções uterinas de éguas.

Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v. 51, 1999. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09351999000300002&lng=pt&tlng=pt. Acesso em: 29 mai. 2020.

SILVA-RUA, M. A.; QUIRINO, C. R.; BARTHOLAZZI-JUNIOR, A.; PESSANHA-BARRETO, M. A. Métodos diagnósticos de endometrite em éguas. **Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 10, p. 895-908, 2016. Disponível em:

<http://www.pubvet.com.br/artigo/3535/pstrongmeacutetodos-diagnoacutesticos-de-endometrite-em-eacuteguasstrongp>. Acesso em: 29 mai. 2020.

SONCIN, M. R. S. P.; FURTADO, C. E.; SILVA, A. A.; RIGOLON, L. P.; CAVALIERI, F. L. B.; MORAES, G. V. Digestibilidade aparente, crescimento folicular e concentração de metabólitos sanguíneos de égua recebendo concentrado com semente de linhaça integral (*Linum usitatissimum* L.). **Animal Sciences**, Maringá, n. 2, 2009. Disponível em: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=303126496014>.

Acesso em: 02 fev. 2020.

SQUIRES, E.L.; MCCUE, P. M.; VANDERWALL, D. The current status of equine embryo transfer. **Theriogenology**, v. 51, p. 91—104, 1999. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0093691X98002349>. Acesso em: 31 mai. 2020.

SYRIAN REVOLUTION GENERAL COMMISSION ÁRABE. **Regulamento do Serviço de Registro Genealógico do Cavalo Árabe**, 2019. Disponível em: http://www.abcca.com.br/pdf/studbook/regs/reg_stud_book_2019.pdf. Acesso em: 28 mai. 2020.

TAINTOR, J.; SCHUMACHER, J.; SCHUMACHER, J.; PUROHIT, R.; DEGRAVES, F.; SARTIN, E. Comparison of pressure within the corpus spongiosum pênis during urination between geldings and stallions. **Equine Veterinary Journal**, v. 36, p. 362-364, 2004. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15163046/>. Acesso em: 01 jun, 2020.

TROEDSSON, M. H. T. Endometritis, cap.271, p. 2608-2619. *In*: MCKINNON, A. O.; SQUIRES, . L.; VAALA, W. E.; VARNER, D. D. **Equine Reproduction**. 2 ed. New Delhi, Índia, John Wiley & Sons, 2011.

TURNER, C. E.; WALBORN, S. R.; BLANCHARD, T. L.; VARNER, D. D.; BRINSKO, S. P.; LACAZ, K. A.; TEAGUE, S. R.; LOVE, C. C. The effect of two levels of hemospermia on stallion fertility. **Theriogenology**, v. 86, p. 1399-1402, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0093691X16301273#:~:text=Hemospermia%20can%20occur%20consistently%20or,fertility%20of%20the%20affected%20ejaculate.&text=We%20concluded%20that%20it%20is,an%20ejaculate%20that%20impacts%20fertility..> Acesso em: 01 jun. 2020.

TURNER, R. M. O. Abnormalities of the ejaculate, cap. 108, p. 1119-1129. *In*: MCKINNON, A. O.; SQUIRES, . L.; VAALA, W. E.; VARNER, D. D. **Equine Reproduction**. 2 ed. New Delhi, Índia, John Wiley & Sons, 2011.

VARNER, D. D.; BLANCHARD, T. L.; BRINSKO, S. P.; LOVE, C. C.; TAYLOR, T. S.; VARNER, D. D.; SCHLAFFER, D. H.; Overview of selected pathologic conditions in breeding stallions: hemospermia, poor semen quality, enlarger scrotum. **In-Depth interactive: Reproductive Disorders – Pathology to Treatment**, 2015.

WALTER, J.; NEUBERG, K. P.; FAILING, K.; WEHREND, A. Cytological diagnosis of endometritis in the mare: investigations of sampling techniques and relation to bacteriological results. **Animal Reproduction Science**, v. 132, p. 178-186, 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22727031/>. Acesso: 26 mai. 2020.

ZENT, W.W. History, cap. 200, p. 1897-1899. *In*: MCKINNON, A. O.; SQUIRES, . L.; VAALA, W. E.; VARNER, D. D. **Equine Reproduction**. 2 ed. New Delhi, Índia, John Wiley & Sons, 2011.