

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

Relatório final do estágio curricular obrigatório do curso de medicina veterinária,
realizado junto à empresa abs pecplan, Uberaba/MG

Assunto de interesse: Aspiração folicular guiada por ultrassom (OPU- *Ovum Pick-up*)

Acadêmica: Victória Marques

Orientadora: Profa. Dra. Maíra Bianchi Rodrigues Alves

Supervisor: M. V. Pedro Ivo Figueiredo

Relatório do Estágio Curricular em Prática Veterinária apresentado à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal, Unesp, para graduação em Medicina Veterinária.

JABOTICABAL - S.P.

2024

M357r

Marques, Victória

1. Relatório final do estágio curricular obrigatório do curso de medicina veterinária, realizado junto à empresa ABS PECPLAN, Uberaba/MG :

Aspiração folicular guiada por ultrassom(OPU- *Ovum Pick-up*) /

Victória Marques. -- Jaboticabal, 2024

45 p. : il., tabs., fotos

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Medicina Veterinária) Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientadora: Maíra Bianchi Rodrigues Alves

1. Reprodução Animal. 2. Aspiração folicular Guiada por Ultrassom. 3.

Produção de Embrião In Vitro. 4. Transferência de embrião bovino. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO

Certifico que o Relatório de Estágio Curricular em Prática Veterinária foi apresentado à Banca Examinadora e aprovado, conforme especificações abaixo

TÍTULO: Relatório final do estágio curricular obrigatório do curso de medicina veterinária, realizado junto à empresa ABS PECPLAN, Uberaba/MG: Aspiração folicular guiada por ultrassom (OPU - OVUM PICK-UP)

ACADÊMICA: VICTÓRIA MARQUES

CURSO: MEDICINA VETERINÁRIA

ORIENTADORA: MAÍRA BIANCHI RODRIGUES ALVES

LOCAL: ABS PEC PECPLAN, UBERABA, MG, BRASIL

PERÍODO: 2º SEMESTRE DE 2023

BANCA EXAMINADORA:

(Assinaturas)

Presidente Profa. Dra. Maíra Bianchi Rodrigues Alves



Documento assinado digitalmente
MAIRA BIANCHI RODRIGUES ALVES
Data: 09/01/2024 15:07:11-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Membro Profa. Dra. Lindsay Unno Gimenes



Documento assinado digitalmente
LINDSAY UNNO GIMENES
Data: 10/01/2024 12:01:19-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Membro Profa. Dra. Daniela Junqueira de Queiroz



DANIELA JUNQUEIRA DE QUEIROZ
Data: 09/01/2024 17:11:53-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Aprovado em: 09 / 01 / 2024



Documento assinado digitalmente
PAOLA CASTRO MORAES
Data: 11/01/2024 13:14:01-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Paola Castro Moraes

- Coordenadora do CEGRA -

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus por nunca me desamparar e nunca deixar de me dar forças mesmo nos momentos em que eu mais pensei em desistir.

À minha mãe, Ingrid Apolloni Marques, por me fazer acreditar que sou capaz e merecedora do que das minhas conquistas e pelo amor incondicional. Ao meu pai, Norberto Ribeiro Marques, por me apoiar em toda trajetória e me incentivar a superar obstáculos.

À minha irmã, Giovanna Marques, por ser minha confidente e melhor amiga. Aos meus avós, Lucinda Ribeiro Marques e Manuel Costa Marques, pelo carinho e cuidado comigo e minha irmã.

Ao meu noivo, Pyetro Henrique Soares Colombo, por ser paciente, segurar minha mão nos momentos de dificuldade e comemorar minhas vitórias.

À minha orientadora, Maíra Bianchi Rodrigues Alves, por não medir esforços para me auxiliar, me inspirar e por dar a possibilidade de me desenvolver academicamente. À minha banca avaliadora, Profa. Dra. Lindsay Unno Gimenes e Profa. Dra. Daniela Junqueira de Queiroz, pela disponibilidade e orientação na finalização deste ciclo tão importante para mim.

À toda equipe ABS PecPlan por permitirem meu desenvolvimento prático, ensinamentos compartilhados, conselhos profissionais e oportunidades de aprendizado.

À minha segunda família que Jaboticabal me deu, à República As Bardosa, por me acolherem e me apresentarem um lar mesmo longe de casa. Vocês me inspiraram e tornaram todos os momentos adversos mais leves. Minha eterna gratidão às minhas irmãs de alma Isis Kolososki e Giovanna Fernandes por estarem comigo em toda caminhada da graduação, com vocês mesmo os maiores desafios terminavam em risadas. Meu agradecimento a meus companheiros Dilema, K-delo, Diz-like, Likes e Angel por todo carinho e momentos memorais.

Sumário

I – Relatório	6
1. Introdução	6
2. Descrição do local de estágio	7
3. Descrição das atividades.....	9
3.1. Avaliação e protocolo hormonal de receptoras.....	15
3.2. Transferência de embriões (inovação).....	17
3.3. Diagnóstico de gestação e sexagem fetal	21
4. Discussão das atividades desenvolvidas	25
5. Considerações finais	26
II -Relato de Caso	27
Assunto de interesse: Aspiração folicular guiada por ultrassom (OPU- Ovum Pick-up)	27
1. Introdução	27
2. Aspiração Folicular Guiada por Ultrassom (<i>Ovum pick up</i> - OPU)	28
2.1. Desenvolvimento folicular	28
2.2. Descrição da técnica de aspiração folicular.....	30
2.3. Materiais para aspiração	32
2.4. Rastreamento e seleção de oócitos.....	36
3. Levantamento de dados dos procedimentos de OPU acompanhados	39
4. Discussão dos resultados	40
5. Considerações finais	41
Referências.....	42

I – Relatório

1. Introdução

Na pecuária brasileira, o avanço da produtividade está diretamente ligado ao progresso nas áreas científica e tecnológica. As biotécnicas aplicadas à reprodução animal têm sido aprimoradas com o objetivo de elevar a eficiência reprodutiva. Isso resulta no aumento da produção de animais geneticamente superiores, possibilitando a obtenção de um maior número de descendentes em um intervalo de tempo mais curto (RENESTO, 2004). A utilização de biotécnicas tem por função maximizar a eficiência reprodutiva do animal, possibilitando a promoção da fertilidade através da interação entre gametas, seja em condições naturais (*in vivo*) ou laboratoriais (*in vitro*) como na PIVE (Produção *In Vitro* de Embriões) (SALVADOR, 2019).

No cenário internacional, os embriões provenientes da PIVE representam 79,7% dos embriões transferidos em bovinos, sendo o Brasil responsável por 34,8% da produção mundial de embriões *in vitro* (VIANA, 2021). A técnica envolve as etapas de coleta, maturação, fecundação e cultivo *in vitro* (MELLO, et al., 2016). Essa técnica envolve uma série de procedimentos integrados, desde o manejo reprodutivo das doadoras e receptoras até a punção folicular guiada por ultrassom (OPU- *Ovum Pick-Up*), procedimentos realizados no laboratório e, por fim, a TE (Transferência de Embriões) (OLIVEIRA; SARAPIÃO; QUINTÃO, 2014).

O estágio curricular obrigatório desempenha um papel crucial na formação integral dos estudantes de Medicina Veterinária, oferecendo uma experiência prática real da rotina profissional. Essa etapa contribui para o desenvolvimento e aprimoramento das habilidades práticas e individuais adquiridas ao longo da graduação. Além disso, proporciona a oportunidade de estabelecer contato direto com profissionais de destaque na área escolhida, possibilitando a ampliação da rede de contatos e do conhecimento bem como a absorção de novas experiências.

O presente relatório tem por objetivo descrever as atividades realizadas pela aluna de graduação em Medicina Veterinária da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, *campus* de Jaboticabal, SP, Victória Marques, sob orientação da Professora Doutora Maíra Bianchi Rodrigues Alves. As atividades foram desenvolvidas pela aluna junto à empresa ABS PecPlan, localizada na cidade de Uberaba – MG, sob supervisão do M.V. Pedro Ivo Figueiredo, perfazendo o total de

600 horas do período de 11 de setembro a 22 de dezembro de 2023. A estagiária pôde acompanhar atividades de manejo reprodutivo e técnicas reprodutivas em bovinos, acompanhando os procedimentos de transferência de embrião, aspiração folicular e avaliação das doadoras e receptoras de programas de produção *in vitro* de embriões.

2. Descrição do local de estágio

A empresa ABS PecPlan teve fundação em 1941, sendo especialista no fornecimento de genética bovina, serviços de reprodução e tecnologias. Atualmente, a empresa está sediada em DeForest, Wisconsin, EUA, sendo uma divisão da Genus plc, empresa britânica líder em genética de bovinos e suínos. A empresa está presente em mais de 70 países e atende a mais de 40.000 clientes, incluindo alguns dos principais produtores mundiais de carne e leite. Com centrais estrategicamente localizadas na Europa, América do Norte, América Latina e Índia, a ABS desempenha um papel crucial no fornecimento de genética para clientes de leite e carne em várias regiões, abrangendo a América do Norte, América Latina, Ásia e Europa.

Figura 1. Estagiária em frente à fachada da empresa ABS Pecplan, Uberaba,

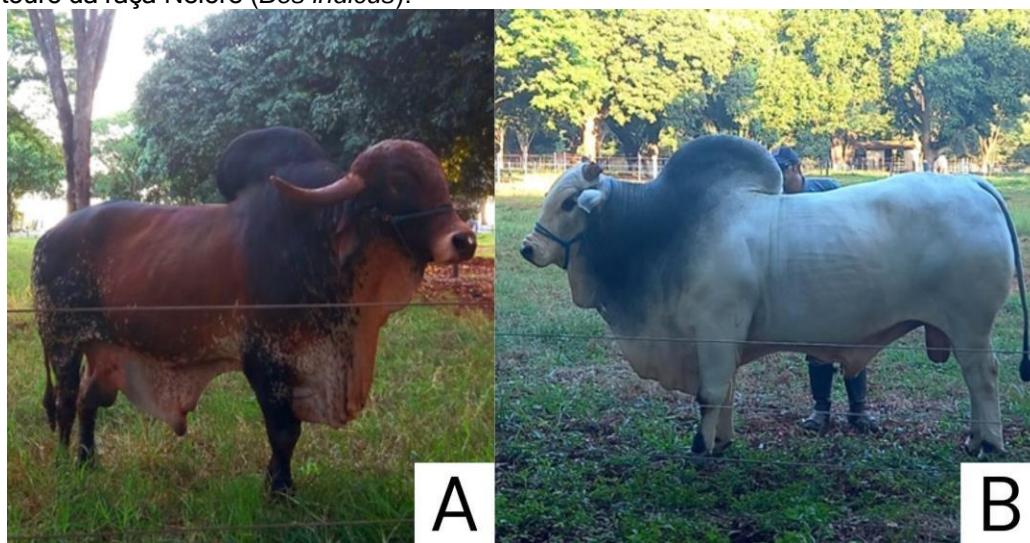


Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

No Brasil, a empresa começou a atuar no ano de 1996 junto à Incorporated Pecplan Bradesco, uma empresa brasileira que importa e distribui produtos de inseminação, na cidade de Uberaba/MG. Atualmente, a empresa está distribuída no

Brasil nas cidades Xinguara (Pará), Cuiabá (Mato Grosso), Sinop (Mato Grosso), Mogi Mirim (São Paulo) e Uberaba (Minas Gerais), sendo a última o local (Rodovia BR-050, Km 196 - Zona Rural, Delta - MG, 38020-300) em que o estágio em práticas veterinárias foi realizado (**Figura 1**). Nesta unidade, está sediada a central de touros (**Figura 2**) para coleta e envase de doses de sêmen comercializado pela empresa e o núcleo de doadoras ABSNeo (**Figura 3**) para aspiração folicular de fêmeas e venda de embriões de genética 100% ABSpecplan.

Figura 2. Touros da central ABSpecplan de Uberaba, MG, Brasil. Em A, touro da raça Gir (*Bos indicus*). Em B, touro da raça Nelore (*Bos indicus*).



Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

Figura 3. Doadoras ABSNeo da raça gir (*Bos indicus*)



Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

3. Descrição das atividades

A estagiária acompanhou a rotina de campo de 13 veterinários especializados em manejo reprodutivo de bovinos e mais especificamente na biotécnica reprodutiva de produção *in vitro* de embriões (PIVE) a campo. As atividades acompanhadas foram divididas em transferência de embriões, aspiração folicular em doadoras, avaliação e protocolo hormonal das receptoras, diagnóstico de gestação e sexagem fetal. Os veterinários, junto com a equipe de apoio, eram distribuídos em duas equipes, a saber: (1) equipe de “transferência de embrião” e (2) equipe de “aspiração folicular”.

A equipe de “transferência de embrião” (**Tabela 1**) contava com sete veterinários, sendo dois destes em período de treinamento (*trainees*). Além da realização do procedimento de transferência de embriões (TE), esta equipe era responsável pelo diagnóstico de gestação 23 dias após a TE, sexagem aos 50 após a TE e pelos protocolos reprodutivos. A equipe de “aspiração” (**Tabela 1**) era composta por seis selecionadores de oócito e seis veterinários, sendo que destes veterinários, três prestavam serviço de forma terceirizada. Dentre os estagiários, as atividades eram divididas entre cinco e nove estagiários, a depender da disponibilidade e tempo de estágio de cada um, sendo distribuídas em forma de escalas semanais, para que todos conseguissem acompanhar os diferentes profissionais de forma igualitária. A tabela das escalas semanais era enviada aos sábados pelo veterinário responsável dos estagiários Romes José Paulino Junior com a equipe que o estagiário iria acompanhar na semana (**Figura 4**).

Tabela 1. Relação dos veterinários pertencentes às equipes de “transferência de embrião” e “aspiração folicular”.

1. Equipe de “transferência de embrião”	2. Equipe de “aspiração folicular”
Pamella	Eduardo
Romes	Miguel
Guilherme	Tito
Lucas	Fábio
Diogo	João Vitor
Pedro Ivo	Alysson
Alexandre	

Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

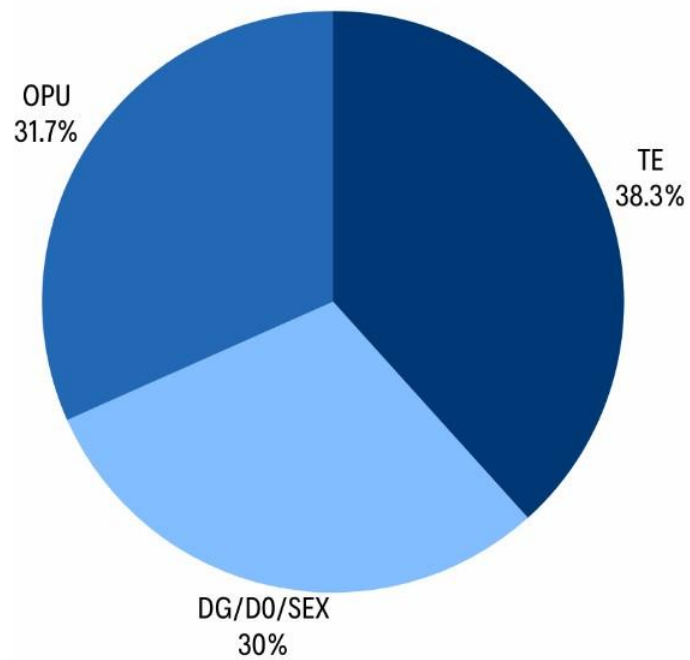
Figura 4. Exemplo da escala semanal de atividades dos estagiários junto aos veterinários.

	AGENDA SEMANAL ESTAGIO CURRICULAR - ABS DELTA CAMPO						
	DOMINGO	SEGUNDA	TERÇA	QUARTA	QUINTA	SEXTA	SÁBADO
	29/10/2023	30/10/2023	31/10/2023	01/11/2023	02/11/2023	03/11/2023	04/11/2023
AMANDA SIQUEIRA		ROMES	FABIO	GUILHERME	PAMELLA	NEUMAR	GUILHERME
ANNA JULIA PORTO	DIOGO	DIOGO	DIOGO	DIOGO	DIOGO	DIOGO	
CAMILA RUZZON		LUCAS	ALEXANDRE	X	X	X	X
GIOVANA BOTELHO		ALEXANDRE	PAMELLA	GUILHERME	ROMES	FABIO	GUILHERME
JOÃO VITOR STOLZ	JOAO VITOR	JOAO VITOR	PEDRO		ALEXANDRE	ALEXANDRE	ROMES
VICTORIA MARQUES		GUILHERME	PAMELLA	EDUARDO	EDUARDO	ROMES	PAMELLA
TAINARA OLIVEIRA	DIOGO	DIOGO	DIOGO	DIOGO	DIOGO	DIOGO	
THALIS MELO		FABIO	LUCAS	JOAO VITOR	PAMELLA	GUILHERME	

Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

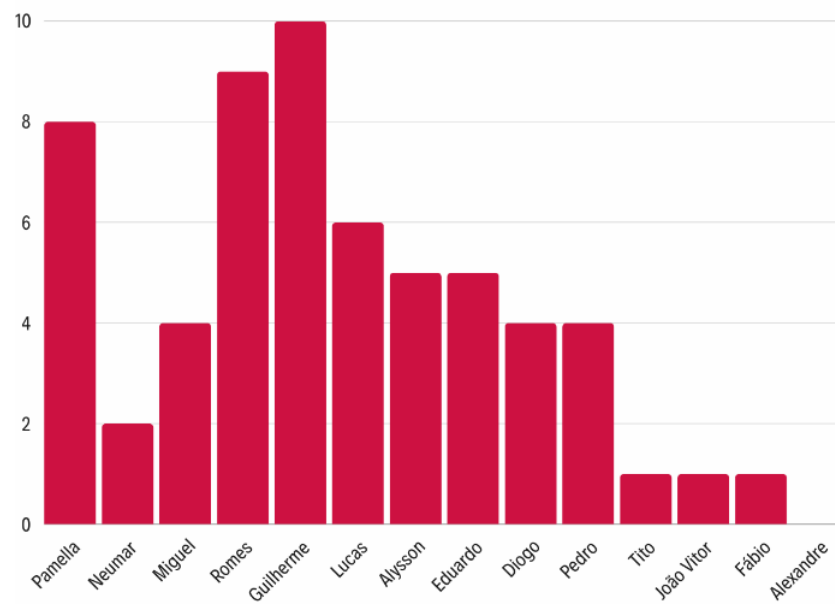
Por haver esta divisão de tarefas e equipes, durante seu período de estágio a aluna permaneceu 36,3% das horas auxiliando na transferência de embriões, 31,7% na aspiração folicular e 30% nas atividades reprodutivas como diagnóstico de gestação, sexagem fetal e protocolo de receptoras (**Figura 5**). A aluna também pôde acompanhar o trabalho desenvolvimento por diferentes veterinários (**Figura 6**) e diferentes aspiradores (**Figura 7**).

Figura 5. Distribuição do tempo de estágio dentre os três serviços oferecidos pela empresa.



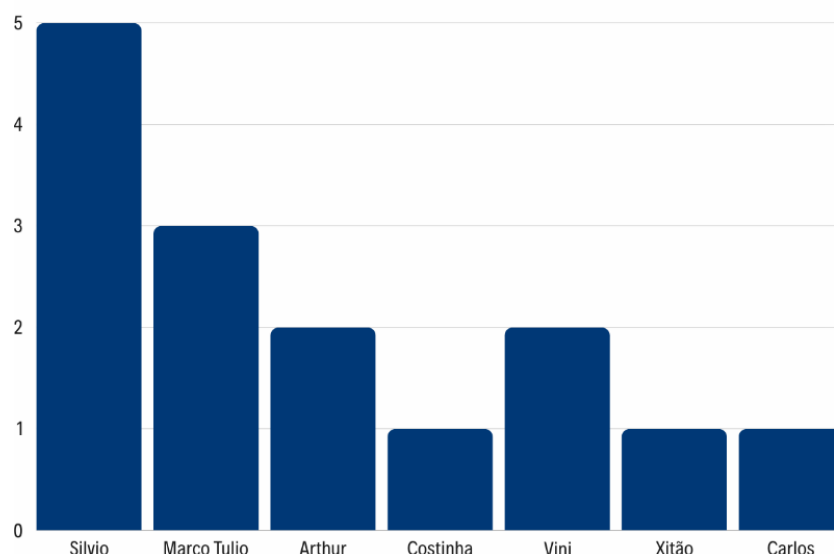
Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

Figura 6. Quantidade de vezes que a estagiária acompanhou cada veterinário da empresa.



Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

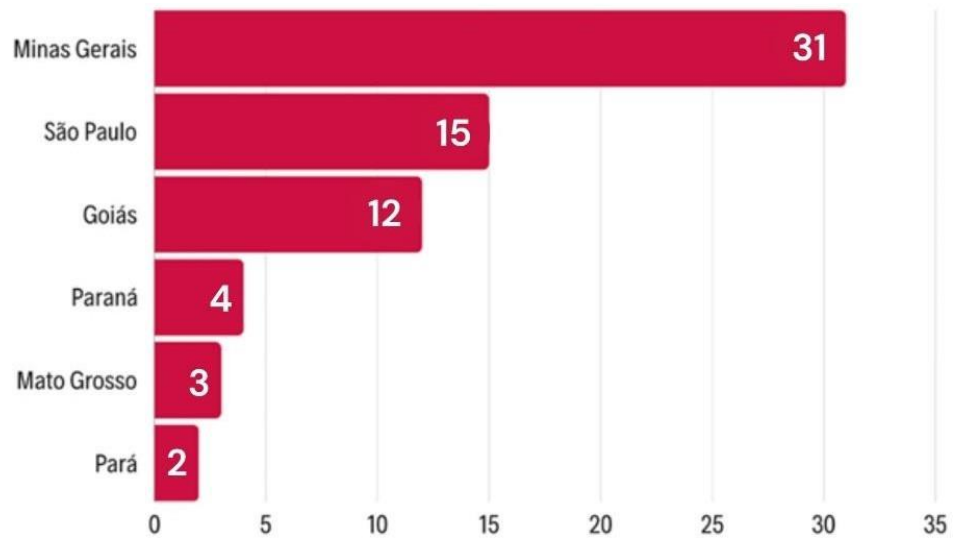
Figura 7. Quantidade de vezes que a estagiária acompanhou cada técnico de seleção de oócitos.



Fonte: Arquivo pessoal, 2023

As fazendas atendidas eram localizadas em diferentes cidades dos Estados de Minas Gerais, Goiás, São Paulo, Paraná, Pará e Mato Grosso (**Figura 8**). Os clientes não apresentavam mesmo padrão de estrutura, manejo, raça ou produção, atendendo propriedades de leite e corte, desde o microprodutor até os principais produtores de genética na pecuária. Na **Figura 9**, destaca-se o uso do tronco Beckhauser® Linha Automação modelo hidráulico com parede móvel, desenvolvido pelo grupo ETCO da Unesp/FCAV visando a redução de acidentes de manejo de 42% para 10 %, ideal para eficiência no manejo e bem-estar dos animais. A **Figura 10** trata-se de uma propriedade familiar no município de Uberaba/MG, onde o manejo dos animais era feito em um corredor de madeira, realizando a contenção com um cambão de madeira. A **Figura 11** retrata o típico manejo de granjas leiteiras, onde o manejo é realizado em brete coletivo.

Figura 8. Quantidade de atendimentos feitos por estado durante o período de estágio.



Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

Figura 9. Tronco Beckhauser® linha automação modelo hidráulico na propriedade do grupo JBJ agropecuária no município de Anicuns, GO, Brasil



Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

Figura 10. Propriedade de corte no município de Uberaba-MG onde não havia tronco e os animais eram contidos apenas com tábua como cambão.



Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

Figura 11. Propriedade de leite no município de Passos, MG contendo um brete coletivo.

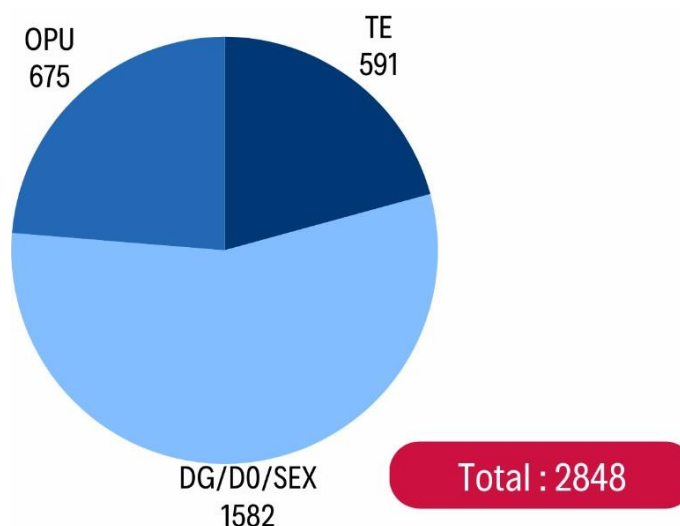


Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

Em relação às atividades realizadas junto às equipes de trabalho nas diferentes propriedades, além do auxílio técnico/prático no manejo e montagem dos materiais nos procedimentos, a estagiária teve oportunidade de atuar diretamente na avaliação,

diagnóstico, transferência e protocolo desses animais, podendo aplicar os conhecimentos teóricos em prática. Neste contexto, a estagiária acompanhou a equipe de “transferência de embriões” (**Figura 12**) em 2.183 atividades por animal sendo distribuídas em 591 procedimentos de transferência de embriões (TE) e 1.582 procedimentos para diagnóstico de gestação, protocolo hormonal e sexagem (DG/D0/SEX). A estagiária também acompanhou a equipe de “aspiração” (**Figura 12**) em 675 procedimentos de aspiração folicular (OPU), totalizando 2.848 atividades acompanhadas. Estas atividades serão descritas com mais detalhes nos próximos subtópicos.

Figura 12. Quantidade de atividades realizadas por animal durante o período de estágio.



Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

Durante o período de estágio, a aluna teve a oportunidade de executar na prática seus conhecimentos adquiridos sob supervisão dos médicos veterinários da empresa. A estagiária protocolou 727 receptoras, palpou e fez imagem de ultrassom em 183 animais, aplicou 82 anestésias epidurais e transferiu um embrião (**Tabela 2**).

Tabela 2. Quantidade de animais e atividades práticas executadas pela aluna.

Atividades realizada pela estagiária	Quantidade de animais
Protocolo hormonal	727
Palpação/Ultrassom	183
Anestesia epidural	82
Transferência de embrião	1

Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

3.1. Avaliação e protocolo hormonal de receptoras

Dentre as atividades realizadas, a estagiária realizou o protocolo hormonal em 727 receptoras de embriões para sincronização de onda folicular. No dia de início do protocolo, denominado “D0”, ocorria a apartação e avaliação dos animais selecionados para sincronização da TETF (Transferência de Embrião em Tempo Fixo). Momentos antes do protocolo, o médico veterinário realizava a palpação e ultrassonografia para avaliação de todo trato reprodutivo, como: tamanho e formato de cérvix; consistência e involução uterina; e tamanho e desenvolvimento dos ovários. Segundo Gonçalves et al. (2008), novilhas e fêmeas múltiparas que mantenham ciclo estral regular, tenham dado à luz pelo menos 60 dias atrás, tenham passado por um período puerperal normal, e estejam livres de doenças e anomalias no trato reprodutivo podem ser selecionadas como receptoras potenciais de embriões.

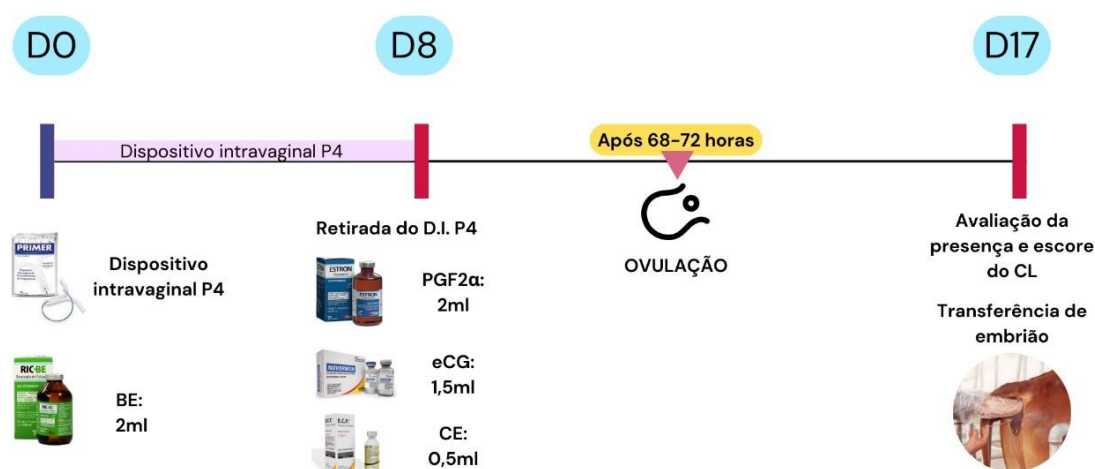
Na ficha denominada de “Ficha de sincronização TETF” era anotadas informações dos animais, a saber: número, categoria, raça e achados do ovário, sendo “1” para presença de corpo lúteo (CL), “0” para ausência de CL e “FD” para presença de folículo dominante com ausência de CL. Logo após a avaliação da fêmea, se esta estivesse apta, era realizado o protocolo para sincronização de onda folicular

Os protocolos de TETF têm por objetivo induzir a emergência de uma nova onda folicular, sincronizando a ovulação de todos os animais em um mesmo momento, simulando e controlando assim o ciclo estral das vacas (CASTILHO, 2015), resultando em um CL conhecido e coetâneo ao embrião. O protocolo comercial utilizado pela ABS Pecplan é o de três manejos, em que inicia em um dia aleatório do ciclo estral, com a inserção do dispositivo intravaginal de liberação lenta de progesterona (P4) monodose a 0,5g, e administração de 2 mL (2mg) de benzoato de estradiol (BE), sendo esse considerado o dia 0 (D0). O dispositivo de P4 intravaginal é empregado com o propósito de simular a presença de um CL. O BE é utilizado para mimetizar a existência de um folículo dominante em condições de alta progesterona, induzindo a atresia folicular e, assim, promovendo a sincronização da próxima onda folicular (BO et al., 1995; BO; ADAMS; MAPLETOFT, 2000). O esquema do protocolo realizado está na **Figura 13**.

O próximo manejo pode ocorrer de 7 a 9 dias após o D0. Nesse ocorrerá a retirada do dispositivo intravaginal de progesterona e a aplicação de 2mL de prostaglandina sintética (PGF2 α), 1,5 mL de gonadotrofina coriônica equina (eCG) e

0,5 mL de cipionato de estradiol (CE) que atua como indutor indireto da ovulação. O eCG desempenha a função de estimular o crescimento final do folículo dominante. A prostaglandina é utilizada para causar isquemia nos vasos sanguíneos que irrigam o corpo lúteo, iniciando assim o processo de luteólise (BURKE; BOLAND; MACMILLAN,1999; DISKIN; AUSTIN; ROCHE, 2002). A ovulação irá ocorrer em cerca de 68 a 72 horas após o segundo dia de manejo.

Figura 13. Esquematisação do protocolo hormonal de sincronização de receptoras de embrião bovino realizado na empresa.



Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

Durante os manejos de protocolo de receptoras, a estagiária ficou responsável pelas anotações na ficha de sincronização, administração dos hormônios, montagem e implante dos dispositivos intravaginais de progesterona e, ao final do serviço, avaliação de três animais por meio de palpação e ultrassom transretal para treinar e aperfeiçoar a técnica.

3.2. Transferência de embriões (inovulação)

Após o protocolo de TETF, era feita a inovulação/transferência de embrião/TE que consiste na transferência de embrião produzido *in vitro* para uma receptora, sendo esta responsável por levar a gestação e acompanhar a progênie até a desmama. A finalidade principal dessa técnica é possibilitar que uma fêmea de alto valor genético gere um número de descendentes significativamente maior do que seria alcançável de forma fisiológica ao longo de sua vida reprodutiva (SANTOS et al., 2012).

No dia da TE, a receptora já sincronizada era avaliada por meio da palpação retal com auxílio da ultrassonografia transretal para confirmação e avaliação do escore

do CL presente. Segundo as normas da empresa, a classificação devia ocorrer inicialmente pelo lado em que se encontra o CL, sendo “D” para presença no lado direito e “E” para presença do lado esquerdo. Após, era avaliado o escore com relação ao tamanho do CL em proporção ao ovário, sendo classificados em grau 1 (menos de 30% do ovário), grau 2 (de 30 a 60% do ovário) e grau 3 (superior a 60% do ovário). Em casos de ausência de CL as fêmeas eram consideradas “refugo”, pois não responderam ao protocolo hormonal de sincronização, logo, eram descartadas ou submetidas a um novo protocolo.

A classificação do escore do CL é uma forma de padronização da empresa para avaliação do estado em que as receptoras se encontravam, porém, estudos já demonstraram que o diâmetro e volume do CL não interferem nas taxas de prenhez (DA SILVA LEAL et al., 2009)

Posteriormente, era realizada analgesia epidural no espaço sacrococcígeo (S5 – Co1) ou intercoccígeo (Co1 – Co2) utilizando lidocaína 2% para evitar a contração uterina e movimentação do animal, reduzindo as chances de perda do embrião (**Figura 14**). Na rotina a dosagem é alterada pela categoria e raça dos animais. Em caso de vaca holandesa e girolando era aplicado 80mg (4 mL) de anestésico por animal, já em novilhas de ambas as raças 60mg (3 mL). Em Nelore, 60mg (3mL) tanto em vacas quanto em novilhas. Em Gir, apenas 40mg (2mL), tendo em vista sua maior sensibilidade.

Figura 14. Aplicação da anestesia epidural em bovino da raça nelore (*Bos indicus*).



Fonte: Arquivo pessoal, 2023

De forma estéril, era feita a montagem da bainha de inovulação da WTA com a camisinha sanitária da IMV na sala de campo da ABS. O pacote da WTA continha

cinco bainhas para inovulador e a caixa da IMV continha 80 camisinhas sanitárias. Para montagem era realizada a introdução da bainha na camisinha por meio de um orifício contido em sua extremidade (**Figura 15**). As bainhas já montadas eram armazenadas em uma luva de palpação e levadas ao campo.

Figura 15. Procedimento de montagem das bainhas com as camisinhas sanitárias.



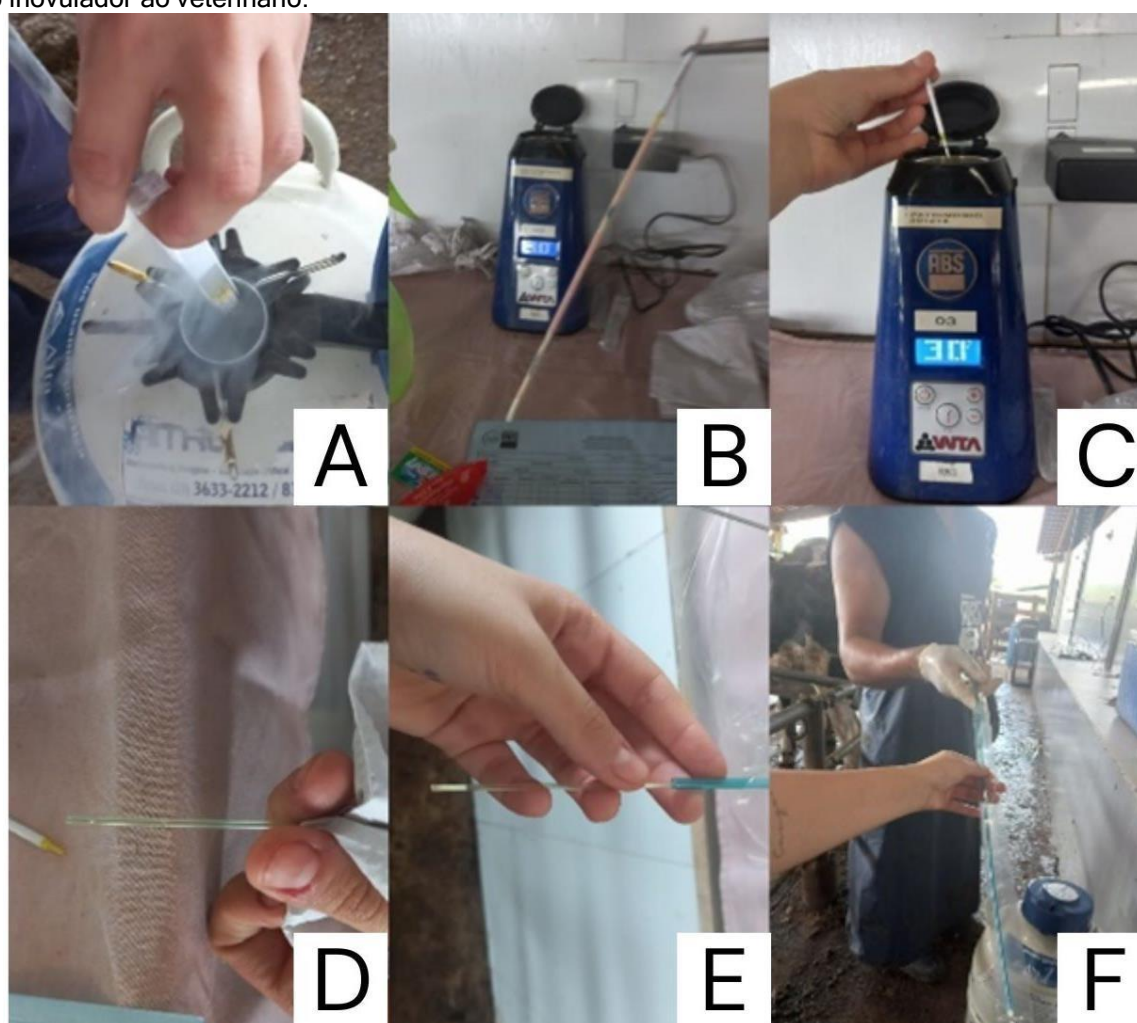
Fonte: Arquivo pessoal, 2023

Após a avaliação da fêmea era feita a montagem do embrião no inovulador. Em caso de embrião DT (Embrião criopreservado por transferência direta; *Direct Transfer*) inicialmente o botijão de nitrogênio era levado ao curral e a caneca a qual estava presente as raques que continham os embriões eram localizadas. Cada raque possuía um diferente acasalamento, por isso era de extrema importância a presença do gestor da propriedade para selecionar os acasalamentos de interesse da transferência.

Para o descongelamento do embrião DT, era utilizado o descongelador de sêmen e embrião convencional da WTA® (Cravinhos, SP, Brasil). Ao retirar a palheta da raque, é necessário deixá-la em contato com o ar por 5 segundos antes de colocá-la no descongelador, ajustado a temperatura de 30°C. A palheta é então colocada no

descongelador por 30 segundos. Passado o tempo, a palheta era seca com papel toalha limpo e o lacre era removido. A palheta era inserida na bainha pré-montada e deslizada para o seu interior, minimizando o contato do embrião com sujidades. O êmbolo no inovulador deve ser estendido a um comprimento semelhante ou superior ao da palheta. Em seguida, o inovulador é posicionado na bainha até que haja uma leve resistência. Por último, o inovulador era entregue ao técnico com a ponta voltada para o estagiário, a fim de evitar possíveis acidentes (**Figura 16**).

Figura 16. Procedimento de descongelamento e montagem do embrião DT (A) Retirada da palheta contendo o embrião do botijão. (B) Palheta em contato com o ar. (C) Palheta do descongelador a 30°C. (D) Retirada do lacre. (E) Inserimento da palheta na bainha para montagem do inovulador. (F) Entrega do inovulador ao veterinário.



Fonte: Arquivo pessoal, 2023

Diante de embriões a fresco (**Figura 17**), a aspiração folicular é programada para 8 dias antes da transferência para que o embrião tenha 7 dias no dia da transferência. Nesse caso o embrião era envasado no mesmo dia na central de

Uberaba e era levado para propriedade pelo técnico por meio de uma transportadora T-Cube (TED®, Cravinhos, SP, Brasil), numa temperatura constante de 36°C.

Figura 17. Mesa de procedimento de transferência contendo a transportadora embriões a fresco no município de Delta – MG.



Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

Na etapa de transferência, o médico veterinário realizava a inserção do inovulador por via transcervical, e, ao atingir a cérvix, era rompida a camisinha sanitária. Por meio da palpação retal, o veterinário manipulava o trato reprodutivo a fim de guiar o inovulador até o corno uterino ipsilateral ao CL, onde era depositado o líquido da palheta que contém o embrião. (JÁINUDEEN et al., 2004)

3.3. Diagnóstico de gestação e sexagem fetal

O diagnóstico de prenhez era realizado a partir de 23 dias após a transferência, tendo em vista que o embrião transferido tinha sete dias, logo, o conceito estará com 30 dias. Para categorizar a idade gestacional por palpação retal (**Figura 18**) eram utilizados alguns parâmetros determinados por Grunert e Berchtold (1993), sendo esses:

- Vaca vazia: útero encontra-se pélvico, sem corpo lúteo nos ovários, corno uterinos simétricos.

- A partir de 30 dias de gestação: útero pélvico, assimetria de cornos uterinos, beliscamento das membranas fetais, corpo lúteo ipsilateral à assimetria e vesícula amniótica palpável (2-2,5cm).
- 60 dias de gestação: útero pélvico, maior assimetria de cornos, beliscamento de membranas fetais, corpo lúteo ipsilateral à assimetria, vesícula amniótica palpável (6-8 cm) e balotamento fetal.
- 80 a 90 dias de gestação: útero pélvico-abdominal, não cabe na mão, balotamento fetal e presença de placentomas palpáveis.
- 120 a 130 dias de gestação: útero abdominal, cérvix levemente tracionada, não cabe na mão, ainda contornável, balotamento fetal, placentomas palpáveis e presença do frêmito da artéria uterina ipsilateral ao corno gestante.
- 150 a 180 dias de gestação: útero extremamente abdominal, cérvix tracionada, feto inacessível, placentomas palpáveis e presença de frêmito da artéria uterina bilateral.
- 180 a 200 dias de gestação: útero não contornável, feto acessível, placentomas palpáveis, feto inicia o encaixe na cavidade pélvica e presença de frêmito da artéria uterina bilateral.
- 240 a 270 dias de gestação: cabeça e membros anteriores do feto na pelve, placentomas grandes, presença de frêmito da artéria uterina bilateral e reflexo interdigital e de mamada do feto.

Figura 18. Estagiária Victória Marques realizando exame de palpação retal em fêmeas bovinas para diagnóstico de prenhez no município de Pedregulho - SP.



Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

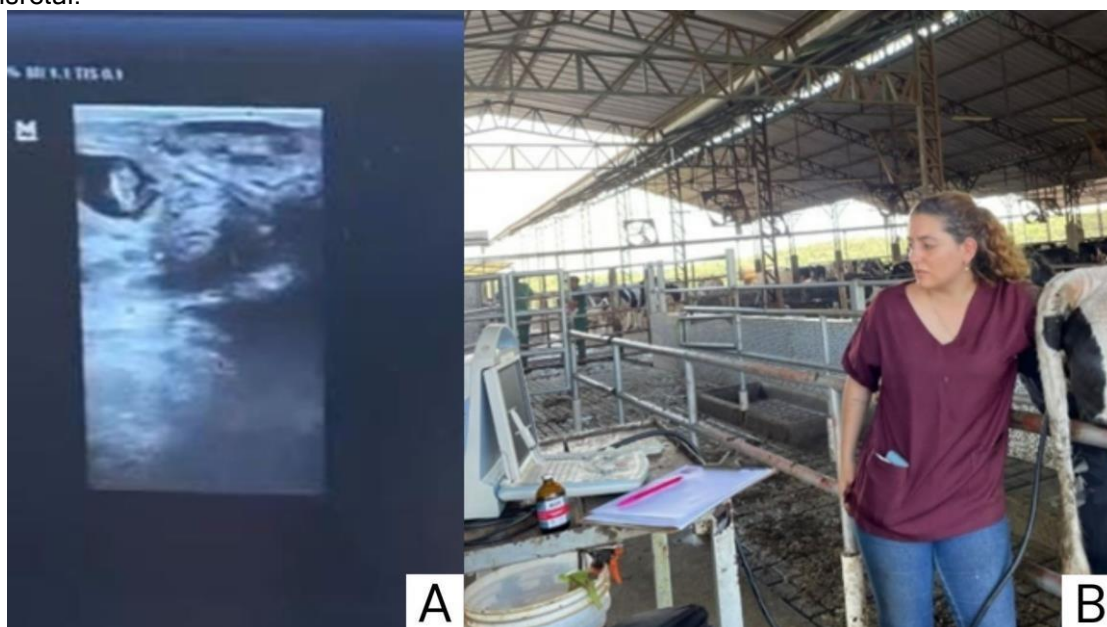
Para confirmação do diagnóstico de gestação era utilizada a ultrassonografia transretal (**Figura 19**). A técnica utiliza ondas sonoras de alta frequência para produzir imagens baseadas na compressão e descompressão das moléculas dos tecidos. Essas ondas acústicas se propagam pelos tecidos orgânicos, e a densidade e organização do tecido determinam como a onda será refletida. Líquidos são anecoicos, não refletindo as ondas e resultando em imagens escuras, enquanto tecidos densos refletem mais, sendo hiperecoicos e gerando imagens mais claras (FERNANDES, 2006).

Durante o procedimento ultrassonográfico, é viável observar diversas estruturas, tais como a bexiga urinária, a vesícula embrionária e os fluidos fetais, que se apresentam como áreas escuras (não ecogênicas); o esqueleto fetal, que aparece em branco (hiperecoico); e as membranas fetais, batimento cardíaco e tecidos

maternos, que se manifestam em diferentes tonalidades de cinza. (HAFEZ e HAFEZ, 2004)

Acima de 30 dias de gestação é possível notar a presença de líquido na luz uterina, presença de CL ipsilateral ao corno gravídico, e visualização do feto, tendo em vista que nessa fase se encontra mais distante (solto) do endométrio. Pela ultrassonografia também é possível notar perda gestacional através do líquido mais hiperecoico, descolamento de anexos embrionários e viabilidade fetal pelos batimentos cardíacos fetais.

Figura 19. Diagnóstico de prenhez de 30 dias no município de Coromandel – MG. (A) Imagem da prenhez positiva onde pode-se ver líquido e o conceito. (B) Estagiária realizando a ultrassonografia transretal.



Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

A identificação do sexo fetal é estabelecida por meio da determinação da localização do tubérculo genital (TG) nas idades gestacionais compreendidas entre 55 e 75 dias (CURRAN et al., 1989). Em fêmeas o tubérculo genital migra ventralmente à base da cauda (**Figura 20**), enquanto, nos machos, o TG migra posterior ao cordão umbilical. A identificação precisa do sexo fetal pode ser realizada observando o TG aos 56 dias de gestação nos machos e um pouco antes nas fêmeas. Segundo Barros e Visintin (2001), a técnica de identificação do TG alcança taxas de acerto no diagnóstico precoce dos sexos de 90,7%

Figura 20. Identificação de TG (Tubérculo genital) caudal, sexagem de fêmea no município de Prata - MG. O TG está circulado em vermelho.



Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

4. Discussão das atividades desenvolvidas

Durante as atividades a estagiária era responsável pelo auxílio no manejo dos animais, montagem do ultrassom e equipamentos, preparação e limpeza dos materiais, anotação das fichas e anestesia dos animais. Quando viável, ao final do serviço aos médicos veterinários solicitavam a propriedade em média dois animais para estagiária treinar palpação e ultrassonografia. A aluna pôde acompanhar procedimentos antes vistos apenas em teoria na faculdade, como por exemplo a aspiração folicular e a transferência de embriões.

Ter acompanhado diferentes profissionais das áreas de transferência de embriões e aspiração folicular possibilitou que a aluna aprendesse a execução das técnicas de diferentes maneiras, tendo em vista que cada veterinário possui sua particularidade, tanto na prática das atividades quanto no manejo em geral.

A diversidade do padrão estrutural e social das propriedades atendidas pela empresa ampliou sua capacidade de adaptação em manejo, além do desenvolvimento

em relações interpessoais com os proprietários e funcionários das fazendas. Tendo em vista esta realidade, a estagiária pôde desenvolver sua comunicação, empatia e flexibilidade por meio da participação ativa e contato com proprietários e funcionários dos locais atendidos.

5. Considerações finais

O estágio curricular obrigatório realizado na empresa ABS Pecplan na unidade de Uberaba- MG contribuiu muito para o crescimento profissional e pessoal da aluna, permitindo a vivência da rotina do médico veterinário e aquisição de conhecimento técnico e teórico nas especialidades de reprodução bovina, em especial a produção *in vitro* de embriões (PIVE). A experiência foi de suma importância para que a estagiária agregasse o conhecimento necessário para se inserir no mercado de trabalho de forma mais capacitada.

II – Relato de caso

Assunto de interesse: Aspiração folicular guiada por ultrassom (OPU- *Ovum Pick-up*)

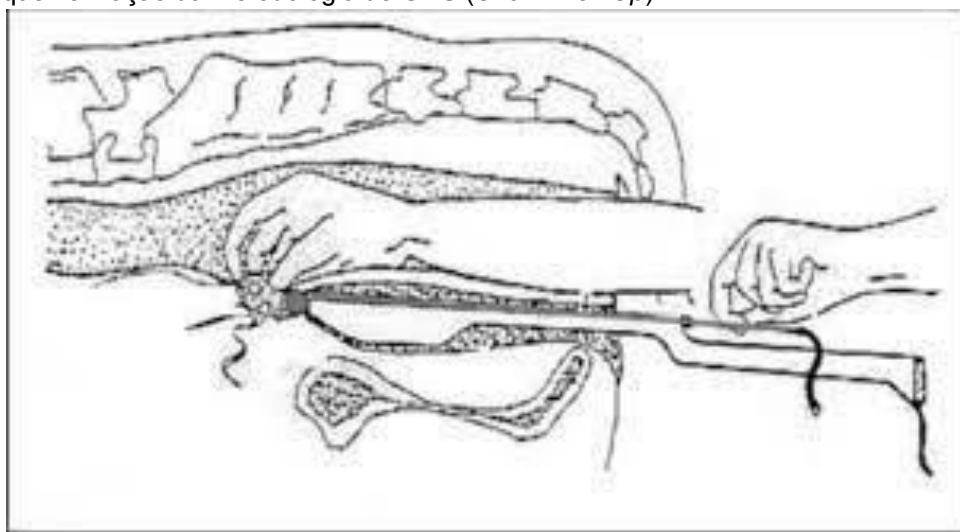
1. Introdução

No cenário internacional, os embriões provenientes da PIVE (Produção *In Vitro* de Embriões) representam 79,7% dos embriões transferidos em bovinos, sendo o Brasil responsável por 34,8% da produção mundial de embriões *in vitro* (VIANA, 2021). Além de desempenhar um papel essencial nos programas de melhoramento genético, a técnica não apenas proporciona alternativas de acasalamento para a criação de animais mestiços, mas também pode encontrar novas oportunidades de desenvolvimento em meio às transformações nos sistemas de produção de leite e carne. Essas mudanças são impulsionadas pela pressão do mercado, que busca atender à crescente necessidade do aumento de produtividade, redução de custos, promoção do bem-estar animal e implementação de sistemas de produção sustentáveis (VIANA, FIGUEIREDO E SIQUEIRA, 2017).

Resumidamente, as etapas da PIVE em bovinos são divididas em obtenção dos oócitos, MIV (Maturação *in vitro*), FIV (Fecundação *in vitro*), CIV (Cultivo *in vitro*) e transferência dos embriões (TE). A obtenção de oócitos pode ser realizada por diversas técnicas. Em bovinos, a coleta *post-mortem* por meio da punção folicular de ovários obtidos de abatedouros, e a coleta *in vivo* por meio da técnica de aspiração folicular transvaginal guiada por ultrassom (**Figura 21**), conhecida como OPU (VARAGO et al., 2008), são as principais técnicas, sendo a última forma a de maior importância para matrizes de alto valor genético. Na etapa de MIV, os oócitos coletados são avaliados e selecionados para que possam progredir do estágio imaturo de diplóteno da prófase da meiose I para estágio maduro de metáfase da meiose II. Esta etapa normalmente varia de 22 a 24 horas. Após, na FIV, ocorre o cocultivo dos oócitos presumivelmente maduros com espermatozoides selecionados por meio do gradiente de densidade, tendo esta etapa duração média de 18 a 20 horas. Por fim, a CIV consiste no desenvolvimento do embrião de 7 a 9 dias (GONÇALVES et al., 2007) para após ser transferido para uma fêmea receptora apta. Em estudo NEVES et al. (2016) analisou taxas de conversão de oócitos para embriões na PIVE em bovinos da raça Nelore (*Bos indicus*) e obteve média de 35% nos períodos mais quente do ano e 55% em períodos mais amenos.

Por mais de duas décadas, a técnica de aspiração folicular transvaginal guiada por ultrassom tem demonstrado maior versatilidade, estabelecendo-se como a alternativa mais eficaz para a recuperação de oócitos *in vivo* na espécie bovina (BOLS et al., 2004; GONÇALVES et al., 2007; ANDRADE et al., 2012). A técnica permite utilização de fêmeas pré-púberes normalmente a partir de seis meses, gestantes até cerca do terceiro mês de gestação e, ainda, de fêmeas no período pós-parto como doadoras de oócitos, maximizando o potencial reprodutivo do rebanho e reduzindo o intervalo entre gerações. Além disso, não há necessidade do uso de hormônios na técnica, prolongando a vida reprodutiva da doadora e o intervalo de produção de oócitos. Outra vantagem é a possibilidade de utilizar diferentes tipos de acasalamento por aspiração e o maior aproveitamento da dose de sêmen (BRACKETT E ZUELKE, 1993; SANTL et al., 1998; BUENO E BELTRAN, 2008). Nesta monografia serão abordados aspectos relacionados à OPU, sendo que no tópico 2 será feita a revisão de literatura do assunto, no tópico 3 serão mostrados os dados de OPU acompanhados durante o estágio e no tópico 4 será feita a discussão destes dados.

Figura 21. Esquematização da metodologia de OPU (*Ovum Pick Up*).



Fonte: Penitente Filho, 2011.

2. Aspiração Folicular Guiada por Ultrassom (*Ovum pick up* – OPU)

2.1. Desenvolvimento folicular

Desde as fases iniciais da vida, a fêmea bovina inicia um processo crucial durante o desenvolvimento fetal, que sinaliza o início de sua vida reprodutiva, com a preparação do sistema reprodutivo. Ao nascer, órgãos vitais como os ovários já têm o

potencial intrínseco para a produção de oócitos, contidos em seus folículos. Este processo inicial estabelece as bases para a capacidade reprodutiva subsequente (ROBERTS et al., 1971).

A formação dos folículos ovarianos tem início durante o período fetal, no terço inicial da gestação, através da multiplicação das células germinativas na crista genital (BAKER, 1971). Ao nascer, as fêmeas bovinas geralmente possuem em torno de 500.000 folículos primordiais em seus ovários (FERREIRA et al., 2004). No interior dos folículos encontra-se o oócito, gameta feminino envolto por células que proliferam à medida que o folículo se desenvolve. No desenvolvimento dos folículos (Foliculogênese), os folículos deixam o estado de dormência, são recrutados e passam pelos estágios de folículo primário, secundário e terciário. Normalmente, a maior parte dos folículos em crescimento passa por atresia em diversas fases de desenvolvimento, com apenas 0,1% a 0,2% dos folículos primordiais conseguindo amadurecer até o estágio terciário, ovulatório e ovulação.

Ao atingir a puberdade, a fêmea desenvolve um padrão rítmico de eventos fisiológicos que promovem mudanças no comportamento, alterações morfológicas no sistema reprodutor e no restante do corpo, denominado ciclo estral. Em cada ciclo estral ocorre o desenvolvimento de duas a três ondas foliculares, totalizando por volta de 21 dias por ciclo nas fêmeas bovinas (HAFEZ, 2004).

A onda folicular é marcada pelo recrutamento de um grupo de pequenos folículos primários seguida da seleção de um folículo dominante, que promove a regressão dos folículos subordinados (BARUSELLI et al., 1997). Cada onda envolve o recrutamento de aproximadamente 10 a 50 folículos, os quais crescem simultaneamente, até que apenas um ovule e os demais sofram atresia (OLIVEIRA et al., 2010) no caso das espécies monovulatórias, como a bovina.

Há notáveis diferenças na dinâmica e recrutamento folicular de *Bos taurus* e *Bos indicus*. Raças europeias, como a Holandesa (*Bos taurus*), apresentam predominância de duas e três ondas (WOLFENSON et al., 2004), enquanto raças zebuínas, como Nelore (*Bos indicus*), apresentam em sua maioria três ondas, podendo ter até quatro ondas de crescimento folicular por ciclo estral (VIANA et al., 2000). Estudos demonstraram que o número de folículos recrutados por onda é superior em *Bos indicus* ($33,4 \pm 3,2$) em relação à *Bos taurus* ($25,4 \pm 2,5$) (CARVALHO

et al. 2008). GIMENES et al. (2008), observaram que novilhas da raça Nelore tiveram $29,7 \pm 3,1$ folículos no momento da emergência da onda e que, novilhas da raça Holandesa apresentaram $15,0 \pm 2,8$ folículos. O diâmetro do folículo pré-ovulatório em *Bos indicus* é de 11 a 13 mm e em *Bos taurus* é de 15 a 20 mm (GINTHER, 2000).

Os folículos aspirados durante o processo de OPU são aqueles que atingiram a fase de formação do líquido folicular, conhecido como antro, o que torna possível a visualização por meio de ultrassonografia. Esses folículos em questão são caracterizados como antrais, apresentando um diâmetro superior a 3 mm (VIANA E BOLS, 2005).

2.2. Descrição da técnica de aspiração folicular

A técnica de OPU faz uso de ultrassonografia, empregando uma sonda microconvexa acoplada a uma guia de aspiração, onde em seu interior à presença de um mandril acoplado a uma agulha, visando direcionar e puncionar os folículos visíveis na ultrassonografia (STROEBECH et al., 2015). A técnica possibilita coletar o conteúdo de diversos folículos por sessão de aspiração, assim, possibilitando a coleta de muitos óocitos e multiplicando a chance de aumentar o número de descendentes de animais de interesse econômico e genético, superando a produção *in vivo* de embriões em relação a bezerro/vaca/ano (GOODHAND et al., 1997).

A aspiração *in vivo* em conjunto com a PIVE tem importância crucial na produção de embriões provenientes de animais senis, bezerras/novilhas pré-púberes, fêmeas prenhes até o primeiro trimestre de gestação, animais que não respondem ao protocolo de superovulação e em animais que apresentam condições reprodutivas comprometidas. Segundo GIBBONS et al. (1994), a realização de aspiração folicular duas vezes por semana resulta em uma porcentagem superior de embriões de qualidade superior, bem como um número mais elevado de embriões transferíveis em comparação com aspirações realizadas apenas uma vez por semana (GIBBONS et al., 1994).

Além desses, outros benefícios da técnica OPU-PIVE incluem a capacidade de obter óocitos em qualquer estágio do ciclo estral sem a necessidade de tratamento gonadotrófico das fêmeas doadoras (MERTON, et al., 2003) e a maximização da dose de sêmen, viabilizando uma maior produção de embriões com doses de elevado valor comercial, inclusive aquelas de sêmen sexado (FABER, et al., 2003).

Em trabalho publicado sobre OPU e PIV de embriões em vacas Nelore no Brasil (PONTES et al., 2011), foram realizadas 656 aspirações com recuperação média de aproximadamente 30,84 óocitos por vaca aspirada. Destes, 23,23 óocitos foram considerados viáveis e colocados em maturação o que resultou em 8,13 embriões viáveis produzidos por sessão de aspiração. Após, os embriões transferidos resultaram em 37,26% de taxa de prenhez no dia 30 e 35,79% de taxa de prenhez no dia 60 após a transferência.

Para realização do procedimento de OPU, inicia-se com a contenção adequada e segura da fêmea. Após, é realizada a palpação retal para identificação anatômica do trato reprodutivo e avaliação dos ovários. Em seguida, procede-se à lavagem da região perineal com água e clorexidina. A fim de garantir o relaxamento e bem-estar da fêmea durante o procedimento de aspiração, realiza-se a anestesia epidural utilizando anestésico a base de lidocaína, como o utilizado pela empresa ABS, Bloc® (JA Saúde Animal®, Patrocínio Paulista, SP), composto pela associação de Lidocaína e Xilazina.

Figura 22. Aspiração folicular em Nelore realizada no município de Uberaba - MG.



Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

Para introdução da guia de aspiração é necessária a abertura dos lábios vulvares, sendo posicionada no fórnix uterino, direcionada para o ovário a ser aspirado

(DIESEL, 2010, SÁ, 2012, FRANCO et al., 2014). Com auxílio da manipulação retal, os ovários são posicionados na ponta do transdutor para obter uma clara visualização do ultrassom (**Figura 22**). A agulha localizada na ponta da guia atravessa o tecido vaginal e adentra o ovário, que é manipulado por via transretal para punção dos folículos (GOUVEIA et al., 2011). Estes serão aspirados através de pressão negativa vinda da bomba a vácuo e o líquido folicular guiado até o tubo contendo solução a 37°C. Após o procedimento, o técnico retira a guia delicadamente com a agulha retraída para evitar lesões no trato reprodutivo, lava o sistema e agulha com a aspiração de uma solução lavagem aquecida a 37°C, identifica o tubo com os dados do animal para levá-lo ao técnico selecionador, que fará a classificação e maturação dos oócitos (**Figura 23**).

Figura 23. Líquido folicular aspirado em solução de lavagem em uma propriedade no município de Uberaba – MG.



Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

2.3. Materiais para aspiração

Segundo ORTIS & FOSS (2013), os principais materiais necessários para realizar a aspiração folicular consistem em:

- Aparelho ultrassom;

- Transdutor de ultrassom transvaginal microconvexo;
- Guia de aspiração folicular;
- Bomba a vácuo;
- Tubos contendo solução de lavagem a 37°C (tampão solução fisiológica, PBS, heparina e antibiótico);
- Mangueira a vácuo;
- Sistema de aspiração;
- Rolha (acoplada ao tubo com entrada para a mangueira a vácuo e sistema de aspiração);
- Mandril;
- Agulha de aspiração;
- Camisinha sanitária para guia;
- Gel condutor de ultrassom.

A guia de aspiração possui em seu interior um encaixe interno para acomodar o transdutor de ultrassom transvaginal microconvexo e o mandril com a agulha e o sistema de aspiração. O sistema de aspiração percorre todo mandril e seu final emerge no final da guia, onde é conectado à rolha de aspiração, a qual encaixa no tubo destinado ao conteúdo folicular aspirado. A agulha se localiza na outra extremidade do transdutor, acima do transdutor, sendo manipulada pelo movimento de “vai e vem” do mandril. Para evitar transmissão de doença e possíveis infecção é realizada a troca de as agulhas e camisinhas a cada animal aspirado

Figura 24. Guia de aspiração folicular para novilhas (WTA®, Cravinhos, Brasil). (A) Guia de ultrassonografia. (B) Transdutor de ultrassom microconvexo.



Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

A qualidade de resolução no ultrassom é essencial para proporcionar uma imagem nítida dos ovários. Contudo, o tipo de sonda empregada é um dos fatores que mais influenciam na eficácia da coleta de oócitos por meio da punção transvaginal. O transdutor setorial é altamente recomendado devido à sua capacidade de manusear os ovários de maneira eficaz, oferecendo uma ampla área de digitalização e proporcionando uma visibilidade aprimorada de folículos pequenos, especialmente quando possui uma frequência de 7,5 MHz (DIESEL, 2010).

A bomba a vácuo tem grande capacidade de interferência na qualidade dos oócitos aspirados, tendo em vista que o excesso de pressão negativa, apesar de aumentar a taxa de recuperação, pode levar à remoção das células do *cumulus*, inviabilizando estes oócitos (WARD et al., 2000). Segundo a literatura, pressão de vácuo é comumente ajustada entre 60 a 80mmHg (MYAUCHI, 2011; MARIANO, et al., 2015), resultando em uma média de vazão de aspiração de 13 a 15 mL/minuto (PEIXER, et.al., 2018), porém poderá variar de acordo com a marca e modelo do equipamento utilizado. A bomba a vácuo com aquecedor utilizada era da marca WTA, sendo o sistema de aspiração submetido a 15mL de água/minuto, com pressão negativa entre 90 a 120 mmHg (Figura 25).

Figura 25. Aspiração folicular no município de São José Da Barra-MG. Ultrassom da marca Mindray® modelo DP-10 VET Power e bomba a vácuo com aquecedor



Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

O ultrassom utilizado pela empresa era o DP-10 Vet Power (Mindray®, São Paulo, Brasil) (**Figura 26**). O sistema de aspiração folicular era da marca WTA® (Cravinhos, SP) no tamanho 1,20 m. A empresa contava com dois modelos de guia de aspiração folicular da marca WTA® (Cravinhos, Brasil), sendo a convencional e a específica para novilhas, com menor largura. A agulha utilizada era de 20G da marca WTA® (Cravinhos, Brasil). A camisinha para aspiração era da marca TNB Brasil® (Garça, Brasil) e o gel condutor para exames da marca Plurigel®. A rolha de alumínio para aspiração era da marca WTA® (Cravinhos, Brasil), sendo específico para tubo de 50 mL. O tubo era de 50 mL com fundo cônico estéril da marca Sarstedt® (Porto Feliz, Brasil)). Os materiais citados anteriormente estão ilustrados na **Figura 26**.

Figura 26. Materiais para aspiração. (A) Sistema/linha de aspiração tamanho 1,20 metros WTA; (B) Camisinha sanitária para aspiração folicular (OPU) TNB BRASIL; (C) Parinex- heparina sódica suína 5000ui/ml hipolabor; (D) Agulha aspiração folicular 20g da WTA; (E) Gel condutor de ultrassom Plurigel, (F) Tubo tipo falcon da Sarschet.

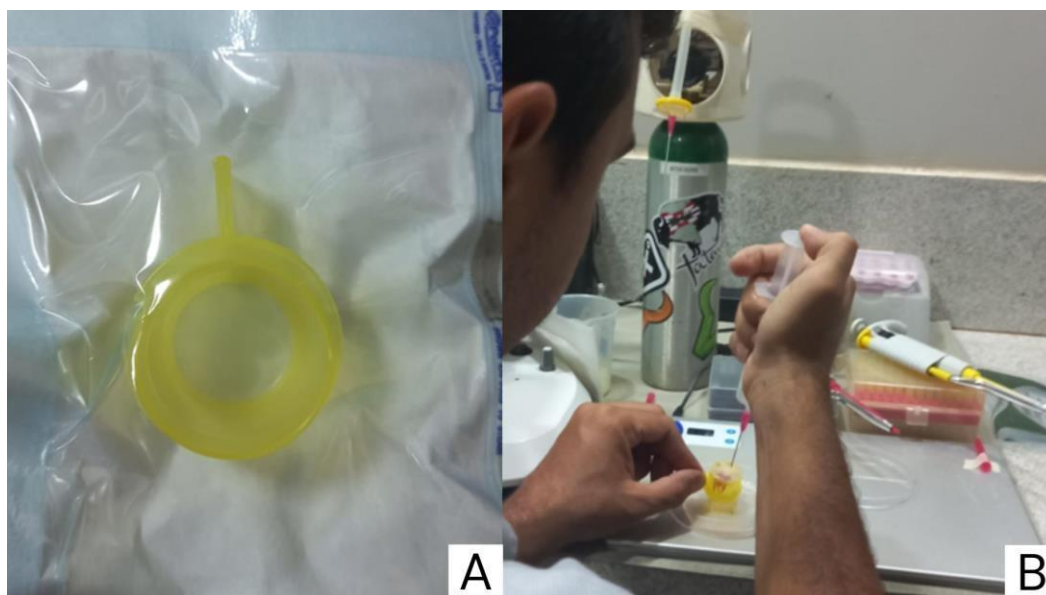


Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

2.4. Rastreamento e seleção de oócitos

Ao chegar ao técnico de seleção, o tubo contendo o líquido aspirado e a lavagem era despejado em um filtro de coleta de oócito (**Figura 27**) e lavado com a mesma solução utilizada para limpar o sistema. Ao final, o filtro era invertido, colocado sobre a placa de petri e lavado com solução de lavagem para depósito das estruturas na placa e rastreamento dos oócitos.

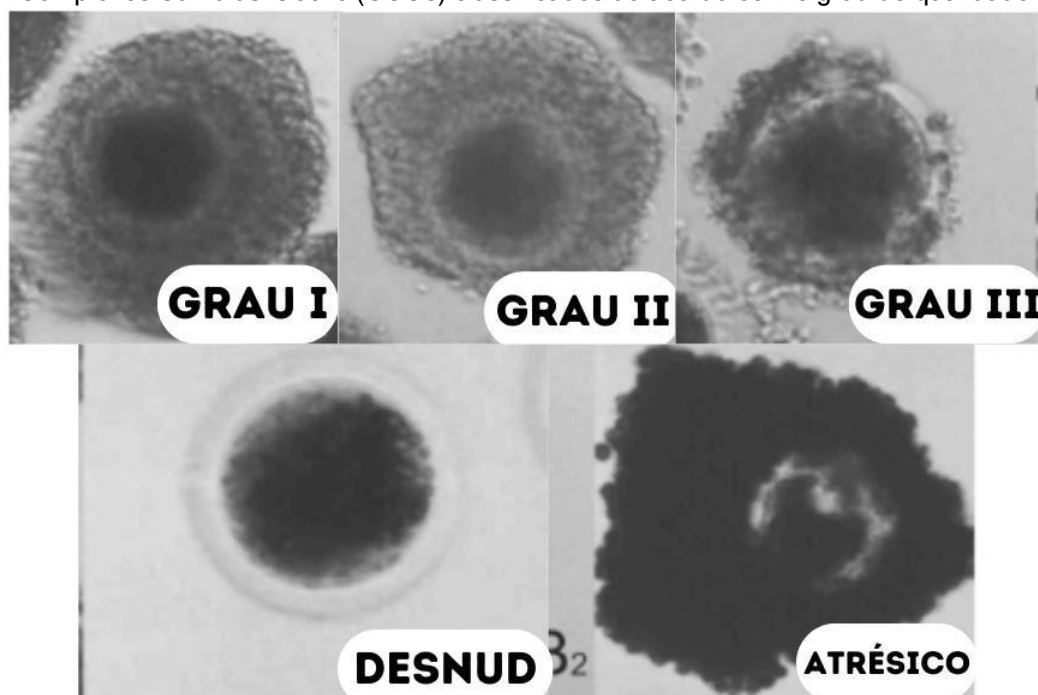
Figura 27. Filtragem do líquido folicular. (A) Mini filtro da marca WTA® para oócito. (B) Técnico realizando a filtragem do aspirado.



Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

Os oócitos rastreados eram transferidos com uma pipeta para gota de 100 μ L de meio de lavagem em uma placa limpa, onde eram contados e classificados como Grau I, Grau II, Grau III, Desnudo e Atrésico (**Figura 28**), de acordo com a qualidade dos Complexos *Cumulus*-Oócito (CCOs). Os CCOs eram classificados com base na quantidade de camadas, densidade e compactação das células do cumulus; uniformidade e transparência do ooplasma e regularidade do CCOs (**Quadro 1**).

Figura 28. Complexos *Cumulus*-Oócito (CCOs) classificados de acordo com o grau de qualidade.



Fonte: TETZNER (2007)

Quadro 1. Classificação do Complexos *Cumulus*-Oócito (CCOs) de acordo com características morfológicas segundo TETZNER (2007).

Classificação do CCO	Características morfológicas
Grau I	Células do <i>cumulus</i> compactadas e com mais de cinco camadas, ooplasma homogêneo e complexo <i>cumulus</i> -oócito claro e transparente.
Grau II	Células do <i>cumulus</i> compactadas e com 3 a 5 camadas, ooplasma homogêneo ou com regiões escuras na periferia.
Grau III	Células do <i>cumulus</i> com 1 a 3 camadas e ooplasma irregular com picnose.
Desnudo	Sem camadas do <i>cumulus</i> e com ooplasma uniforme ou com granulações.
Atrésico	Camadas de células do <i>cumulus</i> expandidas com células escuras e em grumos, CCOs escuro e irregular.

Fonte: Arquivo pessoal, 2023

3. Resultados: Levantamento de dados dos procedimentos de OPU acompanhados

Durante o período na empresa a aluna teve a oportunidade de acompanhar seis profissionais de aspiração folicular, participando ativamente do manejo, preparação de materiais, anestesia epidural, anotação e identificação dos animais. A estagiária participou da aspiração de 675 animais, dentre eles 368 da raça Nelore, 164 da raça Gir, 124 da raça holandesa e 19 da raça Girolando ½ (**Tabela 3**).

Tabela 3. Porcentagem das raças das fêmeas aspiradas durante o período de estágio.

Raça	Nº de animais aspirados	Porcentagem
Nelore	368	54,5%
Gir	164	24,3%
Holandês	124	18,4%
Girolando (1/2)	19	2,8%
Total	675	100%

Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

A unidade da empresa de Uberaba – MG atende diretamente os Estados de Minas Gerais, Goiás, São Paulo e Paraná, também dando suporte para unidades de Cuiabá- MT e Xinguara- PA. Em seu período de estágio, a aluna acompanhou 278 aspirações no Estado de Goiás e 397 no Estado de Minas Gerais, sendo dessas 154 no Núcleo de Doadoras ABSNeo e 243 em clientes, totalizando 675 animais aspirado (**Tabela 4**).

Tabela 4. Relação entre os números de animais aspirados por estado.

Locais de aspiração	Nº de animais aspirados
Goiás	278
Minas Gerais	243
ABS Neo	154
Total	675

Fonte: Arquivo pessoal, 2023.

4. Discussão dos resultados

Segundo ABIEC (2021), a atividade de pecuária de corte no Brasil gerou um montante total de R\$ 913,14 bilhões em 2021, sendo que o rebanho nacional gira em torno de 234 milhões de cabeças de gado (IBGE, 2023). Atualmente, dados da Embrapa indicam que 80% do rebanho do país é composto por bovinos Nelore ou anelorados, tendo maior concentração nas regiões centrais do país, com clima mais quente (BARROS et al., 2018). A raça Nelore tem características de rusticidade acentuada, com maior resistência a parasitas, reduzindo gastos com medicamentos (ACNB, 2006).

Durante o estágio foram aspirados 368 animais da raça Nelore em relação aos 675, representando 54,5% do total (**Quadro 3**). A preferência por fêmeas da raça Nelore (*Bos indicus*) se dá pela maior quantidade de folículos por onda, maior população de folículos antrais (<5mm) e maior quantidade de oócitos viáveis (SILVA-SANTOS, 2011). Em estudo feito por Rubin (2006) utilizando fêmeas da raça Nelore (*Bos indicus*) foi encontrada média de 15,2 oócitos viáveis por aspiração folicular por doadora, obtendo 1,7 prenhez/aspiração. Do total de prenhez obtido, subtraindo-se as mortes embrionárias, a eficiência foi de 1,5 prenhez/aspiração. Pontes et al. (2009) descreve que o número de oócitos viáveis na raça Holandesa (*Bos Taurus*) é de 1,9 a 9,9 oócitos por sessão de OPU/PIV, enquanto na raça Nelore é de 18 a 25 oócitos por aspiração, demonstrando uma eficiência duas a quatro vezes maior da raça zebuína. Dessa forma, além do gado da raça Nelore ser predominante no país, este possui desempenho mais satisfatório na PIVE o que pode explicar a observação de maior frequência de fêmeas desta raça terem sido aspiradas no período de estágio.

O interesse por raças zebuínas na aspiração folicular também é aplicado para a pecuária de leite, observando que a raça Gir representou 24,3% do total de animais aspirados em relação à 18,4% da raça Holandesa (**Tabela 3**). Segundo Bó et. al. (2003), fêmeas zebuínas como da raça Gir (*Bos indicus*) apresentam maior número de folículos devido a elevada concentração de IGF-1 (Insulina). O maior interesse na aplicação da OPU-PIVE na raça pode ser resultado da maior adaptabilidade desta raça em produzir leite mesmo em condições de estresse, com pouco disponibilidade de forrageiras, parasitismo e altas temperaturas (PONTES et al., 2010). Ferreira et al. (2011) constatou que vacas Holandesas de alta produção apresentaram menor taxa

de blastocisto e maior fragmentação embrionária quando obtidos no verão. Macedo et al. (2014), concluiu que oócitos e embriões até a fase de blastocisto são muito vulneráveis ao calor, conseqüentemente o estresse pela alta temperatura afeta diretamente o avanço embrionário inicial destes. Dessa forma, a raça Holandesa na realidade brasileira de altas temperaturas representa um menor desempenho nas taxas de PIVE. Quando o intuito do acasalamento é o gado Girolando (1/2 sangue) é produtivamente mais interessante o uso de oócitos de fêmeas Gir e sêmen de touro Holandês. Esta preferência pode justificar menor frequência da raça taurina quando comparada à Gir.

5. Considerações finais

A técnica de aspiração folicular guiada por ultrassonografia (OPU) associada com a PIVE trouxe consigo uma revolução significativa no melhoramento genético de bovinos, abrindo possibilidades que antes eram consideradas inviáveis. Essa inovação permitiu a coleta de oócitos sem necessidade de procedimentos cirúrgicos em fêmeas pré-púberes, gestantes, e em pós-parto, proporcionando uma contribuição valiosa para a redução do intervalo entre as gerações. Além disso, fêmeas com elevado potencial genético, porém com dificuldades reprodutivas, têm a possibilidade de gerar descendentes por meio da coleta dos seus oócitos e aplicação na PIVE.

A eficiência da OPU requer não apenas o refinamento da técnica, mas também mão de obra altamente qualificada e treinada e a aplicação de metodologias apropriadas. Estes fatores desempenham um papel determinante nas probabilidades de produção e desenvolvimento embrionário, sublinhando a necessidade contínua de aperfeiçoamento e pesquisa na área da aspiração folicular em bovinos.

Dessa forma, a técnica não representa apenas avanços técnicos, mas a capacidade de superar limitações reprodutivas e maximizar o potencial genético de fêmeas, enfatizando a importância do desenvolvimento de biotécnicas por uma produção animal mais eficiente, sustentável e adaptada aos desafios contemporâneos da pecuária.

Referências

ACNB ASSOCIAÇÃO DOS ASSOCIADOS CRIADORES DOS CRIADORES DE NELORE. **ACNB. A Raça - Histórico.** Histórico. Disponível em: <http://www.nelore.org.br/Raca/Historico>. Acesso em: 5 jan. 2024.

BAKER, T. G.: **Electron microscopy of the primary and secondary follicles.** The Biosciences, v. 6, p. 7-23, 1971.

BARROS, B. J. P.: **Diagnóstico precoce de gestação, perdas embrionária e fetal e sexagem de fetos pela técnica da ultrassonografia em bovinos Zebus.** p.98. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) – Reprodução Animal, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1997.

BARROS, I.sabella C.outinho de et al.: **Avaliação genética do crescimento de bovinos Nelore Mocho, por meio de modelos de multicaracterísticas.** Revista Ceres, v. 65, p. 402-406, 2018.

BARUSELLI, P.S.; MUCCIOLO, R.G.; VISINTIN, J.A et al.: **Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in buffalo (*Bubalus bubalis*).** Theriogenology, v.47, p.1531-1547, 1997.

BIEC. Beef Report - **Perfil da Pecuária no Brasil 2021.** Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes, Brasil, 23 jul. 2022

BO, G. A.; ADAMS, G. P.; MAPLETOFT, R. J, **Dinâmica folicular ovárica em el bovino..** Simpósio: Controle farmacológico do ciclo estral em ruminantes (USP), v. 1, p.12-34, 2000.

BOLS PEJ, LEROY JLMR, VANHOLDER T, SOOM AV. **A comparison of a mechanical sector and a linear array transducer for ultrasound-guided transvaginal oocyte retrieval (OPU) in the cow.** Theriogenology, v.62, p.906-914, 2004.

BRACKETT RG, ZUELKE KA. **Analysis of factors involved in the in vitro production of bovine embryos.** Theriogenology, v.39, p.43-64, 1993.

BURKE, C. R.; BOLAND, M. P.; MACMILLAN, K. L. SO. **Ovarian responses to progesterone and oestradiolbenzoate administered intravaginally during dioestrus incattle.** Animal Reproduction Science, v.55,p.23-33, 1999.

CARVALHO J.B., CARVALHO N.A., REIS E.L., NICHI M, SOUZA A.H., BARUSELLI P.S. **Efeito da luteólise precoce em protocolos de IA programada baseados em progesterona em novilhas *Bos indicus* x *Bos taurus*.** Theriogenology., v.69: p.167-175, 1998.

CASTILHO, E. F. **Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) em Bovinos Leiteiros.** IEPEC, pag. 148-191, 2015.

CURRAN, S.; KASTELIC, J. P.; GINTHER, O. J. **Determining sex of the bovine fetus by ultrasonic assessment of the relative location of the genital tubercle..** Animal Reproduction Science, v. 19, n. 3-4, p. 217-227, 1989.

DIESEL, T. O. **Efeito da estimulação ovariana na quantidade e qualidades de ovócitos obtidos por aspiração folicular transvaginal em novilhas nelore.** p.

81. Dissertação (Mestrado) - Ciências Animal, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília, Brasília, 2010.

ERICKSON, B. H. **Development and senescence of postnatal bovine ovary..** Animal. Science. v.25, p.800, 1966.

FERNANDES, C. A. C. **Apostila Biotran: Ultrassonografia na Reprodução de bovinos.** Alfenas - MG, p.27, 2006

FERREIRA, A. R.; FRANCO, M. M. **Reprogramação epigenética em gametas e embriões de mamíferos.** Revista Brasileira de Reprodução Animal, v. 36, n. 1, p. 3-9, 2012.

GIBBONS, J. R.; BEAL, W. E.; KRISHER, R. L.; FABER, E. G.; PEARSON, R. E.; GWAZDAUSKAS, F. C. **Effects of once- versus twice-weekly transvaginal follicular aspiration on bovine oocyte recovery and embryo development.** Theriogenology, v.42, p.405-419, 1994.

GIMENES L.U., SÁ FILHO M.F., CARVALHO N.A.T., TORRES J.R.S., SOUZA A.H., MADUREIRA E.H. et al. **Desvio folicular e capacidade ovulatória em novilhas *Bos indicus*.** Theriogenology, v. 69, p. 852-8, 2008.

GONÇALVES, P.B.D.; BARRETA, M.H.; SANDRI, L.R.; FERREIRA, R.; ANTONIAZZI, A.Q. **Produção in vitro de embriões bovinos: o estado da arte.** Revista Brasileira de Reprodução Animal, v.31, p.212-217, 2007.

GOODHAND, K. L.; et al. **In vivo embryo recovery vs. in vivo oocyte recovery and in vitro embryo production: embryo yields and pregnancy rates in cattle.** Theriogenology, v. 47, p.161, 1997.

GOUVEIA, F. A., **Produção in vitro de embriões Bovinos.** Dissertação (Mestrado) - Ciência Animal, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília (UnB), 2011.

HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ B. **Reprodução Animal.** 7ªed. São Paulo: Manole, 2004. p. 399 - 408.

IBGE - **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2023).** Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/bovinos/br>. Acesso em: 5 jan. 2024

IRELAND, J. J. **Control of follicular growth and development.** J. Reprod. & Fert. Supplem. v. 34, p.39-54, 1987.

JÁINUDEEN, M. R.; WAHID, H.; HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. **Indução da Ovulação, Produção e Transferência de Embriões.**; 7 ed. Barueri, SP: Manole, p 429-430, 2004.

LEAL, L. da S.; OBA, E.; FERNANDES, C. A. de C.; SÁ FILHO, O. G. de. **Avaliação do corpo lúteo, contratilidade uterina e concentrações plasmáticas de progesterona e estradiol em receptoras de embriões bovinos.** Ciência Animal Brasileira, v. 10, n. 1, p. 174-183, 2009.

MARIANO, R. S. G. et.al. **Aspiração folicular em ruminantes – revisão de literatura.** Revista Investigação, v. 144, n. 6, p.46-53, 2015.

MARTINS C. M., **Diferentes protocolos de superovulação com Inseminação Artificial em tempo fixo em *Bos taurus* e *Bos indicus***, Dissertação (Mestrado) Reprodução Animal - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, 2007.

MERTON J.S.; ROOS A.P.W.; MULLAART, E.; RUIGH L.; KAAL, L.; VOS, P.L.A.M.; DIELEMANI. **Factors affecting oocyte quality and quantity in comercial application of embryo technologies in the cattle breeding industry..** Theriogenology, v. 59, n. 2, p. 651-674, 2003.

NEVES, S., CAVALIERI, F. L. B., EMANUELLI, I. P., **Influência das condições climatológicas nas variáveis reprodutivas de fêmeas bovinas da raça Nelore.** In: VIII Amostra interna de trabalhos de Iniciação Científica, Anais: UNICESUMAR – Centro Universitário de Maringá, PR, 2016.

OLIVEIRA, A.P. et al. **Dinâmica folicular ovariana comparativa entre as espécies bovina e equina**. PUBVET, Londrina, v. 4, n. 8, ed. 113, art. 763, 2010

OLIVEIRA, C.; SARAPIÃO, R. V.; QUINTÃO, C. C. R., **Biotécnicas da reprodução em bovinos.** Embrapa Gado de Leite, p.52, 2014.

ORTIS H., FOSS R. **Effect of potential oocyte transport protocols on blastocyst rates after intracytoplasmic sperm injection in the horse.** Equine Vet J Suppl. v.45, p. 39-43, 2013.

PEIXER, P.F. et al. **Produção in vitro de embriões bovinos.** Revista Espacios, v. 39, n. 16. p.2, 2018.

PENITENTE FILHO, J. M. et al. **Produção de embriões bovinos *in vivo* e *in vitro*.** 83ª Semana do Fazendeiro, Universidade Federal de Viçosa, 2011.

PONTES, J. H. F.; MELO STERZA, F. A.; BASSO, A. C.; FERREIRA, C. R.; SANCHES, B. V.; RUBIN, K. C. P.; SENEDA, M. M. **Ovum pick up, in vitro embryo production, and pregnancy rates from a large-scale commercial program using Nelore cattle (*Bos indicus*) donors.**, v. 75, n. 9, p. 1640-1646, 2011.

REICHENBACH, H.D. et al.; **Transferência e Criopreservação de Embriões Bovinos.** GONÇALVES, P. B. D.; FIGUEIREDO, J. R.; FREITAS, V. J. F. C. 2 ed. São Paulo: Roca, p. 201-216-217-218-227, 2008.

RENESTO, Andréa; COELHO, L. A. **Associação das biotécnicas: Aspiração folicular guiada por ultrassonografia e superovulação na produção in vitro e in vivo de embriões bovinos.** Dissertação (Mestrado) p.59. Reprodução animal- (Mestrado). Arquivos da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, 2004

ROBERTS, S.J. **Veterinary obstetrics and genital diseases..** Segunda edição, Ed. Edwars brothers inc, p.343-375, 1971.

RUBIN, K. C. P., **Particularidades reprodutivas da raça nelore na produção in vitro de embriões (PIVE).** 2006.

SALVADOR, D. F., **Quatro gerações de biotecnologias em reprodução animal.** Revista Educação Pública, v. 19, p. 31, 2019.

SANTOS, K. J. G. et al. **Biotechnologias reprodutivas e fisiologia reprodutiva da fêmea bovina – conhecimento para o sucesso.** PUBVET, v. 6, n. 36, 2012.

SAVIO, J. D.; KEENAN, L.; BOLAND, M, P. and ROCHE, J. F. **Pattern of growth of dominant follicles during the oestrus cycle of heifers..** J. Reprod. Fert., v.83, p. 663-671, 1988.

STROEBECH, L. et al. **In vitro production of bovine embryos: revisiting oocyte development and application of systems biology.** Animal reproduction, v.12, p.465-472, 2015.

TETZNER, T. A. D. **Efeitos da substituição do soro fetal bovino (SFB) e da albumina sérica (BSA) pela ovalbumina (OVA) na produção in vitro de embriões bovinos.** p.92. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. UNESP, 2007

VARAGO F.C., MENDONÇA L.F., LAGARES M.A. **Produção in vitro de embriões bovinos: estado da arte e perspectiva de uma técnica em constante evolução.** Rev Bras Reprod Anim, v.32, p.100-109, 2008.

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

VIANA, J. H. M.; FERREIRA, A. M.; SÁ, W. F.; CAMARGO, L. S. A. **Follicular dynamics in zebu cattle.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 35, n. 12, p. 2501-2509, dezembro, 2000.

VIANA, J. H. M.; FIGUEIREDO, A. C. S.; SIQUEIRA, L. G. B. **Brazilian embryo industry in context: Pitfalls, lessons, and expectations for the future.** Animal Reproduction, v. 14, n. 3, p. 476-481, 2017.

VIANA, Joao. 2021. **Statistics of embryo production and transfer in domestic farm animals.** Embryo Technology Newsletter, v. 40, n.4, 2022.

WARD, F.A. et al. **Factors affecting recovery and quality of oocytes for bovine embryo production in vitro using *Ovum Pick-Up Technology*.** Theriogenology, v.54, p.433-446, 2000.