



Colheita transcervical de embriões em ovelhas e cabras

Transcervical embryo collection in ewes and does

**Pedro Henrique Nicolau Pinto, Juliana Dantas Rodrigues Santos, Felipe Zandonadi Brandão,
Mário Felipe Alvarez Balaro[‡]**

Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil.

Resumo

A biotécnica de múltipla ovulação e transferência de embriões (MOTE) em pequenos ruminantes tem aplicações que se estendem da pesquisa básica à aplicada. Porém, ainda existem etapas no processo da biotécnica que reduzem sua eficiência e restringem sua utilização, a exemplo da necessidade de procedimentos cirúrgicos. Em caprinos, já é possível realizar a MOTE sem nenhuma intervenção cirúrgica e com resultados satisfatórios. Todavia, em ovinos, as particularidades anatômicas da cérvix dificultam sua transposição, fazendo com que etapas cirúrgicas ainda sejam necessárias. Com foco nessa limitação, tem-se estudado e descrito técnicas para a dilatação cervical e métodos para triagem de doadoras de embrião com maior facilidade para transposição cervical. Assim, a colheita não cirúrgica, principalmente na espécie ovina, vem se tornando uma realidade exequível em condições de campo e pesquisa.

Palavras-chave: caprinos, colheita não cirúrgica, dilatação cervical, ovinos, seleção de doadoras.

Abstract

In small ruminants, the multiple ovulation and embryo transfer (MOET) has applications in basic and applied research. However, there are still drawbacks in this biotechnology hampering its applicability and efficiency, as the need of surgical intervention. In goats, it is possible to perform MOET without any surgical procedure and with satisfactory results. Although, in sheep, the anatomical features of the cervix make transcervical transposition challenging, leading to a wider use of surgical steps in this specie. In the attempt to overcome these limitations, techniques for cervical dilation and methods for screening donors with cervices that can be easily transposed have been studied and described. Therefore, the nonsurgical embryo collection, mainly in the ovine species, has become feasible under field and research conditions.

Keywords: cervical dilation, donors selection, goat, nonsurgical collection, sheep.

Introdução

Dentre os fatores que limitam a aplicação e o desempenho da técnica de produção *in vivo* de embriões em pequenos ruminantes destacam-se: a variabilidade de resposta a protocolos superovulatórios e a necessidade de etapas cirúrgicas (Ledda e Gonzalez-Bulnes, 2018). A variabilidade de resposta frente aos protocolos superovulatórios se deve a uma série de fatores como raça, idade, formulações e doses das gonadotrofinas, e concentração circulante do hormônio anti-mülleriano (AMH), entre outros (revisado por Bartlewski et al., 2016; Pinto et al., 2018). No âmbito da etapa cirúrgica, os inconvenientes vão desde a submissão dos animais aos riscos anestésicos, necessidade de jejum hídrico e alimentar, risco de hemorragias, aderências, complicações pós-cirúrgicas e controle da dor. Neste contexto, a formação de aderências pode ser tão severa, a ponto de impedir a realização de novas colheitas ou ainda, comprometer a fertilidade futura da doadora (Holtz, 2005; Bruno Galarraga et al., 2014). Igualmente, também é um método oneroso que exige mão de obra especializada e equipamentos caros (Fonseca et al., 2013).

Frente ao exposto, a colheita não cirúrgica de embriões (CNCE) se apresenta como uma excelente alternativa, capaz de minimizar os efeitos deletérios associados à colheita cirúrgica (CCE) junto aos custos da mesma. Isto porque, para a CNCE, a necessidade de sedativos é mínima ou até mesmo desnecessária, a fêmea se reestabelece rapidamente após o procedimento. Ainda, relatos de lesões ou sequelas são raros (Andrioli et al., 1999; Fonseca et al., 2011), podendo a técnica ser realizada com o animal em estação e sem a necessidade de períodos prolongados de jejum (Pereira et al., 1998; Fonseca et al., 2019a). Estas características fazem da CNCE a técnica de eleição para a produção *in vivo* de embriões, principalmente, quando se pretende submeter uma doadora de alto valor genético a sucessivas colheitas. Outro ponto que favorece a aplicação da CNCE é a crescente demanda da sociedade civil, já apoiada por instituições de controle, por medidas que favoreçam o bem-estar animal tanto no ambiente de pesquisa quanto nos sistemas de produção (Swart, 2014; Jans et al., 2018).

Em caprinos, a CNCE tem apresentado resultados consistentes e eficiência muito próxima as obtidas por meio de técnicas cirúrgicas para a colheita de embriões (Pereira et al., 1998; Fonseca et al., 2013). A aplicabilidade desta técnica em caprinos fica ainda mais evidente quando observamos que em 2010, no Brasil, aproximadamente

[‡]Correspondência: mariobalardo@hotmail.com

Recebido: 29 de janeiro de 2019

Aceito: 28 de março de 2019

100% das colheitas registradas de embriões caprinos foram realizadas pela via não cirúrgica (Fonseca et al., 2010). Porém, em ovelhas, as particularidades anatômicas da cérvix dificultam a sua transposição, tornando a CNCE nesta espécie desafiadora (Kershaw et al., 2005; Candappa e Bartlewski, 2011). Na tentativa de aperfeiçoar a CNCE em ovinos, linhas de pesquisa com foco em (1) protocolos para dilatação cervical, (2) triagem de doadoras com maior grau de facilidade para transposição cervical e (3) “mapeamento” da posição dos anéis cervicais têm sido desenvolvidas (Santos et al., 2019; Fonseca et al., 2019a). Assim, a partir do exposto, a presente revisão, visa abordar as técnicas que vem sendo desenvolvidas para aumentar a eficiência da CNCE na espécie ovina, bem como descrever o método adotado para a CNCE em pequenos ruminantes.

Restrições anatômicas na espécie ovina

Em ovelhas, o pequeno diâmetro, a falta de alinhamento e a pequena distância entre os orifícios dos anéis cervicais, especialmente entre o segundo e terceiro anel, dificultam e até mesmo vem inviabilizando o acesso transcervical (Halbert et al., 1990; Naqvi et al., 2005; Kaabi et al., 2006). A falta de alinhamento resulta em um canal cervical bastante tortuoso. Deste modo, quanto mais severa for esta tortuosidade maior a dificuldade para realizar a transposição cervical (Kershaw et al., 2005). Já na espécie caprina, é observado um maior alinhamento dos anéis cervicais quando comparado ao encontrado na espécie ovina (Fig. 1).

Com relação ao óstio cervical externo, há relatos das diferentes conformações encontradas em ovelhas: lisa, roseta, papila, bico de pato e flap (Kershaw et al., 2005; Moura et al., 2011; Cruz Júnior et al., 2014). Não é unânime na literatura a correlação entres estes diferentes formatos e o grau de facilidade para a transposição cervical (Moura et al., 2011; Cruz Júnior et al., 2014). As características que têm se mostrado mais consistente e que estão relacionadas à facilidade de transposição cervical são a idade e a raça das ovelhas. Sendo que em ovelhas mais velhas a transposição cervical tende a ser mais fácil (Kaabi et al., 2006; Khalil et al., 2018). Provavelmente, o maior número de partos em fêmeas mais velhas seja o fator responsável pelas alterações morfológicas que culminam com a maior facilidade de transposição cervical nessa categoria (Kaabi et al., 2006; Fonseca, 2017).

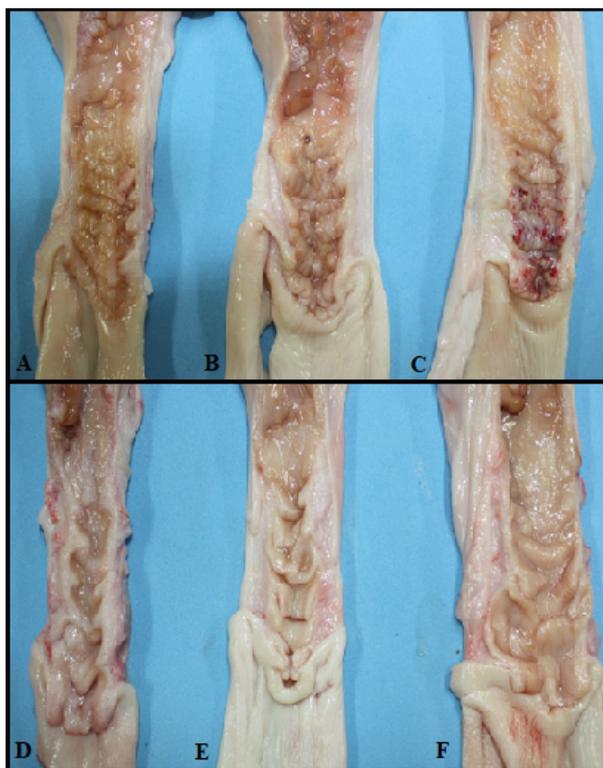


Figura 1. Verificar o maior alinhamento dos óstios dos anéis cervicais em cabras (A, B, C) contrapondo-se ao menor alinhamento em ovelhas (D, E, F) resultando em canal cervical tortuoso.

Dilatação cervical

Tanto na proximidade do parto quanto no estro, diferentes intensidades de dilatação cervical podem ocorrer naturalmente. Em ambas as situações, o aumento da concentração de estrógeno parece iniciar uma cascata de eventos que culminam com o relaxamento cervical. No final da gestação, por exemplo, parte da progesterona circulante é convertida em estrógeno por ação do cortisol fetal. Este aumento de estrógeno, promove o



desenvolvimento de receptores de ocitocina no endométrio (Landim-Alvarenga, 2012), sendo assim, a ativação destes receptores induz a produção de prostaglandina E₂ (PGE₂) (Arrowsmith e Wray, 2014). Por meio de receptores específicos (EP2 e EP4), a PGE₂ promove alterações microestruturais nas fibras de colágeno da matriz extracelular cervical e relaxamento da musculatura lisa, dessa forma, altera a tensão e favorece a capacidade de distensão da cérvix (Feltovich et al., 2005; Kershaw-Young et al., 2009). Os glicosaminoglicanos, principalmente o ácido hialurônico, cuja síntese é estimulada pela PGE₂, também possuem papel relevante neste mecanismo. Este biopolímero possui características hidrofílicas que separam as fibras de colágeno por meio de uma maior hidratação da matriz extracelular, contribuindo assim para o relaxamento cervical (Cabrol et al., 1987; Kershaw-Young et al., 2009).

Na tentativa de facilitar e aumentar as taxas de transposição cervical em ovinos, protocolos farmacológicos que mimetizem os eventos naturais de relaxamento cervical têm sido avaliados. Entre as drogas utilizadas estão: prostaglandinas sintéticas, ocitocina, misoprostol, dinoprostona, hormônio folículo estimulante (FSH), benzoato de estradiol e relaxina (Gusmão et al., 2009; Falchi et al., 2012; Bartlewski e Candappa, 2015; Masoudi et al., 2017; Leite et al., 2018). Os resultados sobre a eficiência das drogas diferem entre os estudos e, variáveis como a técnica de transposição, raça, categoria e estação do ano limitam as comparações de resultados (Tab. 1).

Tabela 1. Resultados de estudos que avaliaram diferentes protocolos para dilatação cervical voltada à colheita não cirúrgica de embriões (realizados na fase luteal).

Autores	Espécie	Raça	Drogas - dilatação	Rec fluido (%)	Tx Transp (%)
Gusmão et al. (2007)	Ovina	SI	Misoprostol (Epi Lid)	95,7	63,0
Gusmão et al. (2009)	Ovina	Dorper	Misoprostol (Epi Lid)	95,7	94,8
Leite et al. (2018)	Ovina	SI	PGF _{2α} + BE + OC (Epi Ket)	-	90,0
Fonseca et al. (2019b)	Ovina	SI	PGF _{2α} + BE + OC (Epi Lid)	94,8	81,8
Candappa e Bartlewski (2014)	Ovina	SRD	Prostaglandina E ₂	-	67,0
Figueira et al. (2018)	Ovina	Lacaune	PGF _{2α} + BE + OC	-	91,0
Fonseca et al. (2015)	Ovina	Mor Nova	PGF _{2α} + BE + OC (Epi Lid)	96,9	100
Khalifa et al. (1992)	Ovina	SRD	BE + OC	-	83,0
Pereira et al. (1998)	Caprina	Boer	PGF _{2α} + OC	97,0	100
Lima-Verde et al. (2003)	Caprina	Saanen	PGF _{2α} (Epi Lid)	-	-
Fonseca et al. (2013)	Caprina	Saanen	PGF _{2α} (Epi Lid)	97,3	-

Rec fluido – taxa de recuperação do fluido injetado; Tx. Transp – taxa de transposição cervical; SI – Santa Inês; Epi Lid – epidural com lidocaína; PGF_{2α} – prostaglandina; BE – benzoato de estradiol; OC – ocitocina; Epi Ket – epidural com ketamina; SRD – sem raça definida; Mor Nova – Morada Nova.

Com a perspectiva de melhorar a eficiência dos protocolos de dilatação cervical em ovelhas, Leite et al. (2018) avaliaram em dois experimentos o uso de anestesia epidural isolada e, posteriormente, associada a protocolos de dilatação cervical em ovinos da raça Santa Inês. No primeiro experimento compararam a anestesia epidural com: ketamina (2,0 mg/Kg), ketamina mais morfina (0,1 mg/Kg) ou ketamina mais xilazina (0,05 mg/Kg). Nenhuma das combinações conseguiu promover dilatação cervical, porém, todos os tratamentos promoveram boa analgesia durante a manipulação cervical. A epidural com ketamina, associada ou não a morfina, promoveu menor grau de sedação. Pela boa analgesia, menor sedação e maior simplicidade, o método da epidural com ketamina (sem associação) foi considerado o mais apropriado. No segundo experimento, Leite et al. (2018) avaliaram o uso da anestesia epidural (ketamina) associada aos seguintes tratamentos de dilatação cervical: misoprostol (grupo M); ocitocina + benzoato de estradiol (grupo OE); misoprostol + ocitocina + benzoato de estradiol (grupo OBMI). Todos os grupos receberam d-cloprostenol (37,5 µg; im) 12 horas antes da tentativa de transposição cervical. Os grupos OE e OEM apresentaram excelentes taxas de transposição cervical, 90 e 83,3%, respectivamente. Pela menor necessidade de fármacos, por utilizar drogas de fácil aquisição e aplicação os autores consideraram o tratamento do grupo OE o mais indicado. A excelente taxa de transposição cervical (90%) utilizando d-cloprostenol (Anlg-PGF_{2α}), ocitocina (Oc) e benzoato de estradiol (BE) associada à boa analgesia promovida pela epidural com ketamina, colocaram este protocolo (Fig. 2) em destaque.

Fonseca et al. (2019b) avaliaram o uso da via intramuscular ou intravaginal para a aplicação do BE. Altas taxas de penetrabilidade cervical (im: 81;8% vs. iv: 80,0%) foram atingidas independente da via de aplicação do BE. Dois pontos aqui merecem destaque. Primeiro, nos estudos que utilizaram o protocolo Anlg-PGF_{2α} + BE + OC as tentativas de transposição foram realizadas na fase luteal do ciclo estral. Em função da produção de progesterona pelo corpo lúteo, no momento da colheita de embriões a transposição cervical tende a ser mais difícil quando comparada às transposições realizadas durante o estro para IA (Kershaw et al., 2005; Santos et al., 2019). Segundo ponto, além do mesmo protocolo, os estudos foram realizados com ovinos da raça Santa Inês, que possui um histórico de difícil transposição cervical quando comparada a outras raças (Gusmão et al., 2007; Gusmão et al., 2009). Essas características chamam a atenção para a eficiência do protocolo Anlg-PGF_{2α} + BE + OC.

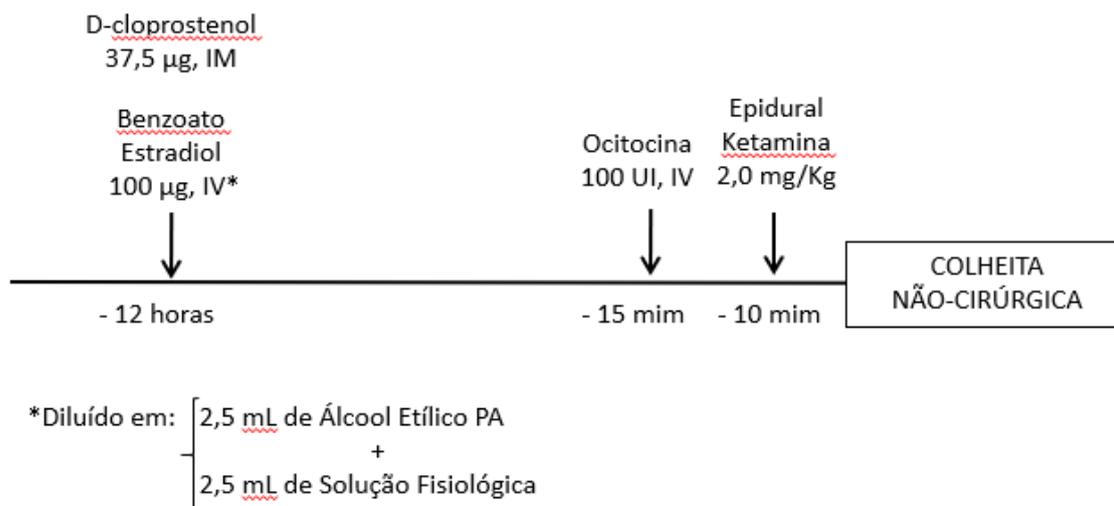


Figura 2. Protocolo para dilatação cervical em ovinos previamente à colheita não cirúrgica de embriões.

Seleção e triagem de doadoras para CNCE

Conforme comentado anteriormente, o grau de facilidade para transposição cervical é influenciado pela raça, porém, mesmo utilizando protocolos para dilatação cervical há uma grande variabilidade entre indivíduos da mesma raça (Gusmão et al., 2007; Falchi et al., 2012). Por isso, selecionar animais para programas MOTE que tenham cérvix de mais fácil transposição, pode elevar a taxa de sucesso na CNCE (Fonseca, 2017). Visando as metodologias de triagem, Santos et al. (2019) sugeriram que durante o protocolo superovulatório do tipo “Dia 0”, no momento do estro (induzido pelo primeiro protocolo para sincronização da onda folicular) fosse realizada uma tentativa de transposição cervical utilizando uma Vela de Hegar. A hipótese levantada é de que os animais com transposição cervical positiva durante o estro teriam maior chance de sucesso posteriormente na CNCE. Assim, avaliando o teste de transposição como uma ferramenta diagnóstica, os autores encontraram valores altos de sensibilidade (85,7%) e acurácia (80%). Estes resultados indicam que este teste de triagem é bastante eficiente para selecionar animais que poderão ser colhidos pela via não cirúrgica.

Existem outras características que devem ser observadas para selecionar animais para a CNCE como, por exemplo, o período pós-parto. Fêmeas com histórico de parto recente (até 100 dias) irão apresentar maior facilidade para transposição cervical (Fonseca, 2017). A categoria animal também é relevante, nulíparas tendem a apresentar menor diâmetro da luz cervical e menor distância entre os anéis cervicais, o que irá dificultar a transposição cervical (Naqvi et al., 2005). Além disso, borregas e cabritas podem apresentar prega himenal, o que dificultará a inserção do espéculo e conseqüentemente a CNCE (Fonseca, 2017). Assim, animais mais velhos (> 4 anos) com histórico de maior número de partos podem apresentar maior facilidade de transposição cervical (Khalil et al., 2018). Outra alternativa proposta para aumentar a taxa de sucesso na CNCE seria realizar um “Mapeamento Cervical”. Nessa técnica, previamente à CNCE, se faz uma tentativa de transposição cervical anotando a posição dos óstios dos anéis cervicais, correlacionando estes com a posição das horas em um relógio. Este tipo de mapeamento pode tanto facilitar quanto agilizar o processo de CNCE na espécie ovina (Fonseca, 2017; 2019b).

Técnica para colheita não cirúrgica de embriões em cabras e ovelhas

A técnica a ser descrita foi, inicialmente, desenvolvida para CNCE em caprinos, porém vem sendo utilizada com bons resultados também em ovinos. Na espécie ovina, inicialmente, deve ser aplicada uma sedação com acepromazina (0,1 mg/kg, iv.) e diazepam (0,2 mg/Kg, iv.) seguida pela epidural lombrossacral com ketamina (2,0 mg/kg) (Fig. 4 A e B) (Leite et al., 2018). Já para a espécie caprina, Fonseca et al. (2013) e Fonseca et al. (2016) indicam, a aplicação de acepromazina (0,1 mg/kg, im.) associado a epidural com 1 a 2 mL de cloridrato de lidocaína à 2% pela via sacrococcígea (entre as vértebras C1 e C2). Com o animal contido em tronco específico, em decúbito ventral ou em estação (Fig. 3 A e B), higieniza-se e lubrifica-se a região vulvar. Na sequência, é feita a inserção e abertura do espéculo de Collins na vagina. Com o auxílio de uma fonte de luz, o orifício cervical externo é localizado (Fig. 4 C). Nas duas laterais da projeção cervical, no fundo de saco vaginal, fixam-se uma pinça de Pozzi. Ao tracionar caudalmente e simultaneamente, ambas as pinças, se expõe a cérvix e esta é posicionada entre os lábios da vulva (Fig. 4 D). Então, com uma vela de Hegar (número 3) e realizando movimentos oscilatórios e progressivos, é feita a transposição dos anéis cervicais (ao conter e manipular a cérvix com os dedos indicador e polegar facilitará a sensibilidade do operador na transposição cervical). A diminuição da resistência para progredir com a vela de Hegar indicará que todos os anéis foram transpostos. Após a transposição, recomenda-se que a vela seja mantida na luz cervical por trinta segundos (Fig. 4 E) e então retirada.



Figura 3. Modelos de contenção para colheita de embriões. (A) Modelo para a espécie ovina. Animal contido em mesa de procedimento com auxílio de um suporte “tipo lombada” para facilitar a apresentação e manipulação do períneo. (B) Modelo para espécie caprina. Animal contido em tronco de madeira suspenso pela cardeadeira.

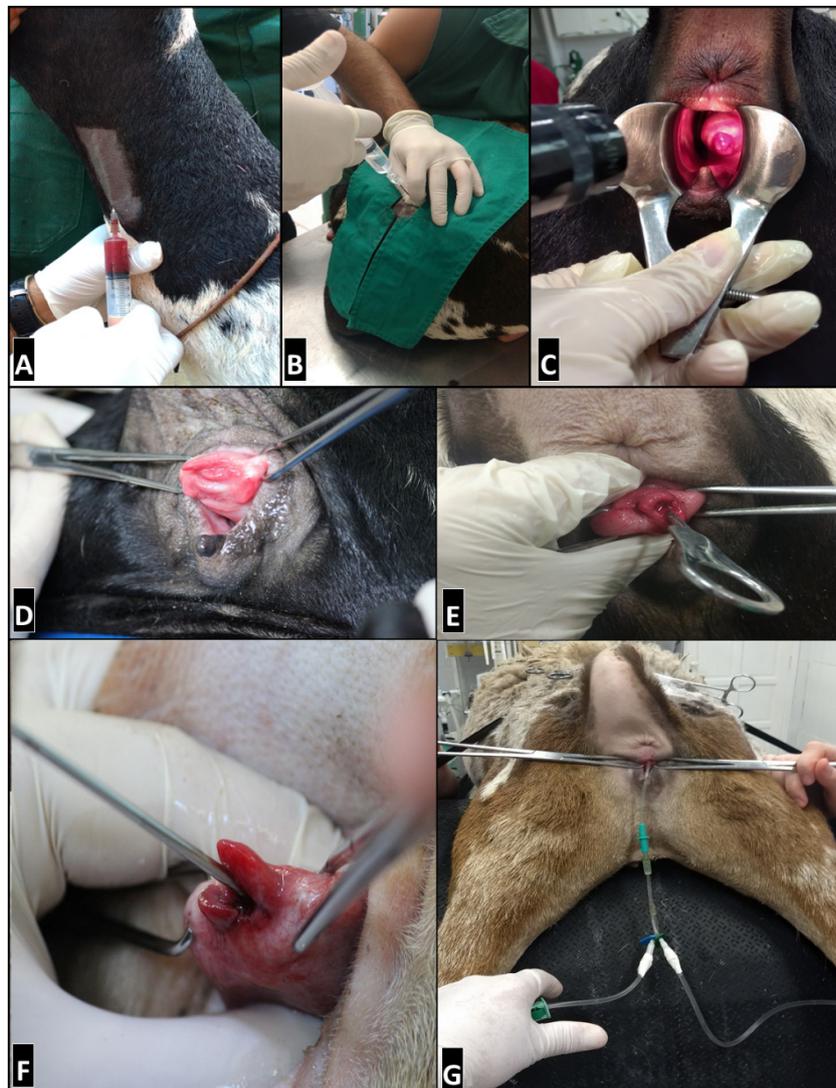


Figura 4. Sequência de eventos para a transposição cervical em ovino. (A) Medicação sedativa (B) Anestesia epidural. (C) Fundo de saco vaginal e visualização do óstio cervical externo. (D) Cérvix tracionada e exposta pelas pinças de Pozzi. (E) Vela de Hegar após a transposição dos anéis cervicais. (F) Passagem da sonda de colheita acoplada a um mandril metálico. (G) Procedimento de lavagem uterina.



Com a sonda de colheita (cateter para oxigênio n. 08 ou sonda específica de coleta Embrapa®) acoplada a um mandril metálico repete-se a transposição dos anéis cervicais (Fig. 4 F). Após a perda de resistência, a sonda é direcionada para um dos cornos uterinos (movimento de lateralização e direcionamento com o dedo indicador). Retira-se o mandril metálico e o sistema para infusão e recuperação da solução de lavagem é acoplado (Fig. 4 G). Utilizamos o “Circuito Embrapa para recuperação de embriões caprinos e ovinos” (Embrapa, Brasília, Brasil). É recomendando um volume total de 400 mL. Os primeiros 20 mL são utilizados para umidificar o sistema em todo o filtro. Os últimos 20 mL irão lavar o circuito a qual o filtro está conectado. Tal procedimento irá evitar a aderência de embriões nas paredes do sistema. O volume restante de 360 mL é utilizado para lavar os cornos uterinos (180 mL por corno uterino). Por ciclo, injeta-se e recupera-se um volume médio de 15 mL, permitindo 12 lavagens por corno uterino (Fonseca et al., 2016).

A partir de um conjunto unificado de boa contenção (incluindo sedação e analgesia), protocolo de dilatação cervical, fixação e transposição cervical, posicionamento do circuito e lavagem efetiva, pode ser alcançada uma boa taxa de recuperação de embriões. O procedimento por animal dura em torno de 30 minutos e vêm alcançado cerca de 50 a 90% de eficácia na recuperação de estruturas (Pereira et al., 1998; Lima-Verde et al., 2003; Fonseca et al., 2013).

Biossegurança associada à colheita de embriões

A partir do surgimento das biotécnicas reprodutivas, houve uma mobilização científica e governamental a respeito dos riscos sanitários associado à movimentação e comercialização internacional de germoplasma animal. Sabe-se que distintos patógenos podem ser encontrados no trato genital da fêmea e do macho e contaminar os embriões e utensílios durante os procedimentos. Em pequenos ruminantes, os principais agentes de risco estão listados na Tab. 2. O primeiro passo crucial é o exame clínico completo da doadora e seu ambiente; em particular, assegurando a ausência de doenças infecciosas no rebanho ou área adjacente. Entretanto, tais garantias não são necessárias para as doenças da categoria 1 da IETS pois os procedimentos recomendados de tratamento de embriões eliminam qualquer risco colocado por patógenos nesta categoria. Isso pode ser particularmente relevante para animais de raças ameaçadas, uma vez que estes podem estar localizados em um ambiente na presença da doença (Thibier, 2011).

Tabela 2. Principais agentes infecciosos com risco de transmissão a partir de sêmen e embriões de ovinos e caprinos (OVCAGERM GEN, 2016).

Vírus	Bactérias	Prions
Língua azul	<i>Brucella melitensis</i>	Encefalopatias
Variola caprina e ovina	serovares de <i>Leptospira</i>	espongiformes
Febre aftosa	<i>Mycoplasma capricolum</i>	transmissíveis (EET)
Adenomatose pulmonar ovina	<i>Mycoplasma agalactiae</i>	
Maedi-visna e CAE	<i>Mycobacterium caprae</i>	
Peste dos pequenos ruminantes	<i>Chlamydophila</i> spp.	
Febre do vale do Rift		
Doença de Wesselsbron	<i>Coxiella burnetii</i>	

As lentivirose (CAEV e MAEDI-VISNA) compõem enfermidades de importância nos pequenos ruminantes e estão amplamente disseminadas pelo mundo e Brasil. Em revisão recente, Fieni et al. (2017) descreveram o risco de transmissão das lentivirose durante a transferência de embriões *in vivo* por meio de estudos demonstrando a detecção de DNA pró-viral em: (1) meio de lavagem para colheita de embriões; (2) células do *cumulus oophorus* em torno dos oócitos, folículo ovariano, oviduto e tecidos uterinos; e (3) testículos, epidídimos, vasos deferentes e glândulas vesiculares. Em contrapartida, já se verificou que: (1) embriões livres de CAEV podem ser produzidos por FIV usando espermatozoides infectados *in vitro* por CAEV; e (2) a transferência de embriões pode ser usada em condições de campo para produzir cabritos livres de CAEV de mães biológicas infectadas com CAEV a partir de protocolos de lavagem validadas pela Sociedade Internacional de Tecnologia de Embriões (IETS; Stringfellow, 2011). Neste contexto, ressaltam-se dados recentes apontando que a técnica de CNCE também pode auxiliar no controle do CAEV. Em estudo proposto por Nascimento-Penido et al. (2015), não foram obtidas amostras positivas para CAEV a partir de lavados uterinos oriundos da CNCE. O vírus apenas foi identificado depois da concentração viral com PEG a 40%. Os autores sugeriram que tal resultado poderia ser atribuído ao maior volume de líquido usado na técnica não cirúrgica (mais de 300 mL vs. 40 mL técnica cirúrgica) que aparentemente poderia diluir o vírus, e também devido à menor manipulação do útero quando comparado a técnica cirúrgica.

Com relação aos agentes bacterianos, demonstrou-se a persistência da *Chlamydia abortus* e *Coxiella burnetii* no embrião mesmo após os procedimentos de lavagem preconizado pela IETS. Assim, o embrião é meio potencial de transmissão destas bactérias para receptoras saudáveis e seus descendentes. (Alsaleh et al., 2014; Oseikria et al., 2016; Pellerin et al., 2018). Já o risco de transmissão de EET (encefalopatias espongiformes transmissíveis) associado a embriões colhidos de ovelhas e cabras varia de insignificante a baixo. No entanto, os



dados atuais ainda são insuficientes para concluir que tal risco realmente seja insignificante (EFSA Panel on Biological Hazards, 2010; Unité Mixte de Recherche INRA, 2017).

Instrumentos como espéculos, pinças e dilatadores cervicais utilizados para a colheita e transferência de embriões, também trazem preocupação na transmissão iatrogênica de patógenos (Wrathall et al., 2008). A falta de cuidado na antisepsia destes utensílios gera um alto risco sanitário aos animais. Deste modo, aconselha-se a associação de métodos físicos e químicos (Archanjo et al., 2012) a fim de se obterem resultados de antisepsia satisfatórios.

Considerações finais

A CNCE em caprinos tem boa eficiência e deve ser estimulada por ser menos nociva aos animais e mais coerente com os conceitos de bem-estar animal. Em ovinos, o uso de protocolos para dilatação cervical permite que taxas aceitáveis de transposição cervical sejam alcançadas e torna exequível a CNCE também nesta espécie. Associar anestesia epidural à CNCE aumenta o conforto e promove boa analgesia para as fêmeas. Características como raça, número de partos e facilidade para transposição cervical devem ser levadas em conta na hora de selecionar animais para um programa não-cirúrgico de MOTE.

Agradecimentos

FAPERJ, CNPq (400785/2016-1), EMBRAPA (Projeto 02.13.06.026.00.03).

Referências

- Alsaleh A, Fieni F, Moreno D, Rousset E, Tainturier D, Bruyas JF, Pellerin JL.** Risk of *Coxiella burnetii* transmission via embryo transfer using in vitro early bovine embryos. *Theriogenology*, v.81, p.849-853, 2014.
- Andrioli A, Simplicio AA, Soares AT, Visintin JA.** Eficiência da recuperação de embriões e os efeitos de consecutivas colheitas sobre o aparelho reprodutor de doadoras da espécie caprina. *Braz J Vet Res Anim Sci*, v.36, p.136-143, 1999.
- Archanjo AB, Toneto DS, Santiliano FC, Júnior OSP, Almeida BR.** Métodos de esterilização utilizados na indústria farmacêutica, farmácias, laboratórios e clínicas veterinárias. *Pubvet*, v.6, 2012.
- Arrowsmith S, Wray S.** Oxytocin: its mechanism of action and receptor signalling in the myometrium. *J Neuroendocrinol*, v.26, p.356-369, 2014.
- Bartlewski PM, Candappa IBR.** Assessing the usefulness of prostaglandin E2 (Cervidil) for transcervical artificial insemination in ewes. *Theriogenology*, v.84, p.1594-1602, 2015.
- Bartlewski PM, Seaton P, Oliveira MEF, Kridli RT, Murawski M, Schwarz T.** Intrinsic determinants and predictors of superovulatory yields in sheep: Circulating concentrations of reproductive hormones, ovarian status, and antral follicular blood flow. *Theriogenology*, v.86, p.130-43, 2016.
- Bruno-Galarraga MM, Cueto M, Gibbons AE, Pereyra-Bonnet F, Catalano R, González-Bulnes A.** Repeatability of superovulatory response to successive FSH treatments in Merino sheep. *Small Rumin Res*, v.124, p.84-89, 2014.
- Cabrol D, Dubois P, Sedbon E, Dallot E, Legagneux J, Amichot G, Cedard L, Sureau C.** Prostaglandin E2-induced changes in the distribution of glycosaminoglycans in the isolated rat uterine cervix. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, v.26, p.359-365, 1987.
- Candappa IBR, Bartlewski PM.** A Review of Advances in Artificial Insemination (AI) and Embryo Transfer (ET) in Sheep, with the Special Reference to Hormonal Induction of Cervical Dilation and its Implications for Controlled Animal Reproduction and Surgical Techniques. *The Open Reproductive Science Journal*, v.3, p.162-175, 2011.
- Candappa IBR, Bartlewski PM.** Induction of cervical dilation for transcervical embryo transfer in ewes. *Reprod Biol Endocrinol*, v.12, p.1-9, 2014.
- Cruz Júnior CA, McManus C, Jivago JLPR, Bernardi M, Lucci CM.** Anatomical and histological characterization of the cervix in Santa Inês hair ewes. *Anim Reprod*, v.11, p.49-55, 2014.
- EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ).** Scientific Opinion on Risk of transmission of TSEs via semen and embryo transfer in small ruminants (sheep and goats). *EFSA Journal*, v. 8(1). 39p., 2010.
- Falchi L, Taema M, La Clanche S, Scaramuzzi RJ.** The pattern of cervical penetration and the effect of topical treatment with prostaglandin and/or FSH and oxytocin on the depth of cervical penetration in the ewe during the peri-ovulatory period. *Theriogenology*, v.78, p.376-384, 2012.
- Feltovich H, Ji H, Janowski JW, Delance NC, Moran CC, Chien EK.** Effects of selective and nonselective PGE2 receptor agonists on cervical tensile strength and collagen organization and microstructure in the pregnant rat at term. *Am J Obstet Gynecol*, v.192, p.753-760, 2005.
- Fieni F, Lamara A, Al Ahmad MZA, Cortez-Romero C, Pellerin JL.** Caprine arthritis encephalitis: an example of risk assessment for embryo trading. *Reprod Fertil Dev*, v.29, p.37-51, 2017.
- Figueira LM, Alves NG, Souza-Fabjan JMG, Batista RITP, Souza LC, Maia ALRS, Brair VL, Filgueiras M, Souza GN, Fonseca JF.** Superovulation and transcervical embryo recovery in Lacaune ewes raised under tropical



- conditions. In: Proceedings of the 32nd Annual Meeting of the Brazilian Embryo Technology Society, 2018, Florianópolis. Anais... Florianópolis: SBTE, 2018. p.402. Resumo.
- Fonseca JF, Oliveira MEF, Brandão FZ, Batista RITP, Garcia AR, Bartlewski, Souza-Fabjan JMG.** Non-surgical embryo transfer in goats and sheep: the Brazilian experience. *Reprod Fertil Dev*, v.31, p.17-26, 2019a.
- Fonseca JF, Oliveira MEF, Viana JHM.** Uso de procedimentos não cirúrgicos para produção, recuperação e inovação de embriões em pequenos ruminantes. *Rev Bras Reprod Anim*, v.35, p.113-117, 2011.
- Fonseca JF, Souza-Fabjan JMG, Oliveira MEF, Leite CR, Nascimento-Penido PMP, Brandão FZ, Lehloenya KC.** Nonsurgical embryo recovery and transfer in sheep and goats. *Theriogenology*, v.86, p.144-151, 2016.
- Fonseca JF, Zambrini FN, Guimarães JD, Pereira VSA, Souza-Fabjan JMG, Ribeiro C, Brandão FZ, Garcia AR, Esteves SN, Machado R.** Successful transcervical uterine flushing in Morada Nova sheep. In: XXI Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 2015, Belo Horizonte. Anais... Belo Horizonte: CBRA, 2015, p.180. Resumo.
- Fonseca JF, Zambrini FN, Alvim GP, Peixoto MGCD, Verneque RS, Viana JHM.** Embryo production and recovery in goats by nonsurgical transcervical technique. *Small Rumin Res*, v.111, p.96-99, 2013.
- Fonseca JF, Zambrini FN, Guimarães JD, Silva MR, Oliveira MEF, Brandão FZ, Bartlewski PM, Souza-Fabjan JMG.** Combined treatment with oestradiol benzoate, d-cloprostenol and oxytocin permits cervical dilation and nonsurgical embryo recovery in ewes. *Reprod Domest Anim*, v.54, p.118-125, 2019b.
- Fonseca JF.** Classificação de ovelhas para a colheita de embriões pela via transcervical de acordo com o grau de facilidade de transposição cervical. In: Circular Técnica 45, Embrapa, Sobral, 2017.
- Fonseca JF, Souza JMG, Camargo LSA.** Produção de oócitos e embriões de pequenos ruminantes: passado, presente e futuro. *Acta Sci Vet*, v.38, p.337-369, 2010.
- Gusmão AL, Silva JC, Bittencourt TCC, Martins LEP, Gordiano HD, Barbosa LP.** Coleta transcervical de embriões em ovinos da raça Dorper no semiárido do Nordeste brasileiro. *Arq Bras Med Vet Zoo*, v.61, p.313-318, 2009.
- Gusmão AL, Silva JC, Quintela A, Moura JCA, Resende J, Gordiano H, Chalhoub M, Ribeiro Filho AL, Bittencourt TCBS, Barbosa LP.** Colheita transcervical de embriões ovinos da raça Santa Inês no semi-árido nordestino. *Rev Bras Saúde Prod Anim*, v.8, p.1-10, 2007.
- Halbert GW, Dobson H, Walton JS, Buckrell BC.** The structure of the cervical canal of the ewe. *Theriogenology*, v.33, p.977-992, 1990.
- Holtz W.** Recent developments in assisted reproduction in goats. *Small Rumin Res*, v.60, p.95-110, 2005.
- Jans V, Dondorp W, Goossens E, Mertes H, Pennings G, Wert G.** Balancing animal welfare and assisted reproduction: ethics of preclinical animal research for testing new reproductive Technologies. *Med Health Care Philos*, v.21, p.537-545, 2018.
- Kaabi M, Alvarez M, Anel E, Chamorro CA, Boixo JC, Paz P, Anel L.** Influence of breed and age on morphometry and depth of inseminating cateter penetration in the ewe cervix: A post-mortem study. *Theriogenology*, v.66, p.1876-1883, 2006.
- Kershaw CM, Khalid M, McGowan MR, Ingram K, Leethongdee S, Wax G, Scaramuzzi RJ.** The anatomy of the sheep cervix and its influence on the transcervical passage of an inseminating pipette into the uterine lumen. *Theriogenology*, v.64, p.1225-1235, 2005.
- Kershaw-Young CM, Khalid M, McGowan MR, Pitsillides AA, Scaramuzzi RJ.** The mRNA expression of prostaglandin E receptors EP2 and EP4 and the changes in glycosaminoglycans in the sheep cervix during the estrous cycle. *Theriogenology*, v.72, p.251-261, 2009.
- Khalifa RME, Sayre BL, Lewis GS.** Exogenous oxytocin dilates the cervix in ewes. *J Anim Sci*, v.70, p.38-42, 1992.
- Khalil KEL, Allai L, Fatet A, Benmoula A, Hamidallah N, Badi A, Moussafir Z, Ibelbachyr M, Amiri BEI.** Morphometry and depth of inseminating cateter penetration in prolific and non-prolific ewes at diferente ages: A post mortem study. *Anim Reprod Sci*, v.196, p.43-47, 2018.
- Landim-Alvarenga FC.** Parto Normal. In: Prestes NC, Landim-Alvarenga FC. (Ed.1). *Obstetrícia Veterinária*. Rio De Janeiro: Guanabara Koogan LTDA, 2012. p.83-96.
- Ledda S, Gonzalez-Bulnes A.** ET-Technologies in Small Ruminants. In: Niemann H, Wrenzycki C. (Ed.1). *Animal Biotechnology*. Alemanha: Springer Cham, p.135-166, 2018.
- Leite CR, Fonseca JF, Fernandes DAM, Souza-Fabjan JMG, Ascoli FO, Brandão FZ.** Cervical relaxation for non-surgical uterus access in Santa Inês ewes. *Arq Bras Med Vet Zootec*, v.70, n.6, p.1671-1679, 2018.
- Lima-Verde JB, Lopes Júnior DIA, Teixeira NRO, Paula AA, Medeiros DR, Freitas VJF.** Transcervical embryo recovery in Saanen goats. *S Afr J Anim Sci*, v.33, p.127-131, 2003.
- Masoudi R, Shahneh AZ, Towhidi A, Kohram H, Akbarisharif A, Sharafi M, Zhandi M, Shahab-El-Deen MAMM.** Cervical dilation and improvement of reproductive performance in fat-tailed ewes via cervical dilator treatments. *Asian Pac J Reprod*, v.6, p.93-96, 2017.
- Moura DS, Lourenço TT, Moscardini MM, Scott C, Fonseca PO, Souza FF.** Aspectos morfológicos da cérvice de ovelhas. *Pesqui Vet Bras*, v.31, p.33-39, 2011.
- Nascimento-Penido PMP, Santos GB, Penido AO, Fonseca JF, Leite RC.** Identification of arthritis encephalitis caprine vírus (CAEV) in flushing media and embryos from naturally infected dairy goats. In: 29th Annual Meeting of the Brazilian Embryo Technology Society, 12, 2015, Gramado. Anais... Gramado: SBTE, 2015. p.703. Resumo.



- Naqvi SMK, Pandey GK, Gautam KK, Joshi A, Geethalakshmi V, Mittal JP.** Evaluation of Gross Anatomical Features of Cervix of Tropical Sheep Using Cervical Silicone Moulds. *Anim Reprod Sci*, v.85, p.337-344, 2005.
- Oseikria M, Pellerin JL, Rodolakis A, Vorimore F, Laroucau K, Bruyas JF, Roux C, Michaud S, Larrat M, Fieni F.** Can Chlamydia abortus be transmitted by embryo transfer in goats? *Theriogenology*, v.86, p.1482-1488, 2016.
- OVCAGERM GEN.** Import Health Standard: Semen and Embryos from Sheep (*Ovis Aries*) and Goats (*Capra hircus*). Ministry for Primary Industries, 16p., 2016.
- Pellerin JL, Oseikria M, Moreno D, Rodolakis A, Vorimore F, Laroucau K, Bruyas JF, Roux C, Michaud S, Larrat M, Fieni F.** Risk of *Chlamydia abortus* transmission via embryo transfer using *in vitro* produced early bovine embryos. *Theriogenology*, v.86, p.114-120, 2018.
- Pereira RJTA, Sohnrey B, Holtz W.** Nonsurgical embryo collection in goats treated with prostaglandin F₂-alpha and oxitocin. *J Anim Sci*, v.76, p.360-363, 1998.
- Pinto PHN, Balaro MFA, Souza-Fabjan JMG, Ribeiro LS, Bragança GM, Leite CR, Arashiro EKN, Silva KM, Fonseca JF, Brandão FZ.** Anti-Müllerian hormone and antral follicle count are more effective for selecting ewes with good potential for *in vivo* embryo production than the presence of FecG^E mutation or eCG pre-selecting tests. *Theriogenology*, v.113, p.146-152, 2018.
- Santos JDR, Arashiro EKN, Balaro MFA, Souza-Fabjan, JMG, Pinto PHN, Souza CV, Leite CR, Fonseca JF, Brandão FZ.** Cervical transposition test using Hegar dilator at estrus as a tool to select ewes for transcervical embryo collection. *Reprod Domest Anim*, v.54, p.126-128, 2019.
- Stringfellow DA.** Recommendation for the sanitary handling of *in vivo*-derived embryos. In: (Ed.4). Manual of the International Embryo Transfer Society. International Embryo Transfer Society (IETS), 2011. p.73-76.
- Swart JAA.** Ethical issues of Technologies used for Animal Breeding. In: Thompson PB, Kaplan DM. Encyclopedia of Food and Agricultural Ethics. Alemanha: Springer-VBH, 2014, p.1-7.
- Thibier M.** Embryo transfer: a comparative biosecurity advantage in international movements of germplasm. *Rev Sci Tech*, v.30, p.177-188, 2011.
- Unité Mixte de Recherche INRA.** Assessment of classical scrapie infectivity in sheep embryos. EFSA Supporting Publications, v.14, 2017.
- Wrathall AE, Holyoak GR, Parsonson IM, Simmons HA.** Risks of transmitting ruminant spongiform encephalopathies (prion diseases) by semen and embryo transfer techniques. *Theriogenology*, v.70, p.725-745, 2008.
-