

## Eficiência da recuperação de embriões e os efeitos de consecutivas colheitas sobre o aparelho reprodutor de doadoras da espécie caprina

### Efficiency and effect of consecutive embryo recoveries on the reproductive system of goat donors

CORRESPONDÊNCIA PARA:  
José Antonio Visintin  
Departamento de Reprodução  
Animal  
Faculdade de Medicina Veterinária  
e Zootecnia da USP  
Cidade Universitária Armando de  
Salles Oliveira  
Av. Orlando Marques de Paiva,  
87. 05508-000 - São Paulo - SP  
e-mail: visintin@usp.br

1-Empresa Brasileira de Pesquisa  
Agropecuária, Centro Nacional de  
Pesquisa de Caprinos, Sobral - CE  
2-Departamento de Reprodução  
Animal da Faculdade de Medicina  
Veterinária e Zootecnia da USP-SP

Alice ANDRIOLI<sup>1</sup>; Aurino Alves SIMPLÍCIO<sup>1</sup>; Adriana Trindade SOARES<sup>1</sup>; José Antonio VISINTIN<sup>2</sup>

#### RESUMO

O objetivo deste experimento foi comparar a eficiência e o efeito de consecutivas colheitas de embriões, por três diferentes métodos (transcervical-T<sub>1</sub>, laparoscopia-T<sub>2</sub> e laparotomia-T<sub>3</sub>), sobre a atividade reprodutiva de doadoras da espécie caprina. Utilizaram-se 10 cabras em cada método (T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> e T<sub>3</sub>), sendo as colheitas de embriões repetidas três vezes consecutivas, nas mesmas fêmeas, com intervalo de 56 dias. As fêmeas foram sincronizadas com esponjas vaginais impregnadas com 60 mg de acetato de medroxiprogesterona durante 10 dias e 100 µg de cloprostenol aplicados pela via IM no oitavo dia da sincronização. No 8º dia, iniciou-se a superovulação com 250 UI de FSH de origem suína, divididas em oito doses decrescentes, aplicadas em intervalo de 12 horas. As fêmeas foram acasaladas e as colheitas de embriões realizadas no 5º ou 6º dia após a última cobertura. Após 56 dias da terceira colheita de embriões, foram realizados o abate e a necropsia das doadoras. O tempo necessário para a colheita de embriões em cada método foi de 21 minutos e 32 segundos; 37 minutos e 14 segundos e 56 minutos e 22 segundos, respectivamente, para T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> e T<sub>3</sub> (p<0,01). A maior taxa de recuperação da solução de lavagem foi no T<sub>3</sub> (83,7%), seguido por T<sub>2</sub> (72,2%) e T<sub>1</sub> (64,3%) (p<0,05). As taxas médias de recuperação dos embriões foram 57,1; 81,1 e 27,3% para T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> e T<sub>3</sub>, respectivamente, com variação entre 0-100%. A taxa de recuperação de embriões sofreu influência de vários fatores, como a presença de corpos lúteos regredidos, a taxa de ovulação e a presença de aderências no sistema genital, mas, isoladamente, a taxa de recuperação de embriões foi satisfatória nos três métodos. O T<sub>1</sub> causou eversão do endométrio e aderência entre o corno uterino e o epíplo em uma única fêmea, o T<sub>2</sub> causou eversão do endométrio em 30%, 40% e 60% e aderências do sistema genital em 10%, 10% e 70% das fêmeas à 1ª, 2ª e 3ª colheitas, respectivamente. O T<sub>3</sub> causou aderências no sistema genital em 80% das doadoras após a primeira e 100% após a segunda colheita. O T<sub>1</sub> e o T<sub>2</sub> permitem o uso de doadoras em repetidas colheitas de embriões, o que não ocorre com o T<sub>3</sub>, que causa aderências no sistema genital e órgãos circunvizinhos em 100% dos casos.

**UNITERMOS:** Caprinos; Embriões; Reprodução.

#### INTRODUÇÃO

Há basicamente três técnicas de colheita de embriões em pequenos ruminantes descritas na literatura, ou seja, a laparotomia, a laparoscopia e a via transcervical, as quais propiciam diferentes resultados quanto ao número de embriões e danos sobre o sistema genital das doadoras.

A colheita de embriões por laparotomia foi a primeira a ser empregada em pequenos ruminantes e apresenta boa taxa de recuperação de embriões<sup>11,17,28</sup>. Porém, tanto em ovinos<sup>29,30</sup>

como em caprinos<sup>23,25</sup>, acarreta várias aderências no sistema genital, comprometendo, às vezes totalmente, a vida reprodutiva do animal, o que limita o uso de doadoras de alto valor genético em repetidas colheitas de embriões.

A lavagem dos cornos uterinos causa aderências menos severas do que a lavagem das trompas, a qual ocasiona aderências nos ovários e nas fimbrias, sendo estas as maiores limitações à capacidade reprodutiva da doadora<sup>29</sup>.

A colheita de embriões por laparotomia pode provocar aderências entre os cornos uterinos e os ovários<sup>30</sup>. Estas aderências podem ocorrer após a primeira colheita e envolver,

principalmente, a junção útero-tubárica e intercornos uterinos mesmo com irrigação contínua do sistema genital durante a intervenção cirúrgica com solução de Ringer Lactato acrescida de heparina e, ao final, com adição de dexametasona<sup>23</sup>. Contudo, alguns autores não observaram redução na habilidade reprodutiva em cabras após três colheitas cirúrgicas de embriões<sup>28</sup>. No entanto, após três colheitas cirúrgicas consecutivas em ovelhas, há resultados de diminuição na taxa de recuperação de embriões, além de ocorrerem aderências nos genitais de alguns animais, impedindo a captura dos ovócitos. Em adição, houve aumento do número de ovócitos em relação ao de embriões, sugerindo que o transporte dos espermatozoides foi prejudicado<sup>30</sup>.

A colheita cirúrgica de embriões prejudicou a fertilidade de ovelhas em subseqüentes estações de monta, ou seja, essas fêmeas apresentaram maior número de montas por prenhez e menor porcentagem de parições. Já as ovelhas submetidas a colheitas por laparoscopia não apresentaram alterações nos índices de fertilidade quando comparadas ao controle<sup>27</sup>.

A técnica de colheita de embriões por laparoscopia foi realizada, primeiramente, em ovinos<sup>14,15</sup> e posteriormente em caprinos, obtendo-se satisfatórias taxas de recuperação de embriões<sup>2,8</sup>, além da possibilidade de repetidas colheitas com menor probabilidade de ocorrerem aderências do que a técnica cirúrgica, uma vez que não requer a exteriorização e o manuseio do sistema genital. No entanto, há registros da ocorrência de aderências no sistema genital e eversão do endométrio no ponto de perfuração da parede uterina, resultantes de colheitas por laparoscopia<sup>21,27</sup>. Alguns autores não constataram diminuição na taxa de recuperação de embriões após repetidas colheitas no mesmo animal<sup>2,15</sup>. No entanto, há registro em ovelhas de que a taxa de recuperação de embriões diminuiu, significativamente, após a terceira colheita consecutiva<sup>21</sup>.

A colheita de embriões pela via transcervical tem sido realizada em caprinos<sup>6,9,20,22,24</sup>, registrando taxas de recuperação de embriões que variam de 30,6% a 89,5%. Esta técnica, por exigir pouco manuseio, pode acarretar menores danos ao sistema genital da doadora, possibilitando várias colheitas no mesmo animal.

A técnica de colheita de embriões por laparotomia apresenta maior taxa de recuperação de embriões do que pela via transcervical<sup>6,22</sup> e por laparoscopia<sup>2,5</sup>, tanto em caprinos como em ovinos.

Comparando-se as técnicas de colheita de embriões por laparoscopia e pela via transcervical, obtiveram-se taxas

médias de recuperação de embriões de 78,7% e 36,9%, respectivamente, contudo ambas apresentaram variações de 0 a 100%<sup>8</sup>.

O objetivo desta pesquisa foi avaliar três métodos de colheita de embriões (transcervical - T<sub>1</sub>, laparoscopia - T<sub>2</sub> e laparotomia - T<sub>3</sub>), observando a eficiência de recuperação de embriões e os efeitos de consecutivas colheitas sobre o aparelho reprodutor de doadoras da espécie caprina.

## MATERIAL E MÉTODO

A fase experimental foi conduzida na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) - Centro Nacional de Pesquisa de Caprinos (CNPC), sediada no município de Sobral - CE. O CNPC está a 3°42' de latitude Sul, 40°21' de longitude Oeste e a uma altitude de 83 metros.

Foram utilizadas 30 cabras pluríparas da raça Moxotó mantidas em sistema semi-intensivo, utilizando pastagem nativa como suporte forrageiro. As fêmeas receberam água e sal mineral *ad libitum* e 300 gramas de milho em grão por animal/dia.

Constituíram-se três grupos de 10 cabras, sendo cada grupo submetido a uma técnica de colheita de embriões: T<sub>1</sub> - transcervical, T<sub>2</sub> - laparoscopia e T<sub>3</sub> - laparotomia. As colheitas de embriões foram repetidas três vezes consecutivas nas mesmas cabras, em intervalos de 56 dias.

O estro e a ovulação das doadoras foram sincronizados mediante o uso de esponjas vaginais impregnadas com 60 mg de acetato de medroxiprogesterona<sup>a</sup> durante 10 dias. No oitavo dia após a colocação das esponjas, aplicaram-se 100 µg de cloprostenol<sup>b</sup> e iniciou-se o tratamento superovulatório com 250 UI de gonadotrofina suína<sup>c</sup> (FSH e LH na relação 1:1), divididas em oito subdoses: 62,5 - 62,5; 31,25 - 31,25; 15,63 - 15,63 e 15,63 - 15,63 UI.

Doze horas após a remoção das esponjas vaginais, as fêmeas foram colocadas com machos férteis para detecção dos sintomas de estro e acasalamento, sendo as colheitas de embriões realizadas entre o 5º e o 6º dia após a última cópula.

Os animais foram submetidos a jejum de 24 horas e anestesiados com a associação de cloridrato de xilazina<sup>d</sup> - 0,1 mg/kg, via intramuscular e Cetamina<sup>e</sup> - 3,3 mg/kg, via intravenosa, ministrando-se previamente sulfato de atropina - 0,1 mg/kg. As drogas foram administradas com intervalos de 10 minutos.

Para a colheita dos embriões utilizaram-se sondas de três vias<sup>f</sup> e 40 ml de PBS (Dulbecco's Phosphate Buffered

<sup>a</sup>Promone E - Upjhon

<sup>b</sup>Ciosin - Coopers

<sup>c</sup>Pluset - serono

<sup>d</sup>Rompun - Bayer

<sup>e</sup>Ketalar - Park Davis

<sup>f</sup>OVICAP ref VA 140 - Instruments de Médecine Vétérinaire (IMV) - França

Saline) acrescido de 1% de soro fetal bovino a 37°C para cada doadora, administrando-se 20 ml em cada corno uterino.

Os embriões foram identificados e classificados sob estereomicroscópio (aumento de 40X).

Em seguida às colheitas dos embriões, as fêmeas receberam penicilina e estreptomicina<sup>§</sup> por via intramuscular e 100 µg de cloprostenol para lisar os corpos lúteos e impedir o desenvolvimento de embriões que porventura permanecessem no sistema genital.

### Colheita de embriões pela via transcervical - T<sub>1</sub>

As cabras foram contidas em tronco próprio para o exame da região genital<sup>16</sup>. Foi introduzido cuidadosamente um espéculo tipo bico de pato para localizar a abertura da cérvix, sendo esta fixada lateralmente e tracionada em direção à vulva com o auxílio de duas pinças de Allis para facilitar a passagem da sonda de três vias que foi direcionada a um dos cornos uterinos. Em seguida, inflou-se o balão com 3 ml de ar, administraram-se 20 ml de PBS fracionados em pequenas quantidades e recuperou-os em tubo coletor graduado. Este processo de colheita de embriões foi repetido no corno oposto. Após cada colheita, administraram-se 5 ml de solução anti-

séptica<sup>h</sup> na vagina, visando prevenir contaminação do traumatismo causado pelas pinças de Allis sobre os tecidos cervical e vaginal.

Para aferir a taxa de ovulação e conseqüentemente a taxa de recuperação de embriões, como também para avaliar a ocorrência de lesões no sistema genital resultantes de colheitas anteriores pela via transcervical, realizou-se a laparoscopia exploratória logo após a terceira colheita dos embriões.

### Colheita de embriões por laparoscopia - T<sub>2</sub>

As cabras foram contidas em decúbito dorsal em mesa cirúrgica para pequenos ruminantes<sup>10</sup>, com inclinação de 45° em relação à horizontal, estando a cabeça posicionada em nível mais baixo e os membros estendidos.

Foram realizadas três perfurações na região abdominal, sendo a primeira e a segunda 2 cm equidistantes da linha média e 5 cm do úbere e a terceira sobre a linha média e a 8 cm do úbere. Pela primeira e segunda incisões, foram introduzidos o endoscópio (lado esquerdo) e a pinça de endoscopia (lado direito) para visualização e manuseio do sistema genital, com avaliação da atividade ovariana.

**Tabela 1**

Taxa de recuperação da solução de lavagem, em três colheitas de embriões consecutivas, pela via transcervical-T<sub>1</sub>, por laparoscopia-T<sub>2</sub> e por laparotomia-T<sub>3</sub> em cabras Moxotó, Sobral - CE, 1993.

Método / Colheita	N	n	Solução de lavagem (ml)		Taxa Recuperação (%)
			injetada X	recolhida x ± s	
<b>Transcervical</b>					
primeira	10	7	40,0	32,16 ± 4,54a	80,4
segunda	10	8	40,0	25,18 ± 9,06ab	62,9
terceira	10	7	40,0	20,00 ± 12,65b	50,0
total	30	22	40,0	25,71 ± 10,19c	64,3
<b>Laparoscopia</b>					
primeira	10	10	40,0	34,90 ± 2,28a	87,2
segunda	10	10	40,0	25,81 ± 10,85b	64,5
terceira	10	9	40,0	24,86 ± 5,80b	62,1
total	30	29	40,0	28,90 ± 8,32c	72,2
<b>Laparotomia</b>					
primeira	10	10	40,0	34,32 ± 4,43a	85,8
segunda	10	9	40,0	34,30 ± 6,92a	85,7
terceira	9	8	40,0	31,28 ± 5,12a	78,2
total	29	27	40,0	33,49 ± 5,53d	83,7

N = animais submetidos a colheitas de embriões;

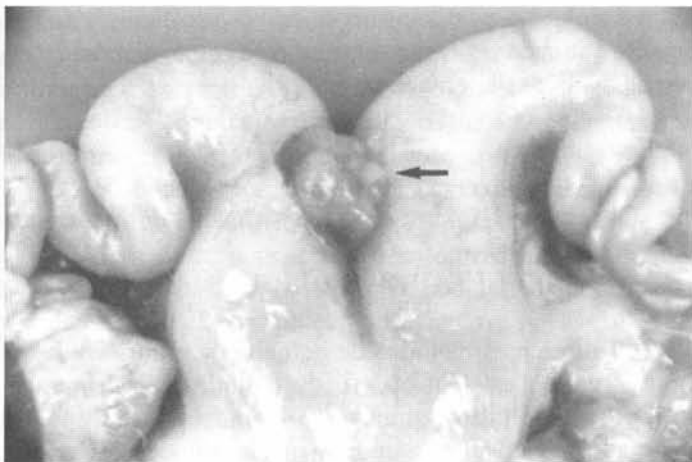
n = animais com colheitas de embriões;

a, b: números seguidos de letras desiguais, na mesma coluna, indicam diferença estatística (p<0,05) entre as colheitas dentro de cada método;

c, d: números seguidos de letras desiguais, na mesma coluna, indicam diferença estatística (p<0,05) entre os métodos

<sup>§</sup>Pentabiótico pequeno porte - Fontoura Wyeth.

<sup>h</sup>Furacin solução - Shering



**Figura 1**

Eversão do endométrio resultante da colheita de embriões por laparoscopia.

Para a colheita dos embriões, o útero foi pinçado próximo à bifurcação dos cornos uterinos e perfurado com trocarte (3 mm de diâmetro) pela terceira incisão. Após a retirada do trocarte, introduziu-se a sonda de colheita de embriões de três vias, inflando o balão com 3 ml de ar e o útero liberado, pinçando-se, em seguida, a porção cranial do corno uterino para evitar a perda da solução pela trompa.

Foram administrados 20 ml de PBS em cada corno uterino pela segunda via da sonda, recuperando-se o líquido em recipiente graduado sob vácuo pela terceira via, repetindo-se o processo no corno oposto. Após a colheita dos embriões,



**Figura 2**

Aderências no sistema genital resultante da colheita de embriões por laparotomia.

suturou-se apenas a pele com pontos separados em U, empregando-se fio de algodão.

### Colheita de embriões por laparotomia - T<sub>3</sub>

Os animais foram contidos à semelhança do método por laparoscopia.

A intervenção cirúrgica foi feita sobre a linha média, cranialmente ao úbere, por uma incisão de 10 cm, tracionando cuidadosamente o sistema genital para avaliar a atividade ovariana e observar o número de corpos lúteos e as lesões causadas pelas colheitas anteriores.

**Tabela 2**

Taxa de recuperação de embriões em relação aos corpos lúteos totais (CLT - funcionais e regredidos) e de corpos lúteos funcionais (CLF) em três colheitas de embriões consecutivas, pela via transcervical-T<sub>1</sub>, por laparoscopia-T<sub>2</sub> e por laparotomia-T<sub>3</sub> em cabras Moxotó, Sobral -CE, 1993.

Método / Colheita	Número embriões	Tratamento de recuperação de embriões			
		CLT	%	CLF	&
<u>Transcervical</u>		4	100,0	4	100,0
primeira	4	2	0,0	2	0,0
segunda	0	1	0,0	1	0,0
terceira	0	7	57,1	7	57,1
total	4				
<u>Laparoscopia</u>		3	0,0	1	0,0
primeira	0	55	60,0	31	100,0
segunda	33	27	37,0	21	47,6
terceira	10	113	38,0	53	81,1
total	43				
<u>Laparotomia</u>		76	7,9	14	42,9
primeira	6	44	22,7	26	38,5
segunda	10	31	6,4	26	7,7
terceira	2	151	11,9	66	27,3
total	18				



O corno uterino foi perfurado com trocarte (3 mm de diâmetro) próximo à bifurcação dos cornos e introduzida a sonda, inflando-se o balão com 3 ml de ar.

Foram administrados, pela segunda via, 20 ml de PBS em cada corno uterino, pressionando-se delicadamente a porção cranial do corno uterino para evitar perda da solução pela trompa. Após ligeira e suave massagem do corno uterino, recuperou-se o PBS pela terceira via, em tubo graduado sob vácuo, repetindo-se o processo no corno oposto.

As perfurações dos cornos uterinos foram suturadas com categute cromado 3-0 pela técnica de Cushing, irrigando-se em seguida o sistema genital com solução fisiológica estéril, à temperatura de 37°C, de forma a remover os coágulos sangüíneos e minimizar as aderências.

O peritônio e o tecido muscular foram suturados com categute cromado número 2 em pontos tipo cerzadura e a pele com fio de algodão em pontos separados simples.

### Necrópsia das doadoras

Após 56 dias da terceira colheita dos embriões, as doadoras foram necropsiadas todas para observar as possíveis alterações e/ou aderências nos genitais e nos órgãos ou tecidos circunvizinhos, causadas pelas diferentes técnicas de colheita de embriões.

Os órgãos genitais foram avaliados primeiramente *in situ*, ou seja, dentro da cavidade abdominal, para verificar as aderências entre o sistema genital e os tecidos e órgãos

circunvizinhos e posteriormente removidos para exame minucioso de cada segmento, tanto externa como internamente, visando avaliar as alterações.

### Análise estatística

Os resultados foram submetidos à análise de variância<sup>4</sup>.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os diferentes métodos de colheita de embriões, bem como as variações dentro de cada método, apresentaram diferentes resultados quanto ao número de embriões recuperados, assim como menor ou maior grau de lesão sobre o sistema genital da doadora. Além disso, há interferência de outros fatores, como os equipamentos, regressão de corpos lúteos, variação individual dos animais, raça, intervalo entre a inseminação artificial e colheita dos embriões e gonadotrofina utilizada para a indução da superovulação<sup>26</sup>.

Há significativa redução na taxa de recuperação de embriões quando se tem mais de dez corpos lúteos no mesmo ovário<sup>18,21</sup>, fato este também registrado neste experimento.

A taxa de recuperação da solução de lavagem foi 64,3%; 72,2% e 83,7%, respectivamente, para T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> e T<sub>3</sub> (Tab. 1), havendo diferença estatística significativa de T<sub>3</sub> em relação a T<sub>1</sub> e T<sub>2</sub> (p<0,05).

As taxas de recuperação da solução de lavagem pela via transcervical foram 80,4; 62,9 e 50,0% (Tab.1),

Tabela 3

Duração média (x) do processo de colheita de embriões e desvio padrão (s) em três colheitas de embriões consecutivas pela via transcervical-T<sub>1</sub>, por laparoscopia-T<sub>2</sub> e por laparotomia-T<sub>3</sub>, em cabras Moxotó, Sobral - CE, 1993.

Método / Colheita	N	Tratamento de recuperação de embriões		
		x	±	s
<u>Transcervical</u>				
primeira	7	18,43	±	3,99
segunda	8	21,87	±	5,94
terceira	7	23,57	±	3,95
total	22	21,32	±	5,04 a
<u>Laparoscopia</u>				
primeira	10	35,00	±	10,83
segunda	10	36,11	±	12,44
terceira	9	40,56	±	6,82
total	29	37,14	±	10,23 b
<u>Laparotomia</u>				
primeira	10	53,89	±	12,19
segunda	10	56,25	±	9,91
terceira	9	59,67	±	6,80
total	29	56,22	±	10,06 c

N - animais submetidos à colheita de embriões;

a, b, c: números seguidos de letras desiguais, na mesma coluna, diferem estatisticamente (p<0,01).

respectivamente, para a primeira, segunda e terceira colheitas de embriões, havendo diminuição significativa ( $p < 0,05$ ) entre a primeira e a terceira, estando abaixo das taxas registradas na literatura<sup>7,22</sup>, enquanto os resultados das três colheitas por laparotomia estão próximos daqueles descritos na literatura<sup>19</sup>.

Nas colheitas por laparoscopia, as taxas de recuperação da solução foram 87,2; 64,5 e 62,1%, ocorrendo diferença significativa entre a primeira e as outras duas colheitas ( $p < 0,05$ ), enquanto por laparotomia não houve diferença na taxa de recuperação da solução de lavagem entre as colheitas (Tab.1).

A taxa média de recuperação da solução de lavagem foi significativamente maior ( $p < 0,05$ ) nas colheitas por laparotomia (83,7%) do que por laparoscopia (72,2%) e pela via transcervical (64,3%), conforme Tab. 1. O método de colheita por laparotomia permite a massagem dos cornos uterinos, possibilitando, desta forma, maior taxa de recuperação da solução, enquanto nas colheitas pela via transcervical e por laparoscopia não é possível realizar a massagem.

As taxas de recuperação de embriões para os três métodos foram 57,1; 81,1 e 27,3% para  $T_1$ ,  $T_2$  e  $T_3$ , respectivamente (Tab. 2), havendo grande variação nas taxas de recuperação de embriões tanto entre colheitas como entre métodos.

A taxa de recuperação de embriões em relação ao número de corpos lúteos totais (funcionais e regredidos) para os três métodos de colheitas ( $T_1$ ,  $T_2$  e  $T_3$ ) foi de 24,0%, porém, quando se consideraram apenas os corpos lúteos funcionais, esta taxa aumentou para 51,6%, concordando com o fato de que a presença de corpos lúteos regredidos acarreta diminuição na taxa de recuperação de embriões<sup>1,22,28</sup>. Isto provavelmente se deve à redução do nível sérico de progesterona entre o quarto e o sexto dia após o estro em cabras com regressão precoce de corpo lúteo<sup>3,22</sup>. Entretanto, foi possível recuperar embriões de grau IV ou degenerados em cabras que apresentavam somente corpos lúteos regredidos.

A taxa de recuperação de embriões na primeira colheita por laparotomia foi de 42,9% (Tab. 2), concordando com os autores que utilizaram a mesma metodologia deste experimento<sup>22,25</sup>. No entanto, esteve abaixo dos resultados de outros autores que empregaram a laparotomia, porém seguindo metodologia diferente<sup>1,11,17,28,29</sup>.

A taxa de recuperação de embriões por laparotomia diminuiu de 42,9% na primeira colheita para 38,5% e 7,7% na segunda e terceira colheitas, respectivamente (Tab. 2), sendo relatada a mesma observação em ovelhas após três colheitas consecutivas<sup>30</sup>. Essa diminuição na taxa de recuperação de embriões se deve, provavelmente a aderências no sistema genital das doadoras à segunda e, principalmente, à terceira colheita de embriões. Embora as aderências não tenham impedido a lavagem dos cornos uterinos, exceto em uma cabra, assim como a taxa de recuperação da solução tenha se

mantido constante nas três colheitas, acredita-se que as aderências possam ter dificultado a captura dos ovócitos pelas fímbrias ou o transporte dos embriões nas trompas e nos cornos uterinos. O aumento no número de ovócitos após três colheitas consecutivas por laparotomia, pode sugerir que as aderências prejudicam o transporte dos espermatozoides até a trompa, dificultando a fecundação<sup>30</sup>, porém este fato não foi constatado neste experimento.

Na colheita de embriões por laparoscopia, a taxa de recuperação de embriões à primeira colheita foi zero (Tab.2), possivelmente relacionado ao fato de que 96,8% dos corpos lúteos estavam regredidos. No entanto, à segunda colheita, a taxa de recuperação foi de 60,0% em relação aos corpos lúteos totais e de 100,0% em relação aos funcionais (Tab. 2), estando compatível com as taxas observadas na literatura<sup>2,12,15,21</sup>. Entre a segunda e a terceira colheitas, houve diminuição na taxa de recuperação de embriões em relação aos corpos lúteos funcionais (Tab. 2).

As cabras submetidas à colheita de embriões pela via transcervical, embora tenham recebido o mesmo tratamento de sincronização do estro e de superovulação dos outros tratamentos, não responderam satisfatoriamente, apresentando pequeno número de corpos lúteos e conseqüentemente de embriões, o que dificultou a avaliação da técnica quanto à taxa de recuperação de embriões. Entretanto, na primeira colheita obteve-se taxa de recuperação de embriões de 100,0%, estando acima dos resultados da literatura<sup>9,20,22,24</sup>.

A colheita de embriões por laparoscopia pode ser realizada em 10 a 20 minutos<sup>12,26</sup>, enquanto a colheita pela via transcervical demora em média 15 minutos<sup>7</sup>. No entanto, a duração média das colheitas pela via transcervical, por laparoscopia e por laparotomia, foi de 21 horas e 32 minutos; 37 horas e 14 minutos e 56 horas 22 minutos, respectivamente (Tab. 3), havendo diferença estatística significativa ( $p < 0,01$ ), o que é um indicativo da praticidade da via transcervical em relação aos outros métodos.

Na colheita de embriões pela via transcervical, o sucesso na passagem do cateter pela cervice foi de 73,3%, sendo inferior ao descrito na literatura<sup>6</sup>.

A técnica de colheita de embriões por laparoscopia necessita de maior número de auxiliares treinados, enquanto a laparotomia é um processo cirúrgico que requer mais tempo e predispõe a hemorragias e lesões de órgãos.

A partir da segunda colheita de embriões, observou-se efeito dos diferentes métodos de colheita de embriões sobre o sistema genital e órgãos ou tecidos circunvizinhos das doadoras.

As fêmeas submetidas à colheita de embriões pela via transcervical não apresentaram aderência ou lesão no sistema genital e entre o sistema genital e os órgãos ou tecidos circunvizinhos nas avaliações durante a 2ª e a 3ª colheitas. Embora as pinças de Allis usadas para fixar e tracionar a cervice tenham causado lesões dos tecidos vaginal e cervical com

sangramento no momento da colheita, observou-se que nas colheitas seguintes e à necrópsia havia completa cicatrização dos tecidos, não ocorrendo inflamações ou infecções.

À necrópsia, nove cabras (90,0%) do T<sub>1</sub> não apresentaram qualquer anormalidade no sistema genital ou nos tecidos e órgãos circunvizinhos. No entanto, podem ocorrer casos de perfurações do útero pelo cateter em colheitas de embriões pela via transcervical<sup>7,20</sup>, sendo que neste experimento uma cabra apresentou eversão do endométrio no corno uterino esquerdo e aderência com o epíploo devido, provavelmente, a perfuração acidental do corno uterino, durante a terceira colheita. Nesta fêmea, a passagem do cateter só foi possível em uma das colheitas e ainda com dificuldade, o que pode ter predisposto à perfuração.

Na colheita por laparoscopia ocorreram eversões do endométrio (Fig. 1), sendo esta lesão também observada em ovelhas<sup>15,21</sup>. O aparecimento dessas lesões, provavelmente, se deve ao fato de que as perfurações dos cornos uterinos não tenham sido suturadas. O desenvolvimento de técnicas de sutura para a técnica por laparoscopia, como agrafes ou trocarce com diâmetro menor, poderia evitar ou diminuir essas lesões.

A presença de eversão do endométrio não impede as colheitas de embriões<sup>15,21</sup>. No entanto, à necrópsia, foi constatada obstrução do lúmen uterino no ponto da eversão do endométrio em uma cabra devido à aderência, comprometendo a vida reprodutiva da doadora, mas em duas cabras as eversões do endométrio foram reversíveis.

A colheita de embriões por laparoscopia pode causar aderências<sup>15,21</sup>, impedindo inclusive as colheitas posteriores<sup>21</sup>. Isto foi observado em uma cabra na qual a aderência entre os cornos

uterinos e o epíploo impossibilitaram a colheita dos embriões.

As cabras submetidas à colheita por laparotomia apresentaram maior número de aderências no sistema genital, entre o sistema genital e os órgãos ou tecidos circunvizinhos e entre os órgãos ou tecidos da cavidade abdominal (Fig. 2), como observado tanto em ovinos<sup>29,30</sup> quanto em caprinos<sup>23,25</sup>.

Para diminuir as aderências, a colheita de embriões por laparotomia foi realizada lavando-se apenas os cornos uterinos<sup>13,22,28</sup>, o que evita o manuseio de trompas e ovários, reduzindo conseqüentemente as aderências das trompas<sup>29</sup>.

A irrigação do sistema genital após a colheita de embriões por laparotomia com solução de Ringer Lactato acrescida de heparina não evita o aparecimento de aderências<sup>23</sup>. Nesse trabalho, após as colheitas, o sistema genital foi irrigado com solução fisiológica estéril para retirar os coágulos sanguíneos, contudo as aderências foram observadas já na segunda colheita de embriões, aumentando em número e intensidade nas colheitas posteriores.

As aderências entre os cornos uterinos ocorreram em 80,0% das cabras à segunda e em 100,0% à terceira colheita, mas não impediram a lavagem dos cornos uterinos.

As perfurações dos cornos uterinos que ocorreram durante a introdução do cateter nas colheitas de embriões por laparotomia apresentaram-se cicatrizadas, à exceção de uma cabra que apresentou eversão do endométrio no ponto de perfuração.

Os resultados permitiram concluir que o método da laparoscopia foi mais eficiente na recuperação de embriões e que o método da laparotomia provocou mais aderências no sistema genital e órgãos circunvizinhos.

## SUMMARY

The purpose of this trial was to compare the efficiency and effect of consecutive embryo recoveries by three different methods (T<sub>1</sub> - transcervical; T<sub>2</sub> laparoscopy and T<sub>3</sub> laparotomy) on the reproductive activity of goat donors. Ten goats were allocated into each treatment (T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> and T<sub>3</sub>) and submitted to three consecutive embryo recoveries. These were performed 56 days apart. The superovulation begun on 8th day of oestrus synchronization and all goats received 250 UI of porcine FSH splitted into eight decreasing dosages at 12 hours intervals. The embryo recovery took place on the 5th or 6th day from the last mating. Fifty-six days after the third recovery of embryos, the animals were sacrificed and the genital tract was evaluated. The time spent to recovery the embryos was 21min 32sec; 37min 14sec and 56min 22sec, respectively to T<sub>1</sub>; T<sub>2</sub> and T<sub>3</sub> (p<0.01). T<sub>3</sub> showed the highest recovery rate of washing solution (83.7%), followed by T<sub>2</sub> (72.2%) and T<sub>1</sub> (64.3%) (p<0.05). Embryo recovery rate had as mean values, 57.1; 81.1 and 27.3%, respectively to T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> and T<sub>3</sub>. The variation ranged between 0 and 100%. Several factors affected the embryo recovery rate, such as the presence of demised corpora lutea, the ovulation rate and the presence of adhesions in the genital tract. Nonetheless, embryo recovery rate was acceptable in all treatments. The T<sub>1</sub> caused eversion of endometrium and adherence between the uterine horn and epiploon in one animal, the T<sub>2</sub> caused 30, 40 and 60% of endometrium eversion and 10, 10 and 70% adherence on genital tract, respectively, for the first, second and third embryo recovery. The T<sub>3</sub> caused 80% of adherence on genital tract after the first embryo recovery and 100% after the second. It is possible to use the methods T<sub>1</sub> and T<sub>2</sub> to recovery embryos in goats.

**UNITERMS:** Goat; Embryo; Reproduction.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- ARMSTRONG, D.T.; PFITZNER, A.P.; WARNES, G.M.; SEAMARK, R.F. Superovulation treatments and embryo transfer in Angora goats. *Journal Reproduction and Fertility*, v.67, n.2, p.403-10, 1983.
- 2- BARIL, B.; CASAMITJANA, P.; PERRIN J.; VALLET, J.C. Embryo production, freezing and transfer in Angora, Alpine and Saanen goats. *Zuchthygiene*, v.24, n.3, p.101-15, 1989.
- 3- BATTYE, K.M.; FAIRCLOUGH, R.J.; CAMERON, A.W.N.; TROUNSON, A.O. Evidence for prostaglandin involvement in early luteal regression of the superovulated nanny goat (*Capra hircus*). *Journal Reproduction and Fertility*, v.84, n.2, p.425-30, 1988.
- 4- BERQUÓ, E.S.; SOUZA, J.P.M.; GOTLIEB, S.L.B. *Bioestatística*. São Paulo : EPU, 350p. 1980.
- 5- BERTOLINE, M.; AGUIAR, P.R.L.; STEIN STEFANI, J.; RODRIGUES, J.L. Eficiência de três técnicas de colheita de embriões ovinos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 10., Belo Horizonte, 1993. *Anais*. p.212.
- 6- BESSOUDO, E.; DAVIES, L.; COONROD, S.; GAMEZ, J.; KRAEMER, D.C. Non-surgical collection of caprine embryos under commercial quarantine conditions. *Theriogenology*, v.29, n.1, p.221, 1988.
- 7- BONDURANT, R.H.; SKIRROW, S.; ANDERSON, G.B.; HANSON, F.; ROGERS, W.H. Nonsurgical collection of blastocysts from dairy goats. *Theriogenology*, v.22, n.4, p.423-31, 1984.
- 8- FLORES-FOXWORTH, G.; MCBRIDE, B.M.; KRAEMER, D.C.; NUTI, L.C. A comparison between laparoscopic and transcervical embryo collection and transfer in goats. *Theriogenology*, v.37, n.1, p.213, 1992.
- 9- GILBERT, D.E.; COONROD, S.A.; WRITING, C.J.; PASHEN, R.L. Comparison of a progesterone intravaginal device (CIDR™) with flunixin meglumine (finadyne™) for reducing the effects of corpora lutea regression in the goat. *Theriogenology*, v.33, n.1, p.230, 1990. Abstract.
- 10- HULET, C.V.; FOOTE, W.C. A rapid technique for observing the reproductive tract of living ewes. *Journal of Animal Science*, v.27, n.1, p.142-5, 1968.
- 11- JACQUES, P.; ST.PIERRE, H.; PICARD, L.; KING, W.A.; CHARTRAIN, I.; BARONET, D. The collection and transfer of embryos in Angora goats. *Canadian Veterinary Journal*, v.30, n.7, p.581-4, 1989.
- 12- LEGENDRE, X.; BOUSSEAU, S.; KOYUNDJIEV, S. Embryo collection from ewes by laparoscopy using a 3-way rigid catheter. *Theriogenology*, v.29, n.1, p.269, 1988.
- 13- LIMA, P.F. *Utilização de gonadotrofina hipofisária e extra-hipofisária na superovulação de caprinos*. Recife, 1989. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco.
- 14- MCKELVEY, W.A.C.; ROBINSON, J.J. Collection of embryos from ewes by laparoscopy. *Veterinary Record*, v.115, n.7, p.158, 1984.
- 15- MCKELVEY, W.A.C.; ROBINSON, J.J.; AITKEN, R.P.; ROBERTSON, I.S. Repeated recoveries of embryos from ewes by laparoscopy. *Theriogenology*, v.25, n.6, p.855-65, 1986.
- 16- MORI, Y.; KANO, Y.; SAWASAKI, T. An application of cludscopy to goats for serial observations of the periovulatory ovary in the goats. *Japanese Journal Veterinary Science*, v.45, n.5, p.667-71, 1983.
- 17- MUTIGA, E.R. Embryo transfer from exotic to indigenous goats in Kenya. *Veterinary Research Communications*, v.15, n.4, p.315-7, 1991.
- 18- MUTIGA, E.R.; BAKER, A.A. Ovarian response ova recovery and fertility in Merino ewes superovulated either during the luteal phase of their oestrus cycle or after intra vaginal progestagen treatment. *Theriogenology*, v.17, n.5, p.537-44, 1982.
- 19- MUTIGA, E.R.; BAKER, A.A.; JILLELLA, D. Limitations of intrauterine balloon catheters for ova collection in sheep. *Theriogenology*, v.20, n.5, p.213-20, 1983.
- 20- NAGASHIMA, H.; MATSUI, K.; SAWASAKI, T.; KANO, Y. Nonsurgical collection of embryos in Shiba goats. *Experimental Animal*, v.36, n.1, p.51-6, 1987.
- 21- NELLENSCHULTE, E.; NIEMANN, H. Collection and transfer of ovine embryos by laparoscopy. *Animal Reproduction Science*, v.27, n.1-4, p.293-304, 1992.
- 22- OLIVEIRA, V.S. *Efeitos do hormônio folículo estimulante (FSH) e da gonadotrofina da menopausa humana (hMG) como agentes superovulantes em cabras (Capra hircus, LINNAEUS, 1758) utilizadas em transferência de embriões*. São Paulo, 1992. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.
- 23- PEGORARO-RUMF, L.M.; BEM, A.R.; RUMF, R.; PEIXER, M.A.S. Coleta de embriões caprinos pelo método cirúrgico: Resultados finais. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES, 7., Jaboticabal, 1992. *Programa e Resumos*. Jaboticabal, 1992. p.89.
- 24- PEREIRA, R.J.A.; LIMA, P.F.; WISCHRAL, A. Colheita de embriões caprinos por via transcervical. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 9., Belo Horizonte, 1991. *Anais*. 1991. p.314.
- 25- POTES J.A.C. *Ovulações controladas e superovulações em caprinos*. Vila Real, 1989. Tese (Doutorado) - Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro. 2v.
- 26- SCUDAMORE, C.L.; ROBINSON, J.J.; AITKEN, R.P.; KENNEDY, D.J.; IRELAND, S.; ROBERTSON, I.S. Laparoscopy for intrauterine insemination and embryo recovery in superovulated ewes at a commercial embryo transfer unit. *Theriogenology*, v.35, n.2, p.329-37, 1991.
- 27- STEYN, M.C.; MORGENTHAL, J.C.; BARRY, D.M. The effect of embryo collection technique on subsequent fertility in SA Mutton Merino ewes. *Theriogenology*, v.39, n.1, p.317, 1993.
- 28- TERVIT, H.R.; GOOLD, P.G.; MCKENZIE, R.D.; CLARKSON, D.J. Techniques and success of embryo transfers in Angora goats. *New Zeland Veterinary Journal*, v.31, n.5, p.67-70, 1983.
- 29- TERVIT, H.R.; HARVIK, P.G. A modified technique for flushing ova from the sheep uterus. *New Zeland Veterinary Journal*, v.24, n.7, p.138-40, 1976.
- 30- TORRES, S.; SEVELLEC, C. Repeated superovulation and surgical recovery of embryos in the ewe. *Reproduction, Nutrition, Development*, v.27, n.6, p.858-63, 1987.

Recebido para publicação: 28/10/1997  
Aprovado para publicação: 26/02/1999