

ASPECTOS DA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM CADELAS

Aspects of artificial insemination in canine females

FRANCHI, Diana Begossi

Faculdade Jaguariúna

ANTONIO, Raul Sanches

Faculdade Jaguariúna

SILVA, Júlio César Barbosa

Orientador

Resumo: O mercado pet tem crescido no Brasil, estando em segundo lugar, como o maior no mundo, de acordo com a Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de Estimação, em uma pesquisa realizada em 2013. Esse crescimento gera pesquisas e oportunidades nas mais diversas áreas, dentre elas, o interesse pela reprodução de caninos e felinos. O presente trabalho tem como objetivo abordar os aspectos da inseminação artificial (IA) na espécie canina, tais como anatomia, fisiologia e metodologia utilizada, visando de uma maneira prática, a melhor aplicação da técnica. Para tanto, é fundamental o conhecimento do sistema reprodutor dos cães. Primeiramente, é necessário reconhecer a fase do ciclo estral da cadela, observando seu comportamento e/ou realizando exames complementares, como por exemplo, a citologia vaginal, onde é possível, por meio da identificação das células presentes no epitélio vaginal, definir o melhor momento para a realização da IA. Paralelamente, deve ser realizado o exame andrológico dos candidatos a doadores de sêmen, para escolha do melhor material a ser utilizado. A viabilização da IA é dependente de diversos fatores, tais como a detecção correta da fase do ciclo estral, qualidade do sêmen, escolha do método de IA e a execução por profissional qualificado. Para tanto, é importante a disponibilidade de pessoas capacitadas para executar o processo e o suportada microscopia e laboratório de apoio para realização dos exames complementares. A indicação é que esse procedimento seja realizado em locais especializados como clínicas, centros cirúrgicos ou canis com instalações adequadas para tal. O uso dessa técnica tem crescido nos últimos anos, criando oportunidades para o médico veterinário. Se realizada da forma correta, e com o devido acompanhamento, espera-se a obtenção de resultados positivos, atendendo às expectativas do tutor. Após o procedimento, a fêmea deverá ser acompanhada desde o diagnóstico de gestação até o parto para monitorar a viabilidade dos fetos e possíveis ocorrências de abortos. É importante o domínio das técnicas atuais e aquisição de novos conhecimentos para obter melhores resultados.

Palavras-chave: Reprodução, fertilização, biotecnologias.

Abstract: The pet market has been growing in Brazil, becoming the second largest country in the world, according to the Brazilian Association of Pet Products Industry in a survey conducted in 2013. This growth generates researches and opportunities in many areas, including the interest in dog and cat reproduction. The aim of this paper is to discuss the aspects of artificial insemination (AI) in the canine species, such as anatomy, physiology and artificial insemination (AI) methods, investigating a practical way to know the best form and moment for its accomplishment. Therefore, knowledge of the dogs reproductive system is fundamental. At first, it's necessary to recognize the stage of the estrus cycle of the dog, observing it's behavior and/or carrying out complementary tests such as vaginal cytology in order to identify the vaginal epithelium, to determine the best moment for the AI procedure. In addition, andrological examination of the candidates for semen collection must be carried out to select the best material to be used. The AI performance depends on several factors, such as correct estrus detection, semen quality, choice of AI method and performance by a qualified professional. In order to get good results, it's important the availability of a trained person to follow and perform the procedure and materials, such as microscope and laboratory support. This operation must be supported by specialized locals as clinics, surgical centers or kennels with a suitable environment. The use of this technique has grown in recent years, creating opportunities for veterinary. Applying this technique in the correct way, it's expected to get the goals of the tutor, that means a litter with a satisfactory number of healthy puppies. After the procedure, the female must be followed from the gestational diagnosis until the born, to check the viability of fetuses and possible abortions occurrences. It's important reinforce current techniques and acquire knowledge to improve and get better results.

Key-words: reproduction, biotechnologies, fertilization.

1. INTRODUÇÃO

Os primeiros estudos acerca do uso de biotécnicas da reprodução em cães foram realizados ao final do século XVIII, mas apenas nos últimos 15 anos tem-se observado crescente interesse por parte dos médicos veterinários em desenvolver e aplicar rotineiramente essas biotécnicas na criação de cães e gatos (SILVA et al., 2008).

O termo inseminação artificial (IA), segundo Gonçalves (2008), engloba um conjunto de disposições e medidas necessárias desde a colheita do sêmen, sua análise e processamento em laboratório além de sua manutenção por períodos variáveis em condições extracorpóreas, incluindo sua diluição, refrigeração e congelamento, até a sua introdução no trato genital de uma fêmea por meio de recursos artificiais, em condições que permitam obter a fecundação. De acordo com Silva et al (2008), a IA é a biotécnica reprodutiva mais importante em termos de produção animal, a despeito dos aspectos fisiológicos envolvidos, permitindo o controle de enfermidades infecciosas transmissíveis pela monta natural.

O desenvolvimento de técnicas de reprodução assistida no cão e no gato desperta grande interesse, pois poderiam inclusive ser utilizadas para a conservação de espécies de carnívoros selvagens ameaçadas de extinção. (CARDILLI et al, 2012). No entanto, é importante o conhecimento de que o sucesso do procedimento não depende exclusivamente da qualidade do sêmen, mas de diversos outros fatores envolvidos, que somados, contribuirão para atingir os resultados esperados (GONÇALVES, 2008).

1.1. Anatomia do Sistema Genital Masculino

O sistema reprodutor dos machos é composto por testículos, bolsa escrotal, cordão espermático, pênis e próstata sendo o epidídimo um duto responsável pela estocagem, maturação e transporte dos espermatozoides, que é dividido em 3 partes: a cabeça, corpo e cauda, intimamente ligadas ao testículo (CARDILLI; MOSTACHI, 2015).

1.2. Anatomia do Sistema Genital Feminino

O sistema reprodutor das fêmeas é composto por ligamentos, ovários, tubas uterinas, útero, cérvix, vagina e vulva (COLVILLE; BASSERT, 2010).

A vulva é a única parte do sistema reprodutor da fêmea que pode ser vista no meio externo, a qual é dividida em suas porções: vestíbulo, clitóris e lábios. O vestíbulo é a entrada do ambiente externo para a vagina (COLVILLE; BASSERT, 2010).

Ainda segundo Colville e Bassert (2010), a vagina é o tubo muscular, que se estende caudalmente à cérvix e conecta-se à vulva, com a função de receber o pênis no momento do acasalamento e age como canal do parto, no momento do nascimento. A cérvix é um esfíncter de músculo liso localizado entre o corpo do útero e a vagina. Dentre suas funções, ele controla o acesso entre a vagina e o lúmen uterino. Permanece a maioria do tempo fechada, exceto no estro, para receber os espermatozoides, e no momento do parto, para a passagem dos filhotes.

O útero, segundo Alves e Covizzi (2015), pode ter um tamanho variável de acordo com a raça, idade, estrutura física do animal, fase do ciclo estral e número de partos apresentados. Os hormônios reprodutivos impõem modificações anatômicas e fisiológicas importantes no útero. Durante o proestro e estro, sob estímulo do estrógeno, o útero tona-se edematoso, ocorrendo espessamento do endométrio, aumento da vascularização e desenvolvimento das glândulas secretórias endometriais. Entretanto, é sob ação da progesterona que as glândulas atingem sua capacidade secretória máxima, produzindo substâncias consideradas importantes para a sobrevivência embrionária antes da implantação.

Os ovários constituem duas estruturas parenquimatosas ovais localizadas caudalmente aos rins na cavidade abdominal (ALVES; COVIZZI, 2015). De acordo com Colville e Bassert (2010), essas estruturas tem duas principais funções: produção de células reprodutivas (ovogênese) e de hormônios (estrógeno e progesterona).

As tubas uterinas são constituídas por três segmentos distintos, sendo o infundíbulo responsável por capturar o oócito recém ovulado, a ampola, local onde ocorre a fecundação e o istmo, porção onde está presente a maior parte das células secretoras, responsáveis pela manutenção da fertilidade do

esperma, capacitação e hiperativação da motilidade dos espermatozoides (ALVES; COVIZZI, 2015).

Por fim, os ligamentos são constituídos por folhetos largos de peritônio (ligamento largo e ligamento suspensório do ovário) ou tecido fibroso e músculo ligamento redondo do útero que ancoram os principais órgãos reprodutivos – ovário, tubas uterinas e útero. Os ligamentos largos contêm vasos sanguíneos, e fibras nervosas que suprem os ovários, tubas uterinas e útero, além de gordura (COLVILLE; BASSERT, 2010).

1.3. Dosagem Hormonal

Nas cadelas, os ovários começam a produzir progesterona no pico de LH, isto é, 48 horas antes de ocorrer a ovulação (FONTBONNE, 2011). O teor no sangue de progesterona, que era basal no proestro, torna-se assim detectada antes da ovulação. O nível de progesterona no momento da ovulação situa-se entre 4 e 9 ng/ml, dependendo da cadela e do laboratório (GONÇALVES; FIGUEIREDO, 2003).

1.4. Exame colpocitológico

As alterações decorrentes dos níveis séricos de estrógeno refletem no epitélio vaginal permitindo-nos assim, caracterizarmos as fases do ciclo estral da cadela através da citologia vaginal. Através deste exame, é possível determinar a melhor data para a cópula ou inseminação artificial. (MOTHEO, 2015).

Existem diversas técnicas descritas para realização deste exame. Os métodos da coleta do material podem ser classificados em direto ou indireto. Na técnica direta, é utilizada uma lâmina, a qual é pressionada sobre a mucosa vaginal (imprinting), podendo haver distorções celulares segundo alguns autores. A técnica indireta consiste na obtenção das células vaginais por meio de escarificação do epitélio vaginal com auxílio de um swab estéril ou cotonete, o qual deve ser posicionado no interior do vestíbulo vaginal em sentido craniodorsal, com angulação de aproximadamente 45°. Ainda segundo o autor, deve-se evitar a fossa clitoriana, pois pode resultar em interpretação citológica inadequada ou errônea. A escarificação deve ser realizada na parede dorsal do canal da vagina, de forma a prevenir danos ao óstio uretral. As células

coletadas devem ser transferidas para uma lâmina de vidro previamente limpa, por meio de leve pressão e rolamento do swab, coradas e em seguida, lidas e interpretadas.

A citologia vaginal é um exame laboratorial complementar de grande utilidade no entendimento do comportamento e manejo reprodutivo de cadelas. (HOLST; PHEMISTER, 1975). O procedimento consiste na avaliação das células do epitélio vaginal e assim determinar a fase de ciclo estral da fêmea, sabendo que o epitélio vaginal é extremamente sensível e responsivo às alterações de estrógeno (MOTHEO; 2015).

Proestro - De acordo com OKKENS (1996), a duração normal do proestro é de 6 a 11 dias. Ocorre um sangramento devido a ação do estrogênio no endométrio, fazendo com que ocorra diapedese dos eritrócitos. Nessa fase, a porcentagem de células superficiais está aumentada e pode haver presença de eritrócitos. Células superficiais são as que apresentam maior tamanho, sendo células mortas, com núcleo picnótico ausente (MOTHEO, 2015).

Estro - Há o predomínio de células superficiais (80 a 90%) que, em sua maioria contêm núcleos picnótico. No entanto, em algumas cadelas, observam-se 100% de células anucleadas cornificadas (MOTHEO, 2015).

Diestro - Na citologia vaginal, evidenciam-se pequenas células intermediárias, assim como no anestro. Buen de Argüero (2001) e Allison et al (2009) relataram que, nessa fase, se observa a presença de eritrócitos, bactérias e numerosos neutrófilos. As células intermediárias possuem núcleo semelhante aos das células parabasais, redondo e vesiculado, e geralmente apresentam o dobro de tamanho destas. Aumentam de tamanho gradativamente devido à ação do estrógeno e seu citoplasma torna-se irregular, dobrado e angular (MOTHEO, 2015).

Anestro - Durante a fase de anestro, há o predomínio de células parabasais e intermediárias, e raramente há presença de neutrófilos e bactérias (MOTHEO, 2015).

É importante o conhecimento da data da cópula/IA para acompanhamento da gestação, pois a estimativa do dia do parto auxilia no manejo das cadelas prenhes. É necessário avaliar se o desenvolvimento fetal e dos anexos está de acordo com o resultado dos exames de imagem. A ultrassonografia é o método

para a obtenção de tais informações por ser indolor, inócuo para a mãe e os conceptos, não necessitando de sedação (ALMEIDA, 2002).

1.5. Biotecnologias do sêmen

Segundo Martins, Souza e Ackermann (2015), é indispensável o conhecimento da anatomia, fisiologia e comportamento reprodutivo para se realizar a colheita do sêmen. Os métodos de colheita que podem ser utilizados são: eletroejaculação, manipulação digital, vagina artificial e recuperação espermática da cauda de epidídimo após orquiectomia ou após a morte. O sêmen utilizado na IA pode ser fresco, refrigerado ou congelado.

A manipulação digital do pênis é o método de escolha para a colheita do sêmen de cães, por ser mais prático e por ser o método de menor custo; utiliza-se apenas um funil e um tubo graduado de 10 a 15 ml, esse material deve estar previamente aquecido para evitar o choque térmico às células espermáticas. O condicionamento dos reprodutores à colheita é simples e pode ser realizado em qualquer macho, sendo ele agressivo ou não. O local da colheita deve ser um ambiente tranquilo, com poucas pessoas ou animais que possam distrair o macho. O piso ou o tampo da mesa deve ser antiderrapante, e a presença da fêmea em estro do proprietário do cão pode facilitar a colheita em alguns casos. A colheita é realizada pelo estímulo manual sobre o prepúcio, na região do bulbo peniano, que promove o ingurgitamento do pênis, seguindo-se a sua exposição até ultrapassar o bulbo. Deve ser realizada uma pressão constante no bulbo do pênis, mantendo-o na palma da mão até o final da colheita. O ejaculado canino é dividido em três frações bem diferenciadas: a primeira é a fração pré-espermática, de origem prostática, que possui um aspecto aquoso e transparente e com um volume que varia de 0,5 a 5 ml tendo a função fisiológica de limpeza da uretra, eliminando os resíduos da urina e contaminantes. A segunda fração, a espermática, é rica em espermatozoides, tendo aspecto mais espesso e com coloração variando de branco leitoso a translúcido, dependendo da concentração espermática. O seu volume varia de 1 a 4 ml. A terceira fração é a prostática, de aspecto aquoso, transparente e volume variado de 2,5 a 80 ml e possui a função de aumentar o volume do ejaculado e facilitar o transporte espermático pela cérvix. Durante a

colheita, a primeira e a segunda fração do ejaculado, a pré-espermática e a espermática, são expulsas durante e imediatamente após a fase de movimentos pélvicos iniciais nos primeiros 2 a 5 minutos. Posteriormente passa a pata traseira sobre o braço do operador e o pênis pode ser rotacionado em um giro de 180°, como ocorre no acasalamento natural; nesse momento inicia-se a fração pós-espermática ou prostática (MARTINS; SOUZA; ACKERMANN, 2015).

A vagina artificial é usada em cães através de um cone de látex da vagina artificial de bovinos ou de plástico que recobre internamente a vagina artificial de eqüinos, leve lubrificação com gel não espermicida e acoplada a um tubo plástico de 10 a 15 ml. Este método pode facilitar a colheita por mimetizar a vagina durante a cópula natural, no entanto não exclui a manipulação digital do pênis (MARTINS; SOUZA; ACKERMANN, 2015).

A eletroejaculação (EEJ) é realizada através de estimulação nervosa, utilizando-se uma probe introduzida na porção caudal do reto do animal, com os eletrodos posicionados sobre a próstata. As desvantagens desse método é a necessidade de submeter o animal a anestesia geral como também a contaminação do sêmen com urina. (MARTINS; SOUZA; ACKERMANN, 2015). Esse método fica reservado à colheita naqueles cães que não permitem manipulação digital. Essa técnica já foi comparada com a vagina artificial e não foram identificadas diferenças entre ambas, quanto à qualidade do ejaculado colhido (OHL et al; 1994).

Ainda, segundo Martins e Ackermann (2015), a recuperação dos espermatozoides da cauda do epidídimo é um procedimento utilizado com a finalidade de assegurar a preservação do material genético de animais castrados ou que vieram a óbito. A cauda do epidídimo e o ducto deferente de cada testículo são individualizados e com o auxílio de uma pinça anatômica, sobre uma placa de Petri aquecida contendo meio de recuperação e/ou diluente à temperatura ambiente, para obtenção de espermatozoides.

Após a colheita, o sêmen deve ser conservado ao abrigo da luz e em temperatura de 35-37° e logo avaliado macroscopicamente e microscopicamente. O frasco com o sêmen pode ser mantido na palma da mão do operador. Quanto aos aspectos macroscópicos deve-se avaliar o volume, cor, pH e presença de pus ou urina. O volume do ejaculado varia conforme a

raça, idade, tamanho, clima e frequência de colheita, embora não tenha relação direta com a fertilidade. O pH normal varia de 6,3 a 7 e depende a quantidade de líquido prostático. Quanto ao aspecto microscópico devem incluir uma análise da motilidade espermática, vigor, concentração e morfologia espermática. A motilidade espermática é avaliada com uma gota de sêmen fresco colocada entre a lâmina e lamínula e observada no microscópio óptico em aumento de 10 ou 20 vezes. A mensuração é subjetiva e determinada pela porcentagem de células móveis, variando de 0 a 100%. A motilidade de uma amostra de sêmen fresco deve ser no mínimo de 70% para os cães. O mesmo procedimento de análise da motilidade deve ser utilizado para o vigor, sendo mensurado subjetivamente a qualidade do movimento progressivo dos espermatozoides, por um escore de 0 a 5 (movimento retilíneo). A avaliação da morfologia espermática (cabeça, acrossomo, peça intermediária e cauda) permite determinar a porcentagem das células com defeitos classificados em maiores, menores e totais. A quantidade máxima de defeitos totais permitida é de 30% e o total de defeitos maiores não deve ser superior a 10% (MARTINS; SOUZA; ACKERMANN, 2015).

1.6. Criopreservação de sêmen

Existem duas opções para a criopreservação do sêmen, que permitem o transporte das células em baixas temperaturas: refrigeração (entre 4 e 15°C) ou congelamento (-196°C). A vantagem do sêmen refrigerado é o menor dano as células espermáticas, com mais altas taxas de gestação, quando comparado ao sêmen congelado, embora esse possa ser armazenado por longos períodos (anos). No entanto, no caso do sêmen congelado, a viabilidade e a longevidade espermática são prejudicadas e, conseqüentemente, a fertilidade (MARTINS; SOUZA; ACKERMANN, 2015). Quando se faz necessária o prolongamento da viabilidade do sêmen, essa pode ser feita por meio da adição de diluentes, como o leite desnatado, a glicina-gema, o Tris-gema e a água de coco in natura ou na forma de pó (CUNHA e LOPES; MADEIRA et al, 1997, 2003)

A refrigeração do sêmen consiste em 5 etapas: colheita, avaliação, centrifugação, diluição e refrigeração. A centrifugação é necessária quando o volume seminal acrescido do diluente é excessivo para a inseminação artificial, ou seja, quando se colhe a terceira fração do ejaculado nos cães. Para a

diluição e refrigeração do sêmen são descritos vários meios diluentes. Na maioria das vezes, se utiliza o meio Tris/gema de ovo, frutose ou glicose, e outros, como o meio Kenney (leite desnatado). O meio contendo leite desnatado apresenta resultados superiores na refrigeração do sêmen de cães. A quantidade de diluente necessária para a refrigeração varia de acordo com a espécie, raça, finalidade do sêmen, concentração espermática e número de fêmeas a serem inseminadas. Normalmente, se utiliza uma diluição de 1:2 (1 parte de sêmen + 2 partes de diluente) ou 1:3 (1 parte de sêmen + 3 partes de diluente). O diluente deve estar na mesma temperatura que o sêmen, para evitar o choque térmico e não precisa conter crioprotetores intracelulares, como o glicerol. Quando a refrigeração é realizada em caixas térmicas não se faz necessária a estabilização da temperatura, mas é imprescindível respeitar volume de sêmen mínimo indicado pelo fabricante, para a refrigeração em cada caixa. Nas caixas fabricadas para as espécies de grande porte os volumes variam de 60 a 100 ml. Assim em cães pode-se utilizar um frasco adicional com água contendo o volume necessário para se atingir o mínimo recomendado pelo fabricante. É importante ressaltar que o sistema de refrigeração das caixas térmicas, normalmente composto por gelo reciclável, deve ser disposto na caixa ao mesmo tempo em que se adiciona o frasco contendo o sêmen diluído. O sêmen pode ser preservado por períodos variáveis; a maioria dos estudos concorda que entre 48 e 96 horas de refrigeração a 4 ou 5°C, a qualidade espermática é mantida em níveis aceitáveis para a inseminação artificial (MARTINS; SOUZA; ACKERMANN, 2015).

O sêmen canino pode ser ainda congelado e armazenado por tempo indeterminado, permanecendo potencialmente fecundante quando reaquecido e utilizado em IA. Desse modo, o sêmen congelado é o que oferece maior flexibilidade de uso, porém o que mais sofre com a mudança drástica quanto à sua qualidade pós-descongelamento (CONCANNON; BATISTA; SILVA, 2005).

Na congelação do sêmen, após colheita e análises iniciais, o ejaculado pode ser centrifugado de 600 a 800 g de 5 a 10 minutos para a separação do plasma seminal. O sedimento obtido é ressuspensionado em meio diluente contendo ou não crioprotetor. Quando o diluente já contém crioprotetor, adicioná-lo ao sêmen a temperatura ambiente imediatamente após a diluição, a amostra é envasada em palhetas de 0,5 ml, lacrada com álcool polivinílico em

equipamento de temperatura controlada entre 4 a 5°C por período de 60 min. Após o período de refrigeração, a grade de metal com as palhetas devem ser rapidamente transferida para uma caixa de poliestireno expandido (isopor), respeitando-se as medidas mínimas de 38x15x24 cm, preenchida até uma altura de 4 cm de nitrogênio líquido. A grade pode ser posicionada entre 3,5 e 8cm do nível do nitrogênio líquido e deve permanecer nessa caixa durante 20 minutos, com a tampa fechada. A seguir as palhetas são mergulhadas no nitrogênio líquido e posteriormente, armazenadas em botijão criogênico (MARTINS; SOUZA; ACKERMANN, 2015).

Em cães, diferentes combinações de temperaturas x tempo, são utilizadas para a descongelação do sêmen em banho Maria: 37°C por 30 segundos, 46°C por 15 segundos ou 70 a 72°C por 8 segundos (MARTINS; SOUZA; ACKERMANN, 2015).

2. INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL (IA)

A IA é indicada como meio alternativo em acasalamentos que não ocorram de forma natural ou para utilização de sêmen refrigerado ou congelado, ou por alterações comportamentais ou físicas. Sendo exemplos de alterações comportamentais a ausência de experiência em acasalamento, medo de desaprovação humana, local estranho, familiaridade, ausência de libido, entre outras. A indicação da IA também engloba os casos de alterações físicas, deformidades ósseas e articulares nos membros, lesões musculoesqueléticas adquiridas, debilidade dos membros posteriores, lesões súbitas de coluna, machos muito pesados, engurgitamento precoce do bulbo, entre outros (SOUZA; MARTINS, 2015).

Vários métodos e exames foram citados para identificação do momento ideal para inseminar uma cadela, geralmente a IA deve ser realizada quando a fêmea está receptiva ao macho e apresenta uma citologia com pelo menos 70% de células superficiais (GONSALVES & FIGUEIREDO, 2003).

2.1. Inseminação Intravaginal

Para a inseminação intravaginal, pode-se utilizar uma sonda rígida, com a deposição do sêmen ao longo da vagina da cadela, ou a sonda de Osíris, que permite a deposição do sêmen na porção cranial da vagina da cadela, próximo

à cérvix (SILVA, 1995).Essa técnica é realizada especialmente, quando se utiliza sêmen fresco ou refrigerado, pois as taxas de gestação são baixas para sêmen congelado. (SOUZA; MARTINS, 2015).

Para a IA, a pipeta é passada pelo canal vaginal, através da abertura vulvar, respeitando a anatomia do trato reprodutor, que nessa porção possui angulação de 45°. A pipeta deve ser posicionada na porção cranial da vagina, próximo ao óstio cervical externo, lembrando que neste tipo de técnica a cérvix não é ultrapassada.

Após posicionamento correto da pipeta, a seringa contendo sêmen é acoplada à porção distal externa da pipeta e o sêmen deverá ser lentamente depositado no fundo da vagina. Após a IA, a vulva é massageada para estimular contrações uterinas (SOUZA; MARTINS, 2015). Costuma-se manter a fêmea com os seus membros posteriores elevados durante cerca de 10 minutos, visando prevenir o refluxo do sêmen. Entretanto, essa elevação demonstrou-se desnecessária (PINTO; EILTS; PACCAMONTI, 1998).

2.2. Inseminação Artificial Intra-Uterina

A IA intra-uterina na cadela possibilita a deposição do sêmen diretamente dentro do lúmen uterino, sendo umas das técnicas consiste no cateterismo transcervical (ANDERSEN, 1975). Para sua execução, utiliza-se bainhas plásticas acopladas ao cateter escandinavo, o qual é transportado através da cérvix, onde é palpada por via abdominal. Pode ser necessária a sedação do animal (SILVA et al, 2015).

Outra técnica é a laparotomia, onde os instrumentos utilizados são os mesmos para realização de acesso abdominal médio ao útero, com exceção da incisão, a qual deve ser retroumbilical. Os cornos uterinos são localizados e a IA é realizada no lúmen do útero através de um cateter de infusão venosa (SILVA et al, 2015).

Finalizando, temos a técnica de laparoscopia, que possui algumas desvantagens, como necessidade do uso de anestesia geral, o custo elevado do equipamento e o treinamento do técnico levando a um alto custo no total e riscos para a fêmea. Silva et al (1995) descreveram a técnica com a utilização de uma óptica de 8 mm, com 0° de angulação, conectada a uma fonte de luz e uma câmera introduzida na cavidade através de um trocáter (10 mm localizado

a 1 cm retroumbilical, permitindo a visualização da cavidade e localização dos cornos uterinos. Em seguida, outro trocáter de 5 mm é posicionado a 2 ou 3 cm da glândula mamária, ao lado direito, no qual é introduzida uma pinça de apreensão. O útero deve ser apreendido pela pinça na região da bifurcação dos cornos e então, posicionado rente a parede abdominal. Por acesso transparietal, um catéter de infusão venosa é introduzido dentro do lúmen uterino. O mandril é retirado e o sêmen depositado no interior do órgão (SILVA et al, 2015).

Segundo SILVA et al (1995, 1996), a técnica de laparoscopia, apesar de ser uma técnica cirúrgica, tem caráter pouco invasivo e é de rápida execução. Os resultados obtidos após a laparoscopia, tanto com sêmen fresco como com sêmen congelado, têm sido satisfatórios.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

A IA pode ser realizada com a deposição do sêmen em diferentes locais no trato reprodutor da fêmea. O volume a ser utilizado varia de acordo com o local de deposição do sêmen (SOUZA; MARTINS, 2015).

No presente estudo, o método da inseminação de eleição foi por via intravaginal que foi realizada com utilização de uma sonda uretral de tamanho 08. O sêmen foi colhido por meio de manipulação digital e analisado microscopicamente para avaliação das características espermáticas, sendo em seguida, depositado no trato reprodutivo da fêmea, sem diluição prévia.

Anteriormente à IA, o ciclo estral foi acompanhado por meio de citologia vaginal.

4. DESENVOLVIMENTO

Em fevereiro de 2016, na Clínica Veterinária VetClinc, localizada em Jaguariúna, foi realizada IA em uma cadela da raça Buldogue Francês de 1 ano e meio de idade.

O acompanhamento do ciclo estral foi realizado por meio de citologia vaginal onde foram observadas predominantemente células epiteliais intermediárias e menor número de células superficiais juntamente com a presença de poucas hemácias no primeiro exame, indicando fase de proestro. No segundo exame foram constatadas predominantemente células epiteliais

superficiais anucleadas e queratinizadas com presença de bactérias, indicando estro. Os exames foram realizados em laboratório no sétimo e décimo primeiro dia do cio.

No décimo primeiro dia após o início do sangramento foi feita a primeira IA na cadela por método intravaginal com utilização de sêmen fresco após exame andrológico favorável. A segunda IA foi realizada após o intervalo de 3 dias, ou seja, no décimo quarto dia após início do sangramento.

Quarenta e dois dias após a primeira IA foi realizado exame de ultrassonografia abdominal para diagnóstico de gestação e início do acompanhamento da viabilidade da mãe e dos fetos. O resultado do exame foi positivo com visualização das vesículas embrionárias no útero na fêmea.

Com 51 dias de gestação contados a partir da primeira inseminação foi realizado exame de radiografia para contagem dos fetos e ultrassonografia abdominal para acompanhamento. Ao exame radiográfico foi possível visualizar 6 fetos.

Aos 58 dias de gestação, ao exame ultrassonográfico verificou-se os batimentos cardíacos entre 180 e 230bpm.

A partir do diagnóstico de gestação foi realizada alteração da alimentação da fêmea de ração para animais adultos para ração para filhotes. O aumento de peso da fêmea foi de 2,7kg até a data do parto.

A gestação teve a duração de 61 dias contados a partir da primeira IA. O parto foi realizado através de cesariana, resultando em 3 filhotes do sexo masculino e 3 filhotes do sexo feminino, todos saudáveis com peso entre 155g e 215g.

5. CONCLUSÃO

De acordo com o conteúdo abordado, conclui-se que a IA é uma técnica que vem ganhando espaço na medicina veterinária de pequenos animais, devido ao crescimento do mercado pet no Brasil e no mundo, e ao interesse na criação e reprodução de cães.

Destaca-se a importância de a técnica ser realizada por profissionais capacitados em locais com a estrutura necessária para o bom desempenho do procedimento, no sentido de se obter uma progênie saudável.

A inseminação artificial abrange não somente a técnica, mas também o acompanhamento do cio, da viabilidade espermática, da avaliação genética dos reprodutores, acompanhamento da gestação e análise da viabilidade fetal por meio de exames complementares como a ultrassonografia e radiografia até o momento do parto, além de todos os cuidados envolvidos após o nascimento como amamentação, imunidade e desenvolvimento dos filhotes.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLISON, R.W.; THRALL, M.A.; OLSON, P.N. Citologia Vaginal. In: COWELL, R. L.; et al. **Diagnóstico citológico e hematológico de cães e gatos**. São Paulo: Medvet, 2009.

ALMEIDA, A. H. **Estimativa do dia do parto em cadelas da raça Boxer por meio de mensurações ultra-sonográficas no concepto**. São Paulo, 2002.

ALVES, J. L.; COVIZZI, G. J. Anatomia do Sistema Genital Feminino. In APARRÍCIO, M.; VICENTE. W. R. R. **Reprodução e Obstetrícia em Cães e Gatos**. São Paulo: Editora MedVet, 2015. Cap. 2., pg. 9 – 15.

ANDERSEN, K. **Inseminationwithfrozendog sêmen basedon a new inseminationtechnique**. *Zuchtygiene*, v. 10, p. 14, 1975.

CARDILLI, D. J. et al. **Currentaspectsofreproductionbiotechnology in carnívores**. *ARS Veterinária*, v. 28, n.4, p. 260-267, 2012.

CARDILLI, D. J.; MOSTACHIO, G. Q. Anatomia do Sistema Genital Masculino. In APARRÍCIO, M.; VICENTE. W. R. R. **Reprodução e Obstetrícia em Cães e Gatos**. São Paulo: Editora MedVet, 2015. Cap. 5., pg. 31 – 36.

COLVILLE, T.; BASSERT, J. M. **Anatomia e Fisiologia Clínica para Medicina Veterinária**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. Cap. 17, p. 387.

CONCANNON, P. W.; BATISTA, M. **Caninesemenfreezingand artificial insemination**. *CurrentVeterinaryTherapy*, v. 10, p. 1247-1257, 1989.

CUNHA, I. C. N.; LOPES, M. D. **Estudo da viabilidade do processo de refrigeração do sêmen canino, utilizando-se diluidores à base de leite e glicina gema**. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v. 25, n. 3, p. 468-470, 2001.

DE BUEN DE ARGUERO, N. **Citología diagnóstico veterinaria**. 2001.

FONTBONNE, A. **Infertility in bitches and queen: recente advances**. Ver *BrasReprodAnim*, Belo Horizonte, v. 35, n.2 p. 203, 2011.

GONÇALVES, O. B. D.; FIGUEIREDO, J. R.; V. J. F. **Biotécnicas aplicadas a reprodução animal**. São Paulo: Varela, p .340, 2003.

HOLST, P. A.; PHEMISTER, R. D. 1975. In: OLIVEIRA, E. C. S.; MARQUES JÚNIOR, A. P.; NEVES, M. M. **Endocrinologia reprodutiva e controle da fertilidade da cadela** – Revisão. *Archives of Veterinary Science*, v. 8, n. 1, 2003.

KOIVISTO, M. B. Fisiopatologia da Gestação e Fisiologia do Parto. In APARRÍCIO, M.; VICENTE. W. R. R. **Reprodução e Obstetrícia em Cães e Gatos**. São Paulo: Editora MedVet, 2015. Cap. 11., pg. 181 - 199.

MADEIRA, V. L. H et al. **Uso da água de coco em pó na conservação do sêmen de cães a 4°C**. In: VIII SEMANA UNIVERSITÁRIA DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CEARÁ, 2003. Fortaleza. *Anais da VII Semana Universitária da Universidade Estadual do Ceará*, 2003, v. 1, p. 1.

MARTINS, M. I.; SOUZA, F. F.; ACKERMANN, C. L. Biotécnicas do Sêmen. In APARRÍCIO, M.; VICENTE. W. R. R. **Reprodução e Obstetrícia em Cães e Gatos**. São Paulo: Editora MedVet, 2015. Cap. 29., pg. 371 – 391.

MOTHEO, T. F. Exame Colpocitológico. In APARRÍCIO, M.; VICENTE. W. R. R. **Reprodução e Obstetrícia em Cães e Gatos**. São Paulo: Editora MedVet, 2015. Cap. 28., pg. 361 – 369.

OHL, D. A.; DENIL, J.; CUMMINS, C. et al. **Electroejaculation does not impair sperm motility in the beagle dog** – a comparative study of electroejaculation and collection by artificial vagina. *Journal of Urology*, v. 152, p. 1034 – 1037, 1994.

OKKENS, A. C. S. Ciclo Estral e Manejo Reprodutivo da Cadela Sadia. In: **Tratado de Medicina Interna Veterinária**. 5ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004, v. 2, cap. 157, 1996.

PINTO, C. R. F.; EILTS, B. E.; PACCAMONTI, D. L. **The effect of reducing hindquarter elevation time after artificial insemination in bitches**. *Theriogenology*, v. 50, p. 301-305, 1998.

SILVA, A. R. **Criopreservação do Sêmen Canino Diluído em Tris**: avaliação morfológica, funcional e de suas interações com oócitos homólogos. Fortaleza, 2005, 165p. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual do Ceará.

SILVA, L. D. M. **Procréation Médicalement Assistée dans L'espèce Canine. Investigations Morpho-fonctionnelles et Optimisation des Techniques Permettant D'arriver à la Maîtrise de la Reproduction**. Liège, 1995, 173p. Tese (Doutorado) – Université de Liège.

SILVA, L. D. M.; ONCLIN, K.; LEJEUNE, B.; VERSTEGEN, J. **Comparison of intravaginal and intrauterine insemination of bitches with fresh or frozen semen**. *Veterinary Record*, v. 138, p. 154 – 157, 1996.

SILVA, L. D. M.; VERSTEGEN, J. **Comparisons between three different extender for canine intrauterine insemination with frozen thawed spermatozoa**. *Theriogenology*, v. 44, p. 571 – 579, 1995.

SOUZA, F. F.; MARTINS, M. I. Inseminação Artificial em Cadelas. In APARRÍCIO, M.; VICENTE, W. R. R. **Reprodução e Obstetrícia em Cães e Gatos**. São Paulo: Editora MedVet, 2015. Cap. 30., pg. 395 – 410.