PERITONITE APÓS BIÓPSIA DE CORPO LÚTEO GUIADA POR ULTRASSONOGRAFIA EM VACAS DA RAÇA HOLANDESA: RELATO DE CASO

Felipe Morales Dalanezi¹, Henry David Mogollón García¹, Rodrigo de Andrade Ferrazza¹, Carla Martins de Queiroz ¹, Viviana Helena Vallejo Aristizabal¹, Profa. Dra. Elizabeth Moreira dos Santos Schmidt ², Profa. Dra. Noeme Souza Rocha², Prof. Dr. Roberto Sartori Filho³, Prof. Dr. João Carlos Pinheiro Ferreira¹.

¹Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária – FMVZ, – Unesp, Botucatu, SP/Brasil; ²Departamento de Clínica Veterinária – FMVZ, – Unesp, Botucatu, SP/Brasil; ³Departamento de Zootecnia – ESALQ – USP, Piracicaba, SP/Brasil. -E-mail: jcferreira@fmvz.unesp.br

Recebido em: 08/09/2015 – Aprovado em: 14/11/2015 – Publicado em: 01/12/2015
DOI: http://dx.doi.org/10.18677/Enciclopedia_Biosfera_2015_206

RESUMO

Em bovinos, os procedimentos invasivos ovarianos transvaginais, empregados com finalidades diagnósticas, biotecnológicas ou experimentais, mesmo sendo práticas consolidadas, podem apresentar complicações posteriores. Este relato tem como objetivo apresentar complicações observadas em três fêmeas bovinas da raça Holandesa submetidas à biópsia de corpo lúteo (CL) pela técnica transvaginal guiada por ultrassonografia, empregando-se agulha Tru-cut (18G x 48 cm). No segundo dia após o procedimento, os animais começaram a apresentar sinais característicos de peritonite, como leucocitose, neutrofilia, hiperfibrinogenemia, acúmulo de fluido intra-abdominal e aderências do útero e ovários às vísceras circunvizinhas. Como o prognóstico desta afecção é ruim ou reservado, as vacas foram eutanasiadas e necropsiadas. Os principais achados *post mortem* foram: hidroperitônio, peritonite fibrinosa difusa, ooforite fibrinosa associada a múltiplos cistos ovarianos, acúmulo de líquido seroso/purulento abundante no útero e múltiplos cistos aderidos à serosa intestinal, além de aderências intestinais ao ovário. Como o grau de comprometimento peritoneal era decrescente e pelo fato dos animais acometidos terem sido submetidos à biópsia de CL sequencialmente no mesmo dia, com a mesma agulha, suspeitou-se que no primeiro animal pode ter ocorrido o acidente primário que resultou na contaminação fecal da agulha, sendo disseminada para os demais animais. Os achados do presente relato demonstram o risco de ocorrência de complicações após procedimentos invasivos de fundo vaginal com o emprego de agulhas e sinalizam a importância dos cuidados de higiene, da troca da agulha e a necessidade de experiência do operador para a realização segura da técnica.

PALAVRAS-CHAVE: Agulha TruCut, bovinos, ovários, reprodução, técnica transvaginal, ultrassonografia.

PERITONITIS AFTER ULTRASONOGRAPHY GUIDED BIOPSY OF CORPUS LUTEUM IN HOLSTEIN COWS: CASE REPORT

ABSTRACT

In cattle, even though invasive transvaginal ovarian procedures have been used for diagnosis, biotechnological or experimental purposes and are consolidated practices, they may be followed by unexpected complications. The aim of this work is to report the complications observed in three Holstein cows after transvaginal ultrasonography guided luteal biopsies carried out using Tru Cut® needles (18G x 48 cm). On the second day after the procedure the animals showed clinical signs of peritonitis, such as leukocytosis, neutrophilia, hyperfibrinogenemia, intra-abdominal fluid accumulation, and adhesions of the uterus and ovaries to the surrounding viscera. Due to the poor prognostic of this condition the animals were euthanized and necropsied. The main necropsy findings were: peritoneal effusion, diffuse fibrinous peritonitis, fibrinous oophoritis associated with multiple ovarian cysts, abundant purulent accumulation in the uterus and multiple cysts adhering to the intestinal serous, suppurative metritis and intestinal/ovary adhesion. As the severity of peritoneal changes decreased according to the same sequence that animals had been subjected to the luteal biopsies with the same needle, there was a suspicion that the first procedure promoted the primary accident which resulted in fecal contamination of the needle, and was subsequently spread to the other two cows. The findings of this report highlight the risk of complications after transvaginal invasive procedures with the use of needles and demonstrate the importance of hygiene procedures, the need to employ a needle for each procedure and the importance of a trained person to perform a safe procedure.

KEYWORDS: Bovines, ovary, reproduction, ultrasonography, transvaginal technique, TruCut needle

INTRODUÇÃO

O emprego de técnicas transvaginais para coleta de material ovariano foi relatado pela primeira vez em estudos voltados à colheita de óocitos para a realização de fertilização *in-vitro* (FIV) em mulheres inférteis (GLEICHER et al., 1983; DELLENBACH et al., 1984). Nas vacas, também com a mesma finalidade, o acesso ovariano por via transvaginal com auxílio de ultrassonografia começou a ser empregado na década seguinte (PIETERSE et al., 1991) e hoje é uma prática amplamente difundida. Biópsias ovarianas vêm sendo realizadas com diversos objetivos, dentre esses, avaliar a atividade funcional (SCHMIDT et al., 2003) ou obter tecido destinado à criopreservação de material genético de pacientes a serem submetidas à quimioterapia (DEMEESTERE et al., 2003).

Diferentes técnicas de acesso transvaginal foram descritas para vacas, com a finalidade de realizar biópsias ovarianas, como a colpotomia, abertura cirúrgica do fundo vaginal (MARTIN et al., 2010), e a colheita guiada por ultrassonografia (HOPPE et al., 1986; KOT et al., 1999; AERTS et al., 2005). Na técnica guiada por ultrassonografia transvaginal, destaca-se o uso da agulha TruCut®, por ser um método que fornece amostras em quantidade e qualidade adequadas, além de não interferir na funcionalidade do corpo lúteo (KOT et al., 1999).

A genitália interna, bem como as demais vísceras abdominais, encontram-se alocadas no interior da cavidade peritoneal, onde se movimentam livremente, pelo deslizamento das superfícies serosas lubrificadas pelo fluido peritoneal. Devido ao risco das infecções peritoneais evoluírem rapidamente para condições de

septicemia, a cavidade peritoneal possui grande reatividade inflamatória e um mecanismo de *clearance* muito ágil (HALL et al., 1998). Entre os constituintes abdominais, destaca-se o omento, que além de participar da resposta imune inicial, é capaz de se aderir a focos de inflamação, com a finalidade de restringir localmente os agentes inflamatórios e tamponar eventuais pontos de rupturas viscerais (HALL et al., 1998).

A peritonite, processo inflamatório que envolve a cavidade peritoneal e o peritônio, é frequentemente o resultado da resposta peritoneal à presença de microrganismos e de suas toxinas (FECTEAU, 2005), podendo ser classificada em peritonite focal ou difusa, e em aguda ou crônica (ANDREWS et al., 2004). A peritonite pode ser desencadeada por vários processos, tais como acidentes traumáticos, cirurgias, obstruções intestinais, comprometimento da vascularização intestinal e perfurações gastrointestinais (FECTEAU, 2005).

Em humanos, a resposta inflamatória peritoneal é amplamente conhecida e possui três fases: a primeira é caracterizada por uma rápida passagem dos agentes inflamatórios para o sistema linfático; isso ocorre devido a pressão negativa causada pelo diafragma, que movimenta o fluido peritoneal, facilitando sua absorção pela cadeia linfática. Esse fenômeno, contudo, não resulta na resolução do problema, mas permite a passagem do agente pelo sistema linfático para que ocorra a apresentação dos antígenos aos linfócitos B e se inicie a resposta imune (SKIPWORTH & FEARON, 2005).

A segunda fase envolve a interação do agente etiológico com as células de defesa, principalmente fagócitos, e o sistema complemento, que ao serem ativados constituem a primeira fase da resposta imune inata e adquirida. A terceira fase, caracterizada pela tentativa do organismo acometido debelar a infecção, tem a finalidade de isolar o agente causador, pela deposição de fibrina. Nessa etapa é intensa a morte dos fagócitos e a formação de exsudato purulento (SKIPWORTH & FEARON, 2005).

Nos bovinos, os principais sinais clínicos de peritonite são: o aumento da frequência cardíaca e respiratória, reflexo da dor abdominal causada pelo processo inflamatório, associados a apatia, anorexia, desidratação, febre, sensibilidade na parede abdominal, arqueamento lombar, dificuldade para caminhar, ausência de movimentos ruminais e fezes escurecidas e fétidas (RADOSTITS et al., 2007; DÓRIA et al., 2008).

Nos casos de peritonite aguda acompanhada de endotoxemia, geralmente observa-se leucopenia, neutropenia e aumento acentuado do número de neutrófilos imaturos. Nas formas menos graves ou com poucos dias de evolução pode ocorrer leucocitose, devido a neutrofilia. O fibrinogênio plasmático também apresenta-se elevado em casos de peritonite aguda devido a resposta sistêmica, induzida pela inflamação na cavidade abdominal (RADOSTITS et al., 2007; TORNQUIST & RIGAS, 2007).

A avaliação ultrassonográfica da cavidade abdominal de vacas com peritonite, geralmente revela a existência de aderências, acúmulo de líquido e formação de “lojas”, achados suficientes para o diagnóstico definitivo da patologia (BRAUN et al., 1998).

O presente trabalho teve o objetivo de relatar a ocorrência de peritonite em vacas holandesas não lactantes após a realização de biópsia luteal transvaginal guiada por ultrassonografia.

RELATO DE CASO

Animais

O descrito no presente relato de caso ocorreu no período de maio a dezembro de 2013, na Fazenda Experimental Lageado, FMVZ – UNESP – Botucatu/SP, Brasil, durante a realização de um projeto de pesquisa voltado a estudar os efeitos da administração sistêmica da PGF2 α sobre a expressão gênica luteal, no qual foram empregadas 18 vacas Holandesas adultas não lactantes e não gestantes, clinicamente saudáveis, com escore corporal ≥ 3 (escala de 1-5; EDMONSON et al., 1989) e que permaneceram alojadas em baias coletivas (3 animais /baia), alimentadas com feno, ração, concentrado e acesso a água *ad libitum*.

Sincronização da ovulação

Todos os animais foram submetidos à sincronização da ovulação com a aplicação de GnRH i.m. (Icirelin - Gestran Plus®; Tecnopec Ltda, São Paulo, Brasil) e inserção de um dispositivo intravaginal impregnado com 1 g de progesterona (P4) (DIB®, Syntex, Buenos Aires, Argentina). Sete dias após este procedimento, foram administrados 500 μ g de cloprostenol sódico i.m. (Sincrocio® - Ourofino, São Paulo, Brasil) e retirado o dispositivo intravaginal de P4. Dois dias depois, 50 μ g de GnRH foram administrados i.m. Após a segunda dose de GnRH, os ovários foram examinados a cada 12 horas até 36 horas, por ultrassonografia transretal modo-B, usando-se transdutor linear de 5 MHz (MyLab™ Five, Esaote, São Paulo, SP, Brasil) para se determinar o momento da ovulação.

Procedimentos experimentais

Biopsias de corpo lúteo foram realizadas nos dias sete e oito após a segunda dose de GnRH, com 18 horas de intervalo. Inicialmente, realizou-se anestesia epidural no espaço sacrococcígeo com 5 mL de cloridrato de lidocaína 2% sem epinefrina (Lidojet - União Química, São Paulo, Brasil) seguida da higienização de toda a região perineal com água e detergente neutro (Chemisch® São José do Rio Preto, Brasil) e posterior secagem com toalha absorvente.

Dez minutos após a anestesia epidural, o transdutor ultrassonográfico microconvexo de 5-7,5 MHz (Aloka SSD 500; Aloka Co. Ltda, Tokyo, Japan), foi acoplado a uma guia de trabalho de biópsia transvaginal previamente esterilizada com detergente enzimático (Riozyme IV-E Gold® 500ml – Rioquímica, Brasil) por 10 minutos, e álcool 70% por 30 minutos. A guia de trabalho foi coberta com camisa sanitária (TNB Brasil, Garça, Brasil), lubrificada com o gel KY (Johnson & Johnson®, São Paulo, Brasil) e introduzida na cavidade vaginal até que atingisse o fórnix. Ato contínuo, uma agulha do tipo TruCut® (CareFusion, San Diego, USA), que havia sido esterilizada segundo o protocolo empregado para a guia, foi inserida no canal de trabalho da guia, enquanto que, por meio de manipulação transretal, o ovário contendo o corpo lúteo foi posicionado na sua extremidade. Em seguida, guiada pelas imagens ultrassonográficas, a extremidade da agulha foi deslocada cranialmente de modo a perfurar o fundo vaginal e ser introduzida no interior do corpo lúteo, quando seu dispositivo foi acionado e um fragmento de tecido luteal retirado. Esse procedimento foi repetido de modo que em cada sessão fossem obtidos dois fragmentos luteais de 5 mm de comprimento. Finalizada a colheita, fazia-se limpeza da região perineal com detergente neutro e água. A camisa sanitária era descartada após cada biópsia. Utilizou-se como rotina, uma agulha para realizar a biópsia de dois ou três animais em sequência.

Dois dias antes das biópsias e, dois e seis dias após as biópsias do dia sete, foram coletadas amostras de sangue por venopunção dos vasos coccígeos em tubos com EDTA para a realização de hemograma. As vacas foram submetidas a exames ultrassonográficos diários, durante sete dias após a coleta dos fragmentos luteais, para monitorar possíveis complicações intra-abdominais. Os animais foram sequencialmente submetidos a esses procedimentos de modo que foram realizadas 48 sessões de colheita. Todos os procedimentos realizados foram aprovados pela Comissão de Ética Animal (Protocolo nº89/2013-CEUA/FMVZ, UNESP).

RESULTADOS

Das 48 colheitas realizadas, em 45 não foram observadas complicações nos animais no período avaliado. Os únicos achados foram a detecção de pequenas áreas hiperecogênicas de 2-3 mm de diâmetro no interior dos ovários.

Complicações encontradas

Ao se realizar a avaliação ultrassonográfica no segundo dia após as biópsias, observou-se em uma vaca (Animal 1) imagens sugestivas de acúmulo de fluido e proliferação de fibrina no interior da cavidade pélvica (Figura 1), na região peri-uterina. Em 48 horas, o quadro evoluiu rapidamente e tornou-se evidente, além desses achados, o desenvolvimento de aderência de útero e ovários, que apresentaram difícil caracterização morfológica. Era também evidente a diminuição da mobilidade do reto, acompanhada do estreitamento do lume. Nas demais vacas (Animais 2 e 3), as alterações ultrassonográficas foram observadas somente 72 horas após os procedimentos. Contudo, a partir deste momento, a evolução do quadro foi semelhante ao do Animal 1.

FIGURA 1 Imagens ultrassonográficas da cavidade pélvica do Animal 1, 144 horas após colheita de fragmentos luteais com agulha TruCut® por acesso transvaginal. Observar as áreas de acúmulo de fluido intraperitoneal (setas pretas) e bandas de fibrina (seta branca). (Escala 1 centímetro) (Fonte: Acervo do Autor).

Adicionalmente, no Animal 1 foram observados os seguintes sinais clínicos: apatia, febre, hiporexia, letargia, aumento da frequência respiratória, arqueamento lombar e dificuldade para caminhar.

No Animal 1, o hemograma revelou, apesar dos valores terem permanecido dentro da faixa de normalidade, uma brusca diminuição do número total de leucócitos entre as colheitas pré e a realizada dois dias após a biópsia (12.400 cel/ μ L *versus* 6.000 cel/ μ L). Essa diminuição esteve associada ao decréscimo do número de neutrófilos segmentados que passou de 6.076 cel/ μ L para 1.800 cel/ μ L. Adicionalmente, neste mesmo momento, o animal também apresentou hiperfibrinogenemia (800 mg/dL), que permaneceu até o dia seis após a biópsia (1000 mg/dL).

No Animal 2, houve hiperfibrinogenemia (600 mg/dL) e neutrofilia (6.216 neutrófilos/ μ L). O fibrinogênio plasmático permaneceu elevado (800 mg/dL) até o sexto dia após a biópsia. No entanto, no Animal 3, as alterações hematológicas somente foram observadas no dia seis após a biópsia, sendo: leucocitose (13.100 leucócitos totais/ μ L), neutrofilia (7.860 neutrófilos segmentados/ μ L) e hiperfibrinogenemia (800 mg/dL).

Os achados clínicos e laboratoriais foram suficientes para o diagnóstico de peritonite e elaboração de um prognóstico reservado a ruim. Desta forma, optou-se pela eutanásia das vacas, empregando-se o seguinte protocolo: xilazina (0,1 mg/Kg, Rompun[®] 2%, Bayer Saúde Animal, São Paulo, Brasil), acepromazina (0,3 mg/Kg, Acepram 1.0 %, Vetnil, Louveira, Brasil), tiopental (10mg/Kg, Thiopentax, Cristália, Itapira, Brasil), e cloreto de potássio (19 mg/Kg, Cloreto de Potássio 19,1%, Samtec, Riberão Preto, Brasil). Após a caracterização da parada cardíaca, foi realizada a necropsia pelo Serviço de Anatomia Patológica da FMVZ- Unesp.

Os principais achados da necropsia foram:

Animal 1: a abertura da cavidade peritoneal revelou existência de hidroperitônio (aproximadamente 30 L de exsudato serosanguinolento) (Figura. 2A), hiperemia generalizada e deposição difusa de bandas de fibrina na superfície serosa de todos os órgãos da cavidade abdominal (peritonite fibrinosa) (Figura. 2A), associados a presença de múltiplos cistos com conteúdo seroso e capsula fibrosa, de tamanho variando entre 6 cm a 1 cm de diâmetro. Nos ovários observou-se a aderência dos mesmos às estruturas circunvizinhas associada à deposição de fibrina. Detectou-se também presença de múltiplos cistos ovarianos de conteúdo seroso e amarelado. O útero continha grande quantidade de fluido muco purulento.

Animal 2: o segundo animal apresentou menor grau de comprometimento peritoneal, comparado aos achados observados no primeiro, contudo estava também evidente a deposição difusa de fibrina associada a hiperemia moderada (Figura. 2D). O útero apresentava lesão perfurante de sua parede, os ovários apresentavam-se envolvidos por tecido fibroso (Figura. 2C) e o oviduto apresentava hemorragia difusa e áreas de necrose. Ovário e oviduto apresentavam-se aderidos ao ligamento largo do útero.

Animal 3: foi o de menor grau de comprometimento peritoneal, apresentando lesões restritas aos órgãos do aparelho reprodutor, que incluíam acúmulo de fluido purulento no interior do útero (Figura. 2E) e ooforite e salpingite hemorrágicas difusas associados a presença de fibrina e aderência dessas estruturas às alças intestinais (Figura. 2F).

FIGURA 2 – A) Acúmulo de líquido e deposição de fibrina na cavidade abdominal (seta preta). B) Ovário com cisto contendo material seroso e rodeado por edema gelatinoso (seta preta). C) Hiperemia moderada do peritônio. D) Salpingite hemorrágica e processo necrótico dos tecidos adjacentes (seta preta). E) Extravasamento de conteúdo purulento pela abertura da cérvix uterina (seta preta). F) Aderência nos órgãos reprodutivos e alças intestinais.

DISCUSSÃO

Estão disponíveis diversas técnicas que utilizam o fundo vaginal como local de acesso aos órgãos do aparelho reprodutor feminino em procedimentos diagnósticos ou de colheita de material, como oócitos, fluido folicular e amostras de tecidos ovarianos (PIETERSE et al., 1991; MARTIN et al., 2010; MARTIN ET AL.,

2013). Apesar do tempo relativamente longo que essas técnicas vêm sendo empregadas, a semelhança do observado no presente relato em vacas Holandesas, a contaminação peritoneal foi relatada em vacas Nelore (DÓRIA et al., 2008) e em mulheres (YOUNIS et al., 1997; KHAILE et al., 2003; BÉBÉAR et al., 2014).

Devido à exposição ambiental e a localização nas proximidades do ânus, a região perineal e a vulva apresentam flora bacteriana predominantemente Gram positiva (81.82%), havendo contudo, também a presença de bactérias Gram negativa (18%). Os principais agentes isolados são: *Arcanobacterium pyogenes* (22.92%), *Staphylococcus aureus* (15.63%), *Staphylococcus coagulase negative* (17.71%), *Erysipelothrix rhusiopathiae* (6.25%), *Bacteroides spp.* (13.54%), e *Peptostreptococcus spp.* (7.29%) (ZAMBRANO-NAVA et al., 2011). Considerando o risco elevado de contaminação dos equipamentos pela flora microbiana perineal e vulvar, procedimentos invasivos da cavidade vaginal devem ser sempre precedidos de rigorosa higiene da região perineal e da vulva (GONÇALVES et al., 2008). No presente estudo, apesar dos animais terem sido submetidos à rigorosa higienização da região perineal e de ter sido empregada a camisa sanitária, que só era rompida no interior da vagina, observou-se a contaminação peritoneal e o desenvolvimento de peritonite.

Como nas demais vacas, do projeto de pesquisa original, foram empregados os mesmos procedimentos de higiene, provavelmente as lesões observadas após as colheitas de biópsias não foram desencadeadas pela contaminação do equipamento por eventuais bactérias existentes na região perineal.

Nos procedimentos invasivos, que empregam agulhas para a perfuração do fundo vaginal e colheita de amostras de fluidos ou tecidos ovarianos, além da possibilidade de contaminação bacteriana dos equipamentos pela flora vulvar, existem outros riscos potenciais (DÓRIA et al., 2008). Uma vez introduzida no interior da cavidade peritoneal, se a agulha não tiver seu trajeto precisamente direcionado para o interior do órgão alvo, a mesma pode perfurar qualquer outra estrutura intra-abdominal circunvizinha, tais como os intestinos, bexiga, útero ou vasos sanguíneos (AERTS et al., 2005). Devido à extremidade extremamente afiada da agulha, além de perfurações simples, podem também ser observadas lacerações lineares (DÓRIA et al., 2008), tais como a ruptura uterina observada no Animal 2.

Os achados hematológicos e ultrassonográficos são considerados importantes ferramentas para o diagnóstico da peritonite em bovinos (BRAUN et al., 1998; RADOSTITS et al., 2007; TORNQUIST & RIGAS, 2010). No presente relato, a hiperfibrinogenemia, as alterações nos neutrófilos e os achados ultrassonográficos (formação de aderências, acúmulo de líquido, formação de lojas e detecção de bandas de fibrina) foram determinantes para o diagnóstico, pois foram observados em todos os animais, em diferentes graus de acometimento.

No animal 1, que apresentou o maior grau de comprometimento peritoneal, observou-se também a diminuição da contagem do número de neutrófilos, caracterizando um sequestro leucocitário na cavidade peritoneal (RADOSTITS et al., 2007; TORNQUIST & RIGAS, 2010).

As alterações do fibrinogênio plasmático e também as imagens obtidas pelas ultrassonografias, associadas à observação de aderências intra-abdominais do útero e ovários, e a diminuição da mobilidade do reto, detectados por meio de palpação retal, foram importantes sinalizadores da gravidade do processo inflamatório peritoneal, confirmada durante a necropsia.

As pequenas áreas hipercogênicas intraovarianas, detectadas nos animais que não desenvolveram peritonite, provavelmente são resultados dos processos

cicatriciais consequentes às biópsias realizadas anteriormente, pois o procedimento foi repetido mais de uma vez nos animais. Os achados das necropsias das vacas, como acúmulo de líquido na cavidade peritoneal, grande deposição de fibrina na cavidade abdominal e aderência entre ovários e útero com as vísceras circunvizinhas foram compatíveis com os descritos na literatura como indicadores de peritonite e perimetrite (BRAUN et al., 1998; DÓRIA et al., 2008).

No presente relato, foi relevante o grau decrescente de comprometimento da cavidade abdominal observado nos animais acometidos. Ou seja, o decréscimo do grau de comprometimento obedeceu à mesma sequência dos procedimentos. Como citado no item material e métodos deste relato, os animais acometidos foram examinados sequencialmente, e no mesmo dia. Uma possível explicação para essas diferenças nos graus de comprometimento abdominal é que durante a colheita de material do Animal 1, tenha ocorrido perfuração acidental do intestino, resultando na contaminação da agulha por fezes. Como a mesma agulha foi usada sequencialmente para todos os animais deste relato, essa contaminação agiu como o meio de transmissão de agentes bacterianos para os animais manipulados. A partir desses três acidentes por contaminação involuntária, adotou-se como medida adicional de higiene o uso individual de agulhas para cada animal. A partir da implementação desta medida, não foram mais observadas complicações nos demais animais.

CONCLUSÃO

Para o procedimento efetivo e seguro de biópsias ovarianas guiadas por ultrassonografia, são necessários equipamentos limpos e estéreis, bem como o manuseio do equipamento por um técnico experiente e treinado com o procedimento a ser desenvolvido. Além disso, a higienização da região perineal e vulvar do animal são obrigatórios para evitar a contaminação peritoneal com a flora normal da vagina do animal. Recomenda-se também o uso único de agulhas para cada indivíduo.

AGRADECIMENTOS

À FAPESP pelo apoio financeiro (Auxílio número 2012/18297-7).

REFERÊNCIAS

- AERTS, J. M. J.; OSTE, M.; BOLS, P. E. J. Development and Pratical Applications of a Method for Repeated Transvaginal, Ultrasound-guided Biopsy Collection of the Bovine Ovary. **Theriogenology**, v. 64, p. 947–957, 2005.
- ANDREWS, A. H.; ANDREWS, A.H.; BLOWEY, R.W.; BOYD, H.; EDDY, R.G. **Bovine medicine: diseases and husbandry of cattle**. Second ed. New York: [s.n.].
- BÉBÉAR, C.; GROUTHIER, V.; HOCKÉ, C.; JIMENEZ, C.; PAPAXANTHOS, A.; CREUX, H. Ureaplasma parvum peritonitis after oocyte retrieval for in vitro fertilization. **European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology**, v. 172, p. 138–139, jan. 2014.
- BRAUN, U.; PUSTERLA, N.; ANLIKER, H. Short Communications Ultrasonographic findings in three cows with peritonitis in the. **Veterinary Record**, v. 142, p. 338–340, 1998.

DELLENBACH, P.; NISAND, I.; MOREAU, L.; FEGER, B.; PLUMERE, C.; GERLINGER, P.; BRUN, B.; RUMPLER, Y. **Transvaginal, sonographically controlled ovarian follicle puncture for egg retrieval.** *Lancet (London, England)* ENGLAND, jun. 1984.

DEMEESTERE, I.; SIMON, P.; ENGLERT, Y.; DELBAERE, A. Preliminary experience of ovarian tissue cryopreservation procedure: alternatives, perspectives and feasibility. **Reproductive biomedicine online**, v. 7, n. 5, p. 572–579, 2003.

DÓRIA, R.G.S.; CANOLA, P.A.; ILLI, D.J.; TONIOLO, G.H.; LEITE, F.G.; ESPER, C.R.; CANOLA, J.C. Relato de caso complicações clínicas em vacas Nelore doadoras de oócitos decorrentes da aspiração folicular transvaginal guiada por ultrassom. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 3, p. 806–810, 2008.

EDMONSON, A. J.; LEAN, I. J.; WEAVER, L. D. T.; WEBSTER, G. A body condition scoring chart for holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, n.72(1), p. 68–78, 1989.

FECTEAU, G. Management of peritonitis in cattle. **Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice**, v. 21, n. 1, p. 155–171, 2005.

GLEICHER, N.; FRIBERG, J.; FULLAN, N.; GIGLIA, R.V.; MAYDEN, K.; KESKY, T.; SIEGEL, I. Egg Retrieval For In Vitro Fertilisation By Sonographically Controlled Vaginal Culdocentesis. **The Lancet**, p. 508–509, 1983.

GONÇALVES, P. B. D.; FIGUEIREDO, J.; FREITAS, V. **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. [s.l.] Editora Roca, 2008.

HALL, J. C.; HEEL, K. A.; PAPADIMITRIOU, J. M.; PLATELL, C. The pathobiology of peritonitis. **Gastroenterology**, v. 114, n. 1, p. 185–196, 1998.

HOPPE, F.E.; HAGER, D.A.; POULOS, P.W.; EKMAN, S.; LINDGREN, P.G. A comparison of manual and automatic ultrasound-guided biopsy technique. **Veterinary Radiology**, v. 27, p. 99–101, 1986.

KIHAILE, P.; MISUMI, J.; UTSUNOMIYA, T. Peritonitis after a ruptured left pyosalpinx in a patient undergoing in vitro fertilization. **Fertility and Sterility**, v. 79, n. 4, p. 1034–1036, abr/ 2003.

KOT, K.; ANDERSON, L.E.; TSAI, S-J.; WILTBANK, M.C.; GINTHER, O.J. Transvaginal, Ultrasound-guided Biopsy of the Corpus Luteum. **Biology of Reproduction**, v. 52, n. 99, p. 987–993, 1999.

MARTIN, I.; FUJIHARA, C.J.; MARQUES FILHO, W.C.; MAZIERO, R.R.D.; BISCARDE, C.E.A.; FERREIRA, J.C.P. Biopsias Luteais Em Vacas Nelore. **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, n. 3, p. 724–730, 2010.

MARTIN, I.; RODRIGUES, M. M. P.; FUJIHARA, C. J.; MARQUES FILHO, W. C.; OBA, E.; LAUFER-AMORIM, R.; FERREIRA, J. C. P. Localization patterns of steroid and luteinizing hormone receptors in the corpus luteum of Nelore (*Bos taurus*

indicus) cows throughout the estrous cycle. **Livestock Science**, v. 155, .n. 2, p. 442-453, 2013.

PIETERSE, M.C.; VOS, P.L.A.M.; KRUIP, A.M.; WURTH, Y.A.; VAN BENEDEN, H.; WILLEMSE, A.H.; TAVERNE, M.A.M. Transvaginal ultrasound guided follicular aspiration of Bovine oocytes. **Theriogenology**, v. 35, n. 4, p. 857–862, 1991.

RADOSTITS, O.M.; GAY, M.L.; BLOOD, D.C.; HINCHCLIFF, K.W. **Veterinary Medicine**. 2^a edição ed.London: [s.n.].

SCHMIDT, K.L.T.; BYSKOV, A. G.; ANDERSEN, A.N.; MÜLLER, J.; ANDERSEN, C.Y. Density and distribution of primordial follicles in single pieces of cortex from 21 patients and in individual pieces of cortex from three entire human ovaries. **Human Reproduction**, v. 18, n. 6, p. 1158–1164, 2003.

SKIPWORTH, R. J. E.; FEARON, K. C. H. Acute abdomen: Peritonitis. **Der Internist**, v. 46, n. 9, p. 974–981, 2005.

TORNQUIST, S.J.; RIGAS, J. Interpretation of ruminant leukocyte responses. In: WEISS, D.J.; WARDROP, K.J. **Shalm's Veterinary Hematology**. Ames: Wiley-Blackwell, 2010, p.307-313.

YOUNIS, J.S.; EZRA, Y.; LAUFER, N.; OHEL, G. Late manifestation of pelvic abscess following oocyte retrieval, for in vitro fertilization, in patients with severe endometriosis and ovarian endometriomata. **Journal of Assisted Reproduction and Genetics**, v. 14, n. 6, p. 343–346, jun. 1997.

ZAMBRANO-NAVA, S.; BOSCÁN-OCANDO, J.; NAVA, J. Normal bacterial flora from vaginas of Criollo Limonero cows. **Tropical Animal Health and Production**, v. 43, n. 2, p. 291–294, 2011.