SOUTHERN BRAZILIAN JOURNAL OF CHEMISTRY 2021 VIRTUAL CONFERENCE

EFFECTS OF UTERINE LAVAGE FRACTIONS ON EMBRYO RECOVERY RATE IN MANGALARGA MARCHADOR MARES.

PASSOS, Raiza Argon^{1*}; ROIER, Erica Cristina Rocha¹; GOMES, Letícia Patrão de Macedo¹; SERAPIÃO, Raquel Varella¹; GOMES, Gustavo Mendes¹.

¹ Universidade de Vassouras

* Correspondence author
e-mail: raiza_argon@hotmail.com

Received 20 January 2022; received in revised form 20 February 2022; accepted 26 February 2022

ABSTRACT

Since 1986, the use of embryo transfer has gained prominence in the equine industry, allowing the increase in the number of descendants of genetically superior donors, competition mares, foals, and mares considered subfertile. The success of an embryo transfer program is directly related to the rate of embryonic recovery by mare, which is characterized by the percentage of embryos collected by uterine lavage. However, the recovery rate can be influenced by several factors, type of donor used, age, day of collection, and physical activity. Considering the advancement of biotechnology and the growing need for research in the area of equine embryo transfer, the present work aimed to study in *Mangalarga marchador* animals the effects of uterine lavage fractions on embryo recovery rates. The present study included 35 mares aged between 3 and 15 years, used as donors of clinically healthy embryos from an equestrian property in the southern region of Rio de Janeiro. Thus, 67 uterine washes were performed, where 67% of the embryos were recovered through different volumes of ringer's solution with sodium lactate. The embryo crops and transfers period was from September 2021 to January 2022. For statistical analysis of the data, the simple logistic regression test was used, where no significant difference ($p < 0.05$) was observed in the embryo indices recovered on total crops (67) regarding fractions (F) 1 (43.2%), (F) 2 (14.9%) and (F) 3 (5.97%). Therefore, it can be concluded that there was no significant difference between the lavage fractions, however, more studies are needed with a larger sample of uterine washing.

Keywords: *Biotechnologies. Equine. Uterine lavation. Embryonic recovery. Reproduction.*

1. INTRODUÇÃO

Desde 1986 o uso da transferência de embrião tem ganhado destaque na indústria equina, possibilitando o aumento de número de descendentes de doadoras zootecnicamente superiores, de éguas de competição, de potranças e de éguas consideradas subférteis. Porém, assim como qualquer outra biotecnologia, a TE apresenta algumas limitações. As principais dizem respeito a dificuldade em induzir a superovulação de éguas, elevado percentual de doadoras idosas e manipulação inadequada do sêmen (Alvarenga *et al.*, 2017).

O sucesso de um programa desta biotecnologia está diretamente relacionado com a taxa de recuperação embrionária por égua, caracterizada pela percentagem de embriões

coletados por lavado uterino. Entretanto, a taxa de recuperação pode ser influenciada por vários fatores, como: tipo de doadora utilizada, idade, dia da coleta, atividade física. (Jacob *et al.*, 2019).

Segundo Fleury *et al.* (2001) e Imel *et al.* (1981), há diferenças significativas na taxa de recuperação embrionária entre as frações das colheitas, e que o maior número de embriões são recuperados na primeira fração da lavagem.

Considerando o avanço da biotecnologia e a necessidade crescente de pesquisas na área de transferência de embrião em equinos, o trabalho tem por objetivo avaliar o efeito das frações do lavado uterino utilizando de um a três litros de soro ringer com lactato sobre os índices de recuperação de embriões.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados 35 equinos, fêmeas, com idades entre 3 e 15 anos, da raça Mangalarga Marchador, utilizadas como doadoras de embriões, clinicamente saudáveis, provenientes de uma propriedade equestre da região Sul Fluminense do estado do Rio de Janeiro.

O período de colheitas e transferências dos embriões foi de setembro de 2021 a janeiro de 2022. As 35 doadoras foram monitoradas através da palpação retal e ultrassonografia. Neste período foram realizados 67 lavados uterinos para realização da recuperação embrionária. As recuperações embrionárias ocorreram no oitavo dia após a ovulação, de forma não cirúrgica, realizando os lavados uterinos em três frações de um litro cada da solução de ringer com lactato de sódio previamente aquecida de 37 a 40 °C (Alvarenga *et al.*, 1993).

Com a égua contida no tronco, foi realizada a lavagem da região perineal com detergente suave e água abundante, seguida da secagem. Desta forma, foi então utilizado um cateter bivona 32 FR, onde o mesmo foi introduzido pela cérvix até o corpo uterino. Este cateter possui um balão na porção anterior, que quando inflado, impede que o meio de lavagem reflua através da cérvix para a vagina. Após bem posicionado o cateter, procedeu-se à introdução do meio de lavagem e sua posterior recolha (Braga *et al.*, 2017).

Ao término de cada fração, o filtro foi desconectado do cateter, desta forma, foram transferidos 20 a 30 ml do meio de lavagem para placas de Petri estéreis. O embrião foi então procurado nas referidas placas, através do rastreamento minucioso, utilizando uma lupa estereoscópica. Os lavados uterinos em que o embrião foi recuperado, foram considerados positivos e aqueles que não foram recuperados, foram considerados negativos (Nogueira *et al.*, 2011). No final do procedimento de lavagem do embrião, a égua doadora recebeu prostaglandina-F2 α a fim de desencadear a luteólise e induzir um novo estro. (Lopes *et al.*, 2013).

A análise estatística dos dados foi realizada por meio do teste de regressão logística simples.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO:

O estudo contou com 35 éguas,

realizando 67 lavados, sendo que em 43 (64,18%) deles ocorreu a recuperação de embriões através de diferentes volumes. Foi observado que 29 lavados (43,2%) tiveram seus embriões recuperados no primeiro litro, enquanto 10 lavados (14,9%) no segundo litro e 4 no terceiro litro (5,97%). Não foi possível recuperar os embriões de 24 lavados (35,82%) independentemente do volume utilizado (Tabela 1).

Tabela 1 – Análise do número de embriões recuperados de acordo com o volume em litros (L) de lavado uterino.

Prenhez/volume do lavado	1 L	2 L	3 L
	n (%)	n (%)	n (%)
Lavado positivo (+)	29 (43,2%)	10 (14,9%)	4 (5,97%)
Lavado negativo (-)	24 (35,8%)	24 (35,8%)	24 (35,8%)

Legenda: (+) = **prenhez positiva**; (-) = **prenhez negativa**. n = **número**

A tabela 2 mostra a regressão logística simples das éguas prenhas em relação ao volume de lavado utilizado para recuperação do embrião. Não foi observada diferença estatística entre a recuperação do embrião e a quantidade de vezes em que foi feito o lavado.

Tabela 2 – Regressão logística simples da recuperação de embriões pelo volume de lavado uterino.

Variáveis	Coefficiente de regressão (Coeficiente $\pm$ erro padrão)	p-valor
1L x lavado (+)	11.7 $\pm$ 30.5	0.70
2L x lavado (+)	10.8 $\pm$ 51,9	0.83
3L x lavado (+)	10.7 $\pm$ 82.1	0.89

Legenda: (+) = **prenhez positiva**; (-) = **prenhez negativa**. L = **litros**

Análise estatística: Regressão logística simples (p<0.05).

Fleury *et al.*, (2001), relatou em seu estudo 27% dos embriões recuperados na primeira

fração da lavagem, 15% na segunda e 18% na terceira, assim como Imel *et al.*, (1981), que encontraram 52% na primeira, 34% na segunda e 14% na terceira. Ambos apresentaram diferenças significativas nos índices de recuperação embrionária entre as frações das colheitas, diferindo do presente estudo, onde não foram observadas diferenças significativas. No entanto, é preciso levar em consideração o número de lavados realizados, sendo o do presente estudo inferior.

Outro ponto importante, é que apesar de não haver diferença significativa, os três experimentos apresentaram resultados semelhantes, confirmando que a maioria dos embriões são recuperados na 1ª fração da lavagem.

4. CONCLUSÃO:

Conclui-se que não houve diferença significativa entre as frações da lavagem, entretanto, é necessário um estudo com uma amostragem maior de lavado uterino.

5. REFERÊNCIAS:

1. Alvarenga, M. A., and Tongu, E. A. O. Estratégias para melhorar a eficiência reprodutiva em programas de transferência de embrião de equinos. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, **2017**, 41, 19-24.
2. Jacob, J. C. F., Guerson, Y. B., and Ferraz, P. J. Como melhorar os índices reprodutivos em um programa de transferência de embrião equino. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, **2019**, 43, 222-228.
3. Fleury, J. J., Pinto, A. J., Marques, A., and Lima, C. G. Fatores que afetam a recuperação embrionária e os índices de prenhez após transferência transcervical em equinos da raça Mangalarga. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, **2001**, 38, 29-33.
4. Imel, K. J., Squires, E. L., Elsdon, R. P., and Shideler, R. K. Collection and transfer of equine embryos. *Journal of Animal Veterinary Medical Association*, **1981**, 179, 987-991.
5. Alvarenga, M. A., Landim e Alvarenga, F. C., and Meira, C. Modification in the technique used to recovered equine embryos. *Equine Veterinary Journal*, Suppl, **1993**, 15, 111-112.
6. Braga, R. L., and Crusco, S. E. Transferência embrionária em equinos: Método não cirúrgico baseado na técnica ultrassonográfica de injeção ultra uterina. *PUBVET*, **2017**, 11, 143-148.
7. Nogueira, I. V., Gomes, L. P. M., Athayde, F. P., Dornelas, G. N., and Gomes, G. M. Influência do Clima na Recuperação Embrionária em Éguas da Raça Mangalarga Marchador no Município de Vassouras- RJ. *Revista de Saúde*, **2011**, 2, 27-34.
8. Lopes, E. P., Pinho, R. O., Siqueira, J. B., Rocha, A. N., Pereira, J. V. T. N., Martins, L. F., Freitas, B. W., and Guimarães, J. D. Correlação dos fatores que interferem na eficiência reprodutiva de éguas mangalarga marchador em programas de transferência de embriões. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, **2013**, 35, 69-75.