



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA
CAMPUS VII – PATOS**

RELATÓRIO DE ESTÁGIO SUPERVISIONADO

**ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: REPRODUÇÃO
ANIMAL**

FLÁVIO DO NASCIMENTO ARAÚJO

Patos/PB



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA
CAMPUS VII – PATOS**

RELATÓRIO DE ESTÁGIO SUPERVISIONADO

FLÁVIO DO NASCIMENTO ARAÚJO

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: REPRODUÇÃO ANIMAL

**LOCAL DO ESTÁGIO: UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CEARÁ
– UECE**

SUPERVISOR: JOSÉ FERREIRA NUNES

ORIENTADOR: WALTER OLIVEIRA CARTAXO

**PATOS/PB
JULHO/2002**



Biblioteca Setorial do CDSA. Maio de 2022.

Sumé - PB

FOLHA DE APROVAÇÃO

FLÁVIO DO NASCIMENTO ARAÚJO

DATA DA APROVAÇÃO 22/07/02 MÉDIA 10,0 (100%)

BANCA EXAMINADORA:

NOTA

Walter Oliveira Cartaxo
Prof: Walter Oliveira Cartaxo

10,0 (100%)

ORIENTADOR

Maria Carmela Papariello Arcoverde
Prof: Maria Carmela Papariello Arcoverde

10,0 (100%)

EXAMINADOR

Sônia Maria de Lima
Prof: Sônia Maria de Lima

10,0 (100%)

EXAMINADOR

PATOS/2002

MENSAGEM

ESCOLA É ...

... O lugar onde se faz amigos.

Não se trata só de prédio, salas, quadros, programas horários, conceitos.

Escola é, sobretudo, gente!

Gente que trabalha, que estuda, que alegre, se conhece, se estima.

O diretor é gente.

O coordenador é gente.

Cada funcionário é gente.

E a escola será cada vez melhor, na medida em que, cada um se comporte como colega, amigo, irmão.

Nada de “ilha cercada de gente por todos os lados”.

Nada de conviver com pessoas e depois descobrir que não tem amizade a ninguém.

Nada de se como tijolo, que forma paredes, indiferente, frio, só.

Importante na escola não é estudar, não é trabalhar.

É, também, criar laços de amizades

É criar ambiente de camaradagem, é conviver, é se “amarrar nela”.

Ora, é lógico...

... Numa escola, assim, vai ser fácil estudar, trabalhar crescer, fazer amigos, educar-se.

Ser feliz !



(Paulo Freire)

AGRADECIMENTOS

UFPB - BIBLIOTECA

Agradeço a Deus, ser supremo, o qual certamente, sempre esteve comigo ao meu lado, guiando-me para que eu pudesse chegar aonde estou agora.

Agradeço aos meus pais, José Felinto de Araújo e Eunice Nascimento Araújo, que sempre serão meus mestres na arte de viver. Deram-me a vida e me ensinaram a vivê-la com dignidade, iluminaram meus caminhos com afeto e dedicação para que eu trilhasse sem medo e cheio de esperança. A eles que se doaram inteiros e renunciaram aos seus sonhos, para que muitas vezes se realizassem os meus. A eles não bastaria dizer “muito obrigada” pois as palavras dificilmente traduziriam toda a minha gratidão.

Agradeço aos meus irmãos, que sem dúvida fazem parte desta vitória. Em especial a meu irmão Willian Araújo, que muitas vezes foi um verdadeiro pai. Também a Wellington Araújo, que teve também uma grande participação nesta conquista.

Agradeço também meus tios, sobrinhos e primos.

Agradeço a todos os professores e funcionários do CSTR e de forma especial ao professor Walter Cartaxo, sem o qual não teria conseguido o sucesso deste relatório.

Fico grato a Fabiane Moreira, minha namorada, por seu incentivo e carinho.

A todos os meus colegas, amigos que tive o prazer de conhecer durante esses longos anos, vivendo aventuras que certamente nunca vamos esquecer.

Agradeço ainda a alguns professores que com sua arrogância e antipatia, incentivaram ainda mais para esta realização.

UFPB - BIBLIOTECA

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 – Relação das atividades desenvolvidas durante o Estágio Supervisionado realizado na área de Reprodução Animal, na Universidade Estadual do Ceará/UECE, Fortaleza-CE, no período de 01 de abril a 04 de junho de 2002.....	16
--	----

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	8
2. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS DURANTE O ESTÁGIO SUPERVISIONADO.....	10
2.1. Lavagem e Esterilização do Material Laboratorial.....	10
2.2. Atividades Ligadas ao Macho (Tecnologia do Sêmen).....	11
2.2.1 – Coleta de sêmen.....	11
2.2.2 – Avaliação de sêmen.....	11
2.2.3 – Confecção do meio diluidor.....	12
2.2.4 – Diluição do sêmen.....	12
2.2.5 – Envase das palhetas.....	13
2.2.6 – Congelação das palhetas.....	14
2.2.7 – Descongelção e avaliação do sêmen.....	14
2.3 – Atividades Ligadas a Fêmea (Transferência de Embriões).....	15
2.3.1 – Seleção de doadoras e receptoras.....	15
2.3.2 – Lavagem e recuperação embrionária.....	15
2.3.3 – Inovulação.....	16
2.3.4 – Diagnóstico de gestação.....	16
3. CONCLUSÕES.....	18
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	19
5. ANEXOS.....	20

UFPB - BIBLIOTECA

1. INTRODUÇÃO

O Estágio Supervisionado na estrutura curricular do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Paraíba – UFPB é um pré-requisito para o aperfeiçoamento dos conhecimentos técnico-científicos adquiridos na fase acadêmica e colocados em prática, objetivando melhor aprimoramento desses conhecimentos e profissionalização plena.

O Estágio de que trata o presente relatório foi realizado na Área de Reprodução Animal, nas espécies caprina e ovina, durante o período de 01 de abril a 07 de junho de 2002, perfazendo uma carga horária de 360 horas (anexo I), sob orientação do Médico Veterinário José Ferreira Nunes¹.

A cidade de Fortaleza, capital do Estado do Ceará, está situada no litoral, apresentando latitude de 3° 43' 02" e longitude de 38° 32' 35". A Universidade Estadual do Ceará – UECE está localizada na Av. Parajana, 1700 – Itaperi, Fortaleza-CE., onde o Setor de Reprodução Animal desenvolve atividades de pesquisa e extensão através da integração técnica com órgãos oficiais, na implantação de programas de interesse da saúde animal.

O Laboratório de Tecnologia do Sêmen, local onde foi desenvolvida a maior parte das atividades durante o Estágio Supervisionado, presta serviços ao Curso de Graduação de Medicina Veterinária da UECE, embora esteja pouco ligado ao atendimento

UFPB - BIBLIOTECA

da rotina da clínica médica do referido curso. O mesmo conta para o seu funcionamento diário, de dois médicos veterinários, um funcionário de apoio além de alunos de pós-graduação e estagiários de cursos de graduação.

A maior demanda de serviços advém do atendimento à população, que por sua vez solicitava os serviços da UECE, na área de reprodução assistida, junto ao Laboratório de Tecnologia do Sêmen, diretamente ao responsável pelo Setor, Dr. José Ferreira Nunes. A partir dessa solicitação uma primeira visita a propriedade era então agendada, onde se procurava estabelecer alguns parâmetros que atendessem as necessidades para a implantação de um programa reprodutivo. Para tanto o Laboratório contava com o apoio de uma unidade móvel, “tipo Van”, relativa a um convênio firmado entre a UECE, o FINEP² e o FUNCAP³, cujo objetivo principal era promover um melhoramento genético dos rebanhos mestiços da região, através da inseminação artificial, utilizando sêmen de ovinos deslanados da raça Santa Inês. No caso de inseminação artificial, o sêmen poderia ser diluído e utilizado a fresco ou totalmente processado na própria propriedade. A biotécnica de transferência de embriões exigia instalações básicas para a sua prática, contudo também era plenamente realizada na propriedade. Em ambos os casos, o proprietário arcava com custos adicionais como medicamentos hormonais, etc.

¹Pós-Doutor em Reprodução Animal. Chefe do Setor de Reprodução Animal e Docente da Universidade Estadual do Ceará – UECE.

²FINEP (Fundo Nacional de Incentivo à Pesquisa).

³FUNCAP (Fundo Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico).

ATIVIDADES DESENVOLVIDAS DURANTE O ESTÁGIO SUPERVISIONADO

2.1 - Lavagem e Esterilização do Material Laboratorial

A lavagem e a desinfecção dos materiais laboratoriais são de fundamental importância para um bom andamento das atividades desenvolvidas no laboratório, sendo que qualquer erro pode vir a influenciar nos resultados, independentemente da biotecnologia empregada.

O processo de higienização era realizado no laboratório de Tecnologia de Sêmen do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Ceará – UECE. A vidraria e o instrumental cirúrgico usado eram separados em caixas plásticas, e ficavam de molho em sabão neutro, de acordo com o setor onde tivessem sido manipulados, evitando-se, dessa forma, a mistura de materiais que viessem a deixar resíduos nos demais. Em seguida, o material era lavado manualmente pelos estagiários, e em seguida era seco em estufa a 100 °C, por 2 horas, aproximadamente. O material plástico utilizado, normalmente, era descartado após o uso.

Depois de embalado, o material era colocado para ser esterilizado, sendo que materiais plásticos e vidraria com tampa iam para autoclave onde permaneciam por 20 minutos até atingir 120 °C em temperatura máxima. Ao atingir essa temperatura baixava-se o botão da autoclave para posição que indicava a temperatura média e esperava-se por mais 20 minutos. A vidraria sem tampa e o instrumental cirúrgico eram devidamente vedados com papel alumínio, e levados para estufa, onde permaneciam por duas horas a uma temperatura de 150 °C. Depois de esfriar o material era guardado em armários.

2.2 – Atividades Ligadas ao Macho (Tecnologia do Sêmen)

2.2.1 – Coleta de sêmen

Na coleta de sêmen ovino e caprino utilizava-se a vagina artificial, instrumento que simula as condições de pressão e temperatura da vagina natural. O ato de coletar era simples: segurava-se a fêmea em estro (natural ou induzido), apresentando-a ao macho. Quando este efetuava o salto, segurava-se o prepúcio com a mão, desviando o pênis para dentro da vagina artificial. A ejaculação era quase instantânea. O material coletado era mantido protegido da luz solar direta, da poeira, da agitação e de mudanças bruscas de temperatura conforme recomendações de (Nunes et al., 1997).

•

2.2.2 – Avaliação de sêmen

O sêmen era avaliado segundo Nunes & Silva (1999) quanto ao volume (0,5 a 2 ml), a cor (branca no ovino e amarela no caprino, desprezando-se o sêmen de coloração avermelhada ou chocolate), ao aspecto (variando de leitoso a cremoso), a motilidade espermática (0 a 100%, utilizando-se amostras com valor igual ou superior a 70%), a morfologia espermática: (não podendo ultrapassar 15 % de patologias espermáticas). Além destes parâmetros se avaliava também o odor, o vigor (classificado numa escala de 0 a 5, sendo aceitável amostras com valor igual ou superior a 3) e o movimento de massa ou turbilhonamento (também classificado numa escala de 0 a 5).

2.2.3 – Confeção do meio diluidor

O diluente utilizado durante o estágio supervisionado foi o preconizado por Nunes (1997), que consiste no uso da água de coco como componente principal. A solução Nunes utilizada para congelação de sêmen ovino e caprino é composta de uma solução A (50 % de água de coco, 25 % de citrato de sódio a 5 % e 25 % de água destilada), uma solução B (solução A acrescida de 2,5 % de gema de ovo e 14 % de glicerol). Para a confecção do meio, em primeiro lugar era necessário que fosse utilizado côco com 6 meses, cuja composição da água está demonstrada no anexo IV, a qual era previamente filtrada, para posterior uso na confecção do diluente. Para o preparo da solução A, primeiramente era feita uma solução de citrato de sódio a 5 %, onde 5g de citrato era diluído em 100 ml de H₂O destilada e 25 ml dessa solução era então adicionada a 25 ml de água destilada e 50ml de água de coco. Da solução A era subtraído 2 ml (2 %) e adicionado 2 ml de gema de ovo. Dessa solução era subtraído 7 ml (7 %) e adicionado 7 ml de glicerol. Dessa forma, estava preparada a solução B.

2.2.4 – Diluição do sêmen

A concentração espermática era avaliada através de espectrofotômetro e a partir desse resultado se estabelecia a quantidade de diluente (solução A e B) a ser utilizado no ejaculado. Inicialmente o ejaculado era mantido em banho-maria a 37 °C onde em um outro

recipiente, sob as mesmas condições de temperatura, se encontrava a solução A. Dessa solução era pipetado o volume necessário para a primeira solução, e então, era adicionada ao sêmen. A seguir, essa solução, armazenada em um tubo de ensaio, era retirada do banho-maria sendo introduzida em um copo contendo água em temperatura ambiente, onde permanecia durante 5 minutos. Logo depois, o conjunto era conduzido ao interior de uma caixa de isopor contendo gelo, o que lhe garantia uma temperatura de 4° C sendo, no mesmo instante, levado para um freezer que apresentava a mesma temperatura. Após um período de 45 minutos, a solução B começava a ser introduzida no recipiente que continha solução A + ejaculado. Essa diluição ocorria de maneira fracionada onde a cada 5 minutos se adicionava parte da solução B, totalizando três diluições.

2.2.5 – Envase das palhetas

Realizada a diluição, o sêmen era acondicionado de maneira a permitir uma aplicação fácil e rápida. As palhetas de 0,5 ml eram preenchidas de maneira artesanal, onde se utilizava a própria boca do técnico na aspiração do sêmen diluído, não havendo dificuldades na realização dessa prática. As palhetas eram então lacradas com álcool polivinílico, segundo Santos, et al., 1999.

O procedimento para o envase era bastante simples: tomava-se a palheta, segurando-a pela extremidade fechada. Colocava-se a extremidade oposta em contato com o sêmen já preparado e, por aspiração, enchia-se a palheta. Lacrava-se a palheta com álcool polivinílico, conforme (Santos et al., 1999).

UFPS - BIBLIOTECA

2.2.6 – Congelação das palhetas

Após o processo de diluição e envase, que por sua vez eram completados no interior do freezer, obedecendo-se, portanto, a uma queda gradativa da temperatura, as palhetas eram acondicionadas lado-a-lado sobre uma prancha metálica e levadas a o interior de uma caixa de isopor contendo nitrogênio líquido, permanecendo a uma distância de 5 cm do mesmo, sofrendo congelação inicial sob a ação do vapor desse nitrogênio, a uma temperatura de -86°C . Em seguida eram mergulhadas no nitrogênio líquido, para depois serem levadas ao botijão criogênico, podendo permanecer nesse ambiente por tempo indeterminado.

2.2.7 – Descongelação e avaliação do sêmen

Após um período mínimo de quinze dias, se procedia a descongelação de algumas palhetas para se avaliar características espermáticas tais como vigor e motilidade. As palhetas eram retiradas do botijão criogênico, mergulhadas em banho-maria a 37°C durante 30 segundos, para então serem recuperadas e enxugadas, sendo abertas com tesoura, no lado oposto da palheta onde se encontrava a bucha, e levadas diretamente ao microscópio óptico, que por sua vez, era acoplado a um monitor de televisão, o que facilitava as análises.

UFPS - BIBLIOTECA

2.3 – Atividades Ligadas a Fêmea (Transferência de Embriões)

2.3.1 – Seleção de doadoras e receptoras

Para todo programa de reprodução controlada, seja de inseminação artificial ou de transferência de embriões, é de fundamental importância ter um rigoroso esquema de seleção dos animais a serem utilizados, pois problemas de ordem nutricional ou sanitário podem colocar em risco o sucesso do trabalho. A escolha da receptora tem a mesma importância que a escolha da doadora, visto que, a mesma deve apresentar boas condições para manter uma gestação até o seu final. Os critérios considerados eram, entre outros, escore corporal, ciclos estrais regulares, ausência de infecções genitais e bom estado sanitário.

2.3.2 – Lavagem e recuperação embrionária

A coleta embrionária era conduzida com os animais em estação, sob anestesia epidural e previamente se utilizava uma aplicação do hormônio prostaglandina, no sentido de se promover dilatação cervical. Após a anti-sepsia da vulva e região perianal, a cérvix era localizada com auxílio de espéculo tipo bico-de-pato, sendo em seguida fixada por duas pinças de Allis, e tracionada até o vestibulo vaginal. O cateter era introduzido através da cérvix e após atingir a luz uterina adaptava-se uma seringa contendo meio adequado (PBS + 0,4 % de BSA) para realização das lavagens uterinas, que se procedia por três vezes, num total de 100 ml em cada infusão. Em seguida, o meio era imediatamente recuperado,

colocado em repouso, e, após algum tempo, era sinfonado e o decantado levado ao estéreo microscópio para a contagem e avaliação dos embriões.

2.3.3 – Inovulação

A inovulação era realizada nas receptoras que apresentavam, pelo menos, um corpo lúteo funcional, no corno uterino ipsilateral ao ovário portador desse corpo lúteo, e a técnica utilizada consistia na visualização dos órgãos genitais com o uso de laparoscópio, onde duas aberturas de 1 – 2 cm eram feitas com um trocar, para introdução na cavidade abdominal de uma pinça de fixação dos cornos uterinos. Após exposição do corno uterino, uma pequena perfuração era realizada através da parede uterina, pelo uso de uma cânula, e a seguir, uma pipeta contendo o embrião era acoplada à cânula, e a inovulação se consumava.

2.3.4 – Diagnóstico de gestação

Entre 20 a 28 dias após a inovulação se realizava o diagnóstico de gestação através do uso de ultra-sonografia, segundo Domingues e Trein (1995). A ultra-sonografia trata-se de um método inócua, seguro e preciso.

Tabela 01 – Relação das atividades desenvolvidas durante o Estágio Supervisionado, no Laboratório de Tecnologia do Sêmen da Universidade Estadual do Ceará – UECE, Fortaleza, no período de 01 de abril a 07 de junho de 2002.

OCORRÊNCIA	CAPRINA	OVINA	TOTAL
Avaliação de sêmen	115	26	141
Coleta de sêmen	115	26	141
Coleta de embriões	04	-	04
Confecção de meio diluidor	15	05	20
Congelação de sêmen	15	05	20
Diagnóstico de gestação	-	234	234
Exame andrológico	06	05	11
Inovulação	32	-	32
Laparoscopia para visualização de CL	45	-	45
SUBTOTAL	347	301	648

3 – CONCLUSÕES

No que se refere a congelação de sêmen, a água de côco se mostrou bastante eficiente no que se refere ao sêmen caprino e ovino, prolongando a sobrevivência e fertilidade das células espermáticas o que o torna um diluidor alternativo muito interessante na implantação de um programa de inseminação artificial no sertão nordestino.

A transferência de embriões é uma moderna biotecnologia, que se bem empregada e obedecendo-se a todas as normas de execução, apresenta resultados compensadores, especialmente em se tratando do ganho genético que os rebanhos de uma região podem adquirir.

2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANUÁRIO Estatístico do Brasil. Rio de Janeiro, 1995.

DOMINGUES, E.; TREIN, E. Diagnóstico de gestação em ovinos através de ultrasonografia. A Hora Veterinária, nº 87, p. 59-61. 1995.

NUNES, J. F. Utilização da água de côco como diluidor do sêmen de caprinos e ovinos. Ciência Animal, nº 2, p. 62-69. 1997.

NUNES, J.F.; CIRÍACO, A.L.T.; SUASSUNA, U. Produção Reprodução de Caprinos e Ovinos. 2.ed. Fortaleza: Gráfica LCR, p.154-174, 1997.

NUNES, J.F.; SILVA, A.H.S. Curso de Inseminação Artificial. Juatama, Quixadá, 1999.

SANTOS D.O.; SIMPLÍCIO A.A.; MACHADO, R. Guia Prático do Inseminador de Caprinos e Ovinos. Sobral: EMBRAPA – CNPC, p.06-12, 1999.



5. ANEXOS



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL COORDENAÇÃO DE MEDICINA VETERINÁRIA CAMPUS VII - PATOS - PB	FICHA DE AVALIAÇÃO DE ESTÁGIO SUPERVISIONADO
---	--

Nome do(a) Aluno(a) FLAVIO DO NASCIMENTO ARAUJO	
Local do Estágio: FACULDADE DE VETERINÁRIA CEARA	Carga Horária
Area do Estágio: TECNOLOGIA DO SEMEN CAPRINO	Período: 03/05 a 06/06/2002

CRITÉRIOS	Nota
GRUPO I: ASPECTOS PROFISSIONAIS	
1. Qualidade do trabalho	8,0
2. Capacidade de sugerir e inovar	7,0
3. Conhecimentos	8,0
4. Volume e padrão das atividades	7,0
5. Capacidade de inquirir, aprender	7,0
6- Capacidade de tomar iniciativas	6,0
SUB-TOTAL I	43,0
GRUPO II: ASPECTOS HUMANOS	
7. Assiduidade e Pontualidade	6,0
8. Capacidade de seguir normas e regulamentos internos	6,0
9. Relacionamento com colegas e ambientes	6,0
10. Capacidade de cooperar (disponibilidade)	7,0
11. Responsabilidade	6,0
SUB-TOTAL II	31,0
MEDIA FINAL	6,72

LIMITES PARA CONCEITUAÇÃO	CONCEITUAÇÃO: Somatório dos pontos
Ate 2,0 - Sofrível	
2,1 a 4,0 - Regular	
4,1 - 6,0 - Bom	
6,1 - 8,0 - Muito bom	
8,1 - 10,0 - Excelente	

OBSERVAÇÕES: Preenchimento manuscrito no verso	data: 10/06 / Junho / 2002
---	--------------------------------------

Responsável pelo preenchimento: JOSE FERREIRA NUNES NOME (Letra de forma)	PROF. TITULAR Cargo	<i>Jose Nunes</i> Assinatura e Carimbo
--	-------------------------------	---

Composição química da água de côco das variedades côco-anão e côco da praia, colhidos aproximadamente aos 150 dias de idade e expressos em mg/100ml.

Componentes	Côco anão	Côco da praia
Sulfatos (SO ₄ -)	6,5	21,8
Fosfatos (PO ₄ -)	13,4	34,1
Magnésio	5,0	6,47
Cálcio	13,45	12,0
Sódio	12,7	14,2
Potássio	92,0	162,2
Glicose	1.830,0	1.645,0
Frutose	300,0	2.380,0
Sacarose	290,0	405,0
Proteínas	42,1	87,0
Inulina	177,8	165,0

Fonte: LAGUNA & NUNES, 1997