


**AGULHA TRU-CUT® ASSOCIADA À GUIA ULTRASSONOGRÁFICA PARA COLHEITA  
DE BIÓPSIAS DE OVÁRIO EQUINO**

**TRU-CUT® NEEDLE ASSOCIATED WITH ULTRASOUND GUIDE FOR  
COLLECTING EQUINE OVARIAN BIOPSIES**

**AGUJA TRU-CUT® ASOCIADA CON GUÍA DE ULTRASONIDO PARA LA TOMA  
DE BIOPSIAS DE OVARIO EN EQUINOS**

 <https://doi.org/10.56238/arev7n6-045>

**Data de submissão:** 05/05/2025

**Data de publicação:** 05/06/2025

**Roberto Gebe Abreu**

Doutor em Produção Animal  
Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF)  
Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, Brasil  
Email: robertogebe@yahoo.com.br

**Júlia Eller Pedretti**

Graduanda em Medicina Veterinária  
Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF)  
Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, Brasil  
E-mail: 20211300030@pq.uenf.br

**Paulo Roberto de Oliveira Almeida Filho**

Graduado em Medicina Veterinária  
Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF)  
Endereço: Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, Brasil  
Email: betoalmeida3x@gmail.com

**Eulógio Carlos Queiroz de Carvalho**

Doutor em Anatomia Patológica pela UFF  
Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF)  
Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, Brasil  
Email: eulogio@uenf.br

**Eduardo Shimoda**

Doutor em Produção Animal  
Universidade Cândido Mendes (UCAM).  
Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro  
E-mail: shimoda@ucam-campos.br

**José Frederico Straggiotti Silva**

Doutor em Medicina Veterinária pela TiHo (Alemanha)  
Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF)  
Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro  
Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, Brasil  
E-mail: straggio@uenf.br

## RESUMO

O sistema reprodutivo da fêmea equina é semelhante ao de outras espécies de monogástricos e ruminantes, porém apresenta características anatômicas única na espécie. A abordagem do sistema reprodutivo da fêmea equina apresenta, ao operador, barreiras anatômicas que dificultam exames mais detalhados dos órgãos do sistema reprodutivo, em especial aos dos ovários. Utilizou-se um grupo de éguas (n=10), no qual o uso de agulha Tru-cut® associada à guia ultrassonográfica pela via transvaginal possibilitou a colheita de material ovariano em menor volume comparado ao da técnica de biópsia convencional. A comparação das imagens microscópicas do material coletado do grupo de éguas in vivo com as do grupo-controle post mortem não diferiram significativamente entre si ( $P>0,05$ ). As tramas teciduais do material ovariano coletado (celular, túrgida e colagenizada), definidas no material histológico, por meio da microscopia, por nível de celularidade e coloração de pixels, determinada pelo uso de software específico, diferiram entre si ( $P<0,05$ ), quando os resultados foram comparados com os do grupo controle (post mortem). Utilizou-se o grau de assimetria, nível organizacional e cromatismo do núcleo celular para a análise de dados. A utilização da agulha Tru-cut® demonstrou uma técnica com representatividade nos resultados por meio da comparação das imagens microscópicas pela coloração de pixels. Também não foram observadas alterações nos padrões fisiológicos reprodutivos, pós-colheita, dos animais utilizados no experimento.

**Palavras-chave:** Égua. Ovário. Biópsia. Agulha Tru-cut®.

## ABSTRACT

The reproductive system of the female horse is similar to that of other monogastric and ruminant species, but presents anatomical characteristics unique to the species. The approach to the reproductive system of the female horse presents the operator with anatomical barriers that hinder more detailed examinations of the organs of the reproductive system, especially the ovaries. A group of mares (n=10) was used, in which the use of a Tru-cut® needle associated with ultrasound guidance via the transvaginal route allowed the collection of ovarian material in a smaller volume compared to the conventional biopsy technique. The comparison of the microscopic images of the material collected from the group of mares in vivo with those of the post mortem control group did not differ significantly from each other ( $P>0.05$ ). The tissue patterns of the collected ovarian material (cellular, turgid and collagenized), defined in the histological material, by means of microscopy, by level of cellularity and pixel staining, determined by the use of specific software, differed from each other ( $P<0.05$ ), when the results were compared with those of the control group (post mortem). The degree of asymmetry, organizational level and chromatism of the cell nucleus were used for data analysis. The use of the Tru-cut® needle demonstrated a technique with representativeness in the results through the comparison of microscopic images by pixel staining. Also, no changes were observed in the reproductive physiological patterns, post-harvest, of the animals used in the experiment.

**Keywords:** Mare. Ovary. Biopsy. Tru-cut® needle.

## RESUMEN

El sistema reproductivo de la yegua es similar al de otras especies monogástricas y ruminantes, pero presenta características anatómicas únicas de la especie. El abordaje del sistema reproductivo de la yegua presenta al operador barreras anatómicas que dificultan exámenes más detallados de los órganos del sistema reproductivo, especialmente los ovarios. Se utilizó un grupo de yeguas (n=10), en el que el uso de una aguja Tru-cut® asociada con guía ecográfica por vía transvaginal permitió la recolección de material ovárico en un volumen menor en comparación con la técnica de biópsia convencional. La comparación de las imágenes microscópicas del material recolectado del grupo de yeguas in vivo con

las del grupo control post mortem no difirió significativamente entre sí ( $P > 0,05$ ). Los patrones tisulares del material ovárico recolectado (celular, turgente y colagenizado), definidos en el material histológico mediante microscopía, por el nivel de celularidad y la tinción de píxeles, determinados mediante un software específico, difirieron entre sí ( $P < 0,05$ ) al comparar los resultados con los del grupo control (post mortem). El grado de asimetría, el nivel de organización y el cromatismo del núcleo celular se utilizaron para el análisis de datos. El uso de la aguja Tru-cut® demostró una técnica con representatividad en los resultados mediante la comparación de imágenes microscópicas por tinción de píxeles. Además, no se observaron cambios en los patrones fisiológicos reproductivos poscosecha de los animales utilizados en el experimento.

**Palabras clave:** Yegua. Ovario. Biopsia. Aguja Tru-cut®.

## 1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de trabalhos relacionados à biopsia ovariana em éguas tem evoluído. As técnicas reprodutivas assistidas têm participação fundamental na evolução do processo, uma vez que alguns órgãos do complexo aparelho reprodutivo feminino (útero, trompas e ovários) permanecem localizados na cavidade abdominal, limitados por barreiras naturais. A abordagem clínica dos órgãos do aparelho reprodutor feminino pode apresentar alterações anatômicas, funcionais, inflamatórias, infecciosas ou não, responsáveis por grande número de éguas vazias ao final de uma temporada reprodutiva anual. Os ovários, em especial, devem ser mais bem avaliados, diminuindo-se o espaço entre o quadro clínico e o diagnóstico. O exame histopatológico do fragmento obtido por biopsia de órgão suspeito é essencial para o estabelecimento de diagnósticos e prognósticos mais precisos (Bunch *et al.*, 1985). Néspoli *et al.* (2010), em estudo com órgão situado na cavidade abdominal, citam que, embora tenham sido obtidos resultados positivos com o uso de algumas técnicas e instrumentos diversos, não existem artigos disponíveis que comparem, de forma ampla, os efeitos das técnicas sobre os animais experimentais, nem que confrontem a representatividade e a qualidade das amostras obtidas mediante diferentes técnicas. A utilização de agulha Tru-cut® associada à guia ultrassonográfica procede-se à coleta de material ovariano, através da via natural transvaginal, com dimensões representativas suficientes para a avaliação histopatológica e o diagnóstico de melhor precisão.

## 2 JUSTIFICATIVA

A reprodução é considerada uma função fisiológica elitista, por requerer o adequado funcionamento dos demais sistemas e funções biológicas, para que a mesma possa acontecer normalmente, e assim, quaisquer que sejam as origens dos distúrbios que afetem os demais sistemas corporais, em geral, terão potenciais efeitos sobre a reprodução (Ricketts 2005).

O descarte é inevitável nas fêmeas que apresentam ineficiência sem que, em muitas ocasiões, se tenha uma análise mais detalhada de cada caso. Este fato pode estar associado a vários fatores dentre eles a falha na detecção precoce de indivíduos com alguma patologia reprodutiva como patologias do ovário.

A realização de biopsia endometrial e de citologia uterina é comumente indicada para garantir que a fertilidade não seja influenciada por patologias uterinas. Na espécie equina, a análise histopatológica de biopsias de endométrio é indicada como método auxiliar no prognóstico do futuro reprodutivo. As informações obtidas são de grande importância na avaliação do potencial reprodutivo, portanto, indicada no exame ginecológico de qualquer égua não gestante em programa de reprodução assistida. Por meio de uma única biopsia, é possível chegar ao diagnóstico preciso das condições

uterinas e ao prognóstico quanto à capacidade do endométrio de levar a gestação a termo (Silva *et al.*, 1987; Kenney 1990). A biópsia do endométrio é de fácil execução e, além de segura, pode ser realizada pelo veterinário de campo e não afeta as taxas de concepção pós-coleta, desde que medidas adequadas de higiene sejam adotadas (Watson; Sertich, 1992). A biópsia ovariana poderia se tornar um procedimento bastante útil a ser introduzido no exame ginecológico da égua de cria.

Apesar de poucos estudos relacionados aos equídeos, as alterações dos ovários estão relacionadas com o desenvolvimento (hipoplasia, ovários afuncionais), e a circulação (hematoma). Tais alterações podem ainda ser regressivas (hipotrofia, fibrose, cistos), ou progressivas (neoplasias - Tumor das Células da Granulosa - TCG). Há uma grande variedade de causas para o aumento no tamanho dos ovários em éguas, incluindo causas neoplásicas e não neoplásicas (Nie; Momont, 1992). Dentre as causas neoplásicas, o tecoma é a mais rara (Raoofi *et al.*, 2006). Neoplasias primárias em ovários de espécies domésticas são achados relativamente comuns. Dos tipos de neoplasias ovarianas em éguas, o tipo mais frequente é o tumor das células da granulosa – TCG, que abrange 2,5% de todos os tumores que ocorrem nesta espécie (Abderhalden 2002). Segundo McCue (2000), esse tipo de tumor ocorre sempre unilateralmente, e cresce de forma impressionante, podendo chegar a pesar 3,6 Kg. É um tipo de tumor de caráter benigno, que determina atrofia e, na maioria das vezes, inatividade do ovário contralateral (Mckinnon; Voss, 1992).

Sartori *et al.* (2002a) avaliaram a aplicabilidade de uma técnica menos invasiva (biópsia com agulha Tru-cut®), em ovinos, na obtenção de material dos testículos para histologia e acompanharam as lesões posteriores. Exames ultrassonográficos foram realizados pré e pós-biópsia. A ultrassonografia permitiu mapear as alterações ocorridas e acompanhar a evolução das sequelas. A utilização de agulha Tru-cut® e o acesso da técnica para colheita de amostras de ovário equino seguem, exatamente, os procedimentos da técnica de aspiração folicular transvaginal guiada por ultrassom (OPU) que atualmente é de amplo uso. A técnica foi descrita como sendo prática, pouco invasiva e repetível (Vanderwall *et al.*, 2005).

### 3 OBJETIVOS

O presente estudo comparou o método que utiliza a agulha Tru-cut® associada à guia ultrassonográfica, para colheita de amostras de ovário equino (*in vivo*), com o do grupo-controle, composto por fragmentos *post mortem* colhidos anteriormente com agulha Tru-cut® em abatedouro equino. Como nas cirurgias minimamente invasivas, o manuseio exequível e preciso da técnica, para diagnóstico de alterações histopatológicas, torna-se uma ferramenta de diagnóstico. O objetivo do

presente estudo é comprovar a representatividade das amostras colhidas *in vivo* por guia ultrassonográfica e demonstrar a viabilidade do procedimento.

#### 4 REFERENCIAL TEÓRICO

Comumente, a biopsia ovariana em éguas realiza-se após exérese do órgão, tecnicamente através da ovariectomia ou necropsia, e procede pelo método Padrão (biopsia com bisturi convencional e material seccionado na maioria das vezes em forma de cunha elíptica), que é uma técnica extensamente aceita e demonstra poucas limitações na obtenção de amostras, de caráter excisional com aproximadamente 15,0 x 5,0 x 5,0 mm e alteração mínima na qualidade das lâminas histológicas.

A biopsia com agulha Tru-cut® é utilizada para expressar técnicas de obtenção de uma amostra tecidual mediante a utilização de agulhas especiais que seccionam um hemcilindro de lesão, permitindo a avaliação histológica por esta técnica minimamente invasiva, que é a punção transcutânea (Irion *et al.*, 2006).

Sartori *et al.* (2002a), avaliou a aplicabilidade de uma técnica menos invasiva (biopsia com agulha Tru-cut®), em ovinos, na obtenção de material dos testículos para histologia e acompanhou as lesões posteriores. Exames ultrassonográficos foram realizados pré- e pós-biopsia. A ultrassonografia permitiu mapear as alterações ocorridas e acompanhar a evolução das sequelas. Santoro (2014) trabalhou na realização de biopsia testicular por punção com agulha Tru-cut® na espécie equina, com avaliação ultrassonográfica das gônadas, análise espermática e teste de imunogenicidade espermática.

Tostes e Bandarra (2002) compararam biopsias hepáticas procedidas com agulhas aspirativa tipo Menghini® e cortante tipo Tru-cut®, utilizando técnica percutânea transabdominal em 60 cães portadores de afecções hepáticas. As amostras de tecido hepático colhidas com essas agulhas foram comparadas ao exame histológico *post-mortem* do fígado desses animais, havendo maior concordância de acertos (88,3%) com a agulha Tru-cut®.

Estudo comparativo envolvendo pinça de biopsia de 5 mm e a agulha Tru-cut® em biopsias renais guiadas por laparoscopia foi realizado em 10 equinos hígidios, distribuídos aleatoriamente em dois grupos (Tabet *et al.*, 2005). Os autores consideraram a biopsia renal com o uso de pinça como sendo a mais adequada, em virtude da obtenção de fragmentos maiores para exame histológico.

A utilização de agulha Tru-cut® e o acesso da técnica para colheita de amostras de ovário equino seguem os padrões da técnica de aspiração folicular transvaginal guiada por ultrassom (OPU). O primeiro grupo de pesquisadores que descreveu a aspiração folicular transvaginal em éguas foi o de Brück (1992). Fundamentados na técnica utilizada em programas humanos e bovinos, a equipe aspirou folículos pré-ovulatórios com um transdutor setorial conectado a um aparelho de ultrassom, cujo

monitor indicava em sua tela, a linha de punção (Rodrigues 2018; Franco 2006). A técnica foi descrita como sendo prática, pouco invasiva e repetível (Vanderwall *et al.*, 2005).

Apesar de poucos estudos relacionados aos equídeos, as alterações dos ovários estão relacionadas com o desenvolvimento (hipoplasia, ovários afuncionais), e a circulação (hematoma), que podem ser ainda regressivas (hipotrofia, fibrose, cistos), ou progressivas (neoplasias - Tumor das Células da Granulosa - TCG). Há uma grande variedade de causas para o aumento no tamanho dos ovários em éguas, incluindo causas neoplásicas e não neoplásicas (Nie; Momont, 1992). Entre as causas não neoplásicas, estão os hematomas (hematocistos), abscessos ovarianos e as torções de ovário (Sedrish *et al.*, 1997). Dentre as causas neoplásicas, o tecomoma é a mais rara (Nóbrega *et al.*, 2008). Neoplasias primárias em ovários de espécies domésticas são achados relativamente comuns. No entanto, são mais comumente descritas em vacas e 14 cadelas. Embora seja baixa a ocorrência de neoplasias ovarianas em éguas, o tipo mais frequente é o tumor das células da granulosa – TCG (McCue, 1998), que exprime 2,5% de todos os tumores que ocorrem nesta espécie (Abderhalden 2002). As neoplasias tem como origem o epitélio superficial. Os TCG tem origem no estroma especializado do ovário, sendo considerados como tumores do estroma dos cordões sexuais (Jones 1997). Segundo McCue (2000), esse tipo de tumor ocorre sempre unilateralmente, e cresce de forma impressionante, podendo chegar a pesar 3,6 Kg. É um tipo de tumor de caráter benigno, que determina atrofia e, na maioria das vezes, inatividade do ovário contralateral. Essa inibição pode estar associada ao hormônio inibina produzido, que suprime a estimulação folicular pela pituitária do hormônio folículo estimulante (FSH), secretado (Abderhalden 2002). Avaliações da concentração hormonal no sangue podem ser de grande valia na conclusão do caso e associação à patologia.

Como na técnica de origem (OPU), os riscos de procedimentos infiltrativos podem ou não alterar o funcionamento do órgão envolvido. Em 1993, a equipe de Bracher descreveu o efeito de quatro aspirações foliculares em ovários (*post-mortem*) de uma égua, seis semanas após a última aspiração. O estudo revelou diversas aderências na superfície e pequenas e múltiplas áreas circulares de hemorragia no estroma. Já em 2001, Weber e colaboradores descreveram complicações clínicas em três éguas após a realização de procedimento semelhante (tratamento intraluteal). Eles descreveram sinais clínicos consistentes com infecção ovariana persistente, incluindo massa luteal ecogênica, dor no ovário durante a palpação retal, cólica intermitente, pirexia, perda de peso e adesões entre o ovário afetado e estruturas adjacentes. Vanderwall e Woods (2002) relataram um caso de severa hemorragia interna após uma sessão de aspiração folicular. A hemorragia ocorreu possivelmente por rompimento da artéria uterina esquerda, causado pela agulha de punção. A eutanásia foi realizada devido ao prognóstico desfavorável. Em vacas, também já foram descritas complicações decorrentes da aspiração



folicular. Em 2002, Snel-Oliveira *et al.* observaram lesões histológicas evidenciando o efeito direto da intervenção devido a micro traumas (fibrose capsular e possível atresia folicular patológica), ou a consequências secundárias (atresia folicular consequente de uma inibição da ovulação), sugerindo que alterações patológicas quando em grande número, podem alterar a função ovariana.

Viana *et al.* (2003), avaliaram lesões no trato genital de fêmeas bovinas utilizadas como doadoras de oócitos através da técnica de punção folicular, via transvaginal, menos invasiva, e que também pode ocasionar alterações morfológicas e funcionais nos ovários, cuja significância está proporcionalmente relacionada ao número de sessões de punção ao qual as doadoras são submetidas e, ao número médio de estruturas recuperadas por sessão de coleta.

Éguas foram submetidas a exames ultrassonográfico após cada aspiração e nenhuma alteração foi encontrada com exceção de duas éguas nas quais o corpo lúteo (CL) não se formou após aspiração de folículo do estro. Das 20 éguas envolvidas neste estudo, 10 foram inseminadas artificialmente com sêmen fresco de um único garanhão fértil no primeiro cio espontâneo após a aspiração anterior. Das 10 éguas inseminadas, sete estavam prenhes 16, 30 e 50 dias após a inseminação artificial (IA), indicando que aspiração transvaginal guiada por ultrassons repetidos não afetaram adversamente a fertilidade (Gaetano *et al.*, 2005).

## 5 MATERIAL E MÉTODOS

A comissão de ética de uso de animais (CEUA – UENF), protocolo 164, autorizou o experimento, inicialmente procedeu-se com a avaliação e escolha dos animais, seguidos da colheita de material ovariano. Foram utilizadas dez éguas mestiças na formação do grupo de éguas *in vivo*, criadas a campo, do lote de matrizes da tropa de serviço da Fazenda Fortaleza no Município de Rio Maria – PA. Características como aparelho reprodutor fisiologicamente ativo, gestações a termo anteriores, escore corporal, aspecto saudável e condição de “vazia” foram fundamentais na escolha dos animais para a colheita de material e desenvolvimento do projeto. Os animais foram identificados, com marca a quente, em numeral vertical na coxa direita, posição caudal superior. A idade das éguas variou entre 6 e 10 anos no início do experimento. Os animais foram avaliados em tronco de contenção para equídeos, localizado em área coberta. Previamente à colheita do fragmento ovariano, as éguas foram submetidas ao exame ginecológico, estabelecendo-se a fase do ciclo estral, bem como as características individuais, em termos de função ovariana e uterina, ainda foram submetidas à palpação retal e ao exame ultrassonográfico. O grupo-controle *post mortem* constituiu-se por lâminas histopatológicas obtidas de estudo anterior, procedente de material colhido de ovários com agulha Tru-cut® em abatedouro de equídeos, no Município de Itapetinga – BA. Após o período de colheita de material para

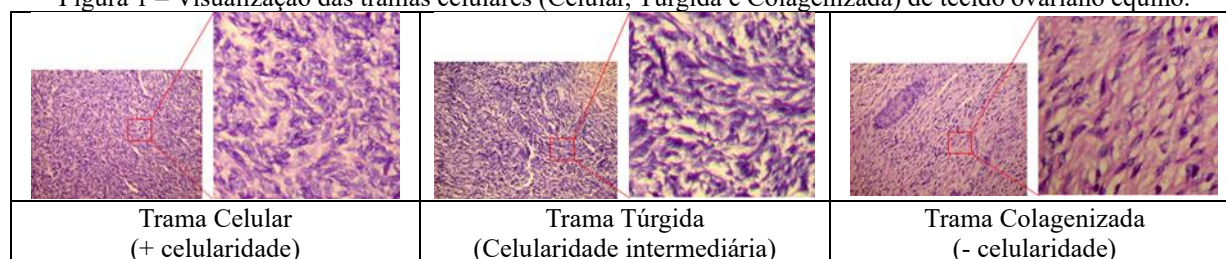


o experimento, o grupo de éguas permaneceu alojado na fazenda Fortaleza por um período de tempo relativo a duas temporadas de monta controlada. A temporada de monta controlada 2011/2012 teve início em outubro/2011, quando foram avaliados os animais coletados em abril/2011. O mesmo procedimento se repetiu na temporada de monta controlada seguinte, 2012/2013. Com relação ao procedimento da região da genitália externa procedeu-se à descontaminação dos tecidos vivos por meio de dois processos coordenados: a) Degermação - solução detergente de cloroheixidina a 4% e b) Antissepsia - solução degermante de PVPI a 10% (1% de iodo ativo). O exame ultrassonográfico utilizou equipamento (MINDRAY, DP-2200, China) com transdutor endorretal linear, multifrequência 75L50EAV, ajustado na frequência de 5,0 Mhz para definição de imagem, nas avaliações inicial e subsequentes. No procedimento de colheita de fragmento ovariano, utilizou-se o transdutor setorial multiangular de 5,0-7,5 Mhz acoplado à guia de aspiração WTA (Watanabe – Produtos Veterinários). Além do transdutor, a guia também fixa a agulha de biopsia tipo Tru-cut® semiautomática 14Gx600 mm. Após lubrificação com gel asséptico (KY®), a guia com o transdutor acoplado era introduzido através da vagina até a região de fundo de saco (fórnice). O plano tecidual do fôrnice, local da punção, respondeu bem à anestesia (15 minutos), com agente à base de cloridrato de lidocaína 1% (Xylocaína - pomada; Hoechst Marion Roussel S.A., São Paulo, SP), em posição relativa ao lado que se manuseava (direito ou esquerdo), não interferindo diretamente no tempo do procedimento. Com o auxílio da mão oposta, introduzida no reto, a fim de tracionar o respectivo ovário, utilizou-se pressão digital, dando condições para que o procedimento de colheita fosse efetuado pela indicação da imagem ultrassonográfica, que orienta a introdução da agulha de biopsia no ovário, para a captura e retirada do fragmento.

As amostras colhidas e retiradas da “gaveta” da agulha Tru-cut® foram acondicionadas em frascos com o número de identificação do animal, em solução de formalina neutra 10% tamponada e processadas no Laboratório de Morfologia e Patologia Animal (LMPA), da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF). Após a fixação do material colhido em solução de formalina neutra 10% tamponada, por no mínimo 12 horas, as amostras passaram pelo processamento histopatológico de rotina para inclusão em parafina - desidratação, diafanização e impregnação (Humason 1972). Cortes micrométricos foram realizados após, com 4,0 a 6,0 µm de espessura, e as fitas colocadas em banho-maria. Após distensão destas, foram transferidas para lâminas de vidro recobertas com fina camada de albumina, facilitando a adesão e iniciando a montagem. Na técnica de coloração histológica utilizou-se Hematoxilina e Eosina. A colocação de uma gota de resina líquida sobre o corte aderido à lâmina e a cobertura com lamínula encerraram o processamento das amostras para posterior análise por meio de microscopia óptica. As lâminas analisadas definiram parâmetros e

rotulagem dos planos teciduais, à luz da microscopia óptica (OLYMPUS BX41, U-MDOB3, Japão), no aumento 200x. Em sequência, as imagens fotográficas das tramas teciduais foram obtidas por câmera fotográfica digital (NIKON COOLPIX, 995, Japão) acoplada, utilizando aumento 200x e Zoom 4.5. As tramas teciduais ovarianas definidas inicialmente por Abreu (2010), como Celular, Túrgida e Colagenizada, para avaliação, foram utilizadas no grupo-controle e comparadas com as dos resultados obtidos das colheitas do grupo de éguas *in vivo*. A biopsia forneceu maior fidelidade à histologia pela celularidade que corresponde à proporção entre tecidos ou áreas de um mesmo tecido avaliado. A celularidade define a uniformidade das células, oposto ao conjunto de células em que há perda da orientação arquitetural. Portanto, as tramas se definem como Celular: distribuição sem polaridade (+celularidade); Túrgida: distribuição monótona (celularidade intermediária); Colagenizada: distribuição em feixe modelado (-celularidade) (Fig. 2).

Figura 1 – Visualização das tramas celulares (Celular, Túrgida e Colagenizada) de tecido ovariano equino.



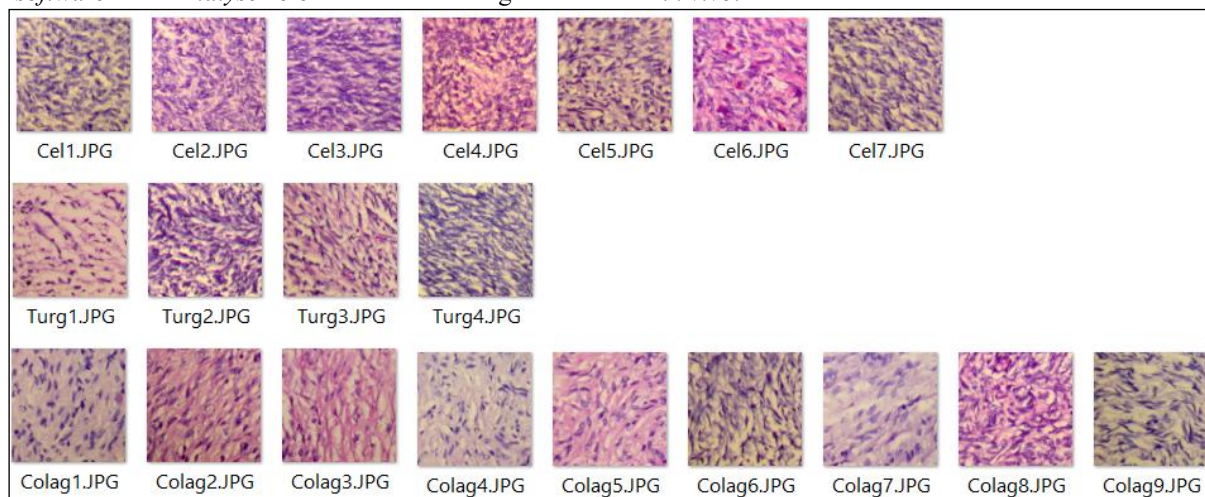
Fonte: Elaborado pelos autores.

Foi realizada a formatação gráfica das lâminas histológicas para o tratamento de imagens, por frequência de tonalidade, quando se utilizou um *software* objetivo (*Pixel Analyser 6.6*) para avaliação destas imagens (análise da densidade de coloração dos *pixels* pela celularidade nos planos teciduais – assimetria, nível organizacional das células, cromatismo do núcleo celular), e sua posterior comparação analítica. De acordo com Fonseca (2011), dá-se a nomenclatura de assimetria ao grau de afastamento de uma distribuição da unidade de simetria. Uma distribuição é simétrica quando seus valores de Média, Mediana e Moda coincidem. A comparação entre o valor da Média e o valor da Moda oferece uma indicação da inclinação da distribuição. A avaliação dos *pixels* por assimetria determina maior ou menor concentração de núcleos celulares de acordo com a tonalidade, onde 0 (zero)=preto, e 10 (dez)=branco (x 100). Para a avaliação do nível organizacional das células padronizou-se uma escala de 0 – 5, para diferenciar as tramas teciduais numa interpretação: de 0 – 1 = Trama colagenizada (-celularidade); de 2 – 3 = Trama túrgida (celularidade intermediária); de 4 – 5 = Trama celular (+celularidade). A avaliação do cromatismo do núcleo celular, de forma simples, diferenciou as tramas

teciduais numa escala padronizada de 0 – 5, interpretadas como: de 0 – 1 = Hipocromatismo; de 2 – 3 = Normocromatismo; de 4 – 5 = Hiperchromatismo

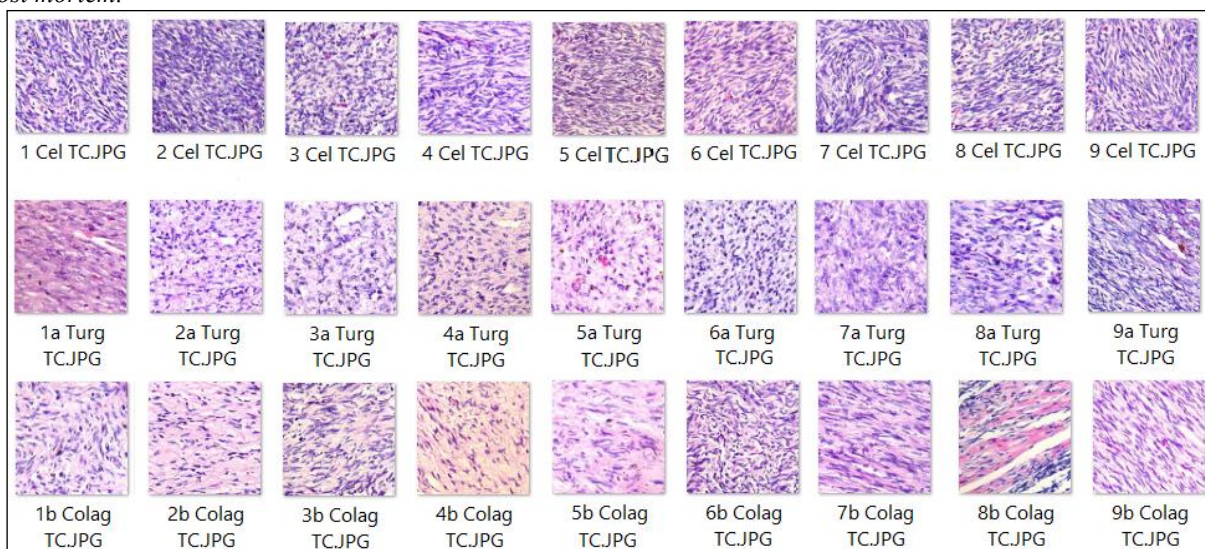
As imagens utilizadas, para comparação e frequência de tonalidade pelo *pixel analyser*, seguem na mesma configuração (474 x 474 *pixels*), Figura 2 e Figura 3.

Figura 3 – Imagem das tramas seleccionadas de tecido ovariano de éguas (celular, túrgida, colagenizada), para avaliação pelo *software Pixel Analyser 6.6* – Colheita com agulha Tru-cut® *in vivo*.



Fonte: Elaborado pelos autores.

Figura 3 – Imagem das tramas seleccionadas de tecido ovariano de éguas (celular, túrgida, colagenizada), para avaliação pelo *software Pixel Analyser 6.6* – Colheita com agulha Tru-cut® *post mortem*. Imagem *Pixel Analyser* – Lâminas Tru-cut® – *post mortem*.



Fonte: Elaborado pelos autores.

A análise estatística utiliza o aplicativo SAEG 9.1 para obter parâmetros da estatística descritiva – Média (medida de tendência central, utilizada para obter a medida de posição que possui a maior estabilidade entre os valores observados na amostra); Erro-padrão (representa o quanto a média da

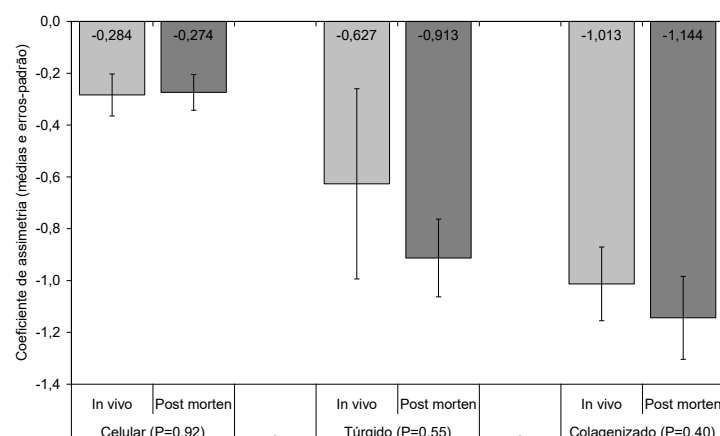


amostra se aproxima da média da população); Intervalo de confiança ( $P=0,95$ ) (Pimentel Gomes 1966) em relação à tonalidade dos pixels, de acordo com a trama tecidual (celular, túrgida ou colagenizada), e modo de colheita (*in vivo* ou *post mortem*). Utilizaram-se dez fêmeas equinas *in vivo*, cuja colheita de material, analisado microscopicamente, gerou duas tramas teciduais aleatórias entre celular, túrgida ou colagenizada, por animal *in vivo*. No grupo-controle (*post mortem*), a mesma avaliação gerou três tramas teciduais por animal.

## 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verifica-se na figura 4 o grau de assimetria das células em amostra de tecido ovariano de acordo com a trama tecidual e modo de colheita Tru-cut® em éguas.

Figura 4 – Coeficiente de assimetria das células em amostra de tecido ovariano de acordo com a trama tecidual (celular, túrgida ou colagenizada) e o modo de colheita Tru-cut® em éguas (*in vivo* ou *post mortem*).



Fonte: Elaborado pelos autores.

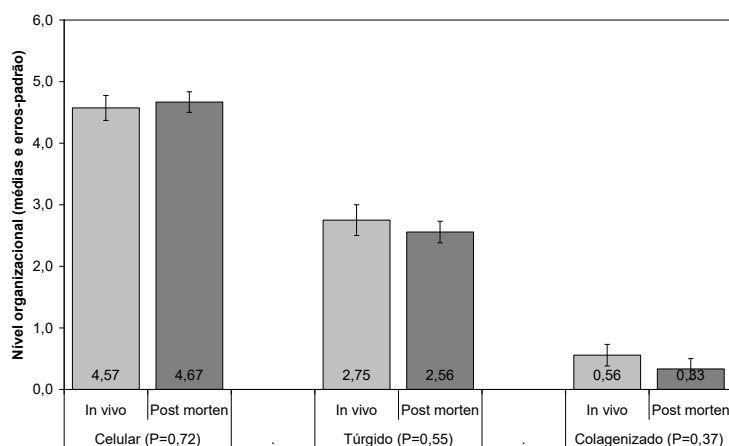
A determinação da tonalidade de *pixels* das imagens das tramas teciduais definidas e a frequência de distribuição das tonalidades foram comparadas entre os modos de colheita de material ovariano, com agulha Tru-cut®, *in vivo* e *post mortem*. A comparação de dados não pareados demonstrou resultados que tendem à simetria com variação para assimetria à esquerda ou negativa, demonstrando maior ou menor concentração de *pixels* escuros ou claros, respectivamente, pela tonalidade nos núcleos celulares. O grau de assimetria das células em amostras de tecido ovariano diferiu entre si em relação à diferença entre as tramas teciduais identificadas (celular, túrgida e colagenizado). Observa-se que os graus de assimetria para cada um dos três planos (celular, túrgido e colagenizado) não diferem entre si independentemente do método de coleta (*in vivo* ou *post mortem*). No plano celular verificaram-se graus de assimetria de -0,284 e -0,274 para os métodos *in vivo* e *post mortem*, respectivamente, não havendo diferença significativa ( $P=0,92$ ). No plano túrgido verificaram-

se graus de assimetria de -0,627 e -0,913 para os métodos *in vivo* e *post mortem*, respectivamente, não havendo diferença significativa ( $P=0,55$ ) e no plano colagenizado, verificaram-se graus de assimetria de -1,013 e -1,144 para os métodos *in vivo* e *post mortem*, respectivamente, não havendo diferença significativa ( $P=0,40$ ). Percebe-se, empiricamente, que os graus de assimetria dos três planos são diferentes entre si, sendo os valores em torno de -0,30 no plano celular, -0,80 no túrgido e -1,0 no colagenizado.

Observa-se, na figura 5, o nível organizacional das células em amostra de tecido ovariano de acordo com a trama tecidual e modo de colheita Tru-cut em éguas. Os resultados da figura 5 demonstraram que o nível organizacional das células diferiu entre si em relação à diferença entre as tramas teciduais identificadas. Verifica-se, empiricamente, que os graus do nível organizacional dos três planos são diferentes entre si, sendo os valores em torno de 4,5 no plano celular, 2,6 no túrgido e 0,45 no colagenizado.

Já com relação ao modo de colheitas das biópsias observa-se que o nível organizacional para cada um dos três planos (celular, túrgido e colagenizado) não diferem entre si independentemente do método de coleta (*in vivo* ou *post mortem*). No plano celular verificaram-se graus do nível organizacional de 4,57 e 4,67 para os métodos *in vivo* e *post mortem*, respectivamente, não havendo diferença significativa ( $P=0,72$ ). No plano túrgido verificaram-se graus do nível organizacional de 2,75 e 2,56 para os métodos *in vivo* e *post mortem*, respectivamente, não havendo diferença significativa ( $P=0,55$ ) e no plano colagenizado verificaram-se graus do nível organizacional de 0,56 e 0,33 para os métodos *in vivo* e *post mortem*, respectivamente, não havendo diferença significativa ( $P=0,37$ ).

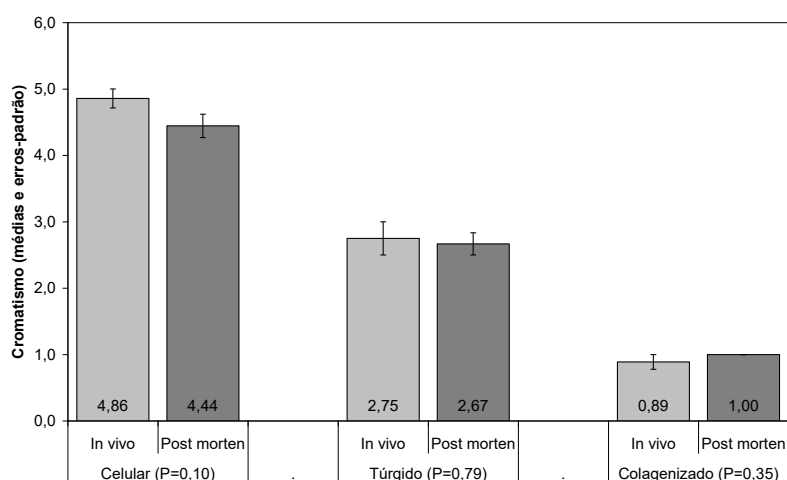
Figura 5 – Nível organizacional das células em amostra de tecido ovariano em éguas, de acordo com a trama tecidual (celular, túrgida ou colagenizada) e o modo de colheita Tru-cut® em éguas (*in vivo* ou *post mortem*).



Fonte: Elaborado pelos autores.

A figura 6 mostra o cromatismo do núcleo celular em amostra de tecido ovariano de acordo com a trama tecidual e modo de colheita Tru-cut® em éguas. Comparando-se os modos de colheita, em cada trama tecidual, não se verificaram diferenças significativas ( $P>0,05$ ) em nenhum dos casos, o que evidencia que tanto o modo de colheita Tru-cut® *in vivo*, quanto o Tru-cut® *post mortem*, apresentam similaridade no nível de cromatismo do núcleo celular, independentemente da trama tecidual.

Figura 6 – Cromatismo do núcleo celular em amostra de tecido ovariano de acordo com a trama tecidual (celular, túrgida ou colagenizada) e o modo de colheita Tru-cut® em éguas (*in vivo* ou *post mortem*).



Fonte: Elaborado pelos autores.

Já se percebe, empiricamente, que os graus de cromatismo do núcleo celular dos três planos são diferentes entre si, sendo os valores em torno de 4,6 no plano celular, 2,7 no túrgido e 0,9 no colagenizado.

Na avaliação da fisiologia reprodutiva, o grupo de éguas *in vivo*, observado e avaliado por ultrassonografia nas duas temporadas de monta controladas subsequentes ao procedimento de colheita de material ovariano com agulha Tru-cut® mediante a guia ultrassonográfica, demonstrou não apresentar quaisquer alterações do complexo reprodutivo. Em ambas as temporadas de monta controladas foram obtidas prenhes positivas de 100% dos animais do experimento. O que corrobora com o verificado por Franco (2006) que as lesões ovarianas causadas pela agulha de aspiração não afetam a função ovariana no ciclo subsequente, em éguas crioulas, mesmo sendo o ovário que irá ovular, o mesmo anteriormente aspirado. Gaetano *et al.* (2005) confirmam que em éguas submetidas a exames ultrassonográfico após cada aspiração nenhuma alteração foi encontrada com exceção de duas éguas nas quais o corpo lúteo (CL) não se formou após aspiração de folículo do estro. Das 20 éguas envolvidas neste estudo, 10 foram inseminadas artificialmente com sêmen fresco de um único garanhão fértil no primeiro cio espontâneo após a aspiração anterior. Das 10 éguas inseminadas, 7

estavam prenhes 16, 30 e 50 dias após a inseminação artificial (IA), indicando que aspiração transvaginal guiada por ultrassom repetidos não afetaram adversamente a fertilidade.

Segundo Viana *et al.* (2003), um outro fator que pode dificultar o estabelecimento mais preciso da relação entre intensidade de punção e ocorrência de lesões é o tipo de agulha utilizado. É relatada a utilização de agulhas com calibres 17 (Gibbons *et al.*, 1994; Fry *et al.*, 1998; Schernthaner *et al.*, 1999); calibres 18 (Stubblings; Walton, 1995; Boni *et al.*, 1997); calibres 19 (Machatková *et al.*, 2000); e calibres 20 (Bols *et al.*, 1996b); Gauge descartáveis (Machatková *et al.*, 2000) ou não (Vos *et al.*, 1994; Stubblings; Walton, 1995; Boni *et al.*, 1997). Agulhas de menor calibre apresentam menor área de corte, sendo potencialmente menos danosas ao tecido, enquanto agulhas descartáveis, por terem o bisel mais afiado, exercem menor pressão sobre as estruturas puncionadas (Bols *et al.*, 1997). A baixa incidência de lesões em animais submetidos a até 20 sessões de punção é coerente com a observação de que o procedimento não causa, necessariamente, comprometimento da fertilidade (Gibbons *et al.*, 1994). O uso de agulhas de menor diâmetro (19 e 20 G) e descartáveis pode ter contribuído para reduzir a extensão das lesões decorrentes das punções. Nos animais submetidos a mais de 20 sessões, a incidência de alterações macroscópicas e histológicas aumentou significativamente. A frequência das punções, neste caso, pode ter sido superior à capacidade de regeneração do órgão (Santl *et al.*, 1998). No trabalho de biopsia testicular em equinos utilizando agulha Tru-cut®, Santoro (2014) dividiu o experimento em dois períodos (pré e pós-biopsia). Na análise espermática, não foi verificada diferença estatística significativa entre as coletas, mostrando que a técnica não provoca alterações na espermatogênese do garanhão. Ao exame ultrassonográfico, foram observadas pequenas lesões, fato que corrobora com outros autores (Harrington *et al.*, 1996; Sartori *et al.*, 2002a). Sugere-se neste trabalho ser uma técnica segura e capaz de colher material adequado para a análise histológica, podendo ser indicada como exame complementar diagnóstico. Foi realizado por Sartori *et al.* (2002) o procedimento em órgão reprodutivo similar *in vivo*, quando se demonstrou que a biopsia com agulha Tru-cut® em ovinos forneceu material suficiente para histologia, sendo o procedimento seguro, por não comprometer significativamente as características estruturais e funcionais dos testículos. O presente experimento desenvolveu um instrumento tecnológico para a comparação de imagens, por tonalidade de *pixels* do material tratado, propiciando condições objetivas para a avaliação dos resultados.

## 6 CONCLUSÃO

A utilização de agulha Tru-cut® associada à guia ultrassonográfica, para colheita de amostras de ovário equino *in vivo*, mostrou-se eficiente, com representatividade no comparativo com a colheita de amostras de ovário equino *post mortem*. O procedimento da biópsia e o fato de ser realizada uma



única punção não demonstraram alterações nos ciclos reprodutivos em duas temporadas de monta controlada subsequentes.

## REFERÊNCIAS

ABDERHALDEN-TELFER, K. Class of 2002. In: JANOVITZ, E. (Ed.). ADDL newsletter. West Lafayette: Purdue University, 2003. Disponível em: <https://www.addl.purdue.edu/newsletters/2003/winter/Granulosatheca.shtml>. Acesso em: 12 mar. 2023.

ABREU, R. G.; SILVA, J. F. S.; CARVALHO, E. C. Q.; SHIMODA, E. Colheita de amostra de ovário para biopsia (Tru-Cut) em éguas. PubVet, v. 5, n. 26, p. 1-14, 2011. Disponível em: <https://ojs.pubvet.com.br/index.php/revista/article/view/2241>. Acesso em: 23 fev. 2025.

BOLS, P. E. J.; YSEBAERT, M. T.; VAN SOOM, A.; DE KRUIF, A. Effects of needle tip bevel and aspiration procedure on the morphology and developmental capacity of bovine compact cumulus oocyte complexes. Theriogenology, v. 47, p. 1221-1236, 1997. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X97001027>. Acesso em: 11 nov. 2024.

BONI, R.; ROELOFSEN, M. W. M.; PIETERSE, M. C.; KOGUT, J.; KRUIP, T. A. M. Follicular dynamics, repeatability and predictability of follicular recruitment in cows undergoing repeated follicular puncture. Theriogenology, v. 48, p. 277-289, 1997. Disponível em: [https://sci-hub.st/10.1016/s0093-691x\(97\)84075-7](https://sci-hub.st/10.1016/s0093-691x(97)84075-7). Acesso em: 11 nov. 2024.

BRACHER, V. Repeated transvaginal ultrasound-guided follicle aspiration in the mare. Equine Veterinary Journal, v. 15, p. 75-78, 1993. Supplement. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/230054723\\_Repeated\\_transvaginal\\_ultrasound-guided\\_follicle\\_aspiration\\_in\\_the\\_mare](https://www.researchgate.net/publication/230054723_Repeated_transvaginal_ultrasound-guided_follicle_aspiration_in_the_mare). Acesso em: 6 out. 2024.

BRÜCK, I. Follicle aspiration in the mare using a transvaginal ultrasound-guided technique. Equine Veterinary Journal, v. 24, p. 58-59, 1992. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1555542/>. Acesso em: 12 nov. 2024.

FONSECA, J. S.; MARTINS, E. A. Curso de estatística. São Paulo: Atlas, 2011. Disponível em: <https://archive.org/details/CursoDeEstatsticaFonsecaEMartins>. Acesso em: 2 fev. 2025.

FRANCO, V. C. L. Fertilidade de éguas crioulas após aspiração folicular. 2006. 41 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2006. Disponível em: <https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/10247/VIVIANFRANCO.pdf?sequence=1>. Acesso em: 9 out. 2024.

FRY, R. C.; SIMPSON, T. L.; SQUIRES, T. J. Ultrasonically guided transvaginal oocyte recovery from calves treated with or without GnRH. Theriogenology, v. 49, p. 1077-1082, 1998. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X98000570>. Acesso em: 14 out. 2024.

GAETANO, M.; MERLO, B.; LACONO, E.; BELLUZZI, S. Fertility in the mare after repeated transvaginal ultrasound-guided aspirations. Animal Reproduction Science, v. 88, p. 299-308, 2005. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378432005000254>. Acesso em: 12 nov. 2024.

GIBBONS, J. R.; BEAL, W. E.; KRISHER, R. L.; FABER, E. G.; PEARSON, R. E.; GWAZDAUSKAS, F. C. Effect of once versus twice-weekly transvaginal follicular aspiration on bovine oocyte recovery and embryo development. *Theriogenology*, v. 42, p. 405-419, 1994. Disponível em: [https://sci-hub.st/10.1016/0093-691x\(94\)90679-d](https://sci-hub.st/10.1016/0093-691x(94)90679-d). Acesso em: 10 nov. 2024.

HARRINGTON, T. G.; SHAUER, D.; GILBERT, B. R. Percutaneous testis biopsy: an alternative to open testicular biopsy in the evaluation of the subfertile men. *Journal of Urology*, v. 156, n. 5, p. 1647-1651, 1996. Disponível em: [https://sci-hub.se/10.1016/s0022-5347\(01\)65473-9](https://sci-hub.se/10.1016/s0022-5347(01)65473-9). Acesso em: 16 out. 2024.

HUMASON, G. L. *Animal tissue techniques*. 3. ed. San Francisco: WH Freeman, 1972. 641 p. Disponível em: <https://archive.org/details/animaltissuetech00huma>. Acesso em: 9 ago. 2024.

IRION, K. L.; IRION, L. D.; HOCHHEGGER, B. Core biópsia, Tru-Cut biópsia, punção lancetante ou biópsia por punção com agulha fragmentante tecidual (punção fragmentante - PFRag). *Jornal Brasileiro de Pneumologia*, v. 32, n. 5, p. 1, 2006. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/jbpneu/a/5TxnfYNYckQ3Mgsv7HrwvJB/>. Acesso em: 12 jul. 2024.

JONES, T.; RONALD, H.; NORVAL, K. *Veterinary pathology*. 6. ed. Ithaca: International Veterinary Information Service, 1997. Disponível em: [https://books.google.com.br/books/about/Veterinary\\_Pathology.html?id=8fXzJrDfFgUC&redir\\_esc=y](https://books.google.com.br/books/about/Veterinary_Pathology.html?id=8fXzJrDfFgUC&redir_esc=y). Acesso em: 12 jul. 2024.

MACHATKOVÁ, M.; JOKESOVÁ, E.; HORKY, F.; KREPELOVA, A. Utilization of the growth phase of the first follicular wave for bovine oocyte collection improves blastocyst production. *Theriogenology*, v. 54, p. 543-550, 2000. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X00003691>. Acesso em: 2 fev. 2025.

MCCUE, P. M. Recent advances in equine reproduction. In: BALL, B. A. (Ed.). *Ithaca: International Veterinary Information Service*, 2000. Disponível em: <https://www.ivis.org/library/recent-advances-equine-reproduction/diagnóstico-de-patologias-ovárias>. Acesso em: 12 fev. 2025.

NÉSPOLI, P. B.; GHELLER, V. A.; PEIXOTO, P. V.; FRANÇA, T. N.; CARVALHO, A. U.; GODOY, D. E.; ARAÚJO, D. K.; MALM, C. Avaliação de técnicas de biópsia hepática em ovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 30, n. 1, p. 29-36, 2010. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pvb/a/6PXSDnVKD54ctVbn9jCLCrb/?format=pdf>. Acesso em: 8 set. 2024.

NIE, G. J.; MOMONT, H. Ovarian mass in three mares with regular estrous cycles. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 201, p. 1043-1044, 1992. Disponível em: <file:///C:/Users/Frederico/Downloads/javma-javma.1992.201.07.1043.pdf>. Acesso em: 6 dez. 2024.

NÓBREGA, F. S.; GIANOTTI, G. C.; BECK, C. A. C.; ALIEVI, M. M.; GOMES, A.; ARRUDA, N. S.; ROCIO, T. F.; GONZALEZ, P. C.; FERREIRA, M. P. Tecoma em uma égua. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 36, n. 2, p. 185-189, 2008. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/284087827\\_Thecoma\\_in\\_a\\_mare](https://www.researchgate.net/publication/284087827_Thecoma_in_a_mare). Acesso em: 23 abr. 2024.

PIMENTEL, G. F. Curso de estatística experimental. 3. ed. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, USP, 1966. 404 p. Disponível em: [https://openlibrary.org/books/OL4726786M/Curso\\_de\\_estati%CC%81stica\\_experimental](https://openlibrary.org/books/OL4726786M/Curso_de_estati%CC%81stica_experimental). Acesso em: 7 dez. 2024.

RODRIGUES, R. Aspiração folicular por via transvaginal guiada por ultrassom em equinos. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 35, n. 2, p. 283-284, 2018. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/332390166\\_Aspiracao\\_folicular\\_por\\_via\\_transvaginal\\_guiada\\_por\\_ultrasom\\_em\\_equinos](https://www.researchgate.net/publication/332390166_Aspiracao_folicular_por_via_transvaginal_guiada_por_ultrasom_em_equinos). Acesso em: 12 fev. 2025.

SANTL, B.; WENIGERKIND, H.; SCHERNTHANER, W.; MÖDL, J.; STOJKOVIC, M.; PRELLE, K.; HOLTZ, W.; BREM, G.; WOLF, E. Comparison of ultrasound-guided vs laparoscopic transvaginal ovum pick-up (OPU) in Simmental heifers. *Theriogenology*, v. 50, p. 89-100, 1998. Disponível em: [https://sci-hub.st/10.1016/s0093-691x\(98\)00116-2](https://sci-hub.st/10.1016/s0093-691x(98)00116-2). Acesso em: 3 fev. 2025.

SANTORO, P. N. Colheita de amostra testicular para biopsia em garanhões com agulha Tru-cut. 2014. 64 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2014. Disponível em: <https://uenf.br/posgraduacao/ciencia-animal/wp-content/uploads/sites/5/2015/10/Disserta%C3%A7%C3%A3o-Paula-Nascimento-Santoro.pdf>. Acesso em: 23 fev. 2025.

SARTORI, R.; PRESTES, N. C.; CANAVESSI, A. M. O.; KEMPINAS, W. G.; ROSA, G. J. M. Avaliações ultrassonográfica, macroscópica e histológica da biópsia testicular em ovinos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 54, n. 3, p. 233-241, 2002. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abmvz/a/8MpzTBm7w8F8qjJzZkm4gr/>. Acesso em: 7 jul. 2024.

SCHERNTHANER, W.; WENIGERKIND, H.; STOJKOVIC, M.; PALMA, G. A.; MODL, J.; WOLF, E.; BREM, G. Pregnancy rate after ultrasound-guided follicle aspiration in non-lactating cows from different breeds. *Journal of Veterinary Medicine A*, v. 46, p. 33-37, 1999. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10085765/>. Acesso em: 12 nov. 2024.

SEDRISH, S. A.; MCCLURE, J. R.; PINTO, C. R. F.; OLIVER, J.; BURBA, D. J. Ovarian torsion associated with granulosa-theca cell tumor in a mare. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 211, p. 1152-1154, 1997. Disponível em: <https://www-periodicos-capes-gov-br.ez81.periodicos.capes.gov.br/index.php/acervo/buscaador.html?task=detalhes&id=W61248377>. Acesso em: 3 mar. 2025.

SNEL-OLIVEIRA, M. V.; PEREIRA, D. C.; MALAGOLI, D. Histopathological ovum pick-up (OPU) in Nelore prepubertal calves. *Theriogenology*, v. 57, p. 687, 2002. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/291043512\\_Histopathological\\_lesions\\_in\\_the\\_ovaries\\_after\\_ultrasound\\_guided\\_transvaginal\\_ovum\\_pick\\_up\\_OPU\\_in\\_Nelore\\_prepubertal\\_calves](https://www.researchgate.net/publication/291043512_Histopathological_lesions_in_the_ovaries_after_ultrasound_guided_transvaginal_ovum_pick_up_OPU_in_Nelore_prepubertal_calves). Acesso em: 11 nov. 2024.

STUBBINGS, R. B.; WALTON, J. S. Effect of ultrasonically-guided follicle aspiration on estrous cycle and follicular dynamics in Holstein cows. *Theriogenology*, v. 43, p. 705-712, 1995. Disponível em: [https://sci-hub.st/10.1016/0093-691x\(95\)00013-x](https://sci-hub.st/10.1016/0093-691x(95)00013-x). Acesso em: 23 out. 2024.

TABET, A. F.; SILVA, L. C. L. C.; SHINHORINI, I. L.; ZOPPA, A. L. V. Comparação entre duas técnicas de biópsia renal guiadas por laparoscopia em equinos. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 42, p. 150-156, 2005. Disponível em: <https://www.revistas.usp.br/bjvras/article/view/26446/28229>. Acesso em: 23 dez. 2024.

TOSTES, R. A.; BANDARRA, E. P. Biópsia hepática em cães: relação entre qualidade da amostra e grau de conclusão do diagnóstico. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 54, p. 468-472, 2002. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abmvz/a/DxKDBVsy6nDKjSnJKKKtXtS/>. Acesso em: 2 mar. 2025.

VIANA, J. H. M.; NASCIMENTO, A. A.; PINHEIRO, N. L.; FERREIRA, A. M.; CAMARGO, L. S. A.; SÁ, W. F.; JÚNIOR, A. P. M. Caracterização de sequelas subsequentes à punção folicular em bovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 23, n. 3, p. 119-124, 2003. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/26354160\\_Caracterizacao\\_de\\_sequelas\\_subsequentes\\_a\\_puncao\\_folicular\\_em\\_bovinos](https://www.researchgate.net/publication/26354160_Caracterizacao_de_sequelas_subsequentes_a_puncao_folicular_em_bovinos). Acesso em: 9 out. 2024.

VANDERWALL, D. K.; WOODS, G. L. Severe internal hemorrhage resulting from transvaginal ultrasound-guided follicle aspiration in a mare. *Journal of Equine Veterinary Science*, v. 22, n. 2, p. 84-86, 2002. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0737080602700944>. Acesso em: 22 mar. 2025.

VANDERWALL, D. K.; HYDE, K. J.; WOODS, G. L. Effect of repeated performance of transvaginal ultrasound-guided follicle aspiration on subsequent fertility in reproductively sound mares. *Theriogenology*, v. 64, p. 785, 2005. Disponível em: <https://avmajournals.avma.org/view/journals/javma/228/2/javma.228.2.248.xml>. Acesso em: 12 set. 2024.

VOS, P. L. A. M.; LOOS, F. A. M.; PIETERSE, M. C.; BEVERS, M. M.; TAVERNE, M. A. M.; DIELEMAN, S. J. Evaluation of transvaginal ultrasound-guided follicle puncture to collect oocytes and follicular fluids at consecutive times relative to the pre-ovulatory LH surge in eCG/PG-treated cows. *Theriogenology*, v. 41, p. 829-840, 1994. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0093691X94904999>. Acesso em: 12 out. 2024.

WEBER, J. A.; CAUSEY, R. C.; EMMANS, E. E. Induction of luteolysis in mares by ultrasound-guided intraluteal treatment with PGF2H. *Theriogenology*, v. 55, p. 1769-1776, 2001. Disponível em: [https://sci-hub.se/10.1016/s0093-691x\(01\)00519-2](https://sci-hub.se/10.1016/s0093-691x(01)00519-2). Acesso em: 3 fev. 2025.