

Aplicação do flunixin meglumine antes da transferência não-cirúrgica de embriões em éguas da raça Mangalarga Marchador

Application of flunixin meglumine before nonsurgical embryo transfer in Mangalarga Marchador breed mares

José Renato Costa Caiado,* Francisco Aloízio Fonseca,* José Frederico Straggiotti Silva,*
Júlio César Costa Caiado,** Reginaldo da Silva Fontes*

Resumo

Quarenta embriões de éguas da raça Mangalarga Marchador foram inovulados em igual número de receptoras da mesma raça. O primeiro grupo foi tratado com 1,1 mg/kg de flunixin meglumine, visando observar o efeito desta droga sobre a taxa de gestação na transferência não-cirúrgica de embriões e seu efeito sobre as concentrações plasmáticas de progesterona. O segundo grupo não foi tratado. O grupo tratado apresentou 55% de taxa de prenhez (11/20), e o controle 75% (15/20) não existindo diferença entre eles. Contudo, para $P=20\%$ esta diferença pode ser considerada significativa. O tempo de sincronização das receptoras e a idade dos embriões no momento das inovulações foram similares. Houve diferença na qualidade dos embriões inovulados, pois as éguas não-gestantes do grupo controle receberam um número maior de embriões regulares (2/5) que as não-gestantes do grupo tratado (1/9). As concentrações plasmáticas de progesterona foram maiores nas receptoras gestantes do grupo tratado. Tendo em vista os resultados obtidos, não se recomenda a aplicação de flunixin meglumine em receptoras antes da transferência não-cirúrgica de embriões, com o objetivo de melhorar a taxa de gestação.

Palavras-chave: eqüinos, reprodução, inovulação.

Abstract

The present experiment aimed at comparing the Polymerase Chain Reaction (PCR) and the Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA - SALVIA®) with the conventional microbiologic method, for the detection of *Salmonella* Enteritidis (SE), *S. Typhimurium* (ST), *S. Gallinarum* (SG) e *S. Pullorum* (SP) in broiler meat. The samples were artificially contaminated with 10^{-7} , 10^{-8} and 10^{-9} cells/ml of SE and ST, and 10^{-4} , 10^{-5} and 10^{-6} cells/ml of SG and SP, with five repetitions of each, giving a total of 300 analyses. In order to validate the techniques used, the tests were performed in five different laboratories. The results showed that the conventional microbiological method was able to recover 56,67% (170/300) of all artificially contaminated samples, while the ELISA and PCR techniques presented recoveries of 71% (213/300) and 75% (225/300), respectively. The differences between each of the latter two and the conventional microbiological method were highly significant ($P= 0,0001$, MacNemar Statistical Test). On the other hand, no significant difference was detected between the ELISA and PCR results. Overall results were able to show that the ELISA and PCR techniques were very efficient in detecting *Salmonella* serovars in the broiler meat samples analysed, when compared to the conventional microbiological method.

Keywords: *Salmonella*, broiler meat, conventional microbiological method, ELISA, PCR.

Introdução

Durante os trabalhos de transferência de embriões em eqüinos, a manipulação uterina da receptora, feita pelo operador, bem como possíveis traumas do endométrio pelo instrumento inovulador, podem estimular este órgão a liberar prostaglandina F2 alfa (PGF2 alfa), (Odensvik et al., 1998; Kask et al., 1997). Este hormônio uma vez liberado pode ocasionar luteólise e perda da prenhez (Neely, 1979; East et al., 1999).

O flunixin meglumine é uma droga antiinflamatória não-hormonal que inibe a síntese das prostaglandinas, por inibição das enzimas ciclo oxigenases, que transformam o ácido araquidônico, que tem origem pela ação das fosfolipases sobre os lipídeos da membrana, em prostaglandinas (Higgins et al., 1987). Por inibir apenas as ciclo oxigenases, o flunixin meglumine não inibe a produção de leucotrienos oriundos do araquidonato pela via linear, que exerce uma importante função de quimiotaxia nos processos inflamatórios. Derivado

* CCTA/UENF – Universidade Estadual do Norte Fluminense. Av. Alberto Lamego, 2000. Parque Califórnia. CEP 28013-600, Campos dos Goytacazes, R.J. Jrccaiado@hotmail.com, straggio@uenf.br, rfontes@uenf.br.

** Médico-veterinário autônomo. Clínica Veterinária Costa Caiado – Guarapari, ES.

dos fenilaminocotínicos, o flunixin meglumine é apresentado para uso oral e parenteral e seus efeitos clínicos se manifestam 15 minutos após sua aplicação endovenosa (Snow, 1981).

Este trabalho teve como objetivo a aplicação do flunixin meglumine em receptoras da raça Mangalarga Marchador durante a transferência não-cirúrgica de embriões, visando observar seus efeitos sobre os índices de prenhez e possível influência sobre a produção de progesterona pelo corpo lúteo.

Material e métodos

O experimento foi realizado durante a estação de monta de 1998/1999 e início da estação 1999/2000.

Dez éguas não-gestantes da raça Mangalarga Marchador, com idade variando de três a 18 anos, com sistema genital clinicamente sadio e escore corporal compatível com a atividade reprodutiva, submetidas a controle folicular diário por meio de palpação retal, cobertas a cada 48 horas, a partir do momento em que foi detectado um folículo em torno de 35mm de diâmetro até a ovulação, por garanhões da mesma raça e de fertilidade comprovada, foram utilizadas como doadoras de embriões. Quarenta éguas não-gestantes da mesma raça, com idade variando de três a 16 anos, também com sistema genital sadio e escore corporal compatível com a atividade reprodutiva, foram utilizadas como receptoras dos embriões coletados. Elas foram sincronizadas com as doadoras por meio da aplicação de uma dose de PGF2 alfa, durante o diestro, dois dias após a aplicação do mesmo hormônio na doadora (Pashen et al., 1993).

As doadoras tiveram seus úteros lavados visando a recuperação embrionária entre 6,5 a 9 dias após a ovulação (Wilson et al., 1991; Fleury, 1998a). A técnica de transferência utilizada foi transcervical e não-cirúrgica (Pashen, 1985 citado por Riera e McDonough, 1993, com modificações), com a deposição do embrião em um dos cornos uterinos. Embriões com mais de oito dias de desenvolvimento foram inovulados com auxílio de uma pipeta para inseminação artificial equina. Apenas embriões considerados excelentes, bons e regulares segundo a classificação de McKinnon e Squires (1988), foram transferidos.

As receptoras foram distribuídas ao acaso em dois grupos, onde, no primeiro, foram tratadas com uma dose de 1,1 mg/kg de peso vivo de flunixin meglumine (Banamine[®] – Schering-Plough Veterinária), via endovenosa, 15 minutos antes da transferência e no segundo, utilizadas como controle, não receberam o medicamento. Para o diagnóstico de gestação, as receptoras foram examinadas por palpação retal e ultrasonografia transretal aos 18 dias da ovulação da sua respectiva doadora. Quando o resultado foi negativo, a receptora retornou ao programa por apenas mais uma vez, no mesmo grupo que havia sido sorteada; quando positivo, teve o diagnóstico confirmado aos 28 dias de gestação.

As coletas de sangue das receptoras foram realizadas no dia da transferência, 30 minutos antes dos procedimentos se iniciarem e, diariamente, durante os nove dias subseqüentes à inovulação. As amostras foram coletadas de sete éguas escolhidas ao acaso em cada grupo experimental, por punção na veia jugular, em tubos de ensaio estéreis e heparinizados, sendo logo a seguir centrifugadas a 2.500 rpm

e o plasma obtido acondicionado em tubos de polipropileno e congelado a -18°C até o dia da análise hormonal.

A análise de progesterona plasmática foi realizada pelo método de radioensaio, com utilização do *kit* comercial “ImmuChem Progesterone ^{125}I RIA kit[®]” (ICN Pharmaceuticals, Inc.-USA), seguindo as recomendações do fabricante. A dose mínima detectável foi de 0,023 ng de progesterona por mililitro de plasma.

Os dados obtidos para as variáveis idade dos embriões no momento da inovulação (dias) e tempo de ovulação das receptoras no momento da inovulação (dias) foram submetidos à análise descritiva por meio de médias e intervalo de confiança (IC $P=0,05$). Para a porcentagem da qualidade dos embriões inovulados (regulares ou excelentes e bons) e para a variável porcentagem de receptoras inovuladas (gestantes ou não-gestantes) foi calculado o valor de Qui-quadrado ($P=0,05$). Os níveis plasmáticos de progesterona foram submetidos à análise de variância e da regressão linear e múltipla em função do tempo (dias) após a inovulação das receptoras ($P=0,05$).

Resultados e discussão

Foram realizadas 67 lavagens uterinas visando a recuperação de embriões das doadoras, que foram utilizados no experimento e os resultados estão apresentados na Tabela 1. Do total de lavagens efetuadas, 40 (59,70%) tiveram resultado positivo, com recuperação embrionária.

Taxa de gestação após a inovulação

Das vinte éguas pertencentes ao grupo tratado com flunixin meglumine, 11 permaneceram prenhes até 28 dias de idade embrionária, apresentando uma taxa de 55% de gestação, enquanto para o grupo controle 15 em 20 éguas (75%) permaneceram gestantes (Tabela 2).

Tempo de ovulação das receptoras no momento da inovulação

O grupo de éguas tratadas com flunixin meglumine e que permaneceram gestantes apresentaram um tempo de ovulação variando de quatro a oito dias para as 11 fêmeas deste grupo, com uma média de 4,8 dias. As nove éguas restantes deste mesmo grupo e que não se mantiveram gestantes, apresentaram também um tempo de ovulação de quatro a oito dias, porém com uma média de 6,0 dias (Tabela 2).

No grupo controle as 15 éguas que permaneceram prenhes apresentaram um tempo de ovulação variando de quatro a oito dias, com média de 5,0 dias. As cinco fêmeas deste grupo que não permaneceram gestantes apresentaram um tempo de ovulação de quatro a cinco dias, com média de 4,8 dias.

Idade dos embriões transferidos

Todos os quarenta embriões utilizados no experimento foram oriundos de lavagens uterinas de doadoras com um tempo de ovulação variando de 6,5 a 8,5 dias, com correspondência no desenvolvimento do embrião obtido.

As 11 éguas do grupo tratado com flunixin meglumine e que permaneceram gestantes receberam embriões com idade

variando de 6,0 a 8,0 dias, com média de 6,9 dias, enquanto as nove restantes deste grupo e que não permaneceram prenhes receberam embriões com idade variando de 6,5 a 8,0 dias, com média de 7,1 dias.

As gestantes do grupo controle (15 fêmeas) receberam embriões com idade variando de 6,0 a 8,5 dias, com média de 7,1 dias, enquanto as cinco éguas restantes deste grupo e que não permaneceram prenhes receberam embriões de 6,0 e 7,0 dias, com média de desenvolvimento de 6,4 dias (Tabela 2).

Qualidade dos embriões inovulados

Das 11 receptoras gestantes pertencentes ao grupo tratado com flunixin meglumine, nove (81,8%) receberam embriões classificados como excelentes e bons, e as duas restantes (18,2%) receberam embriões classificados como regulares. Dentre as nove receptoras restantes que não permaneceram prenhes, oito receberam embriões classificados como excelentes e bons (88,9%) contra apenas uma (11,1%) que recebeu embrião regular.

No grupo controle, dentre as 15 fêmeas que ficaram gestantes, 13 (86,7%) receberam embriões classificados como excelentes e bons e duas (13,3%) receberam embriões regulares. Das cinco éguas restantes, que não permaneceram prenhes, três receberam embriões excelentes e bons (60%) contra duas que receberam embriões regulares (40%) (Tabela 2).

Resultado das análises de progesterona

Observou-se uma maior variação em torno da média das concentrações plasmáticas de progesterona para os animais do grupo controle que não permaneceram gestantes, devida a

uma das receptoras ter perdido o embrião mais tardiamente, resultando em concentrações diárias de progesterona maiores em relação às demais éguas deste grupo (Tabela 1).

Tabela 1 – Concentrações plasmáticas médias de progesterona em receptoras da raça Mangalarga Marchador que permaneceram gestantes e não gestantes nos grupos controle e tratado com flunixin meglumine

| Tempo após a Inovulação (dias) | Média das concentrações plasmáticas de progesterona (ng/mL) | | | |
|--------------------------------|---|--------------|------------|--------------|
| | Flunixin | | Controle | |
| | Gestante | Não-gestante | Gestante | Não-gestante |
| 0 | 14,19±1,93 | 13,80±3,66 | 11,93±3,96 | 17,35±1,47 |
| 1 | 22,28±8,50 | 9,88±8,99 | 12,16±3,63 | 14,61±8,70 |
| 2 | 14,60±4,93 | 10,33±10,12 | 12,55±4,45 | 8,42±10,72 |
| 3 | 17,32±5,41 | 8,10±12,76 | 12,97±5,64 | 6,72±10,27 |
| 4 | 13,70±5,32 | 5,94±8,97 | 11,47±3,81 | 6,15±10,39 |
| 5 | 15,03±5,97 | 1,12±1,48 | 8,18±1,63 | 5,95±10,28 |
| 6 | 13,74±3,60 | 0,12±0,17 | 9,29±3,02 | 4,54±7,83 |
| 7 | 12,50±3,32 | 0,32±0,52 | 8,40±2,17 | 5,76±9,94 |
| 8 | 11,84±4,51 | ND | 8,66±1,59 | 4,27±7,37 |
| 9 | 10,14±5,14 | ND | 8,12±7,28 | 1,01±1,72 |
| Nº de éguas | 4 | 3 | 4 | 3 |

Dia zero = 30 minutos antes da inovulação. ND = níveis não detectáveis.

As concentrações de progesterona foram significativamente mais altas ($P<0,05\%$) no grupo de éguas tratadas com flunixin meglumine e que permaneceram gestantes, quando comparadas com o mesmo grupo de fêmeas não tratadas que, entretanto, tiveram uma maior taxa de prenhez. Estes dados foram submetidos à análise da variância da regressão em função do tempo após a inovulação.

As concentrações plasmáticas de progesterona encontradas no experimento estão de acordo com o citado na literatura consultada, para éguas no início do diestro ou da prenhez.

Tabela 2 – Resumo das médias das variáveis analisadas no experimento

| Variáveis | Flunixin meglumine | | Controle | |
|---|--------------------|---------------|-------------|---------------|
| | Gestantes | Não-gestantes | Gestantes | Não-gestantes |
| Nº de receptoras inovuladas | 11 | 9 | 15 | 5 |
| Tempo médio (dias) de ovulação das receptoras no momento da inovulação | 4,8 | 6,0 | 5,0 | 4,8 |
| Idade média dos embriões transferidos (dias) | 6,9 | 7,1 | 7,1 | 6,4 |
| Porcentagem de embriões excelentes e bons/embriões regulares | 81,8%/18,0% | 88,9%/11,0% | 86,7%/13,0% | 60,0%/40,0%* |
| Concentrações plasmáticas médias de progesterona (ng/ml) do momento da inovulação até 9 dias após | 14,5* | 4,9 | 10,4 | 7,4 |

*Valores diferentes estatisticamente ($P<0,05$).

As taxas de recuperação embrionária obtidas estão consoantes com as encontradas nos trabalhos de East et al. (1999), Squires et al. (1999) Fleury (1998a), Carvalho (2000), Huhtinen et al. (1996), Allen (1994) e Pashen et al. (1993).

Também as taxas de prenhez obtidas estão dentro da média encontrada na literatura, para transferência não cirúrgica de embriões na espécie equina, em comparação aos trabalhos de East et al. (1999) 12,5 a 71%; Pashen et al. (1993) 61%; Squires et al. (1999) 50 a 75%; Parry-Weeks e Holtan (1987) 77%; Carvalho (2000) 57,9 e 50%; Fleury (1998c) 73,3; 84 e 77%.

Não foi observado efeito significativo ($P>0,05$) para o valor de Qui-quadrado obtido na comparação das porcentagens de receptoras que permaneceram gestantes e não-gestantes dos grupos de animais controle e tratados com flunixin meglumine, mas esperava-se uma maior taxa de prenhez no grupo tratado e não no controle. A hipótese de equivalência da proporção de receptoras gestantes e não-gestantes entre os grupos de animais testados, só poderá ser refutada ao nível de 20% de probabilidade de erro. Novos experimentos deveriam ser conduzidos, com um número maior de animais, visando confirmação destes resultados com menor probabilidade de erro.

O tempo de ovulação das receptoras de ambos os grupos no momento da inovulação também está de acordo com o encontrado na literatura, segundo os trabalhos de Schmidt et al. (1995); Squires (1995); Koene et al. (1991); Carney et al. (1991); Riera e McDonough (1993); Pashen et al. (1993).

Não houve diferença ($P>0,05$) para a idade dos embriões nos dois grupos e a idade dos embriões transferidos corresponde ao que tem sido relatado na literatura, de acordo com Squires et al. (1999); Schmidt et al. (1995); Fleury (1998b); Pashen et al. (1993).

Houve, porém, diferença na qualidade dos embriões transferidos ($P<0,05$), pois os embriões utilizados nas inovulações das receptoras do grupo controle e que não permaneceram gestantes apresentaram escores inferiores aos demais.

Segundo a literatura consultada, os embriões que resultam nos melhores índices de prenhez são os classificados como excelentes e bons, embora embriões classificados como regulares também sejam utilizados, resultando em taxas menores de gestação. East et al. (1999) relataram taxa de prenhez de 17% quando se utilizam embriões regulares. Squires (1995) citou taxa de 77% quando se utilizam embriões excelentes e bons contra 22,7%, quando se utilizam embriões regulares.

No dia da inovulação as concentrações plasmáticas médias de progesterona encontradas estavam acima de 7,0 ng/mL, nas fêmeas sorteadas para a coleta de sangue no experimento. Isto reforça o bom critério de seleção de receptoras em ambos os grupos mas não justifica a maior taxa de prenhez no grupo controle.

Nos trabalhos de Perkins et al. (1993); Sharp (2000); Caldas et al. (1994); Souza et al. (1999) e Carvalho (2000) as concen-

trações de progesterona encontradas estão consoantes com as do presente trabalho, no dia da inovulação.

Para refutar a hipótese de que fatores experimentais tenham influenciado negativamente o grupo tratado com flunixin meglumine analisou-se o grau de sincronia entre doadoras e receptoras, idade do embrião e qualidade do embrião inovulado em cada grupo. Como não houve diferença estatística entre os dois primeiros grupos de dados estudados (sincronia doadora receptora e idade do embrião) e ambos estão dentro dos padrões normais encontrados na literatura e levando-se em consideração que, quanto à qualidade do embrião, houve uma maior utilização de embriões classificados como regulares para receptoras que não permaneceram prenhes no grupo controle, não se encontraram evidências de tendências experimentais que justifiquem a maior taxa de gestação do grupo controle. Estes dados estão resumidos na Tabela 2.

East et al. (1999) propuseram o uso do flunixin meglumine como sedativo antes das transferências não-cirúrgicas de embriões em eqüinos. No presente experimento não foi encontrada uma resposta satisfatória do medicamento para este fim uma vez que, em se tratando de éguas de temperamento mais nervoso, em ambos os grupos, foi necessária a aplicação de uma dose terapêutica de acepromazina (ACEPRAN[®] 1% – UNIVET) e as éguas de bom temperamento em ambos os grupos não necessitaram de sedação.

Embora autores como Odensvik et al. (1998) e Kask et al. (1997), tenham demonstrado que a manipulação uterina em éguas pode estimular a liberação de PGE2 alfa, e que este hormônio uma vez liberado pode ocasionar luteólise e perda da prenhez (Neely, 1979; East et al., 1999), neste experimento, não foi possível monitorar uma possível liberação induzida durante a inovulação. Entretanto, não se pode afirmar se esta ocorreu ou não. Caso tenha ocorrido, o bloqueio deste hormônio pelo flunixin meglumine não melhorou a taxa de prenhez, uma vez que o grupo tratado apresentou uma taxa de gestação menor que o controle.

Vanderwall et al. (1993) demonstraram que embriões da espécie equina secretam prostaglandina E2 (PGE2) e a ação da PGE2 no transporte ovidutal de embriões eqüinos foi demonstrada por Weber e Woods (1993). Por inibir outras prostaglandinas, o flunixin meglumine poderia inibir também a síntese de prostaglandina E2 produzida pelo embrião eqüino, o que pode ter afetado o reconhecimento materno da gestação, justificando a menor taxa de prenhez do grupo tratado com esta droga. Novos estudos deveriam ser conduzidos para verificar esta hipótese.

Conclusões

Os resultados obtidos demonstraram que a aplicação de flunixin meglumine em receptoras eqüinas da raça Mangalarga Marchador antes da inovulação não-cirúrgica é desaconselhada, por não promover melhoria na taxa de prenhez.

Referências

- ALLEN, W. R. Equine embryo transfer: A brief up date on techniques and progress. *Ars Veterinaria*, n. 10, p. 67-74, 1994.
- CALDAS, M. C. S.; OLIVEIRA, F. R. A. P.; ROSA e SILVA, A. A. M. Chronobiological characterization on the first estrous cycle in Brasileiro de Hipismo mares during the postpartum period. *Theriogenology*, n. 42, p. 803-813, 1994.
- CARNEY, N. J.; SQUIRES, E. L.; COOK, V. M. et al. Comparison of pregnancy rates from transfer of fresh versus cooled, transported equine embryos. *Theriogenology*, n. 36, p. 23-31, 1991.
- CARVALHO, G. R. *Estudo de alguns aspectos da transferência de embriões eqüinos*. 2000. 158f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Viçosa, MG, UFV – Universidade Federal de Viçosa, 2000.
- EAST, L. M.; VAN SAUN, R. J.; VANDERWALL, D. K. Equine embryo transfer. A review of the technique and 1997 practitioner- based survey. *Equine Practice*, v. 21, n. 1, p. 8-12, 1999.
- FLEURY, J. J. (a). O dia da colheita na taxa de recuperação embrionária em eqüinos em uma central de transferência de embriões comercial. *Arq. Fac. Vet. UFRGS Supl. Porto Alegre*, v. 26, n. 1, p. 268, 1998.
- FLEURY, J. J. (b). Transferência não cirúrgica de embriões eqüinos colhidos no oitavo dia pós ovulação. *Arq. Fac. Vet. UFRGS. Supl. Porto Alegre*, v. 26, n. 1, p. 266, 1998.
- FLEURY, J. J. (c). Transporte de embriões eqüinos e sua aplicação no Brasil. *Arq. Fac. Vet. UFRGS. Supl. Porto Alegre*, v. 26, n. 1, p. 264, 1998.
- HIGGINS, A. J.; LESS, P.; SEDGWICK, A. D. Use of a novel non-steroidal anti inflammatory drug in the horse. *Equine Vet. J.*, n. 19, p. 60-61, 1987.
- HUHTINEN, M.; REILAS. T.; KATILA, T. Recovery rate and quality of embryos from mares inseminated at the first post-partum oestrus. *Acta Vet. Scand.*, n. 37, p. 343-350, 1996.
- KASK, K.; ODENSVIK, K. KINDAHL, H. Prostaglandin F2 alfa release associated with an embryo transfer procedure in the mare. *Equine Vet. J.*, n. 29, p. 286-289, 1997.
- KOENE, M. H.; BADER, H.; HOPPEN, H.O. Feasibility of using HNG as a superovulatory drug in a commercial embryo transfer programme. *J. Reprod. Fert. Suppl.*, n. 44, p. 710-711, 1991.
- MCKINNON, A. O.; SQUIRES, E. L. Morfologic assesment of the equine embryo. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, v. 192, n. 3, p. 401-406, 1988.
- NEELY, D. P. Prostaglandin release patterns in the mares: Physiological, patho-physiological and therapeutic responses. *J. Reprod. Fert. Suppl.*, v. 27, p. 181-189, 1979.
- ODENSVIK, K.; GUSTAFSSON, H.; KINDAHL, H. The effect on luteolysis by intensive oral administration of flunixin granules in heifers. *Anim. Reprod. Science*, v. 50, p. 34-44, 1998.
- PARRY-WEEKS, L. C.; HOLTAN, D. W. Effect of altrenogest on pregnancy maintenance in unsynchronized equine embryo recipient. *J. Rep. Fert. Suppl.*, n. 35, p. 443-448, 1987.
- PASHEN, R. L.; LASCOMBES, F. A.; DARROW, M. D. The application of embryo transfer to polo ponies in Argentina. *Equine Vet. J. Suppl.*, v. 15, p. 119-121, 1993.
- PERKINS, N. R.; THRELFALL, W. R.; OTTOBRE, J. S. Pulsatile secretion of luteinizing hormone and progesterone in mares during the estrous cycle and early pregnancy. *Am. J. Vet. Res.*, v. 54, n. 11, p. 1929-1934, 1993.
- RIERA, F. L.; McDONOUGH, J. Commercial embryo transfer in polo ponies in Argentina. *Equine Vet. J. Suppl.*, v. 15, p. 116-118, 1993.
- SCHIMIDT, A. R.; THAYER, J.; CARLETON, C. L. Stored, cooled embryos: A successful alternative to immediate embryo transfer. *Equine Practice*, n. 4, p. 381-386, 1995.
- SHARP, D. C. The early fetal life of the equine conceptus. *Anim. Reprod. Science*, v. 60-61, p. 679-689, 2000.
- SNOW, D. Non steroidal anti-inflammatory agents in the horse. *Equine Practice*, n. 9, p. 24-31, 1981.
- SOUZA, J. A. T.; GRACEK, F.; OLIVEIRA, J. V. Características do corpo lúteo e progesterona plasmática no ciclo estral de potras da raça Brasileiro de Hipismo. *Arq. Fac. Vet. UFRGS. Supl. Porto Alegre*, v. 27, n. 1, p. 298, 1999.
- SQUIRES, E. L. Equine embryo transfer and shipping of equine embryos. *Ars veterinária*, v. 11, n. 2, p. 68-75, 1995.
- SQUIRES, E. L.; MCCUE, P. M.; VANDERWALL, D. The current status of equine embryo transfer. *Theriogenology*, n. 51, p. 91-104, 1999.
- WEBER, J. A.; WOODS, G. L. Influence of embryonic secretory chemicals on selective oviductal transport in mares. *Equine Vet. J. Suppl.*, n. 15, p. 36- 38, 1993.
- VANDERWALL, D. K.; WOODS, G. L.; WEBER, J. A.; LICHTENWALNER, A. B. PGE 2 secretion by the conceptus and binding by non- pregnant endometrium in the horse. *Equine Vet. J. Suppl.*, n. 15, p. 24- 27, 1993.
- WILSON, J. M.; KRAEMER, D. C.; POTTER, G. D. et al. Repeated embryo recovery attempts and subsequent fertility of two-year-old fillies. *Theriogenology*, n. 36, v. 6, p. 1027-1034, 1991.