
Artigo de Ciências Animais - Conduta e orientação clínica

EXAME DO SISTEMA GENITAL DOS ANIMAIS

Autor: Andressa Salmazzo¹, Silvia Frrari^{2,A}.

¹Médica Veterinária, proprietária da clínica ReproPet, doutora em reprodução Animal pela FMVZ-USP. andressadalmazzo@yahoo.com.br. ²Médica Veterinária, doutora em reprodução Animal pela FMVZ-USP.

Informações do artigo

Palavras Chave:

Exame ginecológico,
exame andrológico,
fertilidade.

Resumo

O exame completo e exato do sistema genital é de fundamental importância para o diagnóstico e tratamento das afecções reprodutivas. Além disso, o exame ginecológico tem por finalidade detectar a fase do ciclo estral, a gestação e causas da infertilidade da fêmea. O exame andrológico é realizado para atestar o potencial reprodutivo do macho, além de diagnosticar as causas da impotência coeundi e generandi. O exame ginecológico se inicia com a anamnese, seguida pelo exame clínico geral, exame específico externo (avaliação da vulva e vestibulo) e exame interno (palpação retal de cérvix, útero e ovários em grandes animais e vaginoscopia). Os exames complementares são de grande auxílio para o diagnóstico, e consistem em ultrasonografia de útero e ovários, citologia vaginal em pequenos animais, exame histológico, microbiológico, testes sorológicos e dosagens hormonais. A anamnese e o exame clínico geral também são as primeiras etapas do exame andrológico, seguido de exame específico do sistema reprodutor externo (inspeção e palpação do pênis, prepúcio, escroto, testículos, epidídimo, funículo espermático e medição da circunferência escrotal) e interno (palpação retal das glândulas anexas), teste de libido, espermograma e por fim exames complementares como ultrassonografia de glândulas anexas e testículos, sorologia, PCR, testes hormonais, exame microbiológico do sêmen além de testes funcionais dos espermatozoides.

^AAutor correspondente:

Silvia Ferrari - e-mail: silviaferrari2000@hotmail.com - <https://orcid.org/0000-0002-9917-2843>

DOI: <https://doi.org/10.31415/bjns.v2i3.71> - Artigo recebido em: 18 de junho de 2019 ; aceito em 09 de Julho de 2019; publicado em 30 de setembro de 2019. Brazilian Journal of Natural Sciences, Vol. 2, N.3, setembro 2019. Disponível online a partir de 30 de setembro de 2019, ISSN 2595-0584. www.bjns.com.br. Todos os autores contribuíram igualmente com o artigo. Os autores declaram não haver conflito de interesse. Este é um artigo de acesso aberto sob a licença CC - BY: <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>

Article ID

Keywords:

Gynecological examination, andrological examination, fertility.

Abstract

Complete and accurate examination of the genital system is of fundamental importance for the diagnosis and treatment of reproductive disorders. In addition, the gynecological examination aims to detect the phase of the estrous cycle, pregnancy and causes of female infertility. The andrological examination is performed to attest to the male's reproductive potential, as well as to diagnose the causes of coeundi and generandi impotence. Gynecological examination begins with anamnesis, followed by general clinical examination, external specific examination (vulva and vestibule evaluation) and internal examination (rectal palpation of cervix, uterus and ovaries in large animals and vaginoscopy). Complementary exams are very helpful for diagnosis, and consist of uterine and ovarian ultrasonography, vaginal cytology in small animals, histological, microbiological examination, serological tests and hormonal dosages. Anamnesis and general clinical examination are also the first stages of the andrological examination, followed by specific examination of the external reproductive system (inspection and palpation of the penis, foreskin, scrotum, testicles, lymph node, spermatic funicular and scrotal circumference measurement) and internal (rectal gland palpation) attached), libido test, spermogram and finally complementary exams such as ultrasonography of the attached glands and testes, serology, PCR, hormonal tests, semen microbiological examination and functional sperm tests.

Revisão de Literatura

Exame ginecológico

A anamnese visa coletar dados que possam auxiliar na condução do exame clínico ginecológico com formulação diagnóstica e prognóstica. Previamente ao exame clínico, é necessário pesquisar todo o histórico reprodutivo do animal. Atentar-se para a idade, estado de saúde geral, condição nutricional, doenças prévias, performance reprodutiva anterior, alimentação, manejo, uso de medicamentos, medidas preventivas. Verificar se há presença de outros animais, e em caso positivo, detectar qual é a situação dos outros animais do grupo ou rebanho [1,2].

O exame clínico geral fornece ao diagnóstico ginecológico subsídios bastante valiosos. Tem como objetivo avaliar o estado de saúde como um todo, pois o principal sistema que sofre alterações caso o indivíduo possua alguma doença é o sistema reprodutivo. Deve-se aferir parâmetros como frequência cardíaca, frequência respiratória e temperatura retal, além de palpar linfonos,

inspecionar pele, anexos e mucosas, realizar exames convencionais dos grandes sistemas e da glândula mamária [2].

A realização do exame específico externo baseia-se principalmente na inspeção e na palpação. Devem ser observadas na região perineal e vulvar alterações de posição, forma, grau de dilatação, relaxamento dos ligamentos sacroisquiáticos, fechamento e tamanho da vulva, edemas, abcessos, hematomas, ferimentos. Se há presença de secreção, avaliar cor, odor, consistência e transparência, sendo uma indicação de um processo fisiológico ou patológico do trato genital. Inspeccionar a mucosa vestibular através do afastamento dos lábios vulvares, devendo atentar-se a coloração, umidade, lesões, nódulos, formações císticas, estreitamento, aderências [1,2]. A glândula mamária deve ser inspecionada e deve ser avaliada quanto a forma do úbere e dos tetos, tamanho, pele, coloração, e na palpação observar se há presença de nódulos [2].

Para um exame ginecológico interno, inclui-se a palpação via retal e a vaginoscopia. Além de exames complementares, como a ultrassonogra-

fia, exames citológico, histológico, microbiológico, sorológico e dosagem hormonal.

A palpação via retal tem como objetivo avaliar a cérvix, o útero e os ovários, em vacas e éguas. Através deste exame é possível verificar o tamanho, espessura, simetria, contratilidade, consistência e se há presença de conteúdo no útero. A palpação dos ovários permite avaliar a presença de folículos, corpo lúteo, aumento de volume, cistos e tumores. O tamanho pode variar de acordo com a idade, raça e fase do ciclo estral [1].

Em cadelas, gatas e pequenos ruminantes é recomendada a palpação digital. A parede da pelve é examinada para avaliar simetria, irregularidades, fraturas antigas, estreitamento do canal pélvico e para determinar se há presença de tumores, principalmente na parede dorsal da vagina [3].

A vaginoscopia é fundamental à complementação do exame ginecológico de palpação retal. A observação da cavidade vaginal é realizada por meio de um espéculo tubular estéril ou do tipo Polanski, de calibre variável conforme a espécie do animal [1].

A forma da cérvix, o grau de abertura do canal cervical, a coloração da mucosa, o grau de umidade da mucosa e a característica do muco cervical e vaginal podem ser avaliados, assim como, anormalidades anatômicas congênitas (encurtamento no comprimento da vagina – novilhas Freemartin; hímen persistente – White Heifer disease; orifício externo duplo) ou causadas por trauma [2].

Fezes, urina, ar, muco ou pus são conteúdos patológicos que podem ser encontrados na vagina, como consequência de fistulas retrovaginais, lacerações perineais, lesões graves do meato urinário externo ou imperfeita coaptação dos lábios vulvares [3].

Em relação aos exames complementares, a ultrassonografia tem sido adotada como uma técnica clínica de rotina para acessar estruturas fisiológicas e patológicas do trato reprodutivo em todas as espécies de mamíferos [4,5]. Tem sido utilizada em larga escala como parte integral do exame do trato reprodutivo, sendo um método de monitoramento não invasivo e direto. Pode ser utilizada para o diagnóstico de doenças uterinas, como presença de fluidos intrauterino, cistos, identificação de irregularidades ovarianas, como

folículos anovulatórios, neoplasia e hematomas.

O desenvolvimento de probes que podem ser utilizadas por via transretal, permite visualizar os ovários e auxilia também na determinação do estágio do ciclo estral, permitindo examinar a dinâmica do crescimento folicular, a regressão e desenvolvimento do corpo lúteo [5].

A citologia vaginal é um método diagnóstico bastante utilizado nos pequenos animais (cadelas e gatas) devido as características descamativas do epitélio vaginal acompanharem as mudanças hormonais do ciclo estral. É frequentemente utilizada para o diagnóstico da fase do ciclo reprodutivo, o que permite diferenciar alterações patológicas de fisiológicas. Não é muito utilizada nas outras espécies, por sua pouca especificidade às modificações hormonais.

No entanto, as citologias cervical e uterina são frequentemente utilizadas em bovinos e equinos. A avaliação da morfologia celular e a verificação de presença de muco, leucócitos e bactérias, pode ser indicativo de processos inflamatórios e tumorais [1]. Através do exame histológico, amostras uterinas têm sido utilizadas para o diagnóstico de problemas de infertilidade, em particular endometrites e endometrioses. O achado de células polimorfonucleares nas amostras uterinas demonstra a presença de inflamação endometrial, mas sem a identificação do agente causal. Utilizando a análise histológica do tecido, removido através da biópsia, é possível diferenciar se é uma alteração inflamatória ou degenerativa [6].

Nos casos de suspeita de infecções genitais específicas ou inespecíficas, deve ser realizada a confirmação através de cultura e antibiograma. O exame microbiológico da secreção vaginal e cervical é utilizado para o diagnóstico etiológico e teste de resistência bacteriana aos antibióticos [2].

Os testes sorológicos são um método indireto para o diagnóstico de infecções, utilizados para a detecção de anticorpos específicos produzidos pelo hospedeiro em resposta a infecções virais ou bacterianas. É uma boa opção para diagnosticar uma infecção prévia, uma vez que o agente infeccioso tende a ser eliminado com a evolução do quadro, somente os anticorpos permanecem e servem como indicativo de que a infecção ocorreu [7].

A dosagem hormonal é um método complementar de diagnóstico de um estado fisiológico ou de distúrbios endócrinos. Pode ser realizada no soro ou plasma sanguíneo, e em alguns casos no leite, urina e fezes. Os principais hormônios analisados são a progesterona, estrógeno, FSH e LH, além de hormônios tireoidianos [1].

Exame Andrológico

A realização do exame andrológico tem como princípio fundamental caracterizar o potencial reprodutivo dos machos, e deve atender ao diagnóstico da saúde sexual, saúde hereditária e saúde reprodutiva tanto no aspecto da capacidade de monta (*potentia coeundi*) quanto na capacidade fecundante (*potentia generandi*) [8]. O exame andrológico deve ser indicado nos casos de histórico de infertilidade individual, para que possam ser detectadas alterações do desenvolvimento, inflamatórias, tumorais e degenerativas do sistema genital, bem como distúrbios na libido e na habilidade de cópula [9].

Deve ser realizada uma anamnese cuidadosa para que o clínico obtenha uma história completa do animal, antes de investigar o sistema reprodutivo. Doenças de outros órgãos ou sistemas podem, secundariamente, afetar o sistema reprodutivo [10].

Considerando que a produção espermática é um processo contínuo, que requer cerca de 60 dias desde o início da espermatogênese até a ejaculação, é importante saber do estado de saúde do macho durante o período precedente ao exame. O histórico reprodutivo do animal é de particular interesse e deve incluir, dependendo do objetivo do exame, os dados relacionados ao rebanho, ao estabelecimento e ao manejo dos animais na propriedade, o número e a frequência dos acasalamentos, as taxas de gestação obtidas em acasalamentos anteriores, a normalidade das progêneses, e a situação sanitária e reprodutiva do rebanho, bem como outras informações julgadas necessárias [9].

Após a anamnese, o animal deverá ser submetido ao exame clínico geral, com avaliação do sistema respiratório, circulatório, nervoso e digestivo, inspeção do aparelho locomotor e aferição da temperatura. O escore de condição corporal do

animal deve ser avaliado.

O exame do sistema genital se inicia com a inspeção do escroto, quanto à presença de ectoparasitas, lesões, dermatites. Através da palpação verifica-se a espessura da pele, sensibilidade, mobilidade e temperatura. Em seguida os testículos são palpados para se examinar a presença, forma, simetria, consistência, sensibilidade e mobilidade dentro do escroto. Uma consistência macia ou pastosa sugere degeneração testicular, enquanto uma consistência endurecida sugere neoplasia ou orquite [10]. Em cães, a chegada dos testículos no escroto geralmente se completa aos 10 dias de idade, porém somente após seis meses de vida do animal, quando o anel inguinal se fecha, é que a ausência dos testículos no escroto pode sugerir criptorquidismo [11].

Em ruminantes, é realizada a medida de circunferência escrotal, pois este é um importante parâmetro correlacionado com a produção de espermatozoides. A produção espermática tem uma correlação positiva com o peso gonadal, quanto maior e mais pesado o testículo, maior a produção espermática [12].

Os epidídimos devem estar intimamente aderidos aos testículos. A cabeça, o corpo e a cauda do órgão são examinados através da palpação, para que a forma, simetria, presença e consistência sejam avaliadas.

Em seguida os funículos espermáticos são palpados, verificando-se a simetria, já que o aumento do volume e temperatura pode estar relacionado com varicocele, que altera a capacidade de termorregulação testicular. O aumento de volume também pode sugerir hérnia. A dor e aumento de volume à palpação pode estar relacionado com a torção do funículo espermático.

O prepúcio deve ser examinado quanto ao orifício externo (óstio prepucial) já que cicatrizes e ferimentos podem provocar diminuição do óstio prepucial, determinando fimose. Segundo Cunha [10], o prepúcio do cão deve ser tracionado caudalmente e o bulbo da glândula exposto. Depois de exposto, o pênis deve ser totalmente avaliado. Em ruminantes, o pênis pode ser examinado em repouso ou após ereção, para a detecção inflamações, traumas, ou massas tumorais. O pênis de pequenos ruminantes apresenta o processo uretral ou apêndice vermiforme na glândula, com

comprimento de 4 cm, cuja função é distribuição do sêmen no fundo de saco vaginal através de movimentos rotatórios [13].

Por fim, o exame dos órgãos genitais internos dos grandes animais pode ser feito por palpação retal ou ultrassonografia transretal. Devem ser avaliadas as ampolas dos canais deferentes e as glândulas vesiculares, quanto a tamanho, forma, lobulação e sensibilidade (9). No cão é feita a palpação digital da glândula prostática. Segundo Cunha [10], a presença de tamanho e consistência anormais, assimetria entre lobos ou dor à palpação pode estar relacionada à presença prostatite ou hiperplasia prostática benigna, e indica a necessidade de um diagnóstico complementar para a avaliação da glândula.

O comportamento sexual dos machos deve ser avaliado por ocasião da coleta de sêmen com vagina artificial. Cada espécie manifesta um comportamento característico durante o cortejo sexual, que inclui aproximação da fêmea, cheirar diversas partes do corpo, realizar o reflexo de flehmen e algumas tentativas de monta [13].

Segundo Alfaro [8], o teste de libido em touros expressa as diversas reações comportamentais durante o cortejo sexual e a cópula. Sua interpretação será dada por meio da classificação quantitativa, em escala que varia de 0 a 10, em que 0 representa falta de interesse sexual, e 10 duas ou mais montas com serviço completo. A capacidade de serviço representa o número de montas efetuadas por um touro, de forma individual ou competitiva, num período de 10 minutos.

Para a realização do espermograma, deve-se realizar a coleta do sêmen. Os métodos de coleta de sêmen mais comumente utilizados são: vagina artificial, eletroejaculação e manipulação do pênis. A escolha do método de coleta depende da espécie e das circunstâncias da avaliação [13].

Imediatamente após a colheita do sêmen, o tubo coletor deve ser levado ao banho-maria a 35-37°C, para que o ejaculado seja submetido às avaliações. O volume do sêmen varia entre as espécies, e entre animais da mesma espécie, assim como a cor, que pode ser amarelada em alguns touros e caprinos, perolada em ovinos, esbranquiçada nas demais espécies. O odor é o característico da espécie (*suis generis*), excetuando a espécie caprina (odor hircino) e o pH deve estar

em torno de 7. O aspecto do sêmen varia entre as espécies, é soroso em equinos, cães e suínos, leitoso em bovinos e cremoso em pequenos ruminantes, já que o sêmen de ruminantes é muito concentrado de células espermáticas, e por isso é possível observar o movimento de massa dos espermatozoides macroscopicamente.

A seguir devem ser realizadas as análises microscópicas do sêmen. O turbilhonamento (movimento das ondas de espermatozoide) do sêmen é avaliado apenas em ruminantes, o mínimo deve ser 3, em uma escala de 0 a 5. Para realizar esta avaliação, uma gota de sêmen é colocada sobre lâmina aquecida e observada em microscópio com aumento de 100 vezes.

A motilidade retilínea e progressiva dos espermatozoides é avaliada colocando-se uma gota de sêmen de ruminantes diluída em solução fisiológica aquecida a 37°C, entre lâmina e lamínula também aquecidas, e observada em microscópio com aumento de 200 vezes. Nas demais espécies, coloca-se uma gota de sêmen puro entre lâmina e lamínula para se realizar esta avaliação. Aceita-se uma motilidade retilínea e progressiva acima de 70%. Nesta mesma lâmina é avaliado o vigor espermático, isto é, a propulsão dos espermatozoides, que varia em uma escala de 0 a 5. Aceita-se vigor acima de 3.

A concentração do sêmen é determinada com auxílio da câmara de Neubauer.

Para se realizar a análise da morfologia espermática pode-se utilizar o método de câmara úmida, no qual é colocada entre lâmina e lamínula uma gota de sêmen previamente diluído em solução de formol-salino aquecido a 37°C, e é feita vedação com esmalte ao redor da lamínula. Após 24 horas é feita a contagem de 200 células com avaliação da morfologia em microscópio com aumento de 1000 vezes, e então é calculada a porcentagem de defeitos encontrados nos espermatozoides. Pode-se realizar esfregaço de sêmen em lâmina aquecida para a realização de coloração, e neste caso são avaliados os defeitos de cabeça e acrossomo dos espermatozoides. Na maioria das espécies são permitidos a presença de 30% de defeitos totais em espermatozoides. Na tabela 1 estão descritos os parâmetros normais do ejaculado das diferentes espécies de animais domésticos.

As avaliações microscópicas do sêmen podem

ser realizadas através do sistema computadorizado (CASA), o qual minimiza a subjetividade nas análises de sêmen convencionais.

Para a avaliação do potencial reprodutivo dos reprodutores, tem sido proposta a classificação andrológica por pontos – CAP, a qual possibilita classificar os reprodutores, expressando de forma quantitativa o desempenho relacionado com: motilidade individual progressiva, vigor, defeitos maiores, defeitos totais e perímetro escrotal. A interpretação desta classificação será expressa em satisfatórios, 60 a 100 pontos; questionáveis, 31 a 59 pontos; e insatisfatórios, abaixo de 30 pontos [8].

Os exames complementares incluem os exames sorológicos e a identificação laboratorial por PCR de agentes infecciosos e parasitários que acometem os reprodutores, a exemplo de brucelose, tricomonose em bovinos e outras doenças. Outros exames, como cariotipagem e dosagem hormonal, podem ser incluídos na avaliação andrológica[8].

Segundo Paz et al. [14], a citologia aspirativa por agulha fina (CAAF) é uma técnica simples e eficiente na avaliação da atividade espermatogênica, sendo um importante método auxiliar no diagnóstico de casos de sub/infertilidade, no qual a biópsia testicular seria de uso desaconselhável.

As análises espermáticas realizadas de rotina, como motilidade, vigor, concentração e morfologia são de fundamental importância, no entanto, somente estas avaliações não são suficientes para prever a fertilidade de uma amostra de sêmen. O exame de várias características físicas pode determinar um maior potencial de fertilidade [15].

Para que o espermatozoide seja considerado qualitativamente viável e potencialmente fértil é necessário que possua morfologia, atividade metabólica e membranas plasmáticas normais. A presença de membranas íntegras é pré-requisito para que os eventos relacionados ao processo de fertilização, como a capacitação espermática, penetração nos revestimentos do oócito, ligação à zona pelúcida e fusão com o oolema possam ocorrer [16].

Existem testes que permitem avaliar a capacidade funcional dos espermatozoides. É possível avaliar através de colorações simples e com um microscópio óptico convencional, a integridade

da membrana acrossomal, utilizando a coloração Fast Green / Rosa Bengala [17]. O acrossoma é uma organela que contém enzimas hidrolíticas, entre elas, acrosina e hialuronidase, que estão envolvidas no processo de fertilização permitindo que ocorra a fecundação do espermatozoide na zona pelúcida do oócito [15].

Outra técnica é a avaliação da integridade da membrana plasmática utilizando a coloração Eosina – Nigrosina [18]. A membrana plasmática é o componente mais externo que envolve todo o espermatozoide, formada por proteínas e lipídeos, é responsável pelo mecanismo de manutenção do equilíbrio osmótico celular atuando como barreira entre os meios intra e extracelulares. Alterações na sua estrutura levam a perda da homeostase com posterior morte celular. É fundamental que esteja íntegra para a sobrevivência do espermatozoide no trato genital da fêmea e para a manutenção da capacidade fecundante [19].

É possível avaliar a atividade mitocondrial através do método baseado na oxidação de 3'3 diaminobenzidina (DAB) pelo Complexo Citocromo C, no qual numa reação em cadeia, o reagente é polimerizado e depositado nos locais aonde ocorre a reação (mitocôndria), podendo ser identificada pela sua coloração marrom, através de microscopia com contraste de fase [20]. A mitocôndria está localizada na peça intermediária do espermatozoide e é responsável pela produção de energia, a partir da geração de ATP, possibilitando o movimento da célula. Também é responsável pela maior parte da produção endógena de espécies reativas ao oxigênio (ROS), sendo considerada a reguladora central da apoptose celular [21].

Para avaliar o DNA espermático existem técnicas como Cometa Alcalino, ensaio da estrutura da cromatina espermática e o TUNEL. O DNA espermático íntegro é essencial para a transmissão precisa do material genético para a próxima geração. Uma alteração no DNA, não necessariamente impede a fertilização, mas pode causar alterações congênitas na prole e maior índice de abortos [22].

Existem também outras formas de se avaliar a funcionalidade das células espermáticas, através do uso de sondas fluorescentes, que são corantes fluorescentes utilizados isoladamente ou

em combinação para determinar a integridade e função celular, o que possibilita a análise de diversos compartimentos espermáticos simultaneamente. No entanto, para esta análise é necessário

um microscópio de epifluorescência ou um citômetro de fluxo [16].

Tabela 1: Características macroscópicas e microscópicas do sêmen de algumas espécies de animais.

Espécie	Volume (ml)	Concentração (espermatozoides/ml)	Aspecto	Espermatozoides morfolologicamente normais
Bovina	5-8	350 x 10 ⁶	leitoso	≥70%
Bubalina	2-8	300 a 1200 x 10 ⁶	leitoso	≥70%
Ovina	0,5 a 3	1 a 3 x 10 ⁹	cremoso	≥80%
Caprina	0,5 a 1,5	2 a 5 x 10 ⁹	cremoso	≥80%
Equina	40 a 60	100 a 200 x 10 ⁶	soroso	≥70%
Suína	50 a 600	200 a 400 x 10 ⁶	soroso	≥70%
Canina	1,5 a 8	20 a 300 x 10 ⁶	soroso	≥70%

Fonte: Adaptado de CBRA,2013

Referências

- GRÜNERT E, GREGORY R.M. **Diagnóstico e terapêutica da infertilidade na vaca**: Sulina; 1984.
- FEITOSA F.L.F. **Semiologia Veterinária : a Arte do Diagnóstico : Cães, Gatos, Eqüinos**. 2 ed: ROCA; 2008.
- RADOSTITS O.M, HOUSTON D.M, MAYHEW I.G. **Veterinary Clinical Examination and Diagnosis**: W.B. Saunders; 2000.
- KÄHN W. **Ultrasonography as a diagnostic tool in female animal reproduction**. *Animal Reproduction Science*. 1992;28(1-4):1-10.
- MEDAN M.S, ABD EL-ATY A.M. **Advances in ultrasonography and its applications in domestic ruminants and other farm animals reproduction**. *Journal of Advanced Research*. 2010;1(2):123-8.
- NIELSEN J.M, NIELSEN F.H, PETERSEN M.R. **Diagnosis of equine endometritis – Microbiology, cytology and histology of endometrial biopsies and the correlation to fertility**. *Pferdeheilkunde*. 2012;28(1):8-13.
- BARCELLOS D.E.S.N.D., MARQUES B.M.F.P.P., MORES T.J., CENTENARO F, SOBETIANSKY J. **Uso de perfis sorológicos e bacteriológicos em suinocultura**. *Acta scientiae veterinariae Porto Alegre, RS*. 2009.
- ALFARO C.E.P. **Importância da avaliação andrológica na seleção de reprodutores a campo**. *Rev Bras Reprod Anim*. 2011;35(2):152-3.
- BARBOSA R. **A importância do exame andrológico em bovinos**: Embrapa Pecuária Sudeste; 2005. 13 p.
- CUNHA I. **Exame andrológico do cão**. *Jornal Brasileiro de Ciência Animal*. 2008;1(1):49-65.
- JOHNSTON S.D, KUSTRITZ M.V.R., OLSON P.S. **Canine and Feline Theriogenology**: Saunders; 2001.
- JOHNSON A, GOMES W, VANDEMARK N. **The testis. Volume I. Development, anatomy and physiology**. The testis Volume I Development, anatomy and physiology. 1970.
- COLÉGIO Brasileiro de Reprodução Animal. **Manual para exame andrológico e avaliação do sêmen animal**. 3 ed. Belo Horizonte: CBRA; 2013.
- PAZ, R.C.R., LEME, D.P., ZÜGE, R.M., PESSUTI, C., SANTOS, E.F., BARNABE, R,C. **Citologia aspirativa por agulha fina (CAAF), em testículo de onça pintada (Panthera onca), utilizada como ferramenta no diagnóstico de infertilidade**. *Braz J vet Res anim Sci*. 2003;40:2.
- HAFEZ ,B. **Reprodução animal**. 7 ed: Manole; 2004.
- ARRUDA, R.P, CELEGHINI, E.D.C., ALONSO, M.A., CARVALHO, H.F, OLIVEIRA, L.Z., SILVA, D.F. **Métodos de avaliação da morfologia e função espermática: momento atual e desafios futuros**. *Revista Brasileira de Reprodu-*

ção Animal.35(2):145-51.

17. POPE, C.E., ZHANG, Y.Z., DRESSER, B.L. **A simple staining method for evaluating acrosomal status of cat spermatozoa.** Journal of Zoo and Wildlife Medicine. 1991:87-95.

18. CAMPBELL, R., DOTT, H., GLOVER, T. **Nigrosin eosin as a stain for differentiating live and dead spermatozoa.** The Journal of Agricultural Science. 1956;48(01):1-8.

19. PARKS, J.E., GRAHAM, J.K. **Effects of cryopreservation procedures on sperm membranes.** Theriogenology.38(2):209-22.

20. HRUDKA, F. **Cytochemical and ultra-cytochemical demonstration of cytochrome c oxidase in spermatozoa and dynamics of its changes accompanying ageing or induced by stress.** International journal of andrology. 1987;10(6):809-28.

21. RIBEIRO ,D., PESSOA, M.M. **Mitocôndria espermática: além da síntese de adenosina trifosfato (ATP).** Rev Bras Reprod Anim 2008;32(2):93-9.

22. DONNELLY, E.T., O'CONNELL, M., MCCLURE, N., LEWI, S. S.E.M. **Differences in nuclear DNA fragmentation and mitochondrial integrity of semen and prepared human spermatozoa.** Human Reproduction. 2000;15(7):1552-61.