



BRUNA CONRADO NUNES SANTOS

**RELATÓRIO DE ESTÁGIO SUPERVISIONADO REALIZADO
NA FAZENDA SÃO JOÃO (TRUE TYPE), EM INHAÚMA-MG,
E NA EMPRESA ALTA GENETICS DO BRASIL LTDA., EM
UBERABA-MG.**

**LAVRAS-MG
2019**

BRUNA CONRADO NUNES SANTOS

**RELATÓRIO DE ESTÁGIO SUPERVISIONADO REALIZADO NA FAZENDA SÃO
JOÃO (TRUE TYPE), EM INHAÚMA-MG, E NA EMPRESA ALTA GENETICS DO
BRASIL LTDA., EM UBERABA-MG.**

Relatório final de Estágio Supervisionado
apresentado ao Departamento de Medicina
Veterinária da Universidade Federal de Lavras
como parte das exigências do curso de Medicina
Veterinária, para a obtenção do título de Bacharel
em Medicina Veterinária.

Prof. Dr. Geraldo Márcio da Costa

Orientador

**LAVRAS – MG
2019**

BRUNA CONRADO NUNES SANTOS

RELATÓRIO DE ESTÁGIO SUPERVISIONADO REALIZADO NA FAZENDA SÃO JOÃO (TRUE TYPE), EM INHAÚMA-MG, E NA EMPRESA ALTA GENETICS DO BRASIL LTDA., EM UBERABA-MG.

Relatório final de Estágio Supervisionado apresentado ao Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do curso de Medicina Veterinária, para a obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária.

Aprovado em 28 de novembro de 2019.
Prof. Dr. Geraldo Márcio da Costa UFLA
Dra. Ana Paula Castro Santos UFLA
Dr. Miguel Pizzolante Bottino UFLA

Prof. Dr. Geraldo Márcio da Costa
Orientador

**LAVRAS – MG
2019**

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar a Deus, por toda a proteção e por sempre guiar o meu caminho.

A Universidade Federal de Lavras, por todos esses anos de aprendizado.

Ao Departamento de Medicina Veterinária, onde desenvolvi atividades durante grande parte da minha graduação, exercendo um importante papel em meu aprendizado.

Aos professores pela atenção e dedicação em me passar grandes ensinamentos. E, em especial, ao professor Dr. Geraldo Marcio da Costa, pela paciência e disponibilidade em me orientar.

Aos meus amigos da UFLA, companheiros de curso, que acompanharam toda minha jornada em Lavras, me apoiando e ajudando.

A todos os amigos e familiares, que sempre me incentivaram e acreditaram em mim.

À Fazenda São João (True Type) e à empresa Alta Genetics do Brasil Ltda, pela oportunidade de estágio, atividades desenvolvidas e ensinamentos passados.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	5
2. CRONOGRAMA DE ATIVIDADES.....	8
2.1 FAZENDA SÃO JOÃO (TRUE TYPE).....	8
2.2 ALTA GENETICS.....	8
3. DESCRIÇÃO DAS ATIVIDADES DESENVOLVIDAS.....	8
3.1 FAZENDA SÃO JOÃO (TRUE TYPE).....	8
3.2 ALTA GENETICS DO BRASIL LTDA.....	23
4. CONSIDERAÇÃO FINAL.....	36
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	37

1. INTRODUÇÃO

O estágio curricular obrigatório foi realizado em dois locais, ambos serão descritos no presente trabalho e foram orientados pelo professor Geraldo Marcio da Costa.

A primeira parte do estágio supervisionado foi realizada na Fazenda São João (True Type), que possui sede próximo à cidade de Inhaúma em Minas Gerais. A fazenda foi projetada em 1997 e fundada em 2000, atua no ramo de produção de leite, com uma produção média de 40.000 litros de leite por dia e cerca de 1.400 vacas em lactação. Grande parte do rebanho da propriedade é formado por animais da raça Holandesa, mas também possui animais das raças Girolando e Jersolando. Tem como missão produzir leite em escala empresarial e economicamente viável, respeitando o meio ambiente e o bem-estar animal e garantindo a qualidade dos produtos oferecidos ao mercado.

Na propriedade, utiliza-se o sistema de confinamento das fêmeas leiteiras, sendo utilizado o sistema de “Free-stall” para vacas de média e baixa produção leiteira, e o “Cross ventilation”, para os animais de alta produção, novilhas e vacas no pré-parto e no pós-parto. As vacas são divididas em lotes de acordo com sua ordem de parição (primíparas e multíparas) e produção leiteira, nos quais recebem dieta balanceada, calculada por um nutricionista animal, de duas a três vezes por dia de acordo com o lote em que o animal se encontra, e água de boa qualidade.

As atividades realizadas neste estágio englobam o acompanhamento da rotina de todos os setores presentes em uma propriedade leiteira, desde cuidados com bezerras recém-nascidas ao manejo reprodutivo das fêmeas leiteiras. O mesmo foi supervisionado pelo Médico Veterinário Victor Marques de Paula.

A segunda parte do estágio foi realizada na empresa Alta Genetics do Brasil Ltda. que possui sede na cidade de Uberaba, Minas Gerais. A empresa canadense chegou ao Brasil em 1995, quando estabeleceu sede em Porto Alegre – RS, atuando como uma distribuidora de sêmen importado. Já em 1996, a empresa estabeleceu parcerias com as centrais VR e Bela Vista para comercialização do sêmen brasileiro produzido por ambas as centrais. Neste mesmo ano mudou-se para Uberaba – MG, onde se reestabeleceu. E em 2005 foi inaugurada a moderna central de coleta de sêmen na rodovia BR-050. Atua na área de coleta, produção e comercialização de sêmen bovino, além de comercialização de colostro bovino em pó. Tem como missão: construir relacionamentos de longo prazo, criar valor para os clientes, melhorar a lucratividade de cada rebanho e entregar genética de confiança, além de serviços de manejo com alta qualidade. Sua visão é tornar-se a marca global de escolha dos criadores de corte e

leite progressistas. Seus valores são: coesão, comunicação, dinamismo, ética, foco, pessoas e relacionamentos.

A central Alta Genetics foi projetada em formato circular, na qual o laboratório de manipulação de sêmen e o centro de manejo e coleta ficam no centro do círculo, de forma a evitar que os touros se desloquem muito nas atividades de manejo e coleta. A Central possui cerca de 310 touros, dos quais, aproximadamente, 230 estão em coleta, inclusos touros próprios e touros de propriedades que realizam contratos com a central. Neste caso, a Empresa se responsabiliza a abrigar os touros para coleta e quando é produzida a quantidade de doses firmada em contrato, o animal retorna para a propriedade de origem. Existe ainda a opção de prestação de serviço, na qual a empresa coleta o sêmen do touro para uso exclusivo do proprietário do animal.

Os animais ficam em piquetes individuais com cerca de 1.200 metros quadrados, com baias e sombreamento natural, água disponível à vontade e alimentação balanceada duas vezes ao dia. Os animais são coletados de duas a três vezes por semana, a grande maioria das coletas é feita com o uso de vacas como manequins e vagina artificial e aqueles touros que, por algum motivo, não é possível coletar com a vagina artificial são coletados com eletroejaculador uma vez por semana, procedimento realizado por um médico veterinário.

O estágio foi realizado na parte de coleta e produção de sêmen, com acompanhamento da rotina do laboratório onde são produzidas, em média, vinte mil doses de sêmen diariamente, comercializadas pela empresa. O mesmo foi supervisionado pelo Médico Veterinário Dr. Neimar Correa Severo.

Figura 1. Vista aérea da Fazenda São João (True Type) em construção.



Fonte: www.ideagri.com.br/fazenda-sao-joao-true-type-producao-intensiva-de-leite.

Figura 2. Sede da empresa Alta Genetics Ltda.



Fonte: Arquivo Alta Genetics.

2. CRONOGRAMA DE ATIVIDADES

2.1 FAZENDA SÃO JOÃO (TRUE TYPE)

As atividades desenvolvidas durante o estágio foram definidas no decorrer do tempo, de acordo com a demanda de serviço. Para a definição das mesmas, foi levado em consideração a rotina da propriedade leiteira e atividades que estavam sendo realizadas na fazenda naquela época do ano. O estágio iniciou em 15 de julho de 2019, com duração de 30 dias úteis, totalizando uma carga horária de 240 horas. Durante esse período, as horas adquiridas foram distribuídas entre as seguintes áreas e atividades:

- Criação de bezerras;
- Manejo reprodutivo dos animais;
- Acompanhamento da retirada de leite em ordenha mecanizada;
- Clínica e cirurgia animal;
- Gestão;
- Avaliação e análises da dieta fornecida às vacas;
- Manejo sanitário.

2.2 ALTA GENETICS

As atividades desenvolvidas durante o estágio também foram definidas no decorrer do estágio e para a definição das mesmas, foi levado em consideração a rotina de coleta e produção de sêmen bovino. O estágio teve início no dia 02 de setembro de 2019, com duração de 53 dias úteis, totalizando uma carga horária de 432 horas. Durante esse período, as horas adquiridas foram distribuídas entre as seguintes atividades:

- Avaliação da qualidade do sêmen;
- Coleta de sêmen;
- Realização de exames nos bovinos;
- Processamento, envase e congelamento do sêmen bovino.

3. DESCRIÇÃO DAS ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

3.1 FAZENDA SÃO JOÃO (TRUE TYPE)

Na Fazenda São João (True Type), as atividades são divididas por setores:

- Maternidade e recria: abrange vacas e novilhas no pré-parto, no qual novilhas e vacas ficam separadas; bezerreiro de recém nascidas com 0 a 10 dias de vida; bezerreiro de

casinha, que abriga animais com 10 a 45 dias de vida; bezerreiro coletivo, animais com 45 a 90 dias de vida; bezerreiro “pós-casinha” e a partir de 4 meses os animais ficam na “recria”, em piquetes agrupados por idade.

- Plataforma: é onde se encontram as instalações para as vacas leiteiras, a ordenha mecanizada e tudo que está diretamente ligado ao manejo das fêmeas em lactação. É o centro da propriedade.
- Fábrica de ração: engloba toda a parte de produção da ração utilizada na alimentação dos animais da fazenda, preparo e mistura da dieta e fornecimento da mesma aos animais.
- Agricultura: a propriedade planta o próprio milho para ensilagem e a pastagem de Tifton, da qual é feito o feno usado na alimentação dos animais. Os funcionários do setor da agricultura também são responsáveis pela ensilagem do milho.

Cada setor descrito possui um gerente e, além deles, a fazenda conta com um veterinário responsável, Victor Marques de Paula, que atende a todas as atividades e um gerente geral da fazenda, Paulo Henrique, também veterinário, que gerencia a fazenda como um todo. Dessa forma, a estagiária pôde acompanhar as atividades de todas as subdivisões da fazenda e teve a oportunidade de vivenciar o funcionamento geral de uma propriedade leiteira em todos os seus âmbitos. A seguir serão descritas as principais atividades realizadas e acompanhadas pela estagiária nos diferentes setores da propriedade.

Maternidade e recria

Pré-parto

Na instalação “Cross ventilation” há um lote de animais no pré-parto, o qual é subdividido em pré-parto das novilhas e das vacas. Uma vez por semana, vacas e novilhas com aproximadamente 250 dias de gestação (faltando em média 30 dias para o parto) são levadas para o pré-parto. Antes disso, elas passam por uma higienização na vassoura da cauda e recebem uma dose (3 ml) da vacina Rotatec[®], que tem como objetivo prevenção e controle de mastite ambiental causada por bactérias gram-negativas e diarreias neonatais em bezerros. Além disso, novilhas têm o bóton fixado no pavilhão auricular, que será utilizado posteriormente para identificação do animal na ordenha mecanizada.

No pré-parto, as fêmeas recebem a dieta aniônica, com o objetivo de evitar a hipocalcemia no pós-parto, já que animais com tal afecção podem diminuir o consumo de matéria seca e se tornam mais predispostos a desenvolverem outras doenças, como retenção de placenta, prolapso uterino e deslocamento de abomaso (Horst et al., 1997). Os animais no pré-

parto têm o pH da urina medido uma vez por semana para avaliar a eficácia da dieta fornecida, o pH deve estar entre 6,0 e 7,0, assim como é sugerido por Goff e Horst (1997). Lembrando que, para realizar a coleta da urina e avaliação do pH, o animal deve estar a no mínimo três dias no pré-parto recebendo tal dieta, tempo necessário para que os sais aniônicos reduzam o pH urinário e provoquem uma leve acidose metabólica. (Santos;Santos, 1998).

O pré-parto possui um funcionário durante todo o dia e noite. O funcionário responsável pelo turno faz rondas pelo lote a cada 40 minutos para detectar se existem animais entrando em trabalho de parto. Uma vez identificada uma fêmea em trabalho de parto, a mesma é levada para uma baia individual presente no próprio lote. A partir de então esse animal será monitorado constantemente até parir e caso não consiga parir cerca de 40 minutos após o rompimento da bolsa, é feito um auxílio ao parto pelo encarregado do turno, treinado para tal procedimento. É recomendado que a intervenção obstétrica seja feita caso ocorra a exposição da bolsa amniótica e esta não for acompanhada da expulsão fetal após 2 horas ou caso a expulsão fetal se mantenha em progresso muito lento ou ausente por 2 horas (Duffield, 2000). Considerando que no parto normal de uma vaca a fase de expulsão do produto, que se inicia com o rompimento das bolsas fetais e termina com o nascimento do feto, pode durar de 1 a 3 horas (Landim-Alvarenga, 2006), a assistência ao parto realizada na propriedade é precoce. Seria mais indicado aguardar por mais tempo para que o parto ocorresse naturalmente e de forma não assistida.

Após o parto, a vaca é ordenhada para obtenção do colostro, que será avaliado com o uso do Refratômetro de Brix Digital® e armazenado em sacos plásticos, com capacidade para dois litros, em geladeira. Após ser ordenhada, a mãe recebe soro oral preparado na fazenda (Drench) via sonda esofágica, com o intuito de hidratar o animal, repor eletrólitos e fornecer energia.

Maternidade

Assim que o(a) bezerro(a) nasce é retirado(a) da mãe e realizada a cura do umbigo com tintura de iodo 10% durante um minuto e o(a) mesmo(a) é levado para instalação própria.

As bezerras fêmeas são levadas para o bezerreiro da maternidade, onde possui baias forradas por feno seco e ocupadas por no máximo duas bezerras cada. Em, no máximo duas horas após seu nascimento, a bezerra recebe 4 litros de colostro “verde” (acima de 25% brix na avaliação com uso do refratômetro de brix digital), proveniente do banco de colostro da fazenda, via sonda esofágica e tem seu umbigo curado novamente com tintura de iodo a 10%. Decorridas 12 horas após o nascimento, as bezerras recebem o “repasso”, que consiste em mais 4 litros de colostro via sonda esofágica, o colostro do repasse não precisa ser necessariamente o colostro

“verde”, também são usados colostros de menor qualidade. É recomendado que seja fornecido à bezerra 10 a 12% do seu peso vivo de colostro na primeira “mamada”, o que corresponde a 3,8 litros para uma bezerra de 43 quilos (Godden, 2008), e nas primeiras 24 horas de vida o animal deve ingerir pelo menos cinco a seis litros de colostro, quanto mais melhor (Miranda et al., 2003), o que corrobora a quantidade fornecida às bezerras da São João (True Type). Após isso, o aleitamento das bezerras é feito duas vezes ao dia com leite de vacas no pós-parto, são fornecidos 3 litros de manhã e 3 litros a tarde via balde. A cura do umbigo é repetida duas vezes por dia até o 5º dia de vida do animal. As bezerras recebem ração e água a vontade nas baias.

No segundo dia de vida, é feita a coleta de sangue das bezerras, o sangue é deixado de um dia para o outro para separação do plasma e após isso é feita a mensuração de proteína total sérica do plasma sanguíneo da bezerra, com o auxílio do refratômetro portátil, para avaliação da qualidade da colostragem feita ao nascimento. Valores de proteína sérica abaixo de 5,2 a 5,5 g/dL indicam falha na transferência de imunidade passiva (Deelen et al., 2014); no entanto, na propriedade acompanhada, o resultado esperado é que a concentração sérica de proteína plasmática esteja acima de 8,2 e abaixo de 13 g/dL.

No bezerreiro da maternidade também é feita a vacinação das bezerras com a vacina *Inforce 3*[®] em bezerras de 0 a 5 dias de vida. A vacina, composta por vírus vivo atenuado, é feita via nasal (um ml em cada narina) e tem como objetivo a prevenção de doença respiratória causada por Vírus Sincicial Respiratório Bovino (BRSV) e auxiliar na prevenção da Doença Respiratória causada por Vírus da Rinotraqueíte Infecciosa Bovina (IBR) e Vírus da Parainfluenza Bovina (PI3).

Os bezerros machos são levados para uma instalação distante das fêmeas, onde são mantidos em cama de feno seco e recebem 2 litros de leite uma vez ao dia, via sonda esofágica; não têm o umbigo curado com iodo 10%, como as fêmeas. Uma vez por semana são doados.

Figura 3. Fornecimento de colostro para bezerra 30 minutos após seu nascimento.



Fonte: Arquivo próprio.

Bezerreiro “casinha”

Quando completam 7 a 10 dias de vida, as bezerras são levadas para o bezerreiro de casinha, onde ficam em casinhas individuais, com ração e água a vontade. Bezerras com até 30 dias de vida recebem 3 litros de sucedâneo de leite puro duas vezes ao dia via balde, e recebem ração sem feno; já as bezerras com 30 a 45 dias de vida recebem 6 litros de leite descarte da fazenda mais sucedâneo de leite, caso seja necessário completar a quantidade, uma vez ao dia, pela manhã, via balde, e comem ração com feno.

Ao completarem 10 dias de vida, as bezerras começam a receber o produto Halocur[®] (halofuginona) via oral após o aleitamento, uma vez ao dia durante 7 dias. Tal medicamento é utilizado para prevenção e controle da diarreia causada pelo protozoário *Cryptosporidium parvum*, principal agente causador de diarreia na propriedade. Por ser uma afecção recorrente na propriedade, todos os dias os animais são monitorados para diarreia, é feita uma avaliação do comportamento da bezerra e do aspecto de suas fezes; os animais diagnosticados com tal enfermidade são tratados com soro caseiro (composto por glicose, sal de cozinha, bicarbonato, cloreto de potássio e água morna) para reposição de eletrólitos.

Além disso, também é feito o monitoramento para pneumonia por meio da avaliação da aparência e comportamento do animal e mensuração de sua temperatura retal. As bezerras que apresentam pneumonia (temperatura retal acima de 39,5°C) são tratadas com antibiótico florfenicol (Roflin[®]), anti-inflamatório flunixin meglumine (Desflan[®]) e secretolítico Aliv V[®], todos via intramuscular.

A diarreia é uma afecção muito comum e recorrente na propriedade acompanhada, em média 60% das bezerras do bezerreiro casinha são acometidas por tal enfermidade, o que supera os valores apresentados por Sousa et al. (2000), que encontrou em seu estudo uma frequência de 28% de bezerros portadores de enteropatia manifestada por diarreia, e por Souza e Lopes (1995), que registraram 40% de bezerras acometidas. Já em relação à incidência das doenças respiratórias no ano de 2019, cerca de 25% das bezerras da propriedade manifestam sinais de SRB, o que também supera valores da literatura, que relata índices de doenças respiratórias em bezerras próximos a 12% (Barros et al, 1965/66; Gonçalves, et al, 2001).

Apesar da alta incidência de diarreia e de SRB, a taxa de sobrevivência de animais no bezerreiro de casinha é de 97% neste ano de 2019.

Bezerreiro coletivo

A partir de 45 dias de vida as bezerras vão para o bezerreiro coletivo, onde ficam em piquetes com média de 20 bezerras, com água e ração a vontade e sombra artificial proporcionada por sombrites. No aleitamento recebem 6 litros de leite uma vez ao dia via balde *Milkbar*[®], no qual é possível que cinco bezerras mamem ao mesmo tempo, por possuir cinco bicos.

Nesta instalação, as bezerras ficam até alcançarem peso e idade suficiente para serem desmamadas. O desmame é feito com média de 80 a 90 dias de vida, quando as bezerras atingem o peso determinado para sua raça:

- 80 quilos para animais da raça Jersolando;
- 85 quilos para animais da raça Girolando;
- 90 quilos para animais da raça Holandesa.

Figura 4. Bezerras sendo alimentadas com uso de balde coletivo



Fonte: Arquivo próprio.

Recria

A partir de 4 meses de idade, as bezerras são agrupadas em lotes de acordo com a idade até atingirem peso e idade para entrarem em reprodução. Os animais ficam em piquetes, com sombra natural, água a vontade e recebem dieta balanceada uma vez ao dia.

A fazenda São João realiza um controle para Tristeza Parasitária Bovina, afecção recorrente e grave na propriedade, acometendo 85% das bezerras ao menos uma vez, que funciona da seguinte forma: os animais que possuem de 3 a 8 meses têm a temperatura retal aferida duas vezes por semana com termômetro digital; das bezerras que apresentam temperatura retal acima de 39.3°C são feitas lâminas com esfregaço sanguíneo de sangue obtido da ponta da cauda. As lâminas são lidas com o uso de microscópio para detectar presença dos agentes causadores da Tristeza Parasitária Bovina – *Anaplasma marginale*, *Babesia bovis* e *Babesia bigemina*. É feita uma avaliação subjetiva da quantidade de parasitas presentes na lâmina, não é feita contagem de hemácias totais para cálculo de parasitemia. Aqueles animais que estão parasitados são tratados de acordo com o parasita presente em sua lâmina:

- *Anaplasma marginale* – Enrofloxacina (Kinetomax[®]), dose única.
- *Babesia bovis* ou *Babesia bigemina* – Diaceturato de diminazeno (Ganaseg[®]), dose única.

- *Babesia sp* e *Anaplasma marginale* – Enrofloxacina (Kinetomax[®]) e Diaceturato de diminazeno (Ganaseg[®]).

Para o tratamento de Anaplasmoses e outras infecções causadas por rickettsias, as oxitetraciclinas são o antibiótico de escolha (Sacco, 2001). Mas estudos têm mostrado uma diminuição considerável da parasitemia em animais infectados por *Anaplasma marginale* 24 horas após o tratamento com dose única de enrofloxacina, comprovando o efeito rickettsicida da droga (Facury-Filho, 2012), o que corrobora a escolha realizada na propriedade (Kinetomax[®]) para o tratamento da afecção. Já para o tratamento da Babesiose são indicados os derivados de diamidina (Sacco, 2001), escolhido pelo veterinário responsável pela São João (True Type). Por fim, o dipropionato de imidocarb é recomendado para uso em situações em que o agente não foi identificado, pois atua contra ambas as afecções (Sacco, 2001); tal medicamento também é utilizado na fazenda em situações de alta incidência de Tristeza Parasitária Bovina.

As bezerras que desenvolvem um quadro clínico muito severo recebem tratamento suporte por meio de transfusão sanguínea. O sangue é transfundido de uma fêmea adulta, sendo 15 ml de sangue para cada quilo de peso vivo da bezerra.

O estágio foi realizado no período do inverno, estação em que os casos de Tristeza Parasitária Bovina estão relativamente controlados (quando comparados ao verão) e não houve nenhum óbito em decorrência da enfermidade durante todo o período de acompanhamento.

Plataforma

Acompanhamento de ordenha

Os animais são ordenhados três vezes ao dia, cada ordenha dura em média sete horas. Antes de entrarem na sala de ordenha, as vacas vão para a sala de espera/resfriamento, que consiste em uma estrutura ampla com ventilação artificial por ventiladores e aspersão de água, os ventiladores ficam ligados ininterruptamente e a aspersão acionada por um minuto e intercalada por três minutos de desligamento.

Para retirada do leite, a fazenda trabalha com ordenha mecanizada composta por 24 pares de conjunto de ordenha, localizada em uma sala com fosso, na qual as vacas ficam em posição lado a lado com a face oposta ao ordenhador. O sistema permite que 48 vacas possam ser ordenhadas simultaneamente. Primeiramente, o funcionário faz o manuseio dos tetos para estimulação da descida do leite e o “Teste da Caneca”, para avaliação da presença de grumos no leite, o que indica ocorrência de mastite clínica; em seguida aplica o “pré-dipping”, feito com antisséptico iodado para tetos (TheraFlex[®]), que tem como objetivo prevenir novos casos

de mastite ambiental e reduzir a carga microbiana do leite. Após a limpeza do teto, a ordenhadeira é colocada e quando cessa o fluxo de leite ela é removida automaticamente pelo extrator de ordenha. Imediatamente após a ordenhadeira se soltar, um segundo funcionário realiza o “pós-dipping” com um antisséptico iodado com alta concentração de iodo livre (Della Barrier[®]), que tem como objetivo combater agentes da mastite contagiosa e ambiental, que podem ser transmitidos de vaca a vaca pelas teteiras ou pelas mãos dos ordenhadores. Após aplicação do “pós-dipping” em todos os animais, eles são liberados por sistema automático de saída livre.

Ao término da ordenha, os animais passam por uma sala de manejo. Nesta sala diariamente é feita a técnica do “Chalk” para detecção de cio, que consiste em aplicação de uma marca de giz apropriado na região da base da cauda do animal, que quando recebe a monta apaga a marca feita pelo giz; os animais detectados sem a marca do dia anterior são inseminados imediatamente. Nesta mesma área, onde os animais são inseminados e medicados quando necessário, é feito o manejo reprodutivo, passam pelo pedilúvio (formol e sulfato de cobre), pelo manejo dos cascos, dentre outros serviços.

Manejo reprodutivo

Uma vez por semana, é feito o toque das fêmeas em lactação, o qual ocorre concomitantemente à ordenha da manhã. Os animais que vão passar pelo tronco são marcados com giz enquanto estão na ordenha e ao saírem da ordenha são separados. O toque é realizado pelo médico veterinário responsável, Victor Marques, auxiliado por funcionários.

No toque é feito o diagnóstico de gestação em fêmeas inseminadas há 30 dias, por meio da palpação retal e auxílio do ultrassom, confirmação das gestações com cerca de 60 dias e exame ginecológico de animais no pós-parto em período de espera voluntário (60 dias) e saindo dele. As vacas não gestantes que já passaram pelo período de espera voluntário e/ou aqueles que não emprenharam em inseminações anteriores são protocolados com uso de hormônios:

- DO (quarta-feira) – Benzoato de estradiol + progesterona (implante).
- D7 (quarta-feira) – Prostaglandina.
- D8 (quinta-feira) – Retira implante de progesterona + prostaglandina + cipionato de estradiol (ECP).
- D10 (sábado) – Inseminação artificial em tempo fixo.

As metas estabelecidas na propriedade para os índices zootécnicos relacionados à reprodução são:

- Taxa de serviço (vacas inseminadas a cada 21 dias/ aptas) = 70%;

- Taxa de concepção (vacas prenhas/ inseminadas) = 35%;
- Taxa de prenhez (número de prenhez/ total de vacas) = 24,5%.

Uma vez por semana é feito o toque das novilhas em idade e peso para entrarem em reprodução, sendo que o peso determinado é de 300 quilos para animais da raça Jersolando e 350 quilos para animais das raças Girolando e Holandesa. Nos animais inseminados, é feito o diagnóstico de gestação e as novilhas inseminadas, porém vazias são protocoladas novamente. As novilhas que estão entrando em reprodução são palpadas e avaliadas quanto à fase do ciclo em que se encontram e se estão aptas para reprodução são protocoladas com hormônios:

- D0 – Benzoato de estradiol (BE) + progesterona (implante) + prostaglandina (PGF).
- D9 – Retira implante de progesterona + cipionato de estradiol (ECP) + prostaglandina (PGF) + eCG (gonadotrofina coriônica equina).
- D11 – Inseminação artificial em tempo fixo.

Avaliação de cetose e metrite

Duas vezes por semana as vacas que estão entre 5 e 8 dias pós-parto passam por duas avaliações para diagnóstico de cetose e metrite. Iwersen et al. (2009) definiram que o medidor eletrônico de BHBA é uma boa ferramenta para diagnóstico de cetose subclínica em bovinos com uso do sangue, o que dá créditos ao método utilizado na propriedade, onde a avaliação é feita com o aparelho de monitoramento de glicemia e cetose no sangue (uso humano). Com agulha hipodérmica faz-se um furo na ponta da cauda do animal para coletar o sangue, uma quantidade mínima de sangue é suficiente para o aparelho mensurar a quantidade de corpos cetônicos (BHBA) presente na circulação do animal. Animais com concentração de BHBA no sangue maior ou igual a 3mmol/L apresentam cetose clínica e aqueles com BHBA entre 1,2 e 2,9mmol/L são diagnosticados com cetose subclínica (White 2015). Na fazenda São João, o mesmo critério é utilizado, animais com BHBA acima de 1,2mmol/L são tratados para cetose subclínica. O tratamento feito para animais com cetose é o uso do “Drench”, composto por cálcio, sulfato de magnésio, cloreto de potássio e propilenoglicol para reposição da glicemia; sendo fornecidos de 15 a 20 litros da solução por animal via sonda esofágica.

A cetose subclínica tem uma prevalência mundial de 8,9% a 34% em vacas nos dois primeiros meses de lactação e a cetose clínica tem uma incidência relatada de 2% a 15% (Duffield 2000). No ano de 2018, a propriedade acompanhada teve uma incidência média de 19% de casos de cetose no rebanho, permanecendo dentro da média mundial. Já no mês de agosto de 2019 (período que a estagiária estava na fazenda), os casos identificados de cetose chegaram a 40,8%, ultrapassando a média esperada. Ao observar o aumento dos casos de cetose

na propriedade no mês de agosto de 2019, o veterinário responsável conversou com um ex funcionário, demitido recentemente, que era o responsável por realizar as avaliações para diagnóstico da enfermidade. Foi constatado que tal funcionário realizava a mensuração de corpos cetônicos (BHBA) de forma errada e devido a isso, a incidência de cetose na propriedade no período anterior à sua demissão era baixa. Todos os dados anteriores ao mês de agosto de 2019 referentes à cetose na propriedade foram desconsiderados.

Devido ao parto, à produção de colostro e de leite, as vacas de alta produção necessitam de uma enorme quantidade de energia no pós-parto, mas o pico de consumo de matéria seca não ocorre antes de dez semanas pós-parto, ao contrário do pico de produção de leiteira, que ocorre entre quatro e seis semanas após o parto. Dessa forma, esses animais entram em balanço energético negativo, pois a ingestão de energia não é suficiente para suprir a demanda. Os níveis de glicose e insulina caem drasticamente e é necessário que o animal mobilize energia do tecido adiposo, o que provoca aumento dos níveis séricos de ácidos graxos não-esterificados (AGNE). No fígado, os AGNE serão transformados nos corpos cetônicos acetona, acetoacetato e beta-hidroxibutirato (BHBA), levando o animal à um quadro de cetose. Tal afecção causa perdas econômicas devido à diminuição na produção de leite dos animais acometidos e pela associação que a afecção possui com doenças do pós-parto, como deslocamento de abomaso e metrite. Além de prejudicar o desempenho reprodutivo das fêmeas, sendo relatados atraso do primeiro cio pós-parto e redução nas taxas de concepção (Duffield 2000).

A avaliação para diagnóstico de endometrite é feita com o uso do Metrichcek[®], objeto com uma haste metálica que tem na ponta um semicírculo de borracha. O equipamento é inserido através dos lábios vulvares limpos até alcançar a porção final da vagina, ao ser retirado o semicírculo da extremidade do equipamento traz dentro de si o conteúdo vaginal e a descarga uterina presente na vagina, que é avaliada em relação à coloração, aroma e consistência. Estudos demonstraram que com o uso do Metrichcek[®], mais vacas foram diagnosticadas com endometrite do que pelos métodos de vaginoscopia com espéculo e palpação vaginal com mão enluvada (Pleticha et al., 2009). Aqueles animais que apresentam secreção uterina mucopurulenta ou purulenta, com possível presença de sangue, detectada na vagina, são tratados com antibiótico ceftiofur (Excede[®]), aplicado via subcutânea na base posterior do pavilhão auricular. O ceftiofur, pertencente ao grupo das cefalosporinas, é o antibiótico mais estudado quando se fala em tratamento de metrites agudas ocorrentes dentro dos primeiros 21 dias pós-parto, provando sua eficiência (Pleticha et al., 2009). Além disso, estudos comprovam que o tratamento sistêmico para metrites com uso do ceftiofur é uma alternativa eficaz para os protocolos que associam tratamento intrauterino e tratamento sistêmico com antibióticos

(Drillich et al., 2001). Três dias após a primeira avaliação, os animais que apresentaram a afecção e passaram pelo tratamento são avaliados novamente para verificação do sucesso do tratamento; se não houver melhora, o animal é tratado novamente com o mesmo medicamento.

Semeadura de leite em placas de cultura para avaliação de mastite

No “Teste da caneca”, aqueles animais que apresentam grumos em um ou mais tetos têm o leite coletado para semeadura em meios de cultura para a avaliação da etiologia dos casos na própria fazenda. Em um primeiro momento o leite é semeado em placas contendo ágar sangue, um meio mais inespecífico, onde crescem todos os tipos de microrganismos causadores da mastite; e ágar Mac Conkey, no qual crescem somente bactérias gram negativas. Esse primeiro procedimento é feito para redução de custos com o diagnóstico de mastite e determinação do agente. As amostras que apresentam crescimento em somente um ou nos dois ágar, são semeadas na placa Accumast[®], capaz de identificar qual o agente presente no leite daquele animal. O tratamento é determinado de acordo com o agente identificado. Para o monitoramento da mastite subclínica, é coletada uma amostra de leite de cada animal para mensuração de CCS individual.

Caso o resultado da cultura aponte a presença de *Staphylococcus aureus* ou de *Prototheca spp*, o teto do animal acometido é secado. Se o resultado for *Streptococcus agalactiae*, o animal é destinado para um lote separado, no qual será tratado por três dias com o medicamento Bovigam L[®] (ampicilina e cloraxilina) e tem o leite destinado ao leite descarte da fazenda; quando esse animal parar de dar grumos no leite ele vai para o lote de animais diagnosticados com *Streptococcus agalactiae* que estão na ordenha principal e após sete dias do tratamento o animal tem o leite coletado novamente para realização do cultivo, se a cultura não apresentar crescimento microbiano a vaca é liberada para seu lote de origem.

O tratamento para os demais agentes causadores de mastite é:

- *Klebsiella spp*, *Enterobacter spp*, *Pseudomonas spp* e Leveduras (Grau 1) – Tratamento com Quallyxine[®] (neomicina, cefalexina e prednisolona) por quatro dias.
- *Klebsiella spp*, *Enterobacter spp*, *Pseudomonas spp* (Grau 2) – Tratamento com Mastijet Forte[®] (tetraciclina, neomicina, bacitracina e prednisolona), Maxicam 2%[®] (meloxicam) e IFlox[®] (enrofloxacina).
- *Streptococcus dysgalactiae*, *Aerococcus viridans* e *Streptococcus uberis* – Tratamento com Mastijet Forte[®] por três dias.
- *Enterococcus* e *Lactococcus* – Tratamento com Mastijet Forte[®] por quatro dias.

- *Staphylococcus coagulase negativa* e *Staphylococcus haemolyticus* – Tratamento com Quallyxine® duas vezes ao dia, por quatro dias.

Na propriedade acompanhada, a mastite subclínica acomete 30% do rebanho, enquanto a mastite clínica é responsável por apenas 1,1% dos casos. Somados os dois valores, a ocorrência de mastite na fazenda está acima dos cálculos feitos por Du Preez e Giesecke (1994), de que aproximadamente 17 a 20% da população mundial de vacas leiteiras tenham enfermidade em algum momento. A ocorrência de mastite subclínica na fazenda se mostra menor do que o estimado nos Estados Unidos da América, em que 40% das vacas são acometidas por tal apresentação da afecção (Philpot, 1994). Já em relação ao Brasil, a propriedade se destaca e tem bons resultados, pois estudos relatam que os índices de mastite subclínica atingem 72% dos rebanhos, contra 17,5% de mastite clínica nos estados de São Paulo e Minas Gerais (Costa et al, 1995). A Contagem de Células Somáticas do tanque da propriedade é de 280.000 células/ml, valor abaixo do exigido pela Instrução Normativa nº 76, de 26 de novembro de 2018, que estabelece valor máximo permitido de 500.000 CS/ml (quinhentas mil células por mililitro).

Pesagem de leite

A cada 15 a 20 dias é realizada a pesagem de leite de todos os animais que estão sendo ordenhados durante as três ordenhas do dia. O equipamento de ordenha utilizado na propriedade é capaz de identificar o animal, realizar a pesagem por si só e automaticamente lançar essa pesagem no sistema instalado nos computadores do escritório. Mas alguns bótons fixados no pavilhão auricular dos animais não são lidos pelo sensor e isso atrapalha a ordem de pesagem de leite no computador. Dessa forma, é necessário que pelo menos uma pessoa acompanhe as ordenhas para realizar a conferência dos bótons dos animais e a ordem dos mesmos.

A técnica de Controle Leiteiro é uma ferramenta muito importante na gestão de uma propriedade leiteira, visto que é a melhor forma de acompanhar a evolução produtiva de cada indivíduo no rebanho. Conhecendo os dados produtivos das fêmeas leiteiras, é possível acompanhar a curva de lactação de cada animal, podendo compará-lo com a média do rebanho e saber se o seu desempenho está conforme o esperado. Além de facilitar a divisão de lotes, tornar possível a formulação de dietas adequadas para cada lote e auxiliar no descarte de animais com produções inferiores, baixa persistência e períodos curtos de lactação, não reproduzindo animais de menor qualidade.

Fábrica de ração

Avaliação de homogeneidade de dieta com uso de peneira “Penn State”

A dieta dos animais em lactação é separada de acordo com os lotes em que os animais estão, os quais tem sua divisão baseada na produção leiteira dos animais, ordem de parição e dias em lactação. Para a distribuição da dieta nos lotes são feitas cinco dietas diferentes: animais no pré-parto, animais no pós-parto, animais de alta produção, animais de média produção e animais de baixa produção. Como são feitas várias misturas e os lotes são grandes e extensos (até 200 animais), uma vez por semana é feita a coleta de uma amostra da dieta, que está sendo distribuída em cada lote, e avaliação com a peneira Penn State[®], que tem como objetivo a certificação de que todos os animais de toda a extensão do lote estão recebendo a dieta misturada de forma homogênea. Para coleta das amostras, cada lote é dividido de forma imaginária em três partes: frente, meio e fundo. À medida que o trator acoplado ao vagão distribui a dieta para os animais, é feita uma coleta amostral do alimento que está caindo no cocho (antes de os animais começarem a comer), ao final são coletadas três amostras (frente, meio e fundo) do alimento fornecido em cada lote.

Para avaliação da homogeneidade da dieta é utilizada a peneira “Penn state” composta por três partes: a primeira com espaços de 19 mm, a segunda de 8 mm e a terceira consiste no fundo sem furos. São pesados 500g de cada amostra coletada e é feita a peneiragem, que consiste em 4 movimentos de dobrar e esticar os braços para cada um dos quatro lados da peneira. Ao final da peneiragem, é feita a pesagem do que ficou em cada um dos três compartimentos da peneira. Por fim, é feita uma avaliação para ver se as três subdivisões de cada lote estão comendo uma dieta com as mesmas proporções de fibras maiores, menores e alimento concentrado. Caso seja notado uma grande heterogeneidade na dieta recebida ao longo da extensão dos lotes, medidas são tomadas para melhoria da situação, como realizar ajustes na regulagem do vagão misturador.

Figuras 5, 6 e 7. Resultado da peneiragem utilizando Penn State[®].



Fonte: Arquivo próprio.

Análise de silagem

No período em que o estágio foi realizado estava sendo produzida na fazenda a silagem de milho proveniente da “safrinha”. Simultaneamente ao corte e compactação da silagem, eram feitas três avaliações para verificação da quantidade de matéria seca presente na silagem produzida, qualidade de quebra do grão e de corte das fibras.

- Análise com uso de balde – Verificar se a máquina responsável pelo corte da planta de milho está quebrando o grão da planta de forma efetiva, sem deixar grãos inteiros na silagem, já que grãos inteiros não permitem o aproveitamento do amido pelo organismo do animal.
- Análise com uso da peneira Penn State[®] – Feita para avaliar a quantidade de fibras fisicamente efetivas, fibras menores e concentrado presente na silagem produzida.
- Análise de matéria seca – São pesados 100g da silagem a ser testada e colocados no microondas por três minutos, depois desse tempo pesa a silagem novamente. Tal procedimento é feito repetidas vezes até que toda a umidade do produto seja retirada por meio da secagem no microondas e o peso se estabilize por três vezes consecutivas. O valor da matéria seca é o peso que se repete as três vezes, a porcentagem de matéria seca desejada é de 35%.

Além das análises feitas na propriedade, é feita coleta e preparo de amostra para análise bromatológica da silagem, realizada em laboratório especializado (3r lab, em Lavras – MG).

3.2 ALTA GENETICS DO BRASIL LTDA.

Quarentenário

Os animais que são enviados para a empresa chegam primeiro ao quarentenário, onde passam por uma bateria de exames para certificação de que estão em pleno estado de saúde e aptos para entrarem em coleta. Todos os animais devem chegar à empresa com um atestado de exame de Brucelose e Tuberculose e o tempo de permanência dos animais no quarentenário vai depender da validade deste exame, variando entre 28 e 60 dias, já que os atestados de exames negativos para brucelose e tuberculose são válidos por sessenta dias. Além dos touros destinados à coleta, as vacas que serão manequins também passam pelo quarentenário.

Durante o período em que os animais estão em quarentena, são feitos em cada animal:

- 4 baterias de exames para diagnóstico de Campilobacteriose e Tricomonose;
- 2 baterias de exames para diagnóstico de Diarreia Viral Bovina (BVD);
- 1 exame para diagnóstico de Brucelose e Tuberculose;
- 1 exame para diagnóstico de Leucose;
- 1 coleta de pelo para exame de DNA;
- 1 aplicação de Dihidroestreptomicina;
- 1 vacinação contra Raiva;
- 1 vacinação contra Clostridioses.

Os exames são realizados uma vez por semana, até que o touro seja liberado para coleta. A estagiária teve oportunidade de acompanhar e realizar a coleta de amostras para todos eles. As amostras coletadas são enviadas para o Instituto Biológico de São Paulo, para processamento dos testes diagnósticos.

Colheita de material para Campilobacteriose Genital Bovina – Nos machos, é feita a higienização externa do prepúcio. O material é colhido com uso de um swab, que é fixado em uma pinça Kocher longa e introduzido até o fundo do saco prepucial do animal para coleta do esmegma. O swab é depositado em meio de cultura apropriado (Meio Stuart) e mantido em refrigeração à temperatura de 2°C a 8°C. Em fêmeas, a vulva é higienizada e o swab é introduzido no fundo de saco vaginal e na entrada da cérvix. Em ambos são realizados quatro testes em sequência semanal.

Colheita de material para Tricomonose Genital Bovina – São introduzidos 50 mL de solução fisiológica a 0,9% no prepúcio para lavagem; o líquido é colhido diretamente em meio de cultura apropriado (Meio de Rieck Modificado) e mantido em temperatura ambiente. No

caso de fêmeas, a solução fisiológica é depositada no fundo de saco vaginal e na entrada da cérvix. Também são realizados quatro testes em sequência semanal.

Colheita de sangue para Diarreia Viral Bovina (BVD), Leucose e Brucelose – Dá-se preferência para coleta do sangue na veia coccígea, mas quando não é possível o sangue é coletado da veia jugular. Para Brucelose e Leucose é usado tubo sem anticoagulante, pois necessita do soro para realização do teste diagnóstico. Já para Diarreia Viral Bovina (BVD) a coleta é feita em tubo com anticoagulante e são realizados dois testes, com intervalo de 21 dias, do animal em quarentena.

Animais que terão o sêmen exportado têm mais um tubo de sangue coletado para exames de Febre Aftosa e Estomatite Vesicular.

Vacinação – É feita vacinação para prevenção da Raiva (dosagem conforme a bula, 2mL) e para prevenção das Clostridioses (carbúnculo sintomático, gangrena gasosa, enterotoxemia, morte súbita, edema maligno, tétano e botulismo) com a vacina Excell[®] (5mL); ambas com via de administração subcutânea e mantidas em temperatura de 2°C a 8°C. Além disso, é aplicado antibiótico Dihidroestreptomicina (25mg por kg de peso vivo), com o objetivo de eliminar um possível estado de portador renal do animal.

Teste confirmatório para Tuberculose Bovina – Este exame é feito pelo médico veterinário responsável. É realizado o Teste Cervical Comparativo com tuberculina derivado proteico purificado (PPD) bovina e aviária (usa-se a tuberculina aviária para avaliação da reação cruzada), que são mantidas sob refrigeração (2°C a 8°C).

A realização do teste segue os padrões determinados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (2017), que determina que as inoculações das tuberculinas PPD aviária e bovina são realizadas via intradérmica, em uma dosagem de 0,1ml, na região cervical ou escapular, de forma a manter uma distância de 15 a 20 centímetros das duas aplicações e aplicar sempre a tuberculina aviária cranialmente e a tuberculina bovina caudalmente. Os locais de inoculação das tuberculinas são demarcados por tricotomia e a espessura da dobra de pele é medida com cutímetro antes da inoculação. Após 72 horas da inoculação, é feita uma nova medida da espessura da dobra de pele. Para calcular o aumento da espessura de dobra de pele e ter o resultado do exame deve primeiro subtrair da medida obtida após 72 horas da inoculação, a medida da dobra de pele obtida no dia da inoculação para tuberculina PPD aviária (ΔA) e para tuberculina PPD bovina (ΔB); e a diferença final do aumento da dobra de pele provocado pela inoculação das tuberculinas é calculado: ($\Delta A - \Delta B$). Os resultados são interpretados conforme a tabela a seguir:

Tabela 1. Interpretação do teste cervical comparativo em bovinos.

$\Delta B - \Delta A$ (mm)	Interpretação
$\leq 1,9$	negativo
2,0 a 3,9	inconclusivo
$\geq 4,0$	positivo

Fonte: Instrução Normativa nº 10, de 3 de março de 2017.

A cada 180 dias, os animais que já estão em coleta têm todos os exames e vacinas mencionados feitos novamente, chama-se “renovação”. Mas nestes casos, o teste para Tuberculose utilizado é o Teste Cervical Simples, que consiste na inoculação intradérmica somente da tuberculina PPD bovina, dosagem de 0,1 mL, e segue os mesmos passos do Teste Cervical Comparativo. O aumento da espessura da dobra de pele (ΔB) será calculado subtraindo da medida da dobra de pele 72 horas após a inoculação, a medida do dia da inoculação. Os resultados serão interpretados conforme a tabela a seguir:

Tabela 2. Interpretação do teste cervical simples.

Características da reação				
ΔB (mm)	Sensibilidade	Consistência	Outras alterações	Interpretação
0 a 1,9	-	-	-	negativo
2,0 a 3,9	pouca dor	endurecida	delimitada	inconclusivo
2,0 a 3,9	muita dor	macia	exsudato, necrose	positivo
$\geq 4,0$	-	-	-	positivo

Fonte: Instrução Normativa nº 10, de 3 de março de 2017.

Caso o resultado dos testes, tanto do Teste Cervical Comparativo quanto do Teste Cervical Simples, seja inconclusivo ou positivo são aguardados sessenta dias e é feito um novo exame. Se neste segundo exame, o resultado for positivo, o animal é enviado para a propriedade de origem.

Coleta de sêmen

Os touros são coletados de duas a três vezes por semana; os animais cujo sêmen é coletado duas vezes por semana possuem dois dias para descanso, aqueles que são coletados na segunda-feira passam por coleta na quinta-feira, e os touros que são coletados na terça-feira passam por coleta na sexta-feira novamente; já os touros que são coletados três vezes na semana (por demanda de mercado) passam por coleta na segunda, na quarta e na sexta-feira. Além disso, alguns touros passam por duas coletas de sêmen por dia, ou seja, são coletados dois saltos, devido à grande demanda de sêmen dos mesmos no mercado.

Antes de serem coletados, os touros passam por uma higienização da região do prepúcio. Os pelos do prepúcio são aparados e é feita uma lavagem com água e sabão na região externa do prepúcio; a região interna é preenchida e esvaziada por água três vezes para limpeza e enchida uma vez com solução fisiológica; por fim, seca-se a região com papel toalha.

A coleta de sêmen é feita com vagina artificial e manequins, são utilizados dezoito vacas mestiças e dois touros castrados, que também são utilizados como manequins em situações que o touro é muito grande e as vacas não suportam seu peso no momento da monta ou até mesmo para aqueles touros que têm preferência por montar no macho. Para coleta, os funcionários normalmente trabalham em duplas, um para realizar a coleta propriamente dita e outro para segurar os animais. Ao colocarem o(a) manequim juntamente com o touro a ser coletado, eles aguardam até que o touro realize a monta e não coletam o sêmen na primeira subida do touro, com o intuito de melhorar a qualidade do sêmen. Dessa forma, realizam um a dois desvios do pênis e em seguida buscam a vagina artificial para coletar o sêmen na próxima subida. Em concordância com tal medida adotada, estudos demonstraram que estimulação extra nos touros e a permissão de falsas montas antes da coleta aumentam a excitação do animal e a qualidade do ejaculado; o sêmen de touros que foram submetidos a falsa monta apresentou grandes melhoras em sua qualidade quando comparado ao sêmen de touros que não tiveram restrição para monta e ejaculação (Crombach, 1961).

Um funcionário fica responsável pela higienização, montagem e preparo das vaginas artificiais, deixando-as prontas para os coletadores no momento em que precisarem. A vagina artificial é preenchida com água em temperatura entre 45°C e 50°C, de modo que a temperatura dentro da vagina artificial esteja por volta de 37°C no momento da ejaculação do animal, visando manter o sêmen em boa qualidade da coleta até a entrega do mesmo no laboratório para processamento. Antes de coletar, passam uma pequena quantidade de gel lubrificante não espermicida no interior da vagina artificial. Quando não estão em uso, a vagina artificial e seus acessórios são mantidos em uma estufa a 50°C.

Figura 8. Coleta de sêmen com vagina artificial e manequim macho castrado.



Fonte: Arquivo pessoal.

Coleta de sêmen com eletroejaculador

Apesar de a coleta de sêmen com vagina artificial ser o método de escolha, existem casos em que o touro não tem libido suficiente para montar nos manequins, touros que são violentos com os manequins e não realizam a monta ou mesmo touros que realizam a monta, mas não permitem que o coletador se aproxime para coletar o sêmen; animais nessas condições têm o sêmen coletado com uso do eletroejaculador, realizado por médico veterinário. O eletroejaculador é um método considerado muito eficiente e confiável na coleta de sêmen de touros, por ser uma técnica que não requer a monta em outros animais e por ser facilmente adaptável à maioria das estruturas de manejo de bovinos, além de demandar um menor tempo para obtenção do ejaculado (Palmer et al., 2005).

O touro é colocado em um tronco de contenção e tem o seu prepúcio higienizado. Para coletar o sêmen, é preparado um tubo encaixado em um funil e colocado dentro de um recipiente de plástico com água a 37°C a 38°C. É feita a palpação transretal para avaliação das glândulas vesiculares, corpo da próstata e ampola do ducto deferente do animal, e também para limpeza do reto a fim de retirar as fezes para não atrapalhar a passagem dos estímulos quando o eletroejaculador for ligado. Por fim, a probe é colocada no reto do animal, com os três eletrodos lineares posicionados ventralmente, e se dá início aos estímulos elétricos até obtenção do ejaculado.

O eletroejaculador utilizado possui três voltagens para aplicação dos estímulos: baixa (8 volts), média (12 volts) e alta (18 volts). É possível trabalhar com o eletroejaculador no modo automático, pois o aparelho possui programas de estímulos já prontos para a espécie animal nas três diferentes voltagens, os estímulos vão se intensificando automaticamente até que o animal ejacule. Mas também pode ser trabalhado no modo manual, dessa forma o operador do equipamento vai ajustando os estímulos de acordo com o comportamento e a reação do animal, respeitando as respostas individuais de cada touro, até a obtenção do ejaculado, como é sugerido por Costa e Silva (2010).

Manejo clínico de touros

A estagiária teve a oportunidade de realizar manejo de feridas nos touros da central. A ferida mais comumente encontrada é no peito dos machos, provocada no momento da monta e pela repetição da mesma; a medida tomada para tais ferimentos é de lavagem com água e sabão, secagem com papel toalha e posteriormente passa unguento com terramicina e aplica spray larvicida, cicatrizante e antimicrobiano. Durante o período do estágio, houve também touros com timpanismo, nos quais foi feita a sondagem esofagiana e fornecimento de água morna com antitóxico (Blo-trol[®]).

Manejo alimentar dos touros

A dieta fornecida aos animais na central Alta Genetics é calculada por um zootecnista e fornecida duas vezes ao dia, com auxílio de trator acoplado a vagão misturador.

A dieta é composta por:

- Silagem de milho – 14 quilos por animal/ dia, representando 76,5% da dieta total;
- Feno – 1 quilo por animal/ dia, representando 5,5% da dieta total;
- Polpa cítrica – 2,3 quilos por animal/ dia, 12,6% da dieta total;
- Farelo de soja – 700 gramas por animal/dia, 3,8% da dieta total;
- Núcleo mineral – 300 gramas por animal/ dia, 1,6% da dieta total.

Laboratório

Recepção do sêmen

Assim que o sêmen é coletado, o mesmo é entregue ao laboratório com identificação do animal, horário de coleta e coletador em uma temperatura média de 35°C a 36°C. No primeiro momento, o sêmen é pesado para determinação do volume.

Durante o processo de colheita do sêmen, na passagem do mesmo pela uretra, pênis e prepúcio, ocorre a contaminação dos espermatozoides e das secreções das glândulas anexas, primariamente estéreis. E durante o processamento do sêmen, existem outras possíveis fontes de contaminação do mesmo, como a gema de ovo presente no diluidor, as palhetas para envase, o nitrogênio líquido em sua forma de vapor e até mesmo o próprio diluidor (Henry, 2013). Dessa forma, de acordo com o volume do sêmen, é feita a adição de antibiótico, composto por solução de cloridrato de lincomicina e sulfato de espectinomicina (Linco Spectin[®]), gentamicina (Pangram 10%[®]), tilosina (Tyladen[®]) e corante.

Em seguida, é retirada uma amostra para avaliação da concentração do sêmen, que pode ser feita por meio do espectrofotômetro ou pelo NucleoCounter[®]. A maioria dos touros têm a concentração determinada pelo espectrofotômetro, que fornece como resultado a porcentagem de transmitância, que indica o quanto de luz passou pelo conteúdo (sêmen), quanto maior a transmitância, menor a concentração do ejaculado; de acordo com a porcentagem de transmitância têm-se a quantidade de células por mL de sêmen. Touros que possuem um menor número de espermatozoides por palheta (20 a 25 milhões de células), que possuem concentração acima de 2,5 bilhões de células por mL ou abaixo de 600 milhões de células/mL quando feito no espectrofotômetro, têm a concentração determinada pelo equipamento NucleoCounter[®], ainda não utilizado em todos os animais por estar em teste, é um equipamento mais preciso, rápido e fornece como resultado o número de células por mL. Segundo o Colégio Brasileiro de Reprodução Animal (CBRA), no Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal (2013), um ejaculado fresco, coletado por vagina artificial, tem como concentração desejável 350 milhões de células por mL; por precaução e rigidez com a qualidade do sêmen comercializado, a empresa opta por reprovar e descartar ejaculados com concentrações abaixo de 400 milhões de células por mL.

É feita a diluição de 8 microlitros de sêmen em 500 microlitros de diluente para avaliação de motilidade e vigor do sêmen em microscópio óptico de luz. São aprovados ejaculados com motilidade maior ou igual a 60% (em uma escala de 0 a 100%) e vigor maior ou igual a 3 (em uma escala de 1 a 5), abaixo desses valores o sêmen é descartado. Além da avaliação de motilidade e vigor, uma amostra de 200 microlitros de sêmen é diluída em 0,4 mL de formol salino em um eppendorf com destino à avaliação de morfologia espermática.

As informações de volume, concentração, motilidade e vigor são lançadas no sistema (UPS[®]), que fornece o volume de diluente para primeira diluição, o volume adicional para segunda diluição (se necessário) e a quantidade de doses que serão produzidas com o ejaculado (abaixo de 70 doses, o sêmen é descartado, pois não compensa a produção).

Conforme o valor da concentração do ejaculado, é feita a primeira diluição do sêmen na quantidade estabelecida. São utilizados dois diluidores: Triladyl[®], meio extensor para congelamento de sêmen, misturado com gema de ovo e água destilada; e o OptiXcell[®], meio de cultura para preservação do sêmen semelhante a gema de ovo, mas sem proteínas, diluído em água destilada, utilizado em casos de touros que apresentam problemas de congelabilidade do sêmen. O diluente composto por Triladyl[®], utilizado na grande maioria dos ejaculados, tem em sua composição o glicerol, crioprotetor intracelular, que possui alta capacidade de se ligar à água (de forma a impedir a formação de cristais de gelo no meio diluidor) e de penetrar na célula (a fim de reduzir a fluidez da membrana plasmática e alterar sua permeabilidade), atuando tanto no meio extracelular, quanto no meio intracelular (Henry, 2013). Além do glicerol, o diluidor mencionado tem adição de gema de ovo, uma fonte de lipoproteína de alto peso molecular, que atua de forma a proteger o sêmen contra o choque térmico, preservar a motilidade espermática e aumentar a estabilidade da membrana das células (Henry, 2013).

“Combine” – Touros que tem uma maior demanda de doses, que são mais comercializados, são coletados duas vezes por dia de coleta. Assim, quando um mesmo touro é coletado duas vezes com um intervalo de até uma hora entre as duas coletas, e se as características de motilidade e vigor dos dois ejaculados forem semelhantes, é feito o “combine”, que nada mais é que a junção dos dois ejaculados em um só no momento da segunda diluição.

Teste de Schalm – A indicação é de que o teste seja realizado a cada 15 dias ou quando se constata problemas de qualidade do sêmen (diminuição da concentração ou da motilidade sem causa aparente, ejaculados com mudança de cor [gris, cinza], ou mais de 30% de anormalidades). Durante o estágio, a estagiária teve a oportunidade de ver o teste sendo feito em casos que o sêmen apresentava grumos ou quaisquer outras alterações em sua aparência.

É colocado 0,5 mL de sêmen em 2,5 mL de solução reativa de CMT em uma placa de Petri; é feita a rotação da placa para mistura das duas soluções e interpretação do teste:

- 0 = líquido violeta ou amarelo (depende do pH);
- + = grumos que desaparecem em um minuto;
- ++ = gel como clara de ovo;
- +++ = gel como gelatina espessa;
- ++++ = gel que gruda na placa;
- pH alcalino >7 – púrpura;
- pH ácido <7 – amarelo.

Se o resultado do teste der positivo, ou seja, igual ou acima de “+”, é um indicativo de inflamação nas glândulas anexas e o sêmen é descartado.

Avaliação da morfologia espermática

A avaliação da morfologia espermática é feita por médico veterinário com uso do microscópio de contraste de fase, sob óleo de imersão. Para tal, é retirada uma amostra de sêmen diluído em formol salina, com o intuito de fixar os espermatozoides, e colocada em uma lâmina com lamínula. São contadas 100 células no total para tal avaliação, caso haja dúvidas sobre tal sêmen e a morfologia das células mais 100 células são contadas.

Os defeitos de morfologia das células são classificados em defeitos maiores e menores. Os defeitos maiores são divididos em: defeitos de acrossoma, gota caudal proximal, cabeça isolada patológica, cabeça estreita na base, cabeça em formato piriforme, cabeça pequena anormal, cabeça macro ou microcefálica, contorno anormal da cabeça/ crateras, pouch formation/ vesículas, cabeça teratológica, cauda fortemente dobrada ou enrolada e defeitos de peça intermediária. Já os defeitos menores são divididos em: acrossoma desprendido, cabeça isolada normal, defeito de inserção da cabeça, cauda dobrada ou enrolada, cauda enrolada na porção terminal e gota caudal distal.

Os limites de defeitos na estrutura das células para aprovação do sêmen são de 20% de defeitos maiores totais e 30% de defeitos totais. Ou seja, o ejaculado deve ter pelo menos 70% de células normais; se tem 20% de defeitos maiores, pode ter 10% de defeitos menores, se tem 15% de defeitos maiores, pode ter 15% de defeitos menores. Ejaculados que ultrapassam os limites estabelecidos são descartados. De acordo com o Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal (CBRA, 2013) o total de defeitos maiores deve ser menor ou igual a 10% das células contadas, valor menor do que o utilizado pela empresa (menor ou igual a 20%), mas a quantidade de espermatozoides normais (70%) permitida pela empresa corrobora a orientação do Manual.

Tabela 3. Características do ejaculado de touros coletados pela vagina artificial.

Características	Valores
Volume (vagina artificial)	5-8 mL
Cor	Branca ou amarelo-marfim
Odor	“sui generis”
Movimento em massa	≥ 3
Motilidade espermática	≥ 60%
Vigor	≥ 3
Concentração espermática	~350 x 10 ⁶ / mL
Nº total espermatozoides/ ejaculado	3 – 5 x 10 ⁹
Espermatozoides morfologicamente normais	≥ 70%
Defeitos maiores	≤ 10%
Defeitos menores	≤ 20%
Defeitos individuais maiores	≤ 5%
Defeitos individuais menores	≤ 10%

Fonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. 3 ed. Belo Horizonte: CBRA, 2013.

Refrigeração do sêmen

Feita a primeira diluição, o tubo Falcon com o sêmen é colocado dentro de um copo com água morna em temperatura entre 34°C e 35°C, visando evitar o choque térmico, e é levado para o “balcão”, uma espécie de câmara fria que se mantém a 4°C, onde será resfriado a tal temperatura. O sêmen permanece neste ambiente a 4°C por duas horas e então é feita a segunda diluição daqueles ejaculados que possuíam volume adicional em diluente na mesma temperatura. Após a segunda diluição, o sêmen deve permanecer a 4°C por mais duas horas antes de ser envasado.

A curva de refrigeração é um dos principais pontos do processamento e congelamento do sêmen e tem como objetivo reduzir o metabolismo da célula espermática, levando-a a um estado de quiescência. Estudos demonstraram que um tempo de equilíbrio de quatro horas, como é feito na empresa, é suficiente para uma boa taxa de sobrevivência espermática após o congelamento (Foote e Kaproth, 2001) e garante maior motilidade total e menores danos às membranas plasmática e acrossomal (Leite et al, 2010).

Impressão de palhetas e envase do sêmen

A impressão das palhetas é feita em uma máquina própria para tal atividade. Na palheta constam: o nome da empresa Alta Genetics, o nome e registro do touro, a raça do animal e a partida do ejaculado (data).

O envase do sêmen também é feito em máquina própria, que mantém seu ambiente a 4°C, temperatura em que o sêmen se encontra. A máquina de envase tem um sensor que contabiliza quantas palhetas foram envasadas.

Congelamento do sêmen

Em um primeiro momento é feita a contagem manual da quantidade de palhetas pertencente a cada touro em raques que cabem 175 palhetas. Apesar de o sistema UPS[®] fornecer a quantidade de doses resultantes de cada ejaculado e da máquina de envase também contabilizar tal quantidade, pode ser que ocorra perda de palhetas por algum erro na máquina de envase, ou mesmo palhetas com algum defeito na impressão. Dessa forma, é feita a contagem manual com o uso de raques para certificação da quantidade final de palhetas a serem congeladas.

O congelamento das palhetas com sêmen refrigerado é feito em máquina (IMV-Digitcool[®]), abastecida por nitrogênio líquido e com funcionamento em duas fases. Primeiro, a caixa de congelamento passa por uma refrigeração, saindo da temperatura ambiente até atingir 4°C, sem a presença do sêmen. Quando a IMV-Digitcool[®] está em 4°C, as palhetas com sêmen, dispostas sobre as raques utilizadas na contagem, são colocadas na máquina e começa-se a curva de congelamento propriamente dita, saindo de 4°C para -139°C. A máquina tem a capacidade de congelar uma média de cinco mil palhetas simultaneamente. O congelamento do sêmen é feito somente com o vapor do nitrogênio líquido, não tem contato direto do sêmen com o nitrogênio, pois pode ocorrer formação de cristais que provocam ruptura das células, e dura cerca de 10 minutos. Após atingir a temperatura de -139°C, o sêmen é retirado da caixa de congelamento e entra em contato direto com o nitrogênio líquido para ser identificado quanto ao touro e armazenado em botijões com nitrogênio líquido, se mantendo em uma temperatura de -196°C.

No momento do armazenamento do sêmen, são separadas seis palhetas de cada touro, duas destinadas à avaliação de motilidade e vigor pós descongelamento, duas para citometria de fluxo e duas para o banco de doses para contraprova pertencente à central. Dessa forma, a quantidade de doses produzidas e a quantidade de doses liberadas para o estoque irá diferir sempre em seis.

Figura 9. Congelamento de sêmen.



Fonte: Arquivo próprio.

Controle de qualidade final

Análise pós descongelamento – Duas palhetas são descongeladas em banho-maria a 37°C e o sêmen é depositado em tubos de ensaio já aquecidos. O sêmen é então analisado entre lâmina e lamínula aquecidas, em microscópio óptico, quanto à motilidade e vigor pós descongelamento.

Segundo o CBRA (2013), a motilidade espermática pós descongelamento desejável é de 30%, mas a empresa Alta Genetics estabeleceu como valores mínimos para aprovação do sêmen 40% de motilidade (escala de 0 a 100%) e 3 de vigor (escala de 1 a 5). Além disso, o número mínimo de espermatozoides por palheta (0,25 mL) utilizado pela central é de 20 milhões de espermatozoides móveis, quantidade que também ultrapassa a sugerida pelo CBRA (2013), conforme tabela a seguir.

Tabela 4. Características desejáveis para a dose de espermatozoides congelados

Características	Valores
Motilidade espermática	$\geq 30\%$
Vigor	≥ 3
Nº espermatozoides por palheta (0,25 e 0,50 mL)	$\sim 10 \times 10^6$ sptz móveis
Espermatozoides normais	$\geq 70\%$
Defeitos maiores	$\leq 10\%$

Fonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. 3 ed. Belo Horizonte: CBRA, 2013.

Citometria de fluxo – Para determinar a viabilidade dos espermatozoides, a integridade de sua membrana, em uma palheta de sêmen é utilizado o citômetro de fluxo, um instrumento de laboratório que mede e analisa simultaneamente várias características de células únicas enquanto se movem em um fluxo contínuo de fluido através de um feixe de luz.

O sêmen é descongelado em banho-maria a 37°C por 45 segundos a 1 minuto; o conteúdo das duas palhetas descongeladas é colocado em um tubo de ensaio pré-aquecido a 37°C. A amostra deve ser incubada a 35°C a 37°C por 10 minutos antes de ser utilizada. Após os 10 minutos, o sêmen é homogeneizado e uma amostra do mesmo é colocada na solução corante, composta por:

- PBS (solução tampão);
- Corante SYBR-14, que tem afinidade pelo DNA e é capaz que penetrar a membrana plasmática íntegra (Bergstein, Weiss, and Bicudo 2015)
- Iodeto de propídio (IP), corante incapaz de penetrar a membrana plasmática da célula, mas quando a mesma está lesionada, a molécula de IP penetra a membrana e se liga a receptores no DNA, pelos quais possui afinidade (Bergstein, Weiss, and Bicudo 2015).

A combinação dos corantes SYBR-14 e Iodeto de propídio tem se mostrado uma forma rápida e confiável para determinação das porcentagens de espermatozoides vivos e mortos em uma amostra de sêmen (Thomas et al. 1998). Então, a mistura (PBS + sêmen + corantes) deve ser incubada por mais 7 minutos a 35°C a 37°C. Feita a incubação, a amostra é colocada no citômetro de fluxo. Para o sêmen ser aprovado na análise de integridade de membrana deve haver 35% de células íntegras.

Pré-congelamento

O sêmen de touros que possuem problemas de congelabilidade, que costumam reprovar muito na análise pós descongelamento e touros que acabaram de chegar na central, que ainda não foram coletados, passam pelo pré-congelamento antes de ser envasado. O pré-congelamento consiste em fazer o envase manual de uma única palheta do sêmen e congelá-la suspensa dentro de caixa de isopor com nitrogênio líquido por 20 minutos. Essa palheta é analisada pós descongelamento quanto à motilidade e vigor, se apresentar motilidade igual ou maior que 40% e vigor igual ou maior que 3 (escala de 1 a 5) o sêmen é aprovado e será envasado e congelado normalmente. Se o sêmen não for aprovado no pré-congelamento, ele é mantido refrigerado até o próximo dia (“Overnight”) e avaliado novamente; se no dia seguinte for aprovado, o sêmen é envasado e congelado normalmente, se for reprovado nos parâmetros analisados o ejaculado é descartado.

Lavagem e preparo de material

É realizada a limpeza de materiais para reutilização, tais como: vidraria, tubos de coleta (eletroejaculador), lâminas, tubos de ensaio, cubetas (espectrofotômetro), copos de sêmen, mangueiras de envase, eppendorf. O material é lavado com detergente próprio para limpeza de materiais de laboratório – sabão alcalino (ProLab[®]) diluído em água – e enxaguado em água corrente a fim de remover todo o sabão; todos os utensílios são passados em água destilada. Os potes de diluição do sêmen, vidraria e tubos Falcon são esterilizados na autoclave atingindo a temperatura de 127°C e colocados para secar em estufas a 45°C e 60°C (duas estufas); o restante do material que não é autoclavado também vai para secagem na estufa.

4. Consideração final

O estágio é de extrema importância para a formação de um profissional qualificado e que tenha responsabilidades sociais, ambientais e com a profissão. Durante as minhas atividades, pude aprender muito sobre a realidade de uma propriedade leiteira, de uma empresa e de um profissional, não só de médicos veterinários, mas de todos os colaboradores. É essencial que todo aluno tenha a oportunidade de vivenciar a prática e ir muito além da teoria ensinada na faculdade e por isso sou grata à Fazenda São João (True Type) e à Alta Genetics do Brasil Ltda. por me proporcionarem todos esses ensinamentos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BERGSTEIN, T. G.; WEISS, R. R.; BICUDO S D. Técnicas de Análise de Sêmen. **Revista Brasileira de Reprodução Animal** 38(4): 189–94, 2015.
- BARROS, H.M.; LAMOUNIER, R.D.; et al. “Causa mortis” em bezerros *Bos indicus*, em regime de criação extensiva. **Boletim Indústria Animal**, v.23, p.199, 1965/66.
- Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal.** 3.ed. Belo Horizonte: CBRA 2013.
- COSTA-E-SILVA, E. V. et al. Estratégias para avaliar bem-estar animal em animais em reprodução. **II Congresso Brasileiro De Bioética e Bem Estar Animal** .UFMG – Belo Horizonte – MG: 20–28, 2010.
- COSTA, E.O.; BENITES, R; MELVILLE, P.A.; PARDO, RB.; RIBEIRO, A.R.; WATANABE, E.T. Estudo etiológico da mastite clínica bovina. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.17, nA, p.156-8, 1995.
- CROMBACH, J. J. M. L. Some aspects of the behavior of dairy bulls: The effect of stimulation oh the ejaculate. **Research Group oh the Behaviour of Farm Animals**, Zoological Laboratory, University of Amsterdam. 332:391, 1961.
- DEELEN, S. M., OLLIVETT, T. L.; HAINES, D. M; LESLIE, K. E. Evaluation of a Brix Refractometer to Estimate Serum Immunoglobulin G Concentration in Neonatal Dairy Calves.” **Journal of Dairy Science** 97(6): 3838–44, 2014.
- DRILICH, M. et al. Evaluation of a Systemic Antibiotic Treatment of Toxic Puerperal Metritis in Dairy Cows. **Journal of Dairy Science** 84(9): 2010–17, 2001
- DUFFIELD, T. Subclinical Ketosis in Lactating Dairy Cattle. **The Veterinary clinics of North America. Food animal practice** 16(2): 231–53, 2000.
- DU PREEZ, J.H.; GIESECKE, WH. Mastitis. In: COETZER, J.A.W; THOMSON, G.R Infectious diseases of livestock. **Oxford University Press**, 1994. v.2. Chap. 190. p.1564-1595.
- FACURY-FILHO, E. J. et al. Effectiveness of Enrofloxacin for the Treatment of Experimentally- Induced Bovine Anaplasmosis. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.** 29(1): 32–36, 2012.
- FOOTE, R.H.; KAPROTH, M.T. Large batch freezing of bull semen: effect of time of freezing and fructose on fertility. **Journal Dairy Science**, v.85, p.453-456, 2001.
- GODDEN, S. Colostrum Management for Dairy Calves. **Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice** 24(1): 19–39, 2008.
- GOFF, J. P.; HORST, R. L. Effects of the Addition of Potassium or Sodium , but Not Calcium, to Parturition Rations on Milk Fever in Dairy Cows 1. **Journal of Dairy Science** 80(1): 176–86 1997.
- GONÇALVES, R.C.; KUCHEMUCK, M.R.G.; et al. Diferenciação clínica da Broncopneumonia moderada e grave em bezerros. **Ciênc. Rural**, v.31, p.263-269, 2001.
- HENRY, M.; ECHEVERRI, A. M. L. **Andrologia Veterinária Básica**. Belo Horizonte: Editora CAED - UFMG, 2013.
- HORST, R. L.; GOFF J. P.; REINHARDT T. A.; BUXTON, D. R. Strategies for Preventing Milk Fever in Dairy Cattle.” **Journal of Dairy Science** 80(7): 1269–80, 1997.
- IWERSEN, M. et al. Evaluation of an Electronic Cowside Test to Detect Subclinical Ketosis in Dairy Cows. **Journal of Dairy Science** 92(6): 2618–24, 2009.
- LANDIM-ALVARENGA, F. C.; PRESTES, N. C. **Obstetrícia veterinária**: 2 ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2006.
- LEITE, T.G.; VALE FILHO, V.R.; ARRUDA, R.P.; ANDRADE, A.F.C.; EMERICK, L.L.;

- ZAFFALON, F.G.; MARTINS, J.A.M.; ANDRADE, V.J. Effects of extender and equilibration time on post-thaw motility and membrane integrity of cryopreserved Gyr bull semen evaluated by CASA and flow cytometry. **Animal Reproduction Science**, v.120, p.31-38, 2010.
- Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 10**, de 3 de março de 2017. Edição: 116.
- MIRANDA, J. E. C. et al. Cria e recria de fêmeas leiteiras: passo a passo”. **Comunicado Técnico**. Juiz de Fora, MG, 1–6, 2005.
- PALMER, C. W. Welfare Aspects of Theriogenology: Investigating Alternatives to Electroejaculation of Bulls.” **Theriogenology** 64(3): 469–79, 2005.
- PHILPOT, WN. Economics of mastitis control. Symposium on mastitis. **Veterinary Clinics North America**, v.6, p.23345, 1984.
- PLETICHA, S.; DRILLICH, M.; HEUWIESER, W. Evaluation of the Metricheck Device and the Gloved Hand for the Diagnosis of Clinical Endometritis in Dairy Cows. **Journal of Dairy Science** 92(11): 5429–35, 2009.
- SACCO, A. M. S. Controle/Profilaxia Da Tristeza Parasitária Bovina. **Comunicados Técnicos Embrapa** 38: 1–3, 2001.
- SANTOS, J. E. P.; SANTOS F. A. P. Novas Estratégias No Manejo e Alimentação de Vacas Pré-Parto. **Anais do X Simpósio de Produção Animal, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, USP**: 1–32, 1998.
- SOUSA, M. V., et al. Aspectos clínicos e epidemiológicos da diarreia dos bezerros em Botucatu, SP. **R. Bras. Ci. Vet.**, v. 7, n. 2, p. 74-77, 2000.
- SOUZA, J. C. P., LOPES, C. W. G. Criptosporidiose em bezerros de rebanho da bacia leiteira Sul-Fluminense, estado do Rio de Janeiro. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, 4, 1, 33-36, 1995.
- THOMAS, C. A., GARNER D. L.; DEJARNETTE, J. M.; MARSHALL C. E. Effect of Cryopreservation on Bovine Sperm Organelle Function and Viability As Determined by Flow Cytometry1. **Biology of Reproduction** 58(3): 786–93, 1998.
- WHITE, H. M. The Role of TCA Cycle Anaplerosis in Ketosis and Fatty Liver in Periparturient Dairy Cows. **Animals**, 793–802, 2015.