



MELISSA SANCHES MONGELLI

**ESTÁGIO SUPERVISIONADO REALIZADO NA FACULDADE
DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS -
UNIDADE DIDÁTICA CLÍNICO HOSPITALAR DE
RUMINANTES DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO (USP -
PIRASSUNUNGA, SP) E NA EMPRESA BRASILEIRA DE
PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA) GADO DE LEITE
(JUIZ DE FORA, MG)**

**Lavras - MG
2022**

MELISSA SANCHES MONGELLI

**ESTÁGIO SUPERVISIONADO REALIZADO NA FACULDADE DE ZOOTECNIA E
ENGENHARIA DE ALIMENTOS - UNIDADE DIDÁTICA CLÍNICO HOSPITALAR
DE RUMINANTES DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO (USP - PIRASSUNUNGA,
SP) E NA EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA)
GADO DE LEITE (JUIZ DE FORA, MG)**

Relatório de estágio supervisionado
apresentado à Universidade Federal de
Lavras, como parte das exigências do
Curso de Medicina Veterinária, para a
obtenção do título de Bacharela.

Prof. Dr. Hugo Shisei Toma

Orientador

Prof. Dr. Marcos Ferrante

Coorientador

LAVRAS-MG

2022

ESTÁGIO SUPERVISIONADO REALIZADO NA FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS - UNIDADE DIDÁTICA CLÍNICO HOSPITALAR DE RUMINANTES DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO (USP - PIRASSUNUNGA, SP) E NA EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA) GADO DE LEITE (JUIZ DE FORA, MG)

SUPERVISED INTERNSHIP HELD AT THE FACULTY OF ANIMAL SCIENCE AND FOOD ENGINEERING - RUMINANT CLINICAL TEACHING UNIT OF THE SÃO PAULO UNIVERSITY (USP - PIRASSUNUNGA, SP) AND AT THE BRAZILIAN AGRICULTURAL RESEARCH CORPORATION (EMBRAPA) DAIRY CATTLE (JUIZ DE FORA, MG)

Relatório de estágio supervisionado apresentado à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Medicina Veterinária, para a obtenção do título de Bacharela.

APROVADA em 29/04/2022

Dr.Hugo Shisei Toma
Dr.Marcos Ferrante
Dr. Humberto de Mello Brandão
MV. Camila Azzolin de Souza

Prof Dr. Hugo Shisei Toma

Orientador

Prof.Dr. Marcos Ferrante

Coorientador

LAVRAS – MG

2022

À minha família, meus amigos e meus professores, por serem leais e amorosos. A todos os
animais por trazerem a tona sempre o melhor de mim
Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, a fé me mantém forte e confiante.

Aos meus pais, Mauricio e Elenise, meu porto seguro, meu maior amor e exemplos de vida e de profissionais, por me guiarem e me apoiarem em todas as minhas decisões. Ao meu irmão, por ser meu parceiro e protetor. A toda minha família Sanches e Mongelli, por sempre estarem torcendo e rezando para realizar meus sonhos.

A minha melhor amiga Paula, por me trazer de volta sempre que eu precisei.

As minhas amigas de infância do Gaya, Malu, Thais, Otávio e Soninho, são parte de todas as minhas conquistas.

As minhas irmãs da faculdade, meu grupo ‘’Machas’’ - (Lu, Bia, Blenda, Fer e Camis), a Lau, Frota e Caio por tornarem os piores momentos mais leves, pela lealdade e amor.

Meu grupo dos Vetamigos, a minha primeira morada com a Mo e Xarope. Cada um de vocês me fez evoluir e ser melhor.

Ao meu ‘’paizão dos bovinos’’ e mestre Camillo C. Canela Filho, sou grata por todas as oportunidades que me ofertou e pela amizade construída, me fez tornar uma profissional e pessoa melhor. Agradeço a todas as fazendas pela confiança e apoio.

Ao meu guia acadêmico e de vida Marcos Ferrante, desde o começo sabia que iria mudar minha vida, e assim ele fez! Grata por tudo que construímos e aprendemos juntos! Ainda tem muito por vir!

Ao meu orientador Prof.Hugo Toma pelo apoio e entusiasmo em todos os momentos, palavras acolhedoras e conselhos que vou carregar para sempre.

A família que me acolheu na USP em Pirassununga - SP, residentes, estagiários e professores. Em especial, Taiane, Mariana, Mariane, Léo, Camila, Jéssica, Benedito, Michel e Gabi, vocês mudaram minha vida.

Agradeço a todos que me acolheram na Embrapa, em especial meu supervisor Humberto, Michele, João, Dani, Joyce e Antônio. Foi incrível conviver com pessoas tão admiráveis.

Aos núcleos de estudo NEFARM e NECCIGA, por me ajudarem a crescer profissionalmente

A minha amada Atlética Cachorrera, pelos momentos inesquecíveis e amizades leais, em especial com o Parpit e Ju.

Aos antigos residentes do HOVET da UFLA, Douglas e Dábia, pela paciência e apoio.

Aos meus parceiros do Projeto de Extensão de Reprodução bovina, por toda prática realizada.

A República Santo Gole por me proporcionar momentos de escape, diversão e amizade.

Agradeço a mim, por sempre lutar.

“Nascemos para manifestar a glória do Universo que está dentro de nós. Não está apenas em um de nós: está em todos nós. E conforme deixamos nossa própria luz brilhar, inconscientemente damos às outras pessoas permissão para fazer o mesmo. E conforme nos libertamos do nosso medo, nossa presença automaticamente, libera os outros”

Nelson Mandela

RESUMO

O curso de Medicina Veterinária, bacharelado, na Universidade Federal de Lavras (UFLA) contém no décimo período, o estágio supervisionado obrigatório, o qual faz parte da disciplina PRG 107 e possui a finalidade de proporcionar vivência prática e aprimoramento do conhecimento técnico e científico na área de interesse do discente. O presente trabalho tem como objetivo relatar o estágio supervisionado realizado na Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos - Unidade Didática Clínico Hospitalar de Ruminantes da Universidade de São Paulo (USP) sob supervisão do Prof. Dr. Eduardo Harry Birgel Junior e sob orientação do Prof. Dr. Hugo Shisei Toma e coorientação do Prof. Dr. Marcos Ferrante, no período de 01 de fevereiro a 01 de abril de 2022, com carga horária total de 360 (trezentas e sessenta) horas. Durante o período de estágio foram acompanhados 62 casos clínicos (ovinos, caprinos e bovinos), além da realização de 242 exames laboratoriais e 14 necropsias. Em suma, o presente trabalho contém uma pesquisa realizada no Gado de Leite na prefeitura do campus da USP, onde eram realizados atendimentos semanais. A pesquisa teve como objetivo analisar a associação entre problemas de parto com afecções podais. Neste trabalho há também o relato do estágio supervisionado realizado na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), Gado de Leite sob supervisão do Dr. Humberto de Mello Brandão no período entre 04 de abril a 22 de abril de 2022, contabilizando 96 (noventa e seis) horas totais. No estágio foi acompanhado as rotinas laboratoriais dos pesquisadores da área de microbiologia e biologia molecular, nanotecnologia, parasitologia e reprodução animal.

Palavras-Chaves: bovinos, afecções podais, periparto.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1. ESTÁGIO SUPERVISIONADO REALIZADO NA FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS - UNIDADE DIDÁTICA CLÍNICO HOSPITALAR DE RUMINANTES DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SÃO PAULO (USP - PIRASSUNUNGA, SP).....	15
Figura 1 - Fachada do Hospital Veterinário de Ruminantes - Unidade Didática Clínico Hospitalar (UDCH) - Pirassununga (SP), em que foi realizado o estágio supervisionado no período de 01 de fevereiro a 01 de abril de 2022.....	16
Figura 2 - Quatro baias internas/fechadas utilizadas para internação de pacientes do Hospital Veterinário de Ruminantes/Unidade Didática Clínico Hospitalar (UDCH) - Pirassununga (SP), em que foi realizado o estágio supervisionado no período de 01 de fevereiro a 01 de abril de 2022.....	17
Figura 3 - Cinco baias externas/abertas utilizadas para internação de pacientes do Hospital Veterinário de Ruminantes/Unidade Didática Clínico Hospitalar (UDCH) - Pirassununga (SP), em que foi realizado o estágio supervisionado no período de 01 de fevereiro a 01 de abril de 2022.....	17
Figura 4 - Centro cirúrgico do Hospital Veterinário - Unidade Didática Clínico Hospitalar (UDCH) - Pirassununga (SP), em que foi realizado o estágio supervisionado no período de 01 de fevereiro a 01 de abril de 2022.....	18
Figura 5 - Curral contendo 12 baias, tronco de contenção, balança e embarcador para internação de pacientes do Hospital Veterinário de Ruminantes - Unidade Didática Clínico Hospitalar (UDCH) - Pirassununga (SP), em que foi realizado o estágio supervisionado no período de 01 de fevereiro a 01 de abril de 2022.....	18
Figura 6 - Laboratório de Análise Clínicas Veterinárias do Hospital Veterinário de Ruminantes - Unidade Didática Clínico Hospitalar (UDCH) - Pirassununga (SP), em que foi realizado o estágio supervisionado no período de 01 de fevereiro a 01 de abril de 2022.....	19
Figura 7 - Figura 7 - Aparelhos utilizados para realização de análises clínicas do Laboratório de Análise Clínicas Veterinárias do Hospital Veterinário de Ruminantes - Unidade Didática Clínico Hospitalar (UDCH) - Pirassununga (SP), em que foi realizado o estágio supervisionado no período de 01 de fevereiro a 01 de abril de 2022.....	20
Figura 8 - Casqueamento Terapêutico de Bovinos realizado no Hospital Veterinário de Ruminantes - Unidade Didática Clínico Hospitalar (UDCH) - Pirassununga (SP), em que foi realizado o estágio supervisionado no período de 01 de fevereiro a 01 de abril de 2022.....	22
Figura 9 - Caso de ovino com ceratoconjuntivite infecciosa do Hospital Veterinário de Ruminantes - Unidade Didática Clínico Hospitalar (UDCH) - Pirassununga (SP), em que foi realizado o estágio supervisionado no período de 01 de fevereiro a 01 de abril de 2022.....	22
CAPÍTULO 2 - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA	36
Figura 1: Fachada da Embrapa Gado de Leite - MG, Juiz de Fora (MG), em que foi realizado o estágio supervisionado no período de 04 de abril a 22 de abril de 2022.....	37
Figura 2: Área suja do Laboratório de Microbiologia/Biologia Molecular da Embrapa Gado de Leite - MG, Juiz de Fora (MG), em que foi realizado o estágio supervisionado no período de 04 de abril a 22 de abril de 202.....	39
Figura 3: Área limpa do Laboratório de Microbiologia/Biologia Molecular da Embrapa Gado de Leite - MG, Juiz de Fora (MG), em que foi realizado o estágio supervisionado no período de 04 de abril a 22 de abril de 2022.....	40

Figura 4: A.Sala de caracterização de nanomateriais/ B. Sala de ultrassonografia do Laboratório de Nanotecnologia da Embrapa Gado de Leite - MG, Juiz de Fora (MG), em que foi realizado o estágio supervisionado no período de 04 de abril a 22 de abril de 2022.....	41
Figura 5: Sala de cultivo celular do Laboratório de Nanotecnologia da Embrapa Gado de Leite - MG, Juiz de Fora (MG), em que foi realizado o estágio supervisionado no período de 04 de abril a 22 de abril de 2022.....	41
Figura 6: Sala de de preparo de amostra para espectrometria de massa do Laboratório de Nanotecnologia da Embrapa Gado de Leite - MG, Juiz de Fora (MG), em que foi realizado o estágio supervisionado no período de 04 de abril a 22 de abril de 2022.....	41
Figura 7: Sala de Preparo de meios e colheitas de ovócitos do Laboratório de Reprodução da Embrapa Gado de Leite - MG, Juiz de Fora (MG), em que foi realizado o estágio supervisionado no período de 04 de abril a 22 de abril de 2022.....	42
Figura 8: Sala de Fecundação in vitro do Laboratório de Reprodução da Embrapa Gado de Leite - MG, Juiz de Fora (MG), em que foi realizado o estágio supervisionado no período de 04 de abril a 22 de abril de 2022.....	43
Figura 9: Processo de isolamento bacteriano nos meios de cultura M17, MRS e CAS, do Laboratório de Microbiologia/Biologia Molecular da Embrapa Gado de Leite - MG, Juiz de Fora (MG), em que foi realizado o estágio supervisionado no período de 04 de abril a 22 de abril de 2022.....	44
Figura 10: Processo de isolamento bacteriano em quatro nos meios de cultura M17, MRS e CAS, do Laboratório de Microbiologia/Biologia Molecular da Embrapa Gado de Leite - MG, Juiz de Fora (MG), em que foi realizado o estágio supervisionado no período de 04 de abril a 22 de abril de 2022.....	45
Figura 11: Esfregaço de colônias para subsequente coloração de gram, do Laboratório de Microbiologia/Biologia Molecular da Embrapa Gado de Leite -MG, Juiz de Fora (MG), em que foi realizado o estágio supervisionado no período de 04 de abril a 22 de abril de 2022...	46
Figura 12: Coloração de lâminas para subsequente classificação de gram, do Laboratório de Microbiologia/Biologia Molecular da Embrapa Gado de Leite - MG, Juiz de Fora (MG), em que foi realizado o estágio supervisionado no período de 04 de abril a 22 de abril de 2022...	47
Figura 13: Teste de Biocarrapaticidograma, após imersão dos carrapatos no balão durante cinco minutos, do Laboratório de Parasitologia da Embrapa Gado de Leite - MG, Juiz de Fora (MG), em que foi realizado o estágio supervisionado no período de 04 de abril a 22 de abril de 2022.....	48
Figura 14: Rotaevaporador, do Laboratório de Nanotecnologia da Embrapa Gado de Leite-MG, Juiz de Fora (MG), em que foi realizado o estágio supervisionado no período de 04 de abril a 22 de abril de 2022.....	49
Figura 15: Espalhamento Dinâmico de Luz e Potencial Zeta (DLS) , do Laboratório de Nanotecnologia da Embrapa Gado de Leite- MG, Juiz de Fora (MG), em que foi realizado o estágio supervisionado no período de 04 de abril a 22 de abril de 2022.....	50
Figura 16: Aspiração folicular no Laboratório de Reprodução da Embrapa Gado de Leite-MG, Juiz de Fora (MG), em que foi realizado o estágio supervisionado no período de 04 de abril a 22 de abril de 2022.....	51

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Gráfico 1 - Casuística da rotina clínica dívida por espécie do Hospital Veterinário de Ruminantes - FZEA/USP - Pirassununga (SP), no período de 01 de fevereiro a 01 de abril de 2022.....	23
Gráfico 2 - Casuística da rotina clínica dívida por sistema do Hospital Veterinário de Ruminantes - FZEA/USP - Pirassununga (SP), no período de 01 de fevereiro a 01 de abril de 2022.....	24
Gráfico 3 - Total de casos clínicos de ovinos dividido por sistemas do Hospital Veterinário de Ruminantes - FZEA/USP - Pirassununga (SP), no período de 01 de fevereiro a 01 de abril de 2022.....	25
Gráfico 4 - Total de casos clínicos de bovinos dividido por sistemas do Hospital Veterinário de Ruminantes - FZEA/USP - Pirassununga (SP), no período de 01 de fevereiro a 01 de abril de 2022.....	25
Gráfico 5 - Total de casos clínicos de caprinos dividido por sistemas do Hospital Veterinário de Ruminantes - FZEA/USP - Pirassununga (SP), no período de 01 de fevereiro a 01 de abril de 2022.....	26
Gráfico 6 - Total de necropsias realizadas de dívidas em espécie no Hospital Veterinário de Ruminantes - FZEA/USP - Pirassununga (SP), no período de 01 de fevereiro a 01 de abril de 2022.....	27
Gráfico 7 - Total de exames laboratoriais do Hospital Veterinário de Ruminantes - FZEA/USP - Pirassununga (SP), no período de 01 de fevereiro a 01 de abril de 2022.....	27
Quadro 1- Quadro correlacionando PR com PC.....	30
Quadro 2- Tabela correlacionando doenças específicas do pós-parto com PC.....	30
Tabela 1 - Classificação dos diferentes oócitos para seleção e futura maturação.....	50

LISTA DE ABREVIATURAS

TCC - Trabalho de Conclusão de Curso

USP - Universidade de São Paulo

Embrapa - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

UDCH - Unidade Didática Clínico Hospitalar

FZEA - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos

HOVET - Hospital Veterinário

E2 - Estrógeno

PGF2a - Prostaglandina

AGNE - Ácidos Graxos não Esterificados

BEN - Balanço Energético Negativo

OP - Ordem de Parto

PC - Problema de Casco

PR - Parto de Risco

FIV - Fertilização *in vitro*

BAL - Bactérias ácido lácticas

DLS - Espalhamento Dinâmico de Luz e Potencial Zeta

PIVE - Produção *in vitro* de Embriões

MIV - Maturação *in vitro*

CIV - Cultivo *in vitro*

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	14
CAPÍTULO 1. ESTÁGIO SUPERVISIONADO REALIZADO NA FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS - UNIDADE DIDÁTICA CLÍNICO HOSPITALAR DE RUMINANTES DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SÃO PAULO (USP - PIRASSUNUNGA, SP)	15
1. INTRODUÇÃO	15
2. DESCRIÇÃO DO LOCAL	15
2.1 Instalações	16
3. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS	20
3.1 Casuística	23
4. ANÁLISE DE DADOS	28
4.1 Introdução	28
4.2 Material e Métodos	29
4.3 Análise Estatística	30
4.4 Resultados	30
4.4.1 Ordem de parto e Problema de casco	30
4.4.2 Problema de Parto e Problema de Casco	30
4.4.3 Problema de Casco e Doenças específicas do pós-parto (cetose, hipocalcemia, deslocamento de abomaso, endometrite, retenção de placenta, natimorto e aborto)	30
4.5 Discussão	31
4.6. Conclusão	33
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	33
6. REFERÊNCIAS	34
CAPÍTULO 2 - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA /EMBRAPA GADO DE LEITE -MG	36
1. INTRODUÇÃO	36
2. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA) GADO DE LEITE - MG	36
2.1 Descrição do local de estágio	36
2.2 Instalações	37
2.1.1 Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular	38
2.1.2 Laboratório de Nanotecnologia	40
2.1.3 Laboratório de Reprodução Animal	41
3. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS	44
3.1 Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular	44

3.2 Laboratório de Parasitologia	48
3.3 Laboratório de Nanotecnologia	49
3.4 Laboratório de Reprodução Animal	50
4.CONSIDERAÇÕES FINAIS	52
5.REFERÊNCIAS	53

1. INTRODUÇÃO GERAL

A disciplina obrigatória Estágio Supervisionado (PRG 107), contemplada no décimo período do curso de Bacharelado em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Lavras (UFLA), é composta por 408 horas práticas, correspondentes ao estágio supervisionado, e 68 horas teóricas, as quais estão destinadas à elaboração do Trabalho de Conclusão de Curso (TCC). Possui a finalidade de proporcionar ao discente o aprimoramento de conhecimentos técnicos adquiridos ao longo da graduação, e o desenvolvimento de novas habilidades, de acordo com a área de atuação escolhida pelo aluno.

Os locais nos quais o estágio supervisionado foi executado foram: a Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos - Unidade Didática Clínico Hospitalar da Universidade de São Paulo (USP), na área de Clínica e Cirurgia de ruminantes, localizada em Pirassununga (SP), no período de 01 de fevereiro a 01 de abril de 2022, e a Empresa Brasileira de Pesquisa e Agropecuária (EMBRAPA), Unidade Gado de Leite, no período de 04 de abril a 22 de maio de 2022, localizada na cidade de Juiz de Fora (MG).

CAPÍTULO 1. ESTÁGIO SUPERVISIONADO REALIZADO NA FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS - UNIDADE DIDÁTICA CLÍNICO HOSPITALAR DE RUMINANTES DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SÃO PAULO (USP - PIRASSUNUNGA, SP)

1. INTRODUÇÃO

A Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos - Unidade Didática Clínico Hospitalar (UDCH), área de Clínica e Cirurgia de Ruminantes, da Universidade de São Paulo (USP) é um dos locais onde foi executado o estágio supervisionado. Foram realizadas especificamente 360 horas de estágio, entre os dias 01 de fevereiro e 01 de abril de 2022. As atividades foram orientadas pelo Prof. Dr. Hugo Shisei Toma, co-orientadas pelo Prof. Dr. Marcos Ferrante e supervisionadas pelo Prof. Dr. Eduardo Harry Birgel Junior.

As principais atividades desempenhadas foram: acompanhamento da rotina dos animais internados no hospital, atendimentos realizados na clínica ambulante e casos de emergência, cirurgias eletivas e à campo, manutenção do biotério, aleitamento de filhotes e diagnóstico de gestação. Além disso, acompanhou-se a rotina do laboratório clínico, realizando-se os principais exames complementares, como hemograma, perfil bioquímico, urinálise, análise de líquido ruminal e coproparasitológico.

Este capítulo teve como objetivo relatar a casuística e as atividades desenvolvidas na Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos - UDCH, área de Clínica e Cirurgia de ruminantes, da USP, além de incluir um projeto de pesquisa realizado com bovinos leiteiros da prefeitura do campus universitário.

2. DESCRIÇÃO DO LOCAL

A Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA/USP) está localizada no Campus Fernando Costa, na Avenida Duque de Caxias Norte, nº 225, na cidade de Pirassununga (SP). A Prefeitura do Campus Fernando Costa (PUSP - FC) administra a maior parte da universidade, constituída por mais de 2200 hectares (ha) de área total. Nesta, estão abrigados 1000 ha de pastagens tropicais e 300 ha de instalações zootécnicas, além de rebanhos bovinos de leite e corte, suínos, equinos, caprinos, ovinos, búfalos, coelhos, peixes, laticínio, centro de eventos, anfiteatro, moradia estudantil, Unidade Básica de Saúde, refeitório, reservas florestais e ecológicas, trilhas, represas e sistema de captação de água.

O campus conta com seis departamentos: I. Ciências básicas - ZAB; II. Engenharia de Alimentos - ZEA; III. Medicina Veterinária - ZMV; IV. Zootecnia - ZAZ; V. Engenharia de

Biosistemas - ZEB e VI. Hospital Veterinário - Unidade Didática Clínico Hospitalar (UDCH) (FIGURA 1). A UDCH integra a Medicina Veterinária, que, por sua vez, faz parte da FZEA/USP, e é composta por quatro blocos principais: bloco A - Setor clínico-cirúrgico de cães e gatos/Setor de Patologia Animal; bloco B - Centro clínico-cirúrgico de ruminantes e equinos/Diagnóstico por Imagem; bloco C - Setor de Internação de Equinos/Setor de Internação de Ruminantes; bloco D - Terapias Inovadoras/Unidade Administrativa - totalizando 3000 m² de área construída. A equipe é composta por 120 funcionários do corpo docente e 130 do corpo técnico-administrativo. O estágio foi realizado especificamente nos blocos B e C, com foco em ruminantes.

Figura 1 - Fachada do Hospital Veterinário de Ruminantes - Unidade Didática Clínico Hospitalar (UDCH) - Pirassununga (SP), em que foi realizado o estágio supervisionado no período de 01 de fevereiro a 01 de abril de 2022.



Fonte: Da autora (2022).

2.1 Instalações

O Hospital Veterinário de Ruminantes é composto por uma recepção, nove baias para internação de pacientes, sendo quatro baias internas (FIGURA 2) e cinco baias externas (FIGURA 3), um centro cirúrgico (FIGURA 4), uma sala de paramentação, um almoxarifado, dois troncos de contenção, um tronco tombador para casqueamento, um tronco simples de casqueamento, um armazém de ração, dois silos, um curral contendo 12 baias para internação de pacientes (FIGURA 5), e um tronco de contenção com balança e embarcador. Além disso, há quatro piquetes para criação de bovinos e um biotério de ovinos e caprinos.

Figura 2 - Quatro baias internas/fechadas utilizadas para internação de pacientes do Hospital Veterinário de Ruminantes/Unidade Didática Clínico Hospitalar (UDCH) - Pirassununga (SP), em que foi realizado o estágio supervisionado no período de 01 de fevereiro a 01 de abril de 2022.



Fonte: Da autora (2022).

Figura 3 - Cinco baias externas/abertas utilizadas para internação de pacientes do Hospital Veterinário de Ruminantes/Unidade Didática Clínico Hospitalar (UDCH) - Pirassununga (SP), em que foi realizado o estágio supervisionado no período de 01 de fevereiro a 01 de abril de 2022.



Fonte: Da autora (2022).

Figura 4 - Centro cirúrgico do Hospital Veterinário - Unidade Didática Clínico Hospitalar (UDCH) - Pirassununga (SP), em que foi realizado o estágio supervisionado no período de 01 de fevereiro a 01 de abril de 2022.



Fonte: Da autora (2022).

Figura 5 - Curral contendo 12 baias, tronco de contenção, balança e embarcador para internação de pacientes do Hospital Veterinário de Ruminantes - Unidade Didática Clínico Hospitalar (UDCH) - Pirassununga (SP), em que foi realizado o estágio supervisionado no período de 01 de fevereiro a 01 de abril de 2022.



Fonte: Da autora (2022).

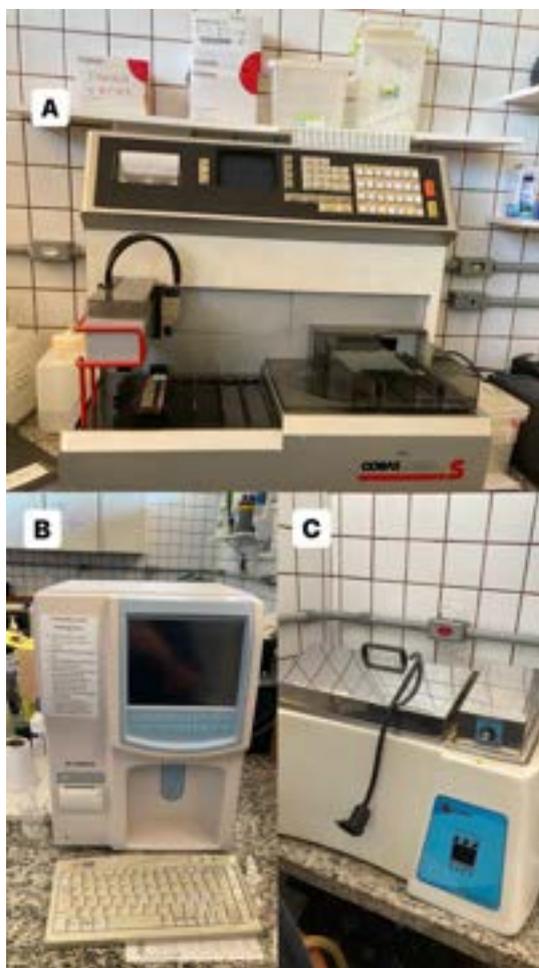
Dentre as instalações, há o Laboratório de Análises Clínicas (FIGURA 6), destinado à realização de exames complementares e composto por três microscópios, uma máquina de hemograma e exame bioquímico, uma centrífuga e uma microcentrífuga, um equipamento de banho maria, um destilador, além de geladeiras e freezers, para armazenamento de amostras clínicas (FIGURA 7).

Figura 6- Laboratório de Análise Clínicas Veterinárias do Hospital Veterinário de Ruminantes - Unidade Didática Clínico Hospitalar (UDCH) - Pirassununga (SP), em que foi realizado o estágio supervisionado no período de 01 de fevereiro a 01 de abril de 2022.



Fonte: Da autora (2022).

Figura 7 - Aparelhos utilizados para realização de análises clínicas do Laboratório de Análise Clínicas Veterinárias do Hospital Veterinário de Ruminantes - Unidade Didática Clínico Hospitalar (UDCH) - Pirassununga (SP), em que foi realizado o estágio supervisionado no período de 01 de fevereiro a 01 de abril de 2022.



Fonte: Da autora (2022)

Legenda: A.Máquina de Bioquímico/ B.Máquina de Hemograma/ C. Banho Maria

3. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

A rotina do Hospital Veterinário de Ruminantes (HOVET) se iniciava com o aquecimento do leite para o aleitamento de bezerros, cordeiros e cabritos. Os animais eram aleitados principalmente com leite de vaca, sendo que, em média, cordeiros e cabritos ingeriam 600 ml, e bezerros 2 L, duas vezes ao dia. Posteriormente, eram realizados exames físicos nos animais internados e instituído tratamento terapêutico para cada caso clínico. Além disso, os residentes responsáveis pelo biotério de pequenos e grandes ruminantes eram responsáveis pelo manejo geral dos animais, incluindo vermifugação, casqueamento e exames clínicos de indivíduos doentes.

Os atendimentos externos eram marcados com antecedência pelos proprietários, exceto quando se tratava de emergências. Animais encaminhados para internação eram, no momento da chegada, submetidos a um exame clínico completo e exame específico, de acordo com a afecção principal, além da coleta de sangue para exames complementares e para tomada de decisão no tocante ao protocolo terapêutico.

No laboratório clínico, as atividades desenvolvidas foram: realização de hemograma, esfregaço sanguíneo, leitura diferencial de leucócitos, perfil bioquímico, coproparasitológico, urinálise e análise de líquido ruminal. Os exames chegavam com a solicitação do residente responsável, nome do animal, espécie, idade e diagnóstico presuntivo. Todos os exames realizados eram impressos e anexados à ficha do paciente.

Uma vez por semana era realizado o atendimento dos bovinos leiteiros da prefeitura do campus universitário; nestes, as principais atividades executadas foram o casqueamento preventivo e curativo, e acompanhamento dos casos de parto distócico, retenção de anexos fetais e metrite.

Ressalta-se que dentre as atividades acompanhadas, foram escolhidas duas para serem relatadas no presente trabalho. A primeira se trata do casqueamento terapêutico de bovinos (FIGURA 8), procedimento para o qual, na maioria dos casos clínicos, realizava-se o casqueamento corretivo com o auxílio de rineta ou lixadeira elétrica, posteriormente, os casos que apresentavam ferida em alguma região do casco, por exemplo, úlcera de sola, era confeccionada uma pasta contendo sulfanilamida em pó, talco, na proporção de 2:1, e água. Adicionava-se o produto final à gaze que entrava em contato com a ferida, e, posteriormente, realizava-se o penso, composto por algodão, atadura e impermeabilizante. Ressalta-se que semanalmente era realizada a troca dos pensos. A segunda atividade é o tratamento de ceratoconjuntivite infecciosa em ovinos (FIGURA 9), constituído por colírio de soro autólogo. Esse era produzido por meio da coleta do sangue de um indivíduo doente, centrifugação da amostra e extração do soro. Foram feitas duas aplicações por dia, até a regressão dos sinais clínicos. Em casos severos associava-se à terapia a administração de 20 mg/kg de oxitetraciclina intravenosa, no intervalo de 72 horas entre as aplicações, com até três aplicações. Além disso, para maior conforto dos animais, utilizou-se também 0.5 mg/kg de meloxicam.

Figura 8 - Casqueamento Terapêutico de Bovinos realizado no Hospital Veterinário de Ruminantes - Unidade Didática Clínico Hospitalar (UDCH) - Pirassununga (SP), em que foi realizado o estágio supervisionado no período de 01 de fevereiro a 01 de abril de 2022.



Fonte: Da autora (2022).

Figura 9 - Ovino com ceratoconjuntivite infecciosa do Hospital Veterinário de Ruminantes - Unidade Didática Clínico Hospitalar (UDCH) - Pirassununga (SP), em que foi realizado o estágio supervisionado no período de 01 de fevereiro a 01 de abril de 2022.

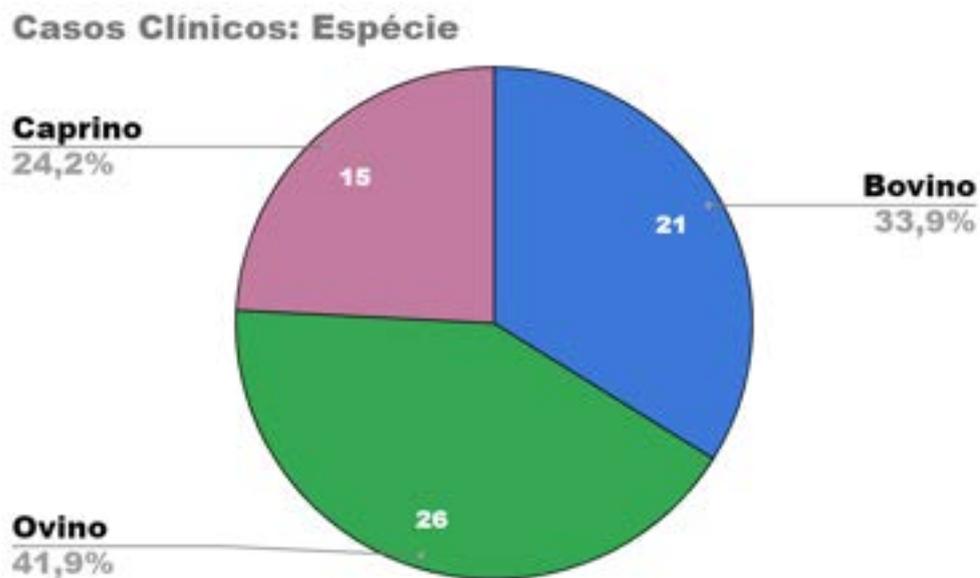


Fonte: Da autora (2022)

3.1 Casuística

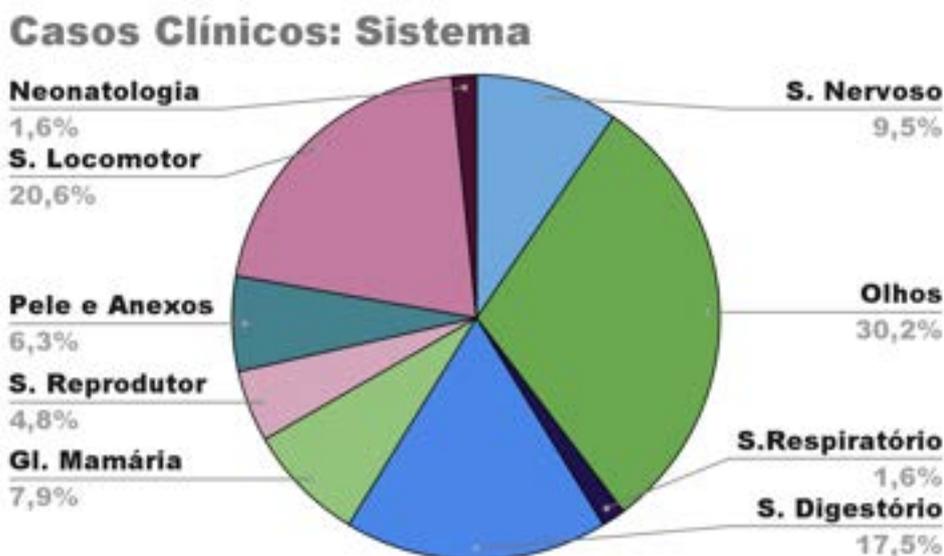
Durante o período de estágio foram atendidos 62 casos clínicos, sendo que 26 (41,9 %) ovinos, 21 (33,9 %) bovinos e 15 (24,2 %) caprinos (GRÁFICO 1). Dentre os sistemas acometidos, foram 19 (30,6 %) casos relacionados à oftalmologia, 13 (21 %) de sistema locomotor, 11 (17,7 %) de sistema digestório, 6 (9,7 %) de sistema nervoso, 5 (8,1 %) de glândula mamária, 4 (6,5 %) de pele e anexos, 3 (4,8 %) de sistema reprodutor, 1 (1,6 %) de sistema respiratório e 1 (1,6 %) de neonatologia (GRÁFICO 2).

Gráfico 1 - Casuística da rotina clínica dividida por espécie do Hospital Veterinário de Ruminantes - FZEA/USP - Pirassununga (SP), no período de 01 de fevereiro a 01 de abril de 2022.



Fonte: Da autora (2022)

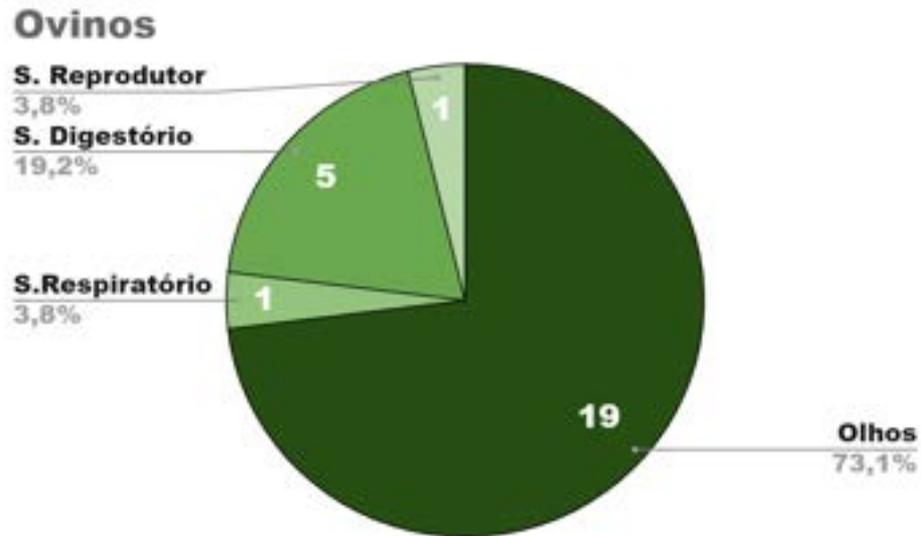
Gráfico 2 - Casuística da rotina clínica dividida por sistema do Hospital Veterinário de Ruminantes - FZEA/USP - Pirassununga (SP), no período de 01 de fevereiro a 01 de abril de 2022.



Fonte: Da autora (2022).

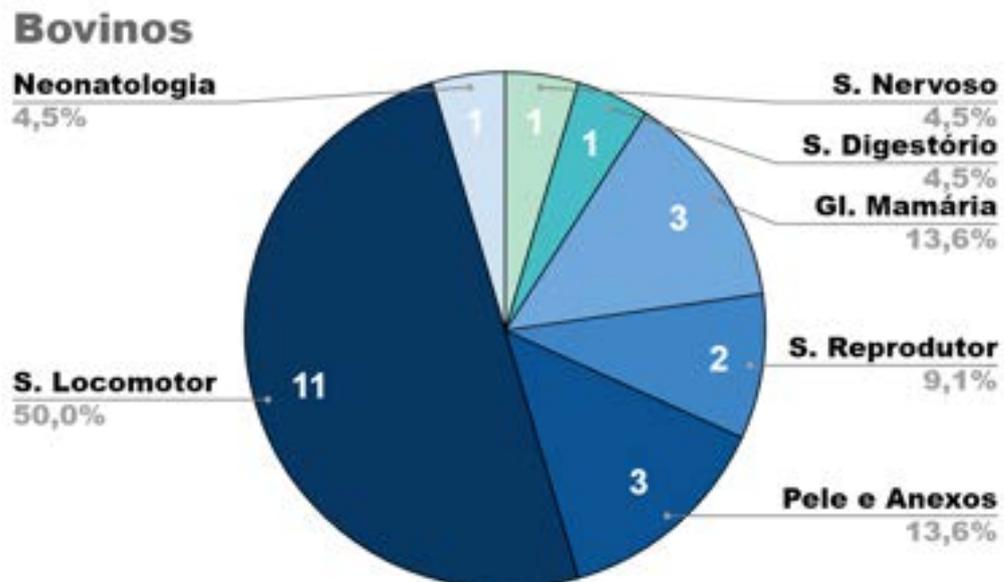
De acordo com a espécie, observa-se que, em ovinos, a estrutura mais acometida foi o olho, com 19 (73,1 %) casos, seguido do sistema digestório, com 5 (19,2 %), e os sistemas reprodutor (3,8%) e respiratório (3,8%) com 1 caso cada (GRÁFICO 3). Já em bovinos, 11 (52,4 %) casos estavam relacionados ao sistema locomotor, seguido de 3 casos de glândula mamária (14,3%) e 3 casos de pele e anexos (14,3%), 2 (9,5%) do sistema reprodutor e por último sistema digestório, sistema nervoso e neonatologia com 1 caso cada (4,8%) (GRÁFICO 4). Em caprinos notou-se que os sistemas mais acometidos foram, o sistema nervoso com 5 casos (33,3%) e digestório com 5 casos (33,3%), seguido de 2 casos de sistema locomotor (13,3%) e 2 de glândula mamária (13,3%), e por último 1 caso de pele e anexos (6,7%) (GRÁFICO 5).

Gráfico 3 - Total de casos clínicos de ovinos dividido por sistemas do Hospital Veterinário de Ruminantes - FZEA/USP - Pirassununga (SP), no período de 01 de fevereiro a 01 de abril de 2022.



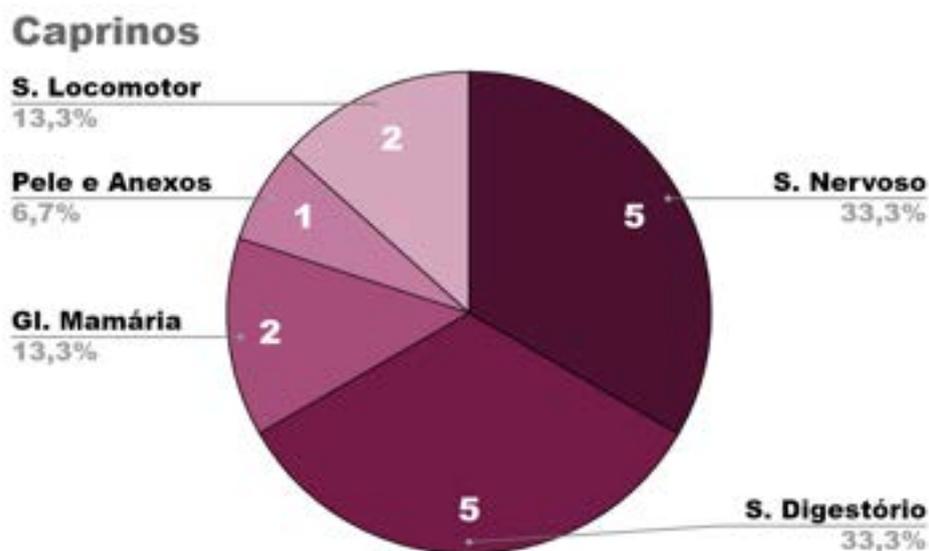
Fonte: Da autora (2022).

Gráfico 4 - Total de casos clínicos de bovinos dividido por sistemas do Hospital Veterinário de Ruminantes - FZEA/USP - Pirassununga (SP), no período de 01 de fevereiro a 01 de abril de 2022.



Fonte: Da autora (2022).

Gráfico 5 - Total de casos clínicos de caprinos dividido por sistemas do Hospital Veterinário de Ruminantes - FZEA/USP - Pirassununga (SP), no período de 01 de fevereiro a 01 de abril de 2022.

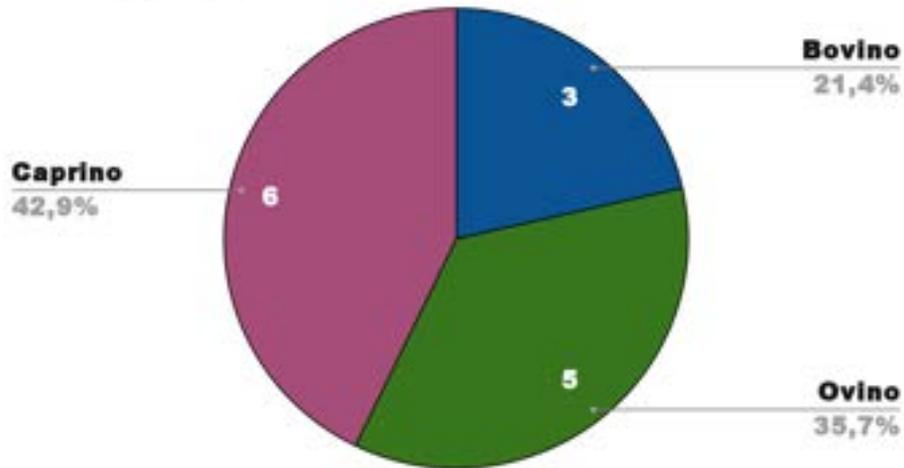


Fonte: Da autora (2022).

Analisou-se também a quantidade de necropsias realizadas durante o estágio. No total foram 14 necropsias efetuadas, sendo que observou-se o maior número de óbitos de caprinos (42,9%), seguido de ovinos (35,7%) e bovinos (21,4%) (GRÁFICO 6).

Gráfico 6 - Total de necropsias realizadas de dívidas em espécie no Hospital Veterinário de Ruminantes - FZEA/USP - Pirassununga (SP), no período de 01 de fevereiro a 01 de abril de 2022.

Necropsias

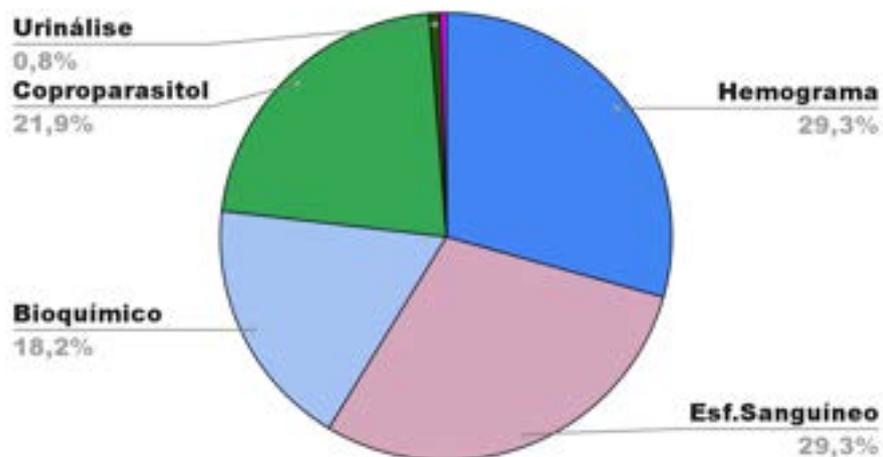


Fonte: Da autora (2022).

No laboratório clínico foram realizados ao total 242 exames, no qual os exames mais solicitados foram o hemograma e esfregaço sanguíneo (29,3%), seguido de coproparasitológico (21,9%), bioquímico (18,2%), urinálise (0,8%) e análise de líquido ruminal (0,4%) (GRÁFICO 7). Entre as espécies, os bovinos tiveram o maior número de exames efetuados (55,8%), posteriormente caprinos (29,8%) e ovinos (14,5%)

Gráfico 7 - Total de exames laboratoriais do Hospital Veterinário de Ruminantes - FZEA/USP - Pirassununga (SP), no período de 01 de fevereiro a 01 de abril de 2022.

Exames Laboratoriais



4. ANÁLISE DE DADOS

Durante o período do estágio, a discente coletou e analisou dados da propriedade do gado de leite da prefeitura do campus da USP, a fim de correlacionar os problemas de parto existentes com o desenvolvimento de afecções podais. A apresentação do estudo está em formato de artigo científico, pois futuramente será enviado para publicação em revista, além de conter informações que serão utilizadas no Trabalho de Conclusão de Residência da atual residente do Hospital Veterinário de Ruminantes - FZEA/USP - Pirassununga (SP), Camila Azzolin de Souza.

Avaliação e associação entre problemas de parto com o desenvolvimento de afecções podais na Propriedade de Gado de Leite da Prefeitura do campus da USP

4.1 Introdução

Os problemas de casco em vacas leiteiras possuem incidência mundial variável entre <10% até >50% entre os rebanhos, porém, quando ocorrem são dolorosos e influenciam negativamente no bem-estar e produtividade dos animais (FIORE., *et al* 2019; SOTA., *et al* 2021). Além disso, ressalta-se que ocorre um déficit no diagnóstico das afecções de casco, pois 90% dos casos apresentam sinais subclínicos, dificultando no retorno produtivo dos indivíduos afetados (FIORE., *et al* 2019). De acordo com Sogstad *et al.*, 2005, é visto que a origem de tais problemas possuem causas multifatoriais, incluindo riscos no parto ou pós-parto, estágio de lactação, produção de leite, peso corporal, raça, alterações metabólicas e mecânicas, práticas de manejo e ambiente.

Nota-se que há os principais fatores de risco para o desenvolvimento do problema de casco, podendo ser ambientais, como, dureza do piso, cama desconfortável e presença de barro e sujidades em grande quantidade (KNOTT., *et al* 2007; PLAUTZ, 2013). Há por agentes físicos, os quais são traumas ocasionados por pedras e degraus (KNOTT., *et al* 2007; PLAUTZ, 2013). Há também a má conformação anatômica do sistema locomotor. Em ambas as condições, haverá alteração da queratina do casco, promovendo microfissuras e rachaduras, aumentando a sensibilidade ao ataque de microrganismos (KNOTT., *et al* 2007). Além disso, poderá ocorrer por danos sistêmicos, provocados por disfunção ruminal e alterações hormonais que acompanham o parto e a lactação. (KNOTT., *et al* 2007)

O parto propriamente dito é uma condição no qual há alta liberação de cortisol, estrógeno (E2) e prostaglandina (PGF2a), desencadeando a exposição de tais animais ao

estresse. Em suma, durante o período de transição, os animais entram em condição de homeorrese, no qual há diversas alterações metabólicas para que ele se adapte e se mantenha no atual estágio fisiológico (MALAFAIA, 2014). Em tais condições há três pontos críticos para a saúde do animal: I. redução do consumo alimentar, devido ao útero ocupando grande parte da cavidade abdominal e a presença do E2; II. Balanço energético negativo (BEN), no qual a demanda energética é maior do que o consumo alimentar; III. Imunossupressão, pois há aumento das concentrações plasmáticas de ácidos graxos não esterificados (AGNE), os quais afetam na quantidade de neutrófilos circulantes (HORTA, 1995). Com isso, tais desordens metabólicas ou afecções reprodutivas no periparto alteram a imunidade e mecanismos de inflamação do animal, prejudicando a saúde e bem estar.

Sendo assim, as doenças que acometem o periparto e pós-parto possuem influência no desenvolvimento de afecções podais. O objetivo deste trabalho é analisar determinada propriedade de gado de leite, em relação aos problemas de parto existentes, associados ao desenvolvimento dos problemas de casco, além de correlacionar com ordem de parto e doenças específicas do pós-parto (cetose, hipocalcemia, deslocamento de abomaso, endometrite, retenção de placenta, natimorto e aborto).

4.2 Material e Métodos

O estudo foi realizado na propriedade de gado de leite localizada na Universidade de São Paulo-USP, campus Fernando Costa no município de Pirassununga - SP. A propriedade conta com uma área de 2392 ha, com 44 animais em lactação e produção total de 980 litros. Os animais são alimentados com silagem e ração, com relação de 70:30.

As vacas primeiramente foram selecionadas através das fichas clínicas obtidas do HOVET- USP entre os anos de 2021 e 2022, no qual somente foram aceitos animais que apresentavam diagnóstico confirmado de afecções podais. Com isso, realizou-se um estudo retrospectivo dos casos atendidos no HOVET. Posteriormente, no aplicativo de gestão da fazenda foram selecionadas aleatoriamente animais saudáveis. Na escolha não foram considerados ordem de parto, idade ou escore de condição corporal.

Foram avaliados no total 96 partos de 41 animais distintos, no qual fez-se associação entre os problemas de cascos existentes com problemas de parto, principalmente, animais que apresentaram no pós-parto cetose, hipocalcemia, deslocamento de abomaso, endometrite, retenção de placenta, natimorto e aborto.

4.3 Análise Estatística

Na análise estatística foi utilizado o programa Bioestat 5.0. Foram utilizados o Teste de Fisher para determinar se há correlação entre duas variáveis, as quais são: I. ordem de parto (OP) x problemas de casco (PC); II. problema de parto (PP) x PC e III. doenças específicas do pós-parto (cetose, hipocalcemia, deslocamento de abomaso, endometrite, retenção de anexos fetais, natimorto e aborto) x PC. Além disso, foi realizado o Odds Ratio para definir o intervalo de confiança das amostras.

4.4 Resultados

4.4.1 Ordem de parto e Problema de casco

É visto que com o N amostral utilizado não obteve-se associação entre OP e PC, já que durante a análise não considerou-se ordem de parto, idade e escore de condição corporal.

4.4.2 Problema de Parto e Problema de Casco

Nota-se que há associação estatística entre PP com PC, ou seja, animais que apresentam problemas de parto são propensos a desenvolver afecções podais, comprovado pelo Teste de Fisher ($p=0.0014$) (Quadro 1).

Além disso, na análise do Odds Ratio, é visto que um indivíduo que tenha PP possui 9.6 vezes a mais de desenvolver PC do que um animal hígado(Quadro 1).

Variável	PROBLEMA DE CASCO					P Teste de Fisher	OR (IC 95%)	P Odds Ratio
	SIM		NÃO		Total			
	N	%	N	%	N			
PROBLEMA DE PARTO								
Sim	14	42	19	58	33	0,0014	9.6 (3.2-28.8)	<0.0001
Não	8	13	55	87	63			

Quadro 1: Quadro correlacionando parto de risco com problema de casco

4.4.3 Problema de Casco e Doenças específicas do pós-parto (cetose, hipocalcemia, deslocamento de abomaso, endometrite, retenção de anexos fetais, natimorto e aborto)

Em tal análise, visualizou-se que animais que apresentavam endometrite possuíam associação com PC ($p=0,0017$) e há 5.1 chances a mais de desenvolverem PC do que animais hígados.

Em relação a retenção de anexos fetais e aborto é visto que há associação com PC (Quadro 2), porém, são necessárias pesquisas aprofundadas com número de amostragem maior para confirmar tal fator analisado.

As outras variáveis (cetose, hipocalcemia, deslocamento de abomaso e natimorto) não obtiveram associação com o PC, porém, são necessárias mais pesquisas para cada item com número amostral maior.

Quadro 2: Tabela correlacionando doença específica do pós-parto com problema de casco

Variável	PROBLEMA DE CASCO					P Teste de Fisher	OR (IC 95%)	P Odds Ratio
	SIM		NÃO		Total			
	N	%	N	%	N			
Cetose								
Sim	0	0	2	100	2	0,5923	-	-
Não	22	23	72	77	94			
Hipocalcemia								
Sim	1	100	0	0	1	0,2292	-	-
Não	21	22	74	78	95			
Endometrite								
Sim	12	46	14	54	26	0,0017	5,1 (1,8-14,2)	0,0025
Não	10	14	60	86	70			
Deslocamento de Abomaso								
Sim	0	0	1	100	1	0,7708	-	-
Não	22	23	73	77	95			
Retenção de Anexos Fetais								
Sim	21	95	1	5	22	<0,0001	-	<0,0001
Não	1	1	73	99	74			
Natimorto								
Sim	1	33	2	67	3	0,5355	1,7 (0,1 - 19,8)	0,7936
Não	21	23	72	77	93			
Aborto								
Sim	4	100	0	0	4	0,0123	-	-
Não	29	32	63	68	92			

4.5 Discussão

É visto que os resultados obtidos comparando ordem de parto com problema de casco não seguiram o que está exposto na literatura. Segundo Fiorre., *et al* 2019, à medida que aumenta a ordem de lactação a tendência é que os animais desenvolvam afecções podais com mais facilidade, comparado com indivíduos de ordem lactacional precoce. Tal fator é explicado pois animais com ordem de lactação tardia, são indivíduos mais velhos, pesados e que estão mais propensos a terem sofrido traumas ou doenças metabólicas em lactações anteriores. Concomitante a isso, de acordo com Gearhart., *et al* 1990, vacas de 10 anos possuem quatro vezes chances a mais de desenvolverem lesão podal do que animais com três anos. No resultado encontrado, nota-se que não ocorreu associação entre as duas variáveis, já que no N amostral, a quantidade de animais de 1º 2º e 3º ordem lactacional eram superiores aos animais mais velhos.

A ocorrência de PC após o parto é relatada na atual pesquisa, provavelmente devido ao estresse estabelecido durante o parto. Resultados semelhantes foram encontrados no trabalho realizado por Knott.,*et al* 2007, o qual aborda que o grupo de animais submetidos ao estresse do parto obtiveram maior gravidade de lesões dos cascos. Os autores realizaram testes biomecânicos e verificaram que a capacidade de suporte do cório foi reduzida durante o parto

($P < 0,03$), devido à frouxidão do tecido e diminuição da capacidade de apoiar a terceira falange dentro do casco. Sabe-se que o cório é composto por colágeno, elastina e proteoglicanos, os quais possuem efeito significativo na biomecânica. Durante o mesmo estudo, analisou-se se há alterações na composição do cório, e observou-se diminuição de proteoglicanos e aumento da elastina. Com isso, nota-se que durante a prenhez, o aumento do peso do animal faz com que ocorra tais alterações na elastina e proteoglicanos, objetivando na frouxidão do tecido das unhas e redução da capacidade de suportar estresses fisiológicos.

Além disso, há outro fator relacionado com a associação entre PP com PC, o qual é a condição de homeorrese estabelecida pelo animal durante o período de transição. Nota-se que há diversas alterações metabólicas no organismo do animal, como, alterações no níveis de glicose, insulina, e AGNE. Na pesquisa de Wilhelm & Fürll 2016, os autores comprovaram que as alterações no metabolismo energético do pós-parto estão associadas à saúde dos cascos, principalmente, abordando que nos dois meses iniciais da lactação há intensa deterioração das unhas. Em suma, sugerem que mudanças nas concentrações da glicose podem contribuir para mudanças no cório, semelhante ao mecanismo que acomete os equinos. Atribuindo a isso, é possível que os níveis de AGNE estejam elevados, promovendo diminuição significativa da quantidade de neutrófilos circulantes, prejudicando na defesa inicial do sistema imune e facilitando o desenvolvimento de PC após o parto.

No que tange a ocorrência de PC subsequente à endometrite clínica, é visto que não há dados na literatura que forneçam confiabilidade de resultado. Porém, há determinados marcadores, como AGNE e paraoxonase os quais são preditores da laminite no período periparto (BARBOSA, 2015). Tais marcadores demonstram o equilíbrio metabólico, nutricional e inflamatório do organismo em relação à ocorrência da laminite, os quais em estudos futuros podem ser correlacionados com marcadores da endometrite, permitindo observar se existem marcadores em comum entre tais afecções.

No caso da endometrite clínica, é visto que a concentração sérica de ferro possui alterações significativas (FAVARETTO, *et al* 2015). Tal fator é importante pois, quando há uma resposta inflamatória a concentração sérica do ferro diminui drasticamente, já que, o mineral é utilizado para virulência e replicação bacteriana. Corroborando tal ideia, a inflamação causa aumento da interleucina 6, estimulando a liberação de hepcidina, a qual é um peptídeo produzido pelos hepatócitos e regula a absorção de ferro no duodeno (FAVARETTO, *et al* 2015). Pesquisas em humanos relatam que altas concentrações de hepcidina estão associadas à ocorrência de infecção, inflamação e estresse oxidativo (ANTUNES & CANZIANI, 2016). No atual estudo, pode ter ocorrido a diminuição sérica de

ferro, possibilitando maior sensibilidade para inflamação nos demais tecidos, incluindo as unhas dos bovinos. Porém, são necessárias pesquisas mais aprofundadas, com N amostral maior para associar a queda das concentrações de ferro, a baixa da imunidade, a inflamação do organismo e estresse oxidativo atingindo as bases laminares dos cascos, promovendo doença podal.

Outro fator que pode ser considerado é em relação aos microorganismos presentes na endometrite e nas afecções podais. É visto que os agentes comumente encontrados na endometrite são bactérias anaeróbicas, como, *Trueperella pyogenes*, *Bacteroides* e *Fusobacterium necrophorum*. Entre tais microorganismos citados, relata-se que *Trueperella pyogenes* e *Fusobacterium necrophorum* são agentes comumente encontrados quando há lesões podais, podendo assim possuir correlação entre os agentes causadores ou responsáveis por infecções secundárias no casco (ALVEZ., *et al* 2007).

4.6. Conclusão

Sabe-se que o período periparto é considerado o momento no qual as fêmeas estão mais susceptíveis a desenvolverem doenças. Com isso, é visto que partos de risco influenciam na ocorrência de problemas podais. Além disso, a endometrite pode ter alta correlação com o desenvolvimento de laminite, no entanto são necessários estudos futuros para comprovação.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

No estágio curricular obrigatório a discente conquistou conhecimentos diversos, como, casqueamento preventivo e terapêutico com a utilização de pasta contendo sulfa, talco e água. Como também o uso do soro autólogo para ceratoconjuntivite em ovinos. Nota-se também, o aperfeiçoamento da técnica de necropsia, devido a grande quantidade de necropsias realizadas. Além disso, a discente viveu a rotina de laboratório clínico, realizando hemograma, esfregaço, técnicas tintoriais de esfregaço sanguíneo, contagem diferencial de leucócitos e coproparasitológico.

Todos os conhecimentos adquiridos pela aluna durante o período de estágio colaboraram para o desenvolvimento técnico e profissional da área escolhida. Além disso, a oportunidade de acompanhar a vida e as experiências de residentes da área de clínica e cirurgia de ruminantes.

6.REFERÊNCIAS

- ALVEZ, C.G.T *et al.* **Identificação de bactérias em infecções podais de vacas leiteiras.** Medicina Veterinária Recife. v.1, n.2, p.16-20. 2007.
- ANTUNES, S.A & CANZIANI, M.F. **Hepcidina: um importante regulador do metabolismo de ferro na doença renal crônica.** J Bras Nefrol. v.38, n.3, p.351-355. 2016.
- BARBOSA, A.A. **Perfil metabólico e desempenho produtivo de vacas leiteiras com alterações podais.** Dissertação para título de mestrado da Universidade Federal de Pelotas. 2015
- DELUYKER,H.A; GAY, J. M; WEAVER, L. D; AZARI, A. S. **Change of Milk Yield for a High Producing with Clinical Diseases Dairy Herd.** J Dairy Sci, v.74, p.43-45.1991
- FAVARETTO, B. P., *et al.* **Marcadores Inflamatórios da Endometrite Bovina.** In XX Seminário Interinstitucional de ensino, pesquisa e extensão da Universidade de Cruz Alta - RS. 2015
- FIORE, E., *et al.* **Effect of parity on claw horn lesions in Holstein dairy cows: clinical and radiological study.** Ann. Anim. Sci, v. 19, n.1, p.147-158. 2019. DOI:<https://doi.org/10.2478/aoas-2018-0050>
- GEARHART, M.A; *et al.* **Relationship of Changes in Condition Score to Cow Health in Holsteins.** J Dairy Sci, v.73, p.3132-3140.1990
- HORTA, A.E.M. **Fisiologia do Puerpério na vaca.** In: Jornadas Internacionales de Reproducción Animal. AERA, santander, p.73-84. 1995.
- KNOTT, L., TARLTON, J.F, CRAFT, H., WEBSTER, A.J.F. **Effects of housing, parturition and diet change on the biochemistry and biomechanics of the support structures of the hoof of dairy heifers..** The Veterinary Journal. v.174, n.2, pg.277–287. 2007. DOI: 10.1016/j.tvjl.2006.09.007
- MALAFAIA, P. **Nutrição e outras variáveis zootécnicas e reprodução na reprodução dos bovinos.** In V Conferência - SIMPAVASFE da Universidade Federal do Vale do São Francisco - PE. 2014.
- PLAUTZ, G.R. **Podologia Bovina.** Trabalho de Conclusão de Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul - Faculdade de Veterinária. 2013
- SOGSTAD, A.M; FJELDAAS, T; OSTERAS, O.**Lameness and claw lesions of the Norwegian red dairy cattle housed in free stalls in relation to environment, parity and stage of lactation.** Acta Vet. Scand, v.46, p.203–217. 2005.
- SOTA, L.R., *et al.* **Lameness in Early Lactation Is Associated with Lower Productive and Reproductive Performance in a Herd of Supplemented Grazing Dairy Cows.** Animals, v.11 n.2, p. 2294,2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/ani11082294>

WILHELM, K & FÜRLI, M. **Claw disorders in dairy cattle – an unexpected association between energy metabolism and sole haemorrhages.** Journal of Dairy Research, v.10, p.1-7. 2016. DOI: 10.1017/S0022029916000510

CAPÍTULO 2 - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA /EMBRAPA GADO DE LEITE -MG

1.INTRODUÇÃO

A Embrapa Gado de leite é um dos locais onde foram realizadas 96 horas de estágio, entre os dias 04 de abril de 2022 a 22 de maio de 2022. As atividades foram orientadas pelo Dr.Prof. Hugo Shisei Toma e co-orientador Dr.Prof. Marcos Ferrante e supervisionado pelo Dr. Humberto de Mello Brandão.

As principais atividades realizadas durante o estágio, foram acompanhamento da rotina do Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular, no qual foi realizado preparo de meio de cultura, isolamento de bactérias, classificação colônia bacteriana, teste de catalase, esfregaço de colônia bacteriana, coloração de gram, como também, extração e quantificação de DNA bacteriano. No Laboratório de Parasitologia foi acompanhado a realização de biocarrapaticidograma. No Laboratório de Nanotecnologia presenciou realização de nanopartículas, como também de suas análises. Além disso, no Laboratório de Reprodução foi acompanhado a rotina do procedimento de aspiração de oócitos e produção *in vitro* de embriões (PIVE) bovinos. Ressalta-se que no geral, em todos os laboratórios a discente presenciou distintos projetos de inovação e pesquisa na área de Gado de Leite.

O presente trabalho teve como objetivo relatar a vivência em pesquisa de alta qualidade e confiabilidade e as principais atividades desenvolvidas na Embrapa Gado de Leite - MG.

2. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA) GADO DE LEITE - MG

2.1 Descrição do local de estágio

A Embrapa Gado de Leite está localizada na Avenida Eugênio do Nascimento, 610 - Aeroporto na cidade de Juiz de Fora - MG. A sede contempla uma área de 3,85 hectares, no qual estão presentes salas de trabalho, laboratórios, casas de vegetação, auditórios, bibliotecas e escritórios de parceiros. É uma das 42 Unidades Descentralizadas da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) (FIGURA 1), vinculada ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Possui campos experimentais em Coronel Pacheco (MG) e Valença (RJ), como também quatro núcleos que apoiam em atividades de transferência de tecnologia em cada região do país. O corpo técnico é constituído por 275 funcionários, sendo 75 pesquisadores, 74 analistas, 33 técnicos e 92 assistentes.

Os laboratórios da Embrapa Gado de Leite possuem a finalidade de realizar experimentos, auxiliar pesquisas da instituição e de parceiros e prestação de serviços para os distintos setores do leite. Além disso, são utilizadas para fins acadêmicos, com a participação de mestrandos, doutorandos e pós-doutorandos. Os laboratórios presentes são: I. Laboratório de Análise de Alimentos; II. Laboratório de Bioinformática e Genômica Animal; III. Laboratório de Biotecnologia e Fisiologia Animal; IV. Laboratório de Cromatografia; V. Laboratório de Entomologia; VI. Laboratório de Genética Molecular; VII. Laboratório de Genética Vegetal; VIII. Laboratório de Microbiologia do Leite; XIX. Laboratório de Microbiologia do Rúmen; X. Laboratório de Nanotecnologia para Saúde e Produção Animal; XI. Laboratório de Parasitologia; XII. Laboratório de Qualidade do Leite e XII. Laboratório de Reprodução Animal.

Figura 1: Fachada da Embrapa Gado de Leite - MG, Juiz de Fora (MG), em que foi realizado o estágio supervisionado no período de 04 de abril a 22 de abril de 2022



Fonte: Portal Embrapa

2.2 Instalações

2.1.1 Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular

É importante ressaltar que, o Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular são estruturas distintas, coordenadas por diferentes pesquisadores, porém, no acompanhamento da rotina de pesquisa foram utilizados os dois laboratórios.

De forma geral os laboratórios continham a área suja (FIGURA 2), no qual são realizadas lavagens, esterilização e secagem na estufa de materiais, como são manipuladas amostras contaminadas. Era composto por pia, estufa e autoclave. Em suma, há a área limpa

(FIGURA 3), onde são realizados procedimentos que necessitam de ambiente controlado. Em tal área encontra-se uma capela de fluxo laminar, uma capela de exaustão de gases, uma bancada contendo balança, estufas e banho-maria e uma autoclave.

Figura 2: Área suja do Laboratório de Microbiologia/Biologia Molecular da Embrapa Gado de Leite - MG, Juiz de Fora (MG), em que foi realizado o estágio supervisionado no período de 04 de abril a 22 de abril de 2022



Fonte: Da autora (2022).

Figura 3: Área limpa do Laboratório de Microbiologia/Biologia Molecular da Embrapa Gado de Leite - MG, Juiz de Fora (MG), em que foi realizado o estágio supervisionado no período de 04 de abril a 22 de abril de 2022



Fonte: Da autora (2022)

2.1.2 Laboratório de Nanotecnologia

No Laboratório de Nanotecnologia há uma bancada central, contendo estufa, centrífuga, banho-maria, máquina extrusora e suporte de pipetas. Além disso, há salas distintas para realização de diversos procedimentos, como a sala de caracterização de nanomateriais (FIGURA 4), sala de ultrassonografia (FIGURA 4), sala de cultivo celular (FIGURA 5), sala de análise bioquímica, sala de preparo de amostras para espectrometria de massas (FIGURA 6) e sala de espectrometria de massas. Além disso, o ambiente contém geladeiras, freezers e pias.

Figura 4: Salas para análises e caracterização de nanopartículas do Laboratório de Nanotecnologia da Embrapa Gado de Leite - MG, Juiz de Fora (MG), em que foi realizado o estágio supervisionado no período de 04 de abril a 22 de abril de 2022



Fonte: Da autora (2022)

Legenda: A..Sala de caracterização de nanomateriais/ B. Sala de ultrassonografia

Figura 5: Sala de cultivo celular do Laboratório de Nanotecnologia da Embrapa Gado de Leite - MG, Juiz de Fora (MG), em que foi realizado o estágio supervisionado no período de 04 de abril a 22 de abril de 2022



Fonte: Da autora (2022).

Figura 6: Sala de de preparo de amostra para espectrometria de massa do Laboratório de Nanotecnologia da Embrapa Gado de Leite - MG, Juiz de Fora (MG), em que foi realizado o estágio supervisionado no período de 04 de abril a 22 de abril de 2022



Fonte: Da autora (2022)

2.1.3 Laboratório de Reprodução Animal

No Laboratório de Reprodução Animal há a área suja, no qual são realizadas análises e seleção de amostras contaminadas. Posteriormente, há a sala de preparo de meios e colheitas de ovócitos (FIGURA 7), na qual contém balança, geladeiras e reagentes para o preparo dos meios. Há também duas salas de fecundação *in vitro* (FIGURA 8), a qual é composta por uma capela de fluxo laminar, estereoscópio, estufas e microscópios. Há também a área de risco biológico no qual há cabine de segurança biológica e também sala de biologia molecular.

Figura 7: Sala de Preparo de meios e colheitas de ovócitos do Laboratório de Reprodução da Embrapa Gado de Leite - MG, Juiz de Fora (MG), em que foi realizado o estágio supervisionado no período de 04 de abril a 22 de abril de 2022



Fonte: Da autora (2022)

Figura 8: Sala de Fecundação *in vitro* do Laboratório de Reprodução da Embrapa Gado de Leite - MG, Juiz de Fora (MG), em que foi realizado o estágio supervisionado no período de 04 de abril a 22 de abril de 2022



Fonte: Da autora (2022)

3. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

De forma geral a discente acompanhou as distintas atividades de pesquisa dos Laboratórios de Microbiologia e Biologia Molecular, Parasitologia, Nanotecnologia e Reprodução Animal.

3.1 Laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular

No período em que foi acompanhada a rotina dos Laboratórios de Microbiologia e Biologia Molecular, realizou-se meios de cultura específicos para isolamento de bactérias ácidas lácticas (BAL) e psicrotróficas de amostras de leite de vaca, as quais são M17 e CAS, respectivamente. Posteriormente, iniciou-se o processo de isolamento bacteriano (FIGURA

9), diluindo as amostras de leite em 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} , adicionava 0,1 ml da diluição na placa de Petri e espalhava nos meios com auxílio da alça de Drigalski até a absorção completa. As placas de meios M17 e MRS são específicas para BAL e eram incubadas a 35°C na estufa. Já as placas CAS eram colocadas a 28°C , já que eram indicadas para as bactérias psicrotóficas. Ambas as placas permaneceram por 24h a 48h até o crescimento das colônias bacterianas.

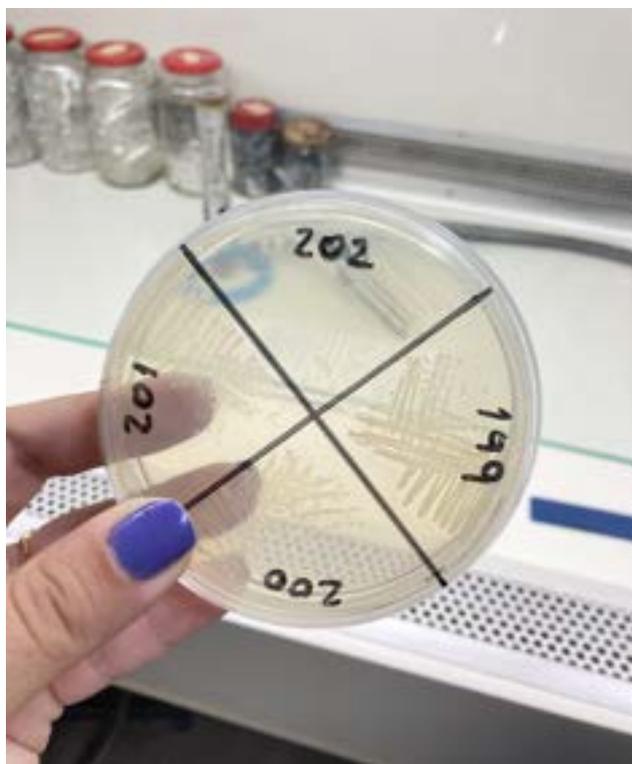
Figura 9: Processo de isolamento bacteriano nos meios de cultura M17, MRS e CAS, do Laboratório de Microbiologia/Biologia Molecular da Embrapa Gado de Leite - MG, Juiz de Fora (MG), em que foi realizado o estágio supervisionado no período de 04 de abril a 22 de abril de 2022



Fonte: Da autora (2022)

Contendo as colônias bacterianas crescidas, era realizado a análise visual de cada placa, descrevendo se houve crescimento, se as colônias são contáveis ou não e se podem ser isoláveis. As placas clonadas eram descartadas. Em seguida, as placas eram dirigidas para a capela laminar para realizar a seleção e isolamento de colônias específicas em outras placas (FIGURA 10). Novamente o material era retornado para a temperatura controlada.

Figura 10: Processo de isolamento bacteriano em quatro nos meios de cultura M17, MRS e CAS, do Laboratório de Microbiologia/Biologia Molecular da Embrapa Gado de Leite - MG, Juiz de Fora (MG), em que foi realizado o estágio supervisionado no período de 04 de abril a 22 de abril de 2022



Fonte: Da autora (2022)

Para a confirmação de que tais colônias são BAL realiza-se a prova de catalase e coloração de Gram. As BAL, são bactérias catalase negativa e gram positivas. A prova de catalase é indicada para confirmar a presença da enzima catalase, a qual converte o peróxido de hidrogênio em oxigênio e água. Na prática utiliza-se água oxigenada, sob lâmina e uma pequena porção da colônia, se ocorrer formação de bolhas, sugere liberação de oxigênio e teste positivo para catalase.

Para a coloração de gram é necessário primeiramente realizar o esfregaço (FIGURA 11), no qual em uma lâmina é colocada quatro gotas lineares de água destilada, são adicionadas em cada gota distintas colônias bacterianas, posteriormente são fixadas através da utilização do bico de Bunsen. Em sequência as lâminas são coradas (FIGURA 12), utilizando cristal violeta, lugol, álcool e safrina. Finalizando a coloração, as lâminas são lidas no microscópio, classificando em morfologia e gram. As amostras que eram aceitas para a continuação da pesquisa eram cocos e estreptococos gram positivos

Figura 11: Esfregação de colônias para subsequente coloração de gram, do Laboratório de Microbiologia/Biologia Molecular da Embrapa Gado de Leite -MG, Juiz de Fora (MG), em que foi realizado o estágio supervisionado no período de 04 de abril a 22 de abril de 2022



Fonte: Da autora (2022).

Figura 12: Coloração de lâminas para subsequente classificação de gram, do Laboratório de Microbiologia/Biologia Molecular da Embrapa Gado de Leite - MG, Juiz de Fora (MG), em que foi realizado o estágio supervisionado no período de 04 de abril a 22 de abril de 2022



Fonte: Da autora (2022).

Além disso, foi acompanhado o processo de extração de DNA bacteriano, o qual segue protocolo operacional de procedimento padrão estabelecido pelo pesquisador, como também, a quantificação do DNA de cada bactéria. Tais amostras serão congeladas para estudos futuros.

3.2 Laboratório de Parasitologia

No Laboratório de Parasitologia foi acompanhado o teste de biocarrapaticidograma. As amostras chegavam da propriedade contendo 200g de teleóginas, sendo que o pesquisador escolhe as melhores e utiliza a medida 100g de parasitos. Eram utilizados nove carrapaticidas comerciais e os distintos princípios ativos são diluídos em água, contendo 0.5uL de cada fármaco. Os carrapatos eram imersos em cada balão, durante cinco minutos, imitando a pulverização dos animais à campo. Posteriormente, emplacou os parasitas e ocorreria oviposição em 15 dias, tais ovos são coletados e armazenados em uma seringa e por aspecto visual da quantidade de ovos é feito cálculos para definir a taxa de sucesso do produto comercial, específica para cada amostra e propriedade (FIGURA 13).

Figura 13: Teste de Biocarrapaticidograma, após imersão dos carrapatos no balão durante cinco minutos, do Laboratório de Parasitologia da Embrapa Gado de Leite - MG, Juiz de Fora (MG), em que foi realizado o estágio supervisionado no período de 04 de abril a 22 de abril de 2022



Fonte: Embrapa Gado de Leite (2014)

3.3 Laboratório de Nanotecnologia

No Laboratório de Nanotecnologia a principal atividade acompanhada foi a realização de nanopartículas de um antimicrobiano. Utilizou-se inicialmente o rotaevaporador (FIGURA 14), o qual possui a finalidade de separar um solvente de amostra, transferindo para outro recipiente. De maneira geral, ele realiza o processo de destilação simples, ou seja, o composto é aquecido em um sistema de vácuo, o solvente irá evaporar, e o vapor será transferido até o condensador, no qual ocorre a condensação, recolhendo-o em outro frasco. Com isso, obtém-se a purificação da amostra.

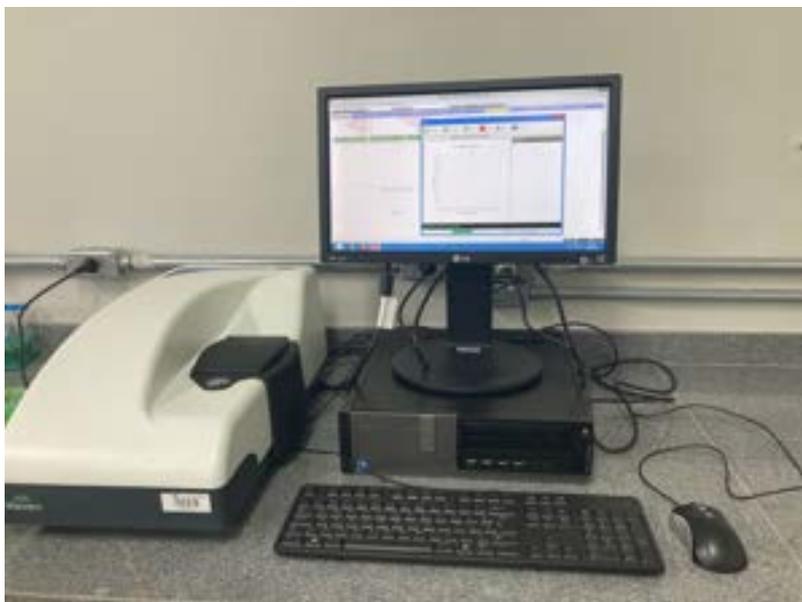
Figura 14: Rotaevaporador, do Laboratório de Nanotecnologia da Embrapa Gado de Leite- MG, Juiz de Fora (MG), em que foi realizado o estágio supervisionado no período de 04 de abril a 22 de abril de 2022



Fonte: Da autora (2022)

Posteriormente, foi usado o Espalhamento Dinâmico de Luz e Potencial Zeta (DLS) (FIGURA 15) para mensurar, principalmente, o tamanho e a voltagem da nanopartícula. Através da técnica DLS é possível a mensuração de materiais com diâmetros entre 0,3 nm a 5 μ m.

Figura 15: Espalhamento Dinâmico de Luz e Potencial Zeta (DLS) , do Laboratório de Nanotecnologia da Embrapa Gado de Leite- MG, Juiz de Fora (MG), em que foi realizado o estágio supervisionado no período de 04 de abril a 22 de abril de 2022



Fonte: Da autora (2022).

3.4 Laboratório de Reprodução Animal

No laboratório de Reprodução, acompanhou-se principalmente a realização da Produção In Vitro de Embriões (PIVE) bovinos. O procedimento era iniciado com a chegada dos ovários de fêmeas bovinas do abatedouro. Os ovários eram colocados em solução salina e temperatura controlada. Foi realizada a aspiração de folículos de 2 a 8 mm, com o auxílio de uma agulha acoplada à seringa (FIGURA 16).

Posteriormente, o fluido folicular era encaminhado para sala de produção *in vitro* (PIV), no qual era realizado a Maturação in vitro (MIV). Tal procedimento ocorre em um período de 22 a 24 horas e possui a finalidade de tornar o gameta feminino apto para fecundação e desenvolvimento embrionário subsequente. Além disso, todo o procedimento era realizado em temperatura, umidade, tensão de Co₂ e O₂ controladas, para minimizar a perda de qualidade do processo.

Na prática, duas horas antes da MIV eram preparados os meios de lavagem e maturação e estocados na estufa. Iniciava-se o rastreamento de oócitos, no qual o fluido folicular era descartado com o auxílio de uma pipeta e somente colocará na placa de petri com o meio de lavagem os oócitos. Para seleção dos oócitos viáveis é levado em consideração as características e quantidade das células do cumulus oophorus, o citoplasma e do núcleo. Serão

selecionados os oócitos classificados como grau I, II e III (Tabela 1). Posteriormente, os oócitos são lavados duas vezes em gotas contendo meio de maturação. Em seguida, são transferidos para gotas de 90 uL de meio de maturação contidas na placa de Petri e recobertas de óleo mineral. São levados para a estufa incubadora com temperatura de 39,5°C, 5% de CO₂ e 95% de umidade, durante 22 a 24 horas. Ressalta-se que durante todo o procedimento deve haver uma placa aquecedora para diminuir riscos de perda da amostragem.

Figura 16: Aspiração folicular no Laboratório de Reprodução da Embrapa Gado de Leite- MG, Juiz de Fora (MG), em que foi realizado o estágio supervisionado no período de 04 de abril a 22 de abril de 2022



Fonte: Da autora (2022).

Tabela 1: Classificação dos diferentes oócitos para seleção e futura maturação

Classificação	Descrição - Oócito	Descrição - Citoplasma
Grau I	+ 3 camadas do cumulus	Regular
Grau II	1 a 3 camadas do cumulus	Regular ou granulações finas
Grau III	< 3 camadas do cumulus	Irregular
Grau IV	Desnudos	Heterogêneo com granulações severas

A segunda fase realizada é a Fecundação *in vitro* (FIV), a qual compreende na incubação de oócitos maduros com espermatozóides capacitados, em meio de fecundação, a fim de desenvolver o zigoto. No primeiro momento, é necessário descongelar os espermatozóides e selecionar os que estão vivos e aptos para fertilizar. Devido a presença de glicosaminoglicanas no meio de fecundação, o espermatozóide sofre a capacitação espermática. Na prática, duas horas antes, prepara-se a placa de Petri contendo gotas de 10 uL de meio de fecundação, recobertas com óleo mineral e armazenadas na estufa. Posteriormente, adiciona o volume espermático (1 a 2×10^6) para o volume final de 50 a 100 uL, no período de 18 a 22 horas, nas mesmas condições de atmosfera, temperatura e umidade adotadas na MIV.

Já na terceira fase é feito o Cultivo *In Vitro* (CIV), no qual é feita a transferência dos zigotos para gotas de meio de cultivo. Além disso, realiza-se o desnudamento parcial das estruturas presentes na gota com o auxílio de uma pipeta. Após 48 horas, era avaliada a taxa de clivagem e no sétimo dia após fertilização realizou-se a análise da taxa de blastocisto inicial, expandido e eclodido. Por fim, avaliou-se a qualidade dos embriões e fez-se criopreservação.

A criopreservação é feita através do princípio de congelamento rápido, promovendo a desidratação do embrião usando soluções osmóticas, a fim de diminuir drasticamente a temperatura embrionária. É importante considerar três aspectos para o sucesso do processo: a taxa de resfriamento, a viscosidade do meio e o volume.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Dentro do período de estágio realizado na Embrapa Gado de Leite - MG, obteve-se a oportunidade de acompanhar diversos pesquisadores e projetos de pesquisas inovadoras na área de gado de leite. Com isso, a aluna vivenciou técnicas aperfeiçoadas de isolamento bacteriano, extração de DNA bacteriano, teste de biocarrapaticidograma, análise de nanopartículas e produção de embriões bovino *in vitro*. Além disso, por estar em uma instituição de pesquisa, a aluna participou de debates de projetos para solução de problemas, adquirindo o desenvolvimento de senso crítico e pensamento inovador.

A vivência em laboratórios contendo alta tecnologia e qualidade de pesquisadores, faz com que a aluna tenha diferencial no mercado de trabalho de grandes animais, já que a maioria dos profissionais não se interessam pela área da pesquisa.

5.REFERÊNCIAS

BHATTACHARJEE, S. (2016). **DLS and zeta potential – What they are and what they are not?** Journal of Controlled Release. v.235, p.337–351. 2016. DOI:10.1016/j.jconrel.2016.06.017

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) Gado de Leite e Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Dez passos para o sucesso no controle de carrapato dos bovinos.** 2016

GONÇALVES, P.B.D., FIGUEIREDO, J.R., FREITAS, V.J.F. **Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal.** São Paulo: Varela. p.340. 2002

OLIVEIRA, C.S., SARAPIÃO, R.V., QUINTÃO, C.CR. **Biotécnicas da reprodução em bovinos.** In minicursos ministrados durante o 3º simpósio de ‘‘Biotécnicas da Reprodução em Bovinos’’. 2014

OTENIO, M.H., MARAGON, P.B., EVARISTO, C.J. **Relatório - Monitoramento dos resíduos biológicos na Embrapa Gado de Leite.** Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite. 2013.