



TÚLIO HENRIQUE ROSA SOUZA

**ESTÁGIO SUPERVISIONADO REALIZADO NA EMPRESA
MAIS EMBRYO**

LAVRAS – MG

2022

TÚLIO HENRIQUE ROSA SOUZA

ESTÁGIO SUPERVISIONADO REALIZADO NA EMPRESA MAIS EMBRYO

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

Prof. Dr. Hugo Shisei Toma

Orientador

LAVRAS – MG

2022

TÚLIO HENRIQUE ROSA SOUZA

**ESTÁGIO SUPERVISIONADO REALIZADO NA EMPRESA MAIS EMBRYO
SUPERVISED INTERNSHIP PERFORMED IN MAIS EMBRYO COMPANY**

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

APROVADO em 8 de fevereiro de 2022
Profª. Dra. Claudia Dias Monteiro Toma
Profª M.V. Gabriela Pereira Souza

UNILAVRAS
UNILAVRAS

LAVRAS – MG

2022

À minha mãe Magali e minha avó Ami por todo apoio, amor, carinho e confiança depositados em mim.

Ao meu pai Paulo Sérgio (in memoriam) e meu avô Sebastião (in memoriam) por todos os conselhos durante o breve tempo que compartilhamos na vida terrena.

A minha namorada Karla por todo amor e apoio incondicional em todos os momentos.
Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por permitir que eu chegasse até aqui, abençoando toda minha trajetória.

Agradeço aos meus pais por todo apoio financeiro e emocional, vocês me deram mais do que eu merecia, e sou extremamente grato por isso.

Agradeço aos meus irmãos por serem compreensivos comigo e por me fazerem me sentir amado.

Agradeço a minha namorada Karla que sempre me apoiou nas minhas decisões. Por todos os conselhos, por todos estes anos que vivemos e pelos que planejamos viver juntos, e por todo amor e cumplicidade.

Agradeço aos familiares da Karla, em especial seu pai e mãe. Os quais considero minha segunda família e que me acolheram como filho.

Agradeço ao meu fiel escudeiro, Apolo, que me ensina a ser uma pessoa melhor a cada dia.

Agradeço a todos amigos e colegas por todos as experiencias compartilhadas que contribuíram muito para minha formação profissional.

Agradeço aos irmãos Marcilio e Marcelo por permitir que eu acompanhasse a rotina da Fazenda Cobiça, a melhor fazenda do Brasil, durante a graduação, e por toda a experiencia que foi compartilhada comigo.

Agradeço ao Dr. Hugo Shisei Toma que aceitou me orientar, e por fazer isso com êxito.

Agradeço a Universidade Federal de Lavras por toda estrutura física e educacional.

Agradeço aos Professores Dr. José Eduardo Portela Santos e Dr. Corwin Nelson, da Universidade da Flórida, pelas duas experiências incríveis de intercâmbio durante a graduação.

Agradeço ao Dr. Roney Zimpel que se tornou um grande amigo durante e após o primeiro estágio na Universidade da Flórida. Obrigado por todos os conselhos e conversas.

Agradeço a toda equipe da Mais Embryo por me acolherem como estagiário e por me permitir aprimorar minhas habilidades para minha formação profissional.

Agradeço a todas as vacas que, mesmo de forma inconsciente, contribuíram com a minha formação e por me ensinarem lições que vão muito além dos livros. Dedicarei a minha vida profissional para tentar compreende-las um pouco melhor.

RESUMO

O objetivo deste trabalho é relatar o estágio supervisionado realizado na empresa Mais Embryo, localizada em Perdões, Minas Gerais, durante o período de 19 de julho de 2021 a 01 de novembro de 2021, sob a supervisão do Médico Veterinário Vitor Fernandes. Foram acompanhadas diferentes atividades ligadas a reprodução, cirurgia e sanidade de bovinos. Durante o estágio foi possível acompanhar: a rotina reprodutiva de três rebanhos, utilização de biotecnologias avançadas, manejo sanitário de controle de zoonoses, ministração de um curso de inseminação artificial, e duas intervenções cirúrgicas. Além disso este trabalho possui uma revisão de literatura sobre a utilização de prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) no tratamento de endometrite de vacas leiteiras. Concluiu-se que a disciplina PRG107 – Estágio Supervisionado é indispensável na formação profissional dos alunos de Medicina Veterinária.

Palavras-chave: Reprodução de Bovinos; Doenças Reprodutivas; Biotecnologia; Prostaglandina; Endometrite.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Fazenda visitadas via assistência técnica particular.	11
Figura 2 - Diagrama dos manejos reprodutivos realizados no último serviço da estação de monta do rebanho de corte acompanhado durante o estágio supervisionado.....	12
Figura 3 – Diagrama simplificado dos manejos reprodutivos dos rebanhos de leite acompanhados durante o estágio supervisionado.....	14
Figura 4 – Diagrama dos manejos hormonais do protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) utilizado nas fazendas.....	14
Figura 5 – Diagrama dos manejos reprodutivos realizados nas nulíparas das fazendas de leite.	15
Figura 6 – Ilustração dos serviços particulares prestados pela empresa Mais Embryo durante o estágio supervisionado.....	16
Figura 7 - Placa de vidro utilizado na leitura dos exames de brucelose através do teste de Antígeno Acidificado Tamponado.	16
Figura 8 – Diagrama dos manejos hormonais do protocolo de transferência de embrião em tempo fixo utilizado pela empresa Mais Embryo durante o estágio supervisionado.	18
Figura 9 – Imagens do curso de inseminação artificial realizado durante o estágio supervisionado.....	19
Figura 10 – Diagrama dos manejos reprodutivos realizados nos projetos do SEBRAE durante o estágio supervisionado.....	21
Figura 11 – Ilustração de alguns materiais utilizados nos projetos de TETF.....	22

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Fazendas visitadas via assistência técnica particular.....	11
Tabela 2 – Outros serviços particulares prestados pela empresa Mais Embryo durante o estágio supervisionado.....	15
Tabela 3 - Resumo dos projetos realizados durante o estágio supervisionado.....	20

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	LOCAL DO ESTÁGIO.....	10
3	DESCRIÇÃO DAS ATIVIDADES DESENVOLVIDAS.....	11
3.1	Outros serviços particulares	15
3.2	Cursos.....	18
3.3	Projetos de IATF E TETF	20
4	REVISÃO DE LITERATURA: UTILIZAÇÃO DE PROSTAGLANDINA $F_{2\alpha}$ EM CASOS DE ENDOMETRITE DE VACAS LEITEIRAS	22
4.1	Conclusão.....	26
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	26
	REFERÊNCIAS	27

1 INTRODUÇÃO

O Estágio Supervisionado, PRG107, é um componente curricular obrigatório para os discentes de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Lavras (UFLA), disponibilizado para os alunos no décimo módulo. A disciplina é composta por 476 horas.

408 horas atribuídas para a realização de atividades práticas em uma área escolhida pelo aluno, para que o conteúdo abordado durante o curso, seja vivenciado, e 68 horas são destinadas à elaboração do trabalho de conclusão de curso, onde o aluno descreve as atividades realizadas em uma abordagem científica, com o apoio do orientador. Assim é possível para a banca examinadora avaliar se o aluno é capaz de aliar ciência e prática.

O Brasil é um dos “players” mais importantes na pecuária mundial, 2º maior produtor de carne bovina e 3º maior produtor de leite integral de vaca (FAO, 2020). Entretanto não está entre os países mais eficientes na produção destes tipos de produtos. Por exemplo, quando se confrontam dados de produção por animal dos Estados Unidos com os números do Brasil, fica claro que o país ainda tem um longo caminho a percorrer em termos de eficiência. Atualmente a média brasileira é de 2.258 kg de leite por vaca/ano e 337 kg de carne por bovino abatido, enquanto que a média estadunidense é de 10.837 kg de leite por vaca ano e 370 kg de carne por bovino abatido (FAO, 2020). Por isso, necessita-se de profissionais qualificados que saibam aplicar as tecnologias disponíveis para que os produtores se tornem eficientes.

Durante o estágio, o discente descobriu a amplitude do mercado de trabalho na pecuária nacional. Através das assistências aos pecuaristas sul-mineiros foi possível inferir que as propriedades brasileiras são heterogêneas e que nem sempre a estratégia adotada em um rebanho, funcionará no outro. Além disso, o aluno observou que, atualmente, existe uma grande quantidade de informação técnica disponível, porém cabe ao profissional analisar a qualidade e a aplicabilidade do conteúdo. Por fim, o aluno teve a oportunidade de acompanhar a utilização de biotecnologias modernas que podem ser ferramentas para acelerar o progresso genético do rebanho brasileiro.

Sob a orientação do Prof. Dr. Hugo Shisei Toma e supervisão do M.V. Vitor Fernandes, o presente trabalho aborda o período de aprendizado prático vivenciado pelo aluno na área de reprodução de bovinos da empresa Mais Embryo, que atende principalmente a macrorregião sul do estado de Minas Gerais.

2 LOCAL DO ESTÁGIO

A Mais Embryo é uma empresa particular, brasileira, inscrita no CNPJ 29.033.288/0001-82. Tem sede localizada na Rua Coronel Francisco Moreira de Andrade, nº 41, Centro, na cidade de Perdões-MG. Foi criada em 2017, por dois médicos veterinários, Vitor Fernandes e Lucas Freire. Atualmente, a empresa possui um escritório (SEDE), com sala de reuniões e laboratório para exame de brucelose, e uma propriedade rural destinada a realização dos cursos e alojamento de algumas fêmeas bovinas doadoras de oócitos. Durante o estágio, a equipe era formada por quatro médicos veterinários e uma secretária. O intuito da empresa é prestar assistência técnica de qualidade de forma particular ou através de contrato com outras instituições públicas e privadas.

Os serviços prestados pela empresa são: Prestação de serviço particular em rebanhos bovinos de leite e de corte, oferta de cursos de inseminação artificial e diagnóstico de gestação, e participação em projetos de disseminação do uso de biotecnologias e melhoramento genético do rebanho nacional.

A empresa realiza visitas periódicas aos produtores, com objetivo de fazer o exame ginecológico das matrizes da fazenda, examinar os animais que apresentarem alterações clínicas, interpretar os índices reprodutivos e auxiliar o produtor nas decisões relacionadas ao manejo reprodutivo da fazenda. Além disso, a empresa também oferta serviços de transferência de embriões produzidos por produção *in vitro* (PIV), e exames de brucelose e tuberculose.

Até 2021, já foram ofertados mais de 50 cursos. A empresa conta com estrutura própria para realizá-los, incluindo: rebanho, troncos de contenção, alojamento e material didático. O curso de inseminação artificial é oferecido ao público em geral, na maioria dos casos são alunos de graduação interessados na bovinocultura, funcionários de propriedade rural, e produtores que ainda não dominam a técnica. Já os cursos de diagnóstico de gestação por palpação retal, diagnóstico de gestação por ultrassonografia, e utilização eficiente de hormônios em gado de leite e corte, são exclusivos para estudantes e profissionais de Medicina Veterinária.

Até o período do estágio, a Mais Embryo estava vinculada à dois projetos de prestação de serviço para outras empresas. Um de IATF e outro de PIV, com a instituição SEBRAE/MG, chamado “SEBRAEtec FIV” e “SEBRAEtec IATF”. Os programas do SEBRAE/MG correspondem à uma parceria desta instituição com o governo estadual, onde é

estabelecido um custo fixo por inseminação ou embrião implantado, o produtor tem subsídio de até 70% do custo do serviço prestado, e garantia de 20% de desempenho.

3 DESCRIÇÃO DAS ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

O estágio foi realizado no período de 19 de julho de 2021 a 01 de novembro de 2021, de segunda a sexta-feira, totalizando 467 horas práticas onde foi possível acompanhar a rotina de quatro médicos veterinários que compunham a equipe técnica da empresa.

Foram 30 assistências técnicas particulares semanais em duas fazendas, nas cidades de Campo Belo, Cristais e uma assistência técnica no final da estação de monta em Luminárias, todas cidades Sul-Mineiras. As propriedades produziam 6000 e 6250 litros de leite por dia e a propriedade destinada a produção de bovinos de corte, contava com 350 matrizes aptas à reprodução (Tabela 1 e Figura 1).

Tabela 1 – Fazendas visitadas via assistência técnica particular.

Fazenda	Produção de leite (litros/dia)	Vacas em lactação ou em estação	Produção média		Modelo de instalação
			Litros/vaca/dia	Bezerros/ano	
A	6000	200	30,0	-	Free-stall
B	6250	180	34,7	-	Compost-barn
C	-	350	-	245	Pastejo extensivo

Legenda: A: Fazenda Vale do São João – Campo Belo/MG; B: Fazenda Capão Redondo – Cristais/MG; C: Fazenda Colina – Luminárias/MG. Fonte: Do autor (2021).

Figura 1- Fazenda visitadas via assistência técnica particular.



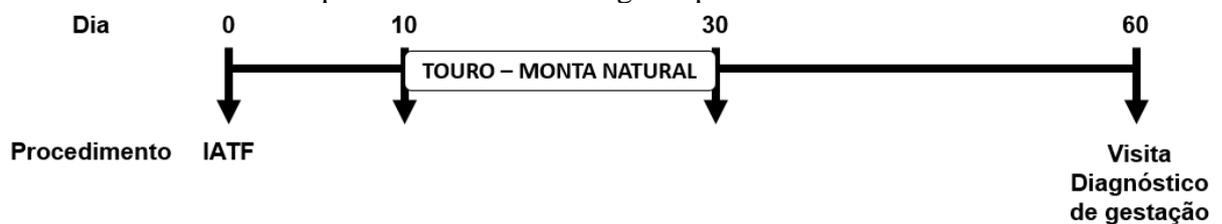
Legenda: A: Fazenda Vale do São João – Campo Belo/MG; B: Fazenda Capão Redondo – Cristais/MG; C: Fazenda Colina – Luminárias/MG. Fonte: Do autor (2021).

Na propriedade de produção de animais de corte, foi acompanhado somente a última visita da estação de monta referente ao ano de 2020. O objetivo da visita foi a identificação das matrizes gestantes através de monta natural, protocolo de inseminação artificial em tempo

fixo (IATF), ou não gestantes. As matrizes foram inseminadas 60 dias antes da visita e 10 dias após a data da IATF foi orientado que o produtor adicionasse um touro entre as vacas e 30 dias antes da visita que ele removesse o touro dentre as matrizes, desta forma foi possível ao veterinário identificar a origem da gestação. Não foi realizado exame andrológico no touro que foi introduzido no rebanho e a proporção matriz: reprodutor foi de 1:50.

Para o diagnóstico de gestação foi utilizado aparelho de imagem ultrassonográfica, e as imagens que correspondiam a gestações de 60 dias foram atribuídas à IATF e as imagens que correspondiam a gestações entre 30 e 50 dias foram atribuídas à monta natural (Figura 2).

Figura 2 - Diagrama dos manejos reprodutivos realizados no último serviço da estação de monta do rebanho de corte acompanhado durante o estágio supervisionado.



Fonte: Do autor (2021).

Nas fazendas produtoras de leite, foi realizado exame ginecológico das matrizes. Além da utilização de ultrassonografia utilizou-se um dispositivo composto por uma haste metálica que em uma extremidade possui um copo oval de borracha, e na outra extremidade uma manopla para manuseio, chamado *Metrichheck®* (Simcro, Hamilton, Nova Zelândia). Este dispositivo foi introduzido na vagina dos animais para coleta e avaliação do conteúdo vaginal.

As vacas, eram examinadas pelo menos seis vezes durante a lactação. O primeiro exame era feito entre 4 e 10 dias em lactação (DEL) através de palpação transretal a fim de verificar a involução uterina e a presença de animais com metrite, caracterizado como volume uterino anormal, descarga aquosa, vermelho-amarronzada e fétida (SHELDON et al., 2006). Os animais diagnosticados com metrite eram tratados com cloridrato de ceftiofur, na dose de 2.2 mg/kg de peso vivo, por 5 dias consecutivos (CHENAULT et al., 2004).

Além disso, também era feita coleta, por punção, sangue da veia ou artéria coccígea mediana e utilizou-se um glicômetro eletrônico capaz de mensurar a concentração de corpos cetônicos sanguíneos, para mensurar a quantidade de corpos cetônicos e identificar os casos de cetose subclínica. Segundo McArt et al. (2012), o período entre o terceiro e o nono dia de

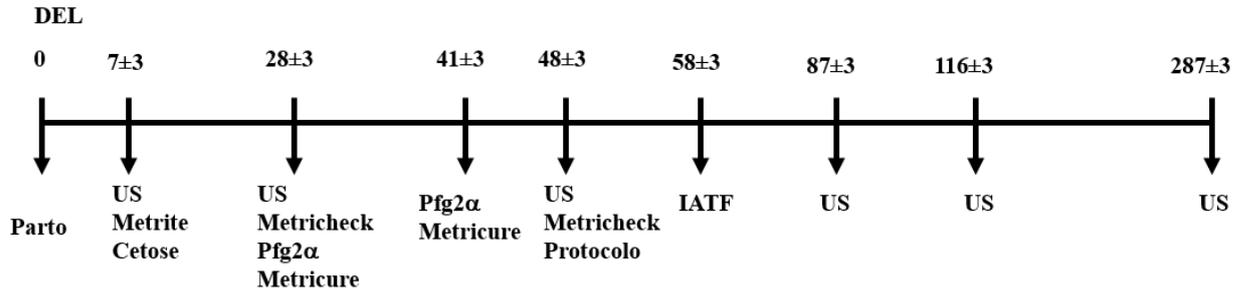
lactação, representam o melhor momento para identificar este distúrbio metabólico, pela maior incidência dos casos. Os exames que apresentavam concentração de β -hidroxibutirato (BHBA) maior que 1.2 mM/L eram definidos como cetose. As vacas diagnosticadas com cetose receberam 300 ml de propileno glicol via oral, diariamente, até apresentarem BHBA menor que 1.2 mM/L (MCART et al., 2011).

O segundo exame era feito entre 25 e 31 de DEL, através de ultrassonografia transretal e com o auxílio do Metrichcek® com o intuito de identificar os casos de endometrite, definido com descarga uterina purulenta após 21 dias de DEL (SHELDON et al., 2006). As vacas diagnosticadas com endometrite recebiam duas injeções de PGF_{2 α} (25 mg de Cloprostenol sódico), uma no momento do diagnóstico e outra 14 dias após a primeira injeção (LIMA et al., 2013), e antibioticoterapia através de duas infusões uterinas de 500 mg de cefapirina bezatina (Metricure®, MSD, Saúde Animal), na mesma frequência da PGF_{2 α} .

O terceiro exame era feito entre 45 e 51 dias de DEL para verificar a resolução dos casos de endometrite e iniciar o protocolo de IATF. O primeiro serviço de todas as vacas era feito através de IATF, a fim de padronizar o período voluntário de espera entre 55 e 61 de DEL. Com isso é possível reduzir o intervalo entre partos, e conseqüentemente uma maior proporção do rebanho fica perto dos estágios iniciais da lactação, onde a produção de leite é maior, diluindo o custo de manutenção e aumentando a rentabilidade do rebanho como demonstrado por Ribeiro et al., 2018).

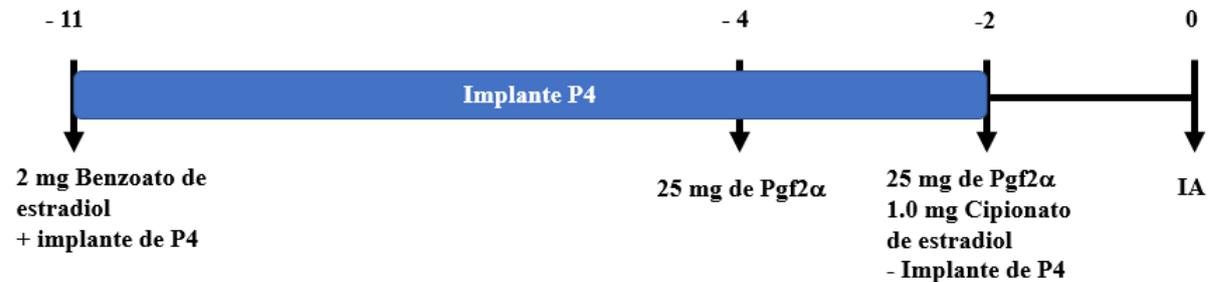
Os demais exames ginecológicos eram para identificar se a vaca ficou gestante, por volta dos 30 a 37 dias de inseminada, identificar perdas gestacionais entre 60 e 67 dias de gestação, e confirmar a gestação nas matrizes próximas de encerrar voluntariamente a lactação, entre 230 e 237 dias de gestação. O esquema dos manejos reprodutivos está ilustrado na Figura 3.

Figura 3 – Diagrama simplificado dos manejos reprodutivos dos rebanhos de leite acompanhados durante o estágio supervisionado.



Legenda: US: Exame ginecológico com ultrassom; Metrichack: Exame complementar; PGF_{2α}: Aplicação (i.m.) de 25 mg de cloprostenol sódico; Metricure: Infusão uterina de 500 mg de cefapirina benzatina; Protocolo: Início do protocolo para inseminação artificial em tempo fixo; IATF: Dia da inseminação artificial. Fonte: Do autor (2021).

Figura 4 – Diagrama dos manejos hormonais do protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) utilizado nas fazendas.



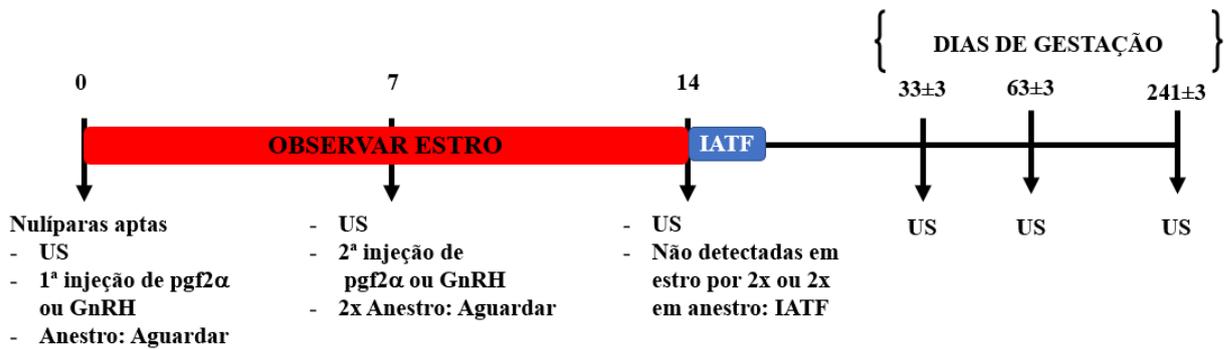
Legenda: (+) inserção do implante; (-) remoção do implante. Fonte: Do autor (2021).

As vacas identificadas como não gestantes nos diagnósticos de gestação, bem como as vacas que receberam o primeiro serviço de inseminação artificial, era submetidas ao mesmo protocolo de IATF (Figura 4). O protocolo era iniciado no dia da visita do médico veterinário (d -11) com a inserção de um implante intravaginal de progesterona (P4) + 2 mg (i.m.) de benzoato de estradiol, 25 mg (i.m.) de PGF_{2α} no dia -4, 25 mg (i.m.) de PGF_{2α} + 1.0 mg (i.m.) de cipionato de estradiol e remoção do implante de P4 no dia -2, e Inseminação no dia 0 (PEREIRA et al., 2015).

Outra atividade realizada nas propriedades foi o exame ginecológico das nulíparas aptas a serem incluídas na rotina reprodutiva. As nulíparas com idade superior a 13 meses e 55% do peso adulto do rebanho (peso adulto 650kg), foram consideradas aptas (ETTEMA e SANTOS, 2004). Então, elas eram palpadas via transretal, para identificar a atividade ovariana. Nulíparas que apresentavam corpo lúteo (CL), receberam 25 mg (i.m.) de PGF_{2α}, com o intuito de causar luteólise e iniciar uma nova onda folicular, e aquelas que apresentavam folículos (FOL) recebiam GnRH, com o objetivo de induzir a ovulação dos folículos dominantes ou regressão dos folículos terciários e assim iniciar uma nova onda folicular

(ISLAM, 2011; PURSLEY et al., 1995). Em seguida eram observadas por sete dias em relação a manifestação estral e inseminadas 12 horas após identificadas em estro. As matrizes que não apresentavam atividade estral ou não foram identificadas, foram palpadas novamente e seguindo o mesmo padrão recebiam $PGF_{2\alpha}$, ou GnRH. As nulíparas que não possuíam CL ou FOL até a segunda tentativa e aquelas que não foram identificadas em estro nas duas tentativas eram incluídas em um protocolo de IATF. O diagnóstico de gestação seguiu o mesmo padrão das múltiparas (Figura 5).

Figura 5 – Diagrama dos manejos reprodutivos realizados nas nulíparas das fazendas de leite.



Fonte: Do autor (2021).

3.1 Outros serviços particulares

Além das fazendas assistidas semanalmente, durante o estágio foram realizados exames de brucelose e tuberculose, vacinação contra brucelose nas fêmeas bovinas entre três a oito meses de idade, orquiectomia bilateral de bovinos de 8 meses de idade, e transferências de embrião (Figura 6). Ao todo foram 601 exames de brucelose e tuberculose, 109 animais vacinados, 2 cirurgias de orquiectomia e 30 embriões transferidos (Tabela 2).

Tabela 2 – Outros serviços particulares prestados pela empresa Mais Embryo durante o estágio supervisionado.

Número de Fazendas	Serviço Prestado	Número de Animais	Exames Negativos
4	Exame Brucelose e Tuberculose	601	601
5	Vacina de brucelose	109	-
1	Orquiectomia bilateral	2	-
3	TETF	30	-

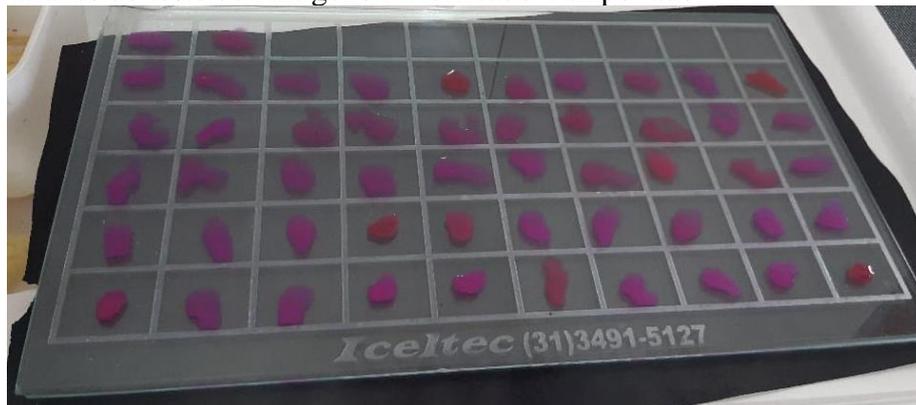
Fonte: Do autor (2021).

Figura 6 – Ilustração dos serviços particulares prestados pela empresa Mais Embryo durante o estágio supervisionado.



Legenda: A. Coleta de sangue para exame de brucelose; B. Marcação no lado esquerdo da face após vacinação de brucelose; C. Cirurgia de orquiectomia realizado na fazenda; D. Material para realizar exame de tuberculose. Fonte: Do autor (2021).

Figura 7 - Placa de vidro utilizada na leitura dos exames de brucelose através do teste de Antígeno Acidificado Tamponado.



Fonte: Do autor (2021).

No exame de brucelose, foi coletado sangue, por punção, da veia ou artéria coccígea mediana, utilizando seringas e agulhas descartáveis. As amostras de sangue eram então transferidas para tubos esterilizados de vidro e levadas ao laboratório da empresa para fazer leitura (Figura 7). O exame de tuberculose foi feito através do Teste Cervical Comparativo. Os locais da inoculação foram demarcados por tricotomia à uma distância aproximada de 20

cm. Inoculou-se 0.1 ml de tuberculina bovina e aviária, e 72 horas depois foi realizada a leitura. Nenhuma das amostras testaram positivo, tanto para brucelose, quanto para tuberculose.

As cirurgias de orquiectomia foram feitas na mesma propriedade, seguindo a técnica de orquiectomia bilateral. Foi realizada anestesia local com 100 mg de cloridrato de lidocaína, o saco escrotal foi segurado com uma mão e uma incisão horizontal feita através da pele e fáscia na parte mais interna. Todo segmento distal do escroto foi seccionado e a túnica vaginal comum foi preservada. A pele e a fáscia foram empurrados para expor os funículos espermáticos e foi realizada a ligadura com fio absorvível, a ferida foi deixada aberta para cura por segunda intenção (HENDRICKSON DA, 2013). Ao redor da ferida foi utilizado aerossol contendo sulfadiazina prata, alumínio, diclorvós e cipermetrina, como forma preventiva de miíase. Ao término da cirurgia foi receitado a administração (i.m.) de 10 ml de cetoprofeno 10%, por três dias.

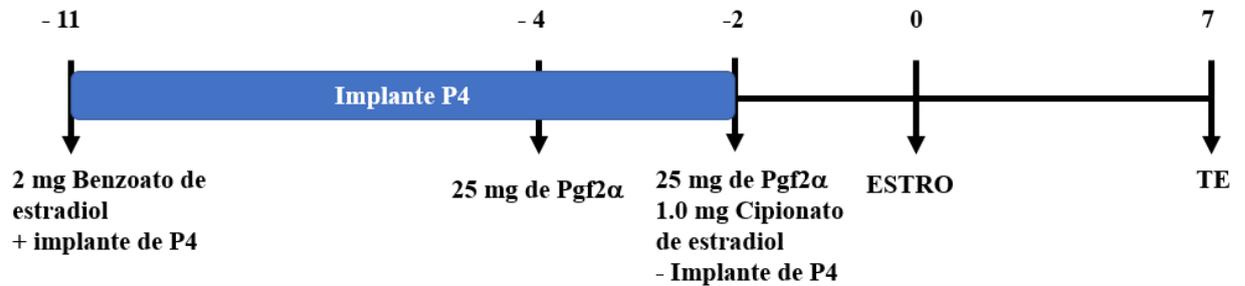
A empresa também prestou alguns serviços de transferência de embrião. A Mais Embryo não produziu os embriões, ela contratou a empresa Reproduza Consultoria e Biotecnologia, CNPJ: 14.566.857/0001-88, sediada em Oliveira-MG, especializada na coleta, fertilização e cultivo dos oócitos. A Reproduza entregava blastocistos frescos para serem transferidos.

Os veterinários foram nas fazendas que compraram os embriões e fizeram a avaliação das prováveis receptoras. Foi observado se a fêmea estava em condição corporal adequada, seguindo uma escala de 1 à 5 (WILDMAN et al., 1982), e era feito o exame ginecológico para avaliar se não estavam gestantes e a ciclicidade ovariana. Preferencialmente, eram selecionados animais que apresentavam corpo lúteo ou folículos grandes, quando possível, de 10 a 20% a mais de receptoras em relação ao número de embriões solicitados. Então, os animais selecionados foram submetidos a um protocolo de transferência de embrião em tempo fixo (TETF).

O protocolo seguiu as mesmas aplicações hormonais do protocolo de IATF descrito na figura 3, porém os blastocistos só foram transferidos nas receptoras que apresentaram corpo lúteo no dia 7 (Figura 8). Os embriões foram transferidos na fase de blastocisto pois a próxima fase, alongação, é dependente do ambiente uterino e das glândulas uterinas, *in vivo* (BRANDAO et al., 2004; GRAY et al., 2002). Além disso, os blastocistos foram depositados no corno uterino ipsilateral ao corpo lúteo. Foi demonstrado por Christie et al., 1979, que a incidência de perda embrionária é maior em blastocistos transferidos contralateralmente ao

corpo lúteo. O diagnóstico de gestação, bem como a sexagem fetal, também estavam inclusos nestes serviços.

Figura 8 – Diagrama dos manejos hormonais do protocolo de transferência de embrião em tempo fixo utilizado pela empresa Mais Embryo durante o estágio supervisionado.



Legenda: TE: dia previsto para transferência do embrião. Fonte: Do autor (2021).

3.2 Cursos

Durante o período do estágio foi realizado um curso de inseminação artificial do dia 26 de agosto de 2021 ao dia 29 de agosto de 2021, com carga horária total de 20 horas. Foram dez participantes ao todo, cinco estudantes universitários, três funcionários de propriedades rurais e dois filhos de fazendeiros. Foi disponibilizado para os alunos: alojamento, alimentação, material didático, 12 aparelhos reprodutivos adquiridos em frigorífico, e 20 vacas que foram adquiridas pela empresa exclusivamente para os cursos de inseminação. Os instrutores são os próprios veterinários da equipe (Figura 9).

Figura 9 – Imagens do curso de inseminação artificial realizado durante o estágio supervisionado.



Legenda: A. Prática com o material de inseminação; B. Prática com modelo de aplicador objetivo era passar os anéis da cérvix. Fonte: Do autor (2021).

O primeiro dia foi dedicado exclusivamente ao conteúdo teórico, como anatomia do aparelho reprodutivo da fêmea bovina, localização, estruturas importantes a serem consideradas durante o momento da inseminação, como identificar animais em estro, o momento correto de inseminar o animal, material necessário para aplicar a técnica, cuidados com o material, como manusear e preparar a palheta de sêmen e as vantagens e desvantagens da técnica.

O segundo dia foi dividido em duas etapas. A primeira foi sobre a parte prática de manuseio de todo material utilizado na inseminação. E na segunda, foram disponibilizados aparelhos reprodutivos, para ajudar os participantes a se familiarizarem onde está localizada a cérvix, o fórnix, e treinar como transpassar os anéis da cérvix.

No terceiro e quarto dia, os alunos foram considerados aptos a aplicar os conhecimentos adquiridos, nas vacas disponíveis para o curso. Durante esta etapa os participantes receberam uma ferramenta similar a um aplicador de sêmen e tentaram passar pelos anéis da cérvix. Foram orientados que solicitassem aos organizadores do curso para checar todas as vezes que tivessem êxito e em caso de dificuldade. E ao final do quarto dia foi aplicado um exame teórico-prático sobre todo conteúdo abordado.

3.3 Projetos de IATF E TETF

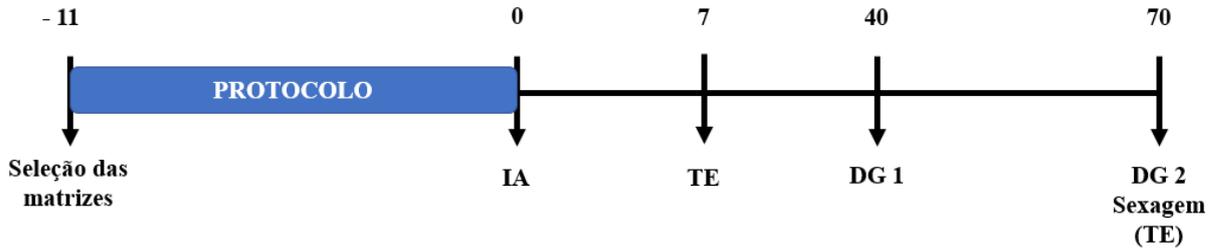
Ambos projetos seguiram o mesmo modelo. A fazenda precisou de um laudo veterinário atestando que os animais que seriam inseminados ou que receberiam um embrião, não estavam gestantes e que a propriedade possuía instalações adequadas para realização dos procedimentos. Em seguida, a empresa parceira do SEBRAE, no caso a Mais Embryo, visitava a fazenda para fazer todos os manejos hormonais dos protocolos de IATF ou TETF, fazer a inseminação ou transferência do embrião e fazer os diagnósticos gestacionais. No caso dos projetos de IATF, foi realizado somente um diagnóstico de gestação com 40 dias, porém, nos projetos de TETF o SEBRAE exigiu dois diagnósticos, com 40 dias e com 70 dias para fazer a sexagem fetal (Figura 10). O SEBRAE garantiu ao produtor ao menos 20% de resultado e relação ao serviço contratado, caso o resultado não fosse alcançado no primeiro serviço, a empresa parceira do SEBRAE era obrigada a arcar com as despesas até conseguir o resultado garantido. Durante o estágio, foram acompanhados 243 IATF e 105 TETF (Tabela 3).

Tabela 3 - Resumo dos projetos realizados durante o estágio supervisionado.

Ordem de Projeto	Serviço Prestado	Número de Animais	Número de Gestantes^c	Taxa de Concepção^b
A	IATF	120	45	0,38
B		20	6	0,30
C		25	9	0,36
D		30	12	0,40
E		30	11	0,37
F		18	10	0,56
Total		243	93	0,38
G	TETF	30	8	0,27
H		30	6	0,20
I		30	8	0,27
J^a		15	1	0,07^a
Total			105	23

Legenda: ^a: projeto que precisou ser repetido por não alcançar o índice mínimo; ^b: calculado através de número de gestantes/número de animais; ^c: valor do último diagnóstico de gestação. Fonte: Do autor (2021).

Figura 10 – Diagrama dos manejos reprodutivos realizados nos projetos do SEBRAE durante o estágio supervisionado.



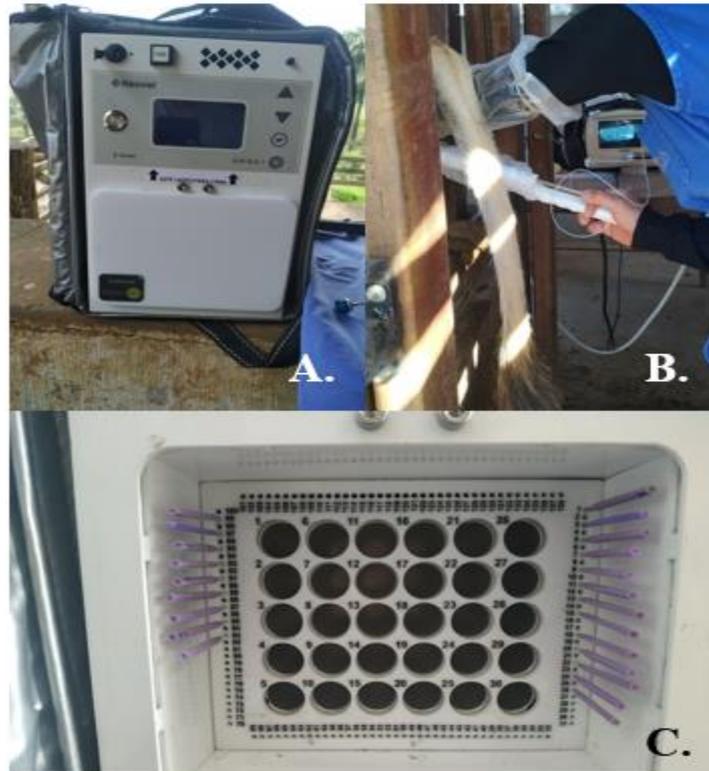
Legenda: Protocolo: foi o mesmo para ambos projetos; IA: Dia da inseminação artificial nos projetos de IATF; TE: dia da transferência de embrião nos projetos de TETF; DG 1: dia do primeiro diagnóstico de gestação (o mesmo para os dois projetos); DG 2: dia da sexagem fetal, somente para os projetos de TETF. Fonte: Do autor (2021).

Nos projetos de IATF o protocolo hormonal utilizado seguiu o mesmo padrão do protocolo utilizado nos serviços particulares (figura 4). No 40º dia após a inseminação foi realizado o diagnóstico de gestação com auxílio do ultrassom. Em nenhum projeto de IATF teve resultado abaixo de 30%. A decisão de qual sêmen seria utilizado, foi feita pelo produtor, sob orientação do veterinário da Mais Embryo, baseado em uma lista de touros de centrais idôneas, cadastradas no MAPA, disponibilizada pela Mais Embryo.

A Mais Embryo não produziu os embriões dos projetos de TETF. Os embriões foram produzidos pela mesma empresa que produziu os embriões de serviços particulares. Os oócitos foram aspirados de vacas registradas, genotipadas e com pelo menos um controle leiteiro oficial da ABCZ, nos embriões com propósito de produção de leite. As doadoras pertenciam a produtores parceiros da empresa que realizou a PIV. As doses de sêmen utilizadas eram todas sexadas. Duas propriedades, durante o estágio, tinham rebanho de corte, e escolheram aspirar os oócitos de fêmeas do próprio plantel. Mas, assim como nos outros projetos, o SEBRAE exigiu, registro e genotipagem destes animais.

O protocolo de TETF seguiu o mesmo modelo utilizado nos serviços particulares. No 33º após a transferência, que correspondeu ao 40º dia de idade embrionária, foi realizado o primeiro diagnóstico de gestação e no 63º dia foi feita a sexagem fetal, este procedimento era exigido pelo SEBRAE, uma vez que o sêmen era sexado. Apenas um projeto teve resultado inferior a 20%, porém foi necessário apenas mais um serviço para alcançar o índice necessário (Figura 10).

Figura 11 – Ilustração de alguns materiais utilizados nos projetos de TETF.



Legenda: A. Caixa isotérmica transportadora de embriões; B. Técnico da Reproduza coletando oocitos na fazenda da Mais Embryo (não era para o projeto); C. Caixa transportadora aberta com paletas contendo blastocistos. Fonte: Do autor (2021).

4 REVISÃO DE LITERATURA: UTILIZAÇÃO DE PROSTAGLANDINA $F_{2\alpha}$ EM CASOS DE ENDOMETRITE DE VACAS LEITEIRAS

Doenças uterinas afetam metade das vacas leiteiras após o parto levando a complicações da função ovariana e uterina, o qual frequentemente prejudica a fertilidade, aumenta a taxa de descarte, e contribui com perdas econômicas notáveis (SHELDON et al., 2009). Elas são frequentemente classificadas de acordo com a apresentação clínica e definidas baseado nos impactos na taxa de concepção (gestantes/serviços) ou dias em aberto (SHELDON et al., 2006).

Retenção de membranas fetais, metrite e endometrite são as principais doenças uterinas que acometem as vacas leiteiras após o parto. A retenção de placenta é caracterizada pela falha na expulsão das membranas fetais nas primeiras 36 horas após o parto, mas que normalmente se resolve dentro de 6 a 10 dias com a liberação de uma massa pútrida (PETER,

A. T., 2021). Além disso, a retenção das membranas fetais é um importante fator de risco para o desenvolvimento de endometrite (SHELDON, I. M., 2018).

A metrite, patologia comum nos 10 primeiros dias após o parto, é caracterizada pelo volume uterino anormal, onde há presença de fluido aquoso vermelho-amarronzado à esbranquiçado viscoso, no qual frequentemente possui odor fétido. A severidade da metrite depende de outros sinais clínicos, variando de quadro brando até toxemia (SHELDON, I. M., 2018).

Especificamente, a endometrite clínica é definida como presença de inflamação visível no aparelho reprodutivo que tipicamente contém pus e persiste após 21 dias após o parto (LEBLANC et al., 2002A; SHELDON et al., 2006). O sinal clínico de presença de pus na descarga vaginal, que era considerado como endometrite clínica, foi reclassificado em descarga vaginal purulenta (PVD, sigla em inglês para purulent vaginal discharge) por que grande parte das vacas não apresentaram, concomitantemente, infiltração de neutrófilos no endométrio (DUBUC et al., 2010). Além disso, foi demonstrado por Gilbert et al., 2005 e Galvão et al., 2009, que uma grande proporção das vacas diagnosticadas sem sinais clínicos de doença uterina, mas com concentração de leucócitos polimorfonucleares (PMNL, sigla em inglês para polymorphonuclear leukocytes) a cima de 5% na citologia endometrial, tiveram taxa concepção reduzida e intervalo entre parto e concepção estendidos.

As técnicas mais difundidas para o diagnóstico de endometrite subclínica baseiam-se na citologia endometrial e observação visual do conteúdo uterino. As técnicas de citologia endometrial mais comuns são o método-cytobrush (KASIMANICKAM et al., 2004) e a técnica de lavagem uterina de baixo volume (CHEONG et al., 2011). O método cytobrush foi modificado por Kasimanickam et al., (2004) a partir de uma técnica utilizada em humanos para detecção de câncer de colo do útero. A escova utiliza na técnica foi presa em uma haste metálica protegida por um cateter, similar ao equipamento utilizado na inseminação artificial. Este equipamento é introduzido no útero, através da cérvix e a escova é empurrada para fora do cateter e girada gentilmente no endométrio. Após a remoção do equipamento do aparelho reprodutivo, a escova é rolada em uma lâmina de microscópio, fixada e colorida com reagente Papanicolau. Uma modificação da técnica de coleta, chamada cytotape, foi apresentada em 2015 por Pascottini et al. Esta técnica utiliza uma fita adesiva, ao invés de uma escova, para coletar esfregaços do endométrio.

Na técnica de lavagem uterina de baixo volume, 20 ml de solução salina é infundida no útero com um cateter, o útero é gentilmente massageado por palpação transretal por alguns segundos e uma parte do fluido é aspirado com uma seringa pelo mesmo cateter. O fluido é

centrifugado e o conteúdo celular é colocado em lâmina de microscópio, fixadas e coloridas para avaliação no microscópio (CHEONG et al., 2011). O diagnóstico das duas técnicas é baseado na contagem de PMNL.

Em geral, assume-se que a endometrite clínica possui vários fatores de risco que estão associados com a endometrite subclínica (WAGENER et al., 2017). Um estudo conduzido por Cheong et al., (2011), analisou informações de 38 fazendas no estado de Nova Iorque, Estados Unidos da América, e identificou que metrite aguda, cetose e alta produção de leite na primeira lactação foram os principais fatores de risco para endometrite subclínica à nível de animal, e o alojamento dos animais no pós parto imediato e o material utilizado na cama, foram os fatores, a nível de rebanho, que afetaram a incidência de endometrite subclínica.

Os distúrbios metabólicos também contribuem para a prevalência de endometrite subclínica, particularmente o balanço energético negativo (BEN), o qual interfere em uma resposta imune eficaz (WAGENER et al., 2017). A concentração de ácidos graxos não esterificados (AGNE) e ácido beta-hidroxibutirato (ABHB) são os principais biomarcadores de BEN. Alguns autores sugeriram que o aumento de AGNE e ABHB no pós parto aumentam o risco para endometrite subclínica (HEIDARPOUR et al., 2012; RIBEIRO et al., 2013; GALVÃO et al., 2010). Além disso, segundo Pascottini e LeBlanc (2020), observaram que o padrão de IGF-1 e colesterol, também marcadores de NEB, foi alterado na segunda semana após o parto dos animais que desenvolveram endometrite subclínica posteriormente, mostrando que futuras investigações deveriam ser feitas para explorar qual é a relação entre metabolismo e a inflamação metabólica precedente ao diagnóstico das doenças reprodutivas.

A pesquisa sobre terapias alternativas no tratamento de doenças uterinas tem motivado muitos pesquisadores, principalmente após o alerta sobre uma possível ameaça mundial de resistência antimicrobiana feito pela Organização Mundial da Saúde (WHO, 2017). Algumas alternativas estudadas nos últimos anos são, por exemplo, micropartículas de quitosana, óleos essenciais, manose, bacteriófagos, dextrose e probióticos, com objetivo de reduzir a presença e a proliferação bacteriana. Além de moléculas capazes de promover imunomodulação uterina, como, pegbovigrastim, interleucina-8 recombinante bovina, parafina e vacinas (LIMA, 2020). Porém, neste estudo o autor afirma que mais estudos precisam ser feitos para confirmar a efetividade das moléculas promissoras.

A cefapirina benzatina (i.u.) é um dos antibióticos mais utilizados no tratamento de endometrite subclínica. A infusão uterina de 500 mg de cefapirina benzatina mostrou-se eficaz em reduzir o intervalo entre parto até a concepção nas vacas com PVD (LEBLANC et al.,

2002) e aumentou a gestação no primeiro serviço nas vacas com endometrite subclínica (KASIMANICKAM et al., 2005). Entretanto, nestes estudos as vacas não foram submetidas à protocolos de sincronização de estro no primeiro serviço. Quando vacas foram submetidas à um programa de sincronização para o primeiro serviço, o uso de antibioticoterapia intrauterina não melhorou a taxa de concepção das vacas (GALVÃO et al., 2009).

Um outro tratamento alternativo à antibioticoterapia, clássico, é o uso de $\text{PGF}_{2\alpha}$, em uma tentativa de induzir o estro, fase onde ocorre abertura da cérvix e contração do miométrio, promovendo eliminação mecânica do conteúdo bacteriano (KASIMANICKAM et al., 2005). O uso de $\text{PGF}_{2\alpha}$ em vacas durante o diestro resulta em luteólise e induz o animal a retornar ao estro (LIMA et al., 2013). Lewis, 2004, sugeriu que a progesterona, principal hormônio produzido pelo corpo lúteo, tem efeitos imunossupressores e que uma forma de amenizar este efeito seria utilizar $\text{PGF}_{2\alpha}$, para causar luteólise, diminuindo, conseqüentemente, os níveis de progesterona e promovendo a imunidade uterina.

Em muitos estudos que avaliaram o uso de $\text{PGF}_{2\alpha}$ no tratamento de doenças uterinas e os impactos subsequentes na fertilidade, a anamnese uterina não foi realizada após o tratamento para justificar se o efeito do aumento na taxa de concepção foi uma consequência da redução dos casos de endometrite (LEBLANC et al., 2002; KASIMANICKAM et al., 2005). Quando a saúde uterina foi avaliada após o tratamento com $\text{PGF}_{2\alpha}$, a taxa de concepção aumentou, mas não houve redução na prevalência de endometrite subclínica (GALVÃO et al., 2009).

Em um estudo conduzido por Lima et al (2013) investigou a eficácia do uso de um ou dois tratamentos com $\text{PGF}_{2\alpha}$ na prevalência de endometrite subclínica e taxa de concepção de vacas leiteiras submetidas a um protocolo de sincronização de estro no primeiro. Os tratamentos com uma ou duas injeções não foi capaz de promover a saúde uterina ou a fertilidade de vacas leiteiras. Mostrando que nos estudos anteriores os resultados positivos da utilização de $\text{PGF}_{2\alpha}$ poder ter sido atribuído as variáveis que não foram controladas nos experimentos. Recentemente, em uma atualização de uma meta análise feita por Haimerl et al., 2018 sobre a terapia com $\text{PGF}_{2\alpha}$ sobre a endometrite, os autores concluíram que baseado nos estudos incluídos, o tratamento de endometrite com $\text{PGF}_{2\alpha}$ não foi capaz de melhorar o desempenho reprodutivo dos animais, e não recomendam a utilização deste hormônio para o tratamento de endometrite.

4.1 Conclusão

Apesar do tratamento com PGF_{2α} ser amplamente difundido entre os veterinários e as propriedades leiteiras, a revisão de literatura realizada pelo discente mostrou que não existem dados suficientes que suportem o uso deste hormônio. Entretanto, o assunto ainda deve ser investigado.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estágio supervisionado obrigatório possibilitou observar que o manejo reprodutivo vai muito além do diagnóstico de gestação. O bom manejo reprodutivo possibilita aumentar a produtividade e a rentabilidade dos rebanhos, que é fundamental para que o produtor permaneça na atividade. Além disso, como a empresa trabalha com diferentes ferramentas de biotecnologia, foi possível observar a aplicabilidade de cada uma delas em propriedades de diferentes níveis de produção. Finalmente, o estágio foi além da área de reprodução, houveram atividades ligadas a cirurgia, sanidade e relações interpessoais tanto entre os colegas de trabalho quando com os produtores.

REFERÊNCIAS

- BRANDAO, Daniela O. et al. Post hatching development: a novel system for extended in vitro culture of bovine embryos. **Biology of Reproduction**, v. 71, n. 6, p. 2048-2055, 2004.
- CHENAULT, John R. et al. Efficacy of ceftiofur hydrochloride sterile suspension administered parenterally for the treatment of acute postpartum metritis in dairy cows. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 224, n. 10, p. 1634-1639, 2004.
- CHEONG, S. H., NYDAM, D. V., GALVÃO, K. N., CROSIER, B. M., & GILBERT, R. O. (2011). Cow-level and herd-level risk factors for subclinical endometritis in lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, 94(2), 762-770.
- CHRISTIE, W. B.; NEWCOMB, R.; ROWSON, L. E. A. Embryo survival in heifers after transfer of an egg to the uterine horn contralateral to the corpus luteum and the effect of treatments with progesterone or hCG on pregnancy rates. **Reproduction**, v. 56, n. 2, p. 701-706, 1979.
- definition, diagnosis and pathomechanism of subclinical endometritis in dairy cows, **Theriogenology** (2017), doi: 10.1016/j.theriogenology.2017.02.005.
- DUBUC, J. et al. Definitions and diagnosis of postpartum endometritis in dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 93, n. 11, p. 5225-5233, 2010.
- ETTEMA, J. F.; SANTOS, J. E. P. Impact of age at calving on lactation, reproduction, health, and income in first-parity Holsteins on commercial farms. **Journal of dairy science**, v. 87, n. 8, p. 2730-2742, 2004.
- FAO, 2020. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL> acessado dia 19/01/2022. Acesso em: 19 jan. 2022.
- FAO, 2020. Disponível em: https://www.fao.org/faostat/en/#rankings/countries_by_commodity. Acesso em: 19 jan. 2022.
- GALVÃO KN, FLAMINIO MJ, BRITTIN SB, SPER R, FRAGA M, CAIXETA L, RICCI A, GUARD CL, BUTLER WR, GILBERT RO. Association between uterine disease and indicators of neutrophil and systemic energy status in lactating Holstein cows. **Journal Dairy Science** 2010;93: 2926-37.
- GALVÃO, K. N. et al. Effect of prostaglandin F2 α on subclinical endometritis and fertility in dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 92, n. 10, p. 4906-4913, 2009.
- GILBERT, Robert O. et al. Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. **Theriogenology**, v. 64, n. 9, p. 1879-1888, 2005.
- GRAY, C. A. et al. Evidence that absence of endometrial gland secretions in uterine gland knockout ewes compromises conceptus survival and elongation. **REPRODUCTION-CAMBRIDGE-**, v. 124, n. 2, p. 289-300, 2002.
- HEIDARPOUR M, MOHRI M, FALLAH-RAD AH, DEGHAN SHAHREZA F, MOHAMMADI M. Acute-phase protein concentration and metabolic status affect the outcome of treatment in cows with clinical and subclinical endometritis. **Vet Rec** 2012;171: 219.
- HENDRICKSON DA, EDITOR. **Techniques in large animal surgery**. John Wiley & Sons; 13 de Maio 2013.
- ISLAM, R. Synchronization of estrus in cattle: a review. **Veterinary World**, v. 4, n. 3, 2011.

- KASIMANICKAM R, DUFFIELD TF, FOSTER RA, GARTLEY CJ, LESLIE KE, WALTON JS, JOHNSON WH. Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. **Theriogenology** 2004;62: 9-23.
- KASIMANICKAM, R. et al. The effect of a single administration of cephalixin or cloprostenol on the reproductive performance of dairy cows with subclinical endometritis. **Theriogenology**, v. 63, n. 3, p. 818-830, 2005.
- LEBLANC, S. J. et al. The effect of treatment of clinical endometritis on reproductive performance in dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 85, n. 9, p. 2237-2249, 2002.
- LEWIS, G. S. Steroidal regulation of uterine immune defenses. **Animal Reproduction Science**, v. 82, p. 281-294, 2004.
- LIMA, F. S. et al. Effects of 1 or 2 treatments with prostaglandin F_{2α} on subclinical endometritis and fertility in lactating dairy cows inseminated by timed artificial insemination. **Journal of dairy science**, v. 96, n. 10, p. 6480-6488, 2013.
- LIMA, F.S.D., 2020. Recent advances and future directions for uterine diseases diagnosis, pathogenesis, and management in dairy cows. **Animal reproduction**, 17.
- MCART, J. A. A. et al. A field trial on the effect of propylene glycol on milk yield and resolution of ketosis in fresh cows diagnosed with subclinical ketosis. **Journal of dairy science**, v. 94, n. 12, p. 6011-6020, 2011.
- MCART, J. A. A.; NYDAM, D. V.; OETZEL, G. R. Epidemiology of subclinical ketosis in early lactation dairy cattle. **Journal of dairy science**, v. 95, n. 9, p. 5056-5066, 2012.
- PASCOTTINI OB, DINI P, HOSTENS M, DUCATELLE R, OPSOMER G. A novel cytologic sampling technique to diagnose subclinical endometritis and comparison of staining methods for endometrial cytology samples in dairy cows. **Theriogenology** 2015; 84:1438-46.
- PASCOTTINI, O. BOGADO, AND S. J. LEBLANC. "Metabolic markers for purulent vaginal discharge and subclinical endometritis in dairy cows." **Theriogenology** 155 (2020): 43-48.
- PEREIRA, M. H. C. et al. Effect of adding a gonadotropin-releasing-hormone treatment at the beginning and a second prostaglandin F_{2α} treatment at the end of an estradiol-based protocol for timed artificial insemination in lactating dairy cows during cool or hot seasons of the year. **Journal of dairy science**, v. 98, n. 2, p. 947-959, 2015.
- PETER, A. T. Retained fetal membranes. **Bovine reproduction**, 629-638. 2021
- PURSLEY, J. R.; MEE, M. O.; WILTBANK, M. C. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF_{2α} and GnRH. **Theriogenology**, v. 44, n. 7, p. 915-923, 1995.
- RIBEIRO ES, LIMA FS, GRECO LF, BISINOTTO RS, MONTEIRO AP, FAVORETO M, AYRES H, MARSOLA RS, MARTINEZ N, THATCHER WW, SANTOS JEP. Prevalence of periparturient diseases and effects on fertility of seasonally calving grazing dairy cows supplemented with concentrates. **Journal of Dairy Science** 2013;96: 5682-97.
- RIBEIRO, E. S. et al. Economic aspects of applying reproductive technologies to dairy herds. **Animal Reproduction (AR)**, v. 9, n. 3, p. 370-387, 2018.
- SHELDON, I. M. (2018). Metabolic stress and endometritis in dairy cattle. **Vet Rec**, 183(4), 124-5.
- SHELDON, I. M., CRONIN, J., GOETZE, L., DONOFRIO, G., & SCHUBERTH, H. J. (2009). Defining postpartum uterine disease and the mechanisms of infection and immunity in the female reproductive tract in cattle. **Biology of reproduction**, 81(6), 1025-1032.

SHELDON, I. M., LEWIS, G. S., LEBLANC, S., & GILBERT, R. O. (2006). Defining postpartum uterine disease in cattle. **Theriogenology**, 65(8), 1516-1530.

SHELDON, IAIN MARTIN, AND SIAN E. OWENS. "Postpartum uterine infection and endometritis in dairy cattle." *Animal Reproduction (AR)* 14, no. 3 (2018): 622-629.

WAGENER K, GABLER C, DRILLICH M. A review of the ongoing discussion about WILDMAN, E. E. et al. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. **Journal of dairy science**, v. 65, n. 3, p. 495-501, 1982.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. WHO guidelines on use of medically important antimicrobials in food-producing animals [Internet]. Geneva: WHO; 2017. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/258970>.