

## Modelos determinista e estocástico em programas de transferência de embriões em bovinos

L.G. Barioni<sup>1</sup>, R. Travassos Beltrame<sup>2</sup>, C.R. Quirino<sup>2</sup> e D. Rankel Fernandes<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Cerrados, Rod. Brasília Fortaleza BR 020 Km 18 Planaltina - DF - Brasil CEP: 73301-970

<sup>2</sup>Universidade Estadual do Norte Fluminense, UENF. Av Alberto Lamego 2000, Pq. Califórnia, Campos dos Goytacazes - RJ. Cep: 28.013-600; rtbeltrame@terra.com.br

<sup>3</sup>Centro Universitário Vila Velha- UVV. Rua Viana, s/n, Boa Vista, Vila Velha- ES. Cep: 29102-770

Recibido Octubre 8, 2006. Aceptado Diciembre 11, 2006.

**RESUMO.** Este estudo objetivou a comparação de modelos deterministas a estocásticos no intuito de promover auxílio à tomada de decisão em programas de transferência de embriões. Neste sentido, o número de receptoras que minimiza o custo por prenhes foi aproximado por meio da análise de sensibilidade em um modelo matemático no qual o número de embriões viáveis foi determinado por meio de simulação de Monte Carlo. Foram avaliados os efeitos da variabilidade no número de embriões e nos custos econômicos relativos à manutenção de receptoras no sistema. Compararam-se os resultados do modelo estocástico com equações deterministas. Foi observado que o uso da simulação na transferência de embriões é particularmente importante quando existe alta variabilidade no número de embriões coletados, pequeno número de doadoras e baixo custo para manutenção de receptoras.

**Palavras chave:** doadoras, receptoras, custo por prenhez, simulação de Monte Carlo

## Deterministic and stochastic models to embryo transfer programs in bovine

**ABSTRACT.** The aim of this study was to evaluate deterministic and stochastic models to get decision support to embryo transfer programs in bovine. The number of recipient that minimize cost per pregnancy was carried out through sensibility analysis in a mathematical model. The number of embryos collected was accounted for by a Monte-Carlo simulation. The embryos variability and economic costs related to recipient maintenance at the system were evaluated. It was compared results from stochastic models to deterministic equations. Results showed that simulation in embryo transfer is particular important when exists high variability in number of embryos collected, few number of donors and low recipient maintenance costs.

**Key words:** donor, recipients, pregnancy cost, Monte Carlo simulation.

### Introdução

O termo Múltipla Ovulação e Transferência de Embriões (MOTE) engloba o conjunto das atividades necessárias para retirar embriões do útero de fêmeas doadoras e a posterior deposição desses embriões no útero de fêmeas denominadas receptoras (Moraes, 2002).

Embora várias descobertas envolvendo a fisiologia da reprodução, tenham sido realizadas nas últimas décadas, a aplicação da MOTE, de uma maneira geral, ainda permanece a mercê dos efeitos decorrentes da

variabilidade dos índices que influenciam os resultados e do alto risco de sua execução. Em um programa de MOTE, geralmente, relegam-se as receptoras em detrimento das doadoras (Beltrame *et al.*, 2003).

Devido ao elevado custo de manutenção e ociosidade de receptoras em programas de TE, torna-se fundamental estimativas e simulações que orientem sobre como maximizar os retornos econômicos (Beltrame *et al.*, 2006).

<sup>1</sup>Autor para la correspondencia, e-mail: barioni@cpac.embrapa.br

Usualmente o número de receptoras a serem alocadas para um programa de MOTE é calculado com base no número médio de embriões coletados por doadora Bo *et al* (2004). Embora grande parte das estimativas em trabalhos envolvendo aspectos reprodutivos sejam trabalhadas de forma determinista (Friggens *et al*, 2005; Ruvuna *et al*, 1992),

alguns trabalhos tem sugerido o uso de números aleatórios e geração estocástica de variáveis (Ostergaard *et al*, 2005).

Este artigo teve como objetivo a comparação de modelos deterministas a estocásticos no intuito de promover auxílio à tomada de decisão em programas de MOTE.

## Material e métodos

### Método determinista

No método determinista, a premissa é a de que o número ótimo de receptoras é aquele no qual, todas as receptoras aptas seriam inovuladas. Assim, não existiriam embriões excedentes, implicando, em máxima eficiência de uso dos recursos e consequentemente, máximo retorno econômico. Essa condição ideal pode ser expressa matematicamente pela equação (1):

$$A_i = E_i \quad (1)$$

Onde:  $A_i$  é o número de receptoras aptas e  $E_i$  o número de embriões viáveis coletados na  $i$ -ésima coleta de embriões.

Considerando que  $A_i$  é igual ao produto do número total de receptoras ( $R_i$ ) e da proporção esperada de receptoras aptas ( $P_i$ ),

$$A_i = R_i * P_i \quad (2)$$

temos que:

$$R_i * P_i = E_i \quad (3)$$

resultando em que o número ideal de receptoras em um programa de embriões pode ser calculado por meio da Equação 4:

$$R_i = \frac{E_i}{P_i} \quad (4)$$

O número esperado de embriões em uma coleta ( $E_i$ ) é o produto do número de doadoras em coleta ( $D_i$ ) e do número médio de embriões esperado por doadora ( $m$ ), como apresentado na Equação 5:

$$E_i = D_i \cdot \mu_i \quad (5)$$

A proporção de receptoras aptas à inovulação ( $P_i$ ) pode ser calculado pela Equação 6.  $P_i$  depende do protocolo de sincronização utilizado.

$$P_i = \alpha_c \cdot \alpha_r \cdot \alpha_a \quad (6)$$

onde  $\alpha_c$  é a proporção de receptoras ciclando;  $\alpha_r$  é a proporção de receptoras que respondem aos protocolos de sincronização;  $\alpha_a$  é a taxa de aproveitamento das receptoras no momento da transferência dos embriões. Finalmente, o número ótimo de receptoras pode ser calculado como:

$$R_i = \frac{D_i \cdot \mu_i}{\alpha_c \cdot \alpha_r \cdot \alpha_a} \quad (7)$$

### Modelo Estocástico

Não houvesse variação nos coeficientes técnicos considerados, particularmente no número de embriões viáveis obtidos por coleta, o método determinista seria preciso na determinação do número ideal de receptoras. Entretanto, o número de embriões varia consideravelmente entre doadoras e para uma mesma doadora em diferentes coletas. Ainda, as receptoras devem ser adquiridas e sincronizadas antes que se tenha conhecimento sobre o número de embriões viáveis, a ser obtido a partir das doadoras superovuladas. Assim, mesmo utilizando-se o número ideal de receptoras, haverá, por vezes, número excessivo de embriões coletados e, por outras, número insuficiente para as receptoras aptas à inovulação. No caso de haver excesso de embriões, é possível congelá-los para futuras inovulações. A possibilidade de congelamento implica em um estoque de embriões que varia ao longo do tempo, dependendo do número de embriões produzidos e do número de receptoras aptas em cada coleta.

Visando contemplar o estoque de embriões, utilizou-se um modelo matemático dinâmico no qual o tempo foi discretizado em intervalos mensais. Igual metodologia foi utilizada para considerar a variabilidade no número de embriões em cada coleta e seu efeito sobre o número ótimo de receptoras. Considerando a possibilidade de congelamento e descongelamento de embriões, o modelo pode ser expresso matematicamente como:

$$G_i = I_f \cdot \alpha_{sf} + I_c \cdot \alpha_{sc} \quad (8)$$

Onde:  $G_i$  é o número de gestações obtidas por coleta,  $I_f$  é o número de inovulações com embriões frescos e  $I_c$  é o número de inovulações com embriões congelados. Os parâmetros  $\alpha_{sf}$  e  $\alpha_{sc}$  são respectivamente as taxas de concepção de embriões inovulados a fresco e inovulados após descongelamento.

O número de inovulações a fresco pode ser limitado pelo número de embriões viáveis coletados ( $E_i$ ) ou pelo número de receptoras aptas ( $A_i$ ). Portanto pode ser calculado como o mínimo entre os valores dessas variáveis:

$$(9)$$

Inovulações a partir de embriões congelados ocorrem somente quando o número de receptoras aptas é maior que o número de embriões viáveis coletados, isto é, quanto  $A_i - E_i > 0$ . O número de receptoras que pode ser inovulada é o mínimo entre o número de receptoras aptas não inovuladas a fresco ( $A_i - E_i$ ), e o número de embriões congelados em estoque ( $C_i$ ). Essas premissas são expressas algebricamente pela Equação 10.

$$Ic = -\text{Min}(\Delta C_i, 0) \quad (10)$$

Onde  $\Delta C_i$  é a variação no estoque de embriões congelados (determinado pela Equação 11).

$\Delta C_i > 0$  indica que houve congelamento,  $\Delta C_i < 0$  indica que houve inovulação. Assim, uma variação negativa ( $\Delta C_i < 0$ ) indica que  $-\Delta C_i$  embriões foram descongelados e inovulados ( $Ic = -\Delta C_i$ ). Uma variação positiva indica houve congelamento e não inovulações e, nesse caso,  $\text{Min}(\Delta C_i, 0) = 0$ .  $\Delta C_i$  é calculado de acordo com a Equação 11.

(11)

onde,

$$C_i = \sum_{j=1}^{i-1} \Delta C_j; C_0 = 0 \quad (12)$$

A introdução de variabilidade na produção de embriões foi realizada por meio do método de Monte Carlo. O método de Monte Carlo consiste na geração de números aleatórios com distribuição conhecida para uma ou mais variáveis. (Perin Filho, 1995)

Assumiu-se que o número de embriões produzidos em uma coleta possui distribuição normal com média  $m$  e desvio padrão  $r$ . Como a soma de variáveis aleatórias com distribuição normal de igual média e variância geram uma nova variável com distribuição normal de média igual a soma das médias e a uma variância igual a soma das variâncias, chegamos que a distribuição do número de embriões produzido pela coleta de embriões de  $D$  doadoras, na  $i$ -ésima coleta pode ser calculado pela Equação 13.

$$E_i = \text{Max}(\eta(D_i \cdot \mu, D_i \cdot \rho^2), 0) \quad (13)$$

onde  $\eta(D_i \cdot \mu, D_i \cdot \rho^2)$  representa uma distribuição normal com média  $D_i \cdot \mu$  e variância  $D_i \cdot \rho^2$ . Como o número de embriões coletados não pode assumir valores negativos, a distribuição apresentada na Equação 13 é truncada pela função Max (que retorna o valor máximo entre dois argumentos) para que os valores de  $E_i$  sejam sempre maiores que zero.

### Critérios e Pressupostos

No caso da resolução por simulação, consideram-se as ineficiências inerentes ao sistema. Uma vez que o número de embriões coletados é aleatório, o acréscimo no custo por prenhez pode ser diferente devido à ociosidade de receptoras, à perda ou ao congelamento de embriões. É necessário, portanto, estabelecer um critério para estabelecer o ponto ótimo. Vários critérios poderiam ser utilizados. Em um negócio de venda de embriões, por exemplo, o valor presente líquido (VPL) poderia ser utilizado. Nesse estudo, entretanto, decidiu-se que o critério seria o custo por prenhez e que o número ótimo de receptoras seria aquele no qual o custo por prenhez fosse mínimo.

Para o cálculo do custo variável por prenhez, utilizaram-se os seguintes pressupostos: (a) As simulações foram baseadas na sincronização das receptoras com duas aplicações intervaladas de prostaglandina ( $\text{PGF}_{2\alpha}$ ). Os índices reprodutivos para ciclicidade, sincronização, aptidão e gestação (fresco e descongelamento) para receptoras foram de respectivamente 0.7, 0.7, 0.55, 0.6 e 0.4. (modificados de: Zanenga *et al.*, 2000; Bó *et al.*, 2004; Beltrame, 2003); (b) Foram sugeridos quatro níveis de estimativas para análise de sensibilidade do custo das receptoras onde foram utilizados os valores de R\$15.00, R\$30.00, R\$ 60.00 e R\$ 120.00. Os custos relativos às doadoras foram calculados a partir da primeira coleta, não sendo avaliados os custos de aquisição do animal. Considerou-se a sincronização da doadora com um protocolo que utiliza implante vaginal de progesterona (CIDR® Pfizer do Brasil) e superovulação utilizando FSH (Folltropin-V®, Bioniche, Canada).

O modelo matemático foi implementado em planilha eletrônica Microsoft Excel v. 8.0. Números aleatórios com distribuição normal foram gerados por meio de funções da própria planilha eletrônica. Rotinas foram programadas em Visual Basic for Applications para estocar valores das simulações estocásticas. Adotaram-se coletas mensais de embriões e um período de simulação de 36 meses, sendo que os dados dos primeiros 12 meses foram descartados para que o efeito do estoque inicial de embriões fosse minimizado.

O número de receptoras que resultou em mínimo custo da prenhez foi determinado por meio de análise de sensibilidade onde considerou-se a variação do desvio padrão do número de embriões gerados (3 a 12). Para um número constante de 6 doadoras em cada coleta, variou-se o número total de receptoras a partir de 108 (18 receptoras por doadora) até 168 (28 receptoras por doadora) por coleta, com um intervalo

de variação de 3 receptoras (0,5 receptoras por doadora), ou até que o mínimo custo fosse encontrado. Para comparar as duas metodologias, o número de receptoras ideal do modelo determinista foi rodado para cada desvio padrão da análise estocástica.

O modelo foi executado 5000 vezes para cada caso,

permitindo estimar a média e o desvio padrão do número de prenhez e do custo por prenhez para cada nível da estimativa de custo da receptora. O número ótimo de receptoras foi então identificado a partir da série de resultados obtida nessas análises de sensibilidade.

## Resultados e discussão

As Figura 1 e 2 ilustram a variação do custo médio por prenhez (variável de decisão) e o máximo número de prenhez obtido pelas análises de sensibilidade ao final do período.

Uma comparação entre os métodos algébrico-determinista e a simulação de Monte Carlo é demonstrada nas Figura 1 e 2 e nos Quadros 1 e 2. Pode-se apreciar na Figura 1 as curvas de resposta do custo por prenhez à variação no número de receptoras. Pode-se perceber na mesma figura e na Tabela 1 a mudança no número de receptoras que produzem mínimo custo por prenhez quando considerando diferentes níveis de variabilidade na produção de embriões. O acréscimo do custo por prenhez com o aumento da variabilidade, ocorre como reflexo do menor número de prenhez obtido e aumento do custo devido à manipulação de embriões para

congelamento e descongelamento.

No estudo de Ravuna *et al.* (1992) diversas variáveis biológicas e econômicas relacionadas a MOTE foram simuladas. Nas análises de sensibilidade o VPL foi a variável de decisão, não tendo sido considerado custos referentes a obtenção dos embriões, a relação número de receptoras por doadora. A variabilidade desta e de outras variáveis de forma estocástica não foi avaliada.

Embora na ausência de variabilidade o custo da receptora não tenha importância, essa passa a ser uma variável chave na análise por simulação. Quanto menor o custo da receptora e maior a variabilidade maior tende a ser o número de receptoras para minimizar o custo por prenhez (Quadro 2).

De acordo com Bó *et al.*, 2004, quando a sincronia de receptoras se faz a partir de doses intervaladas de

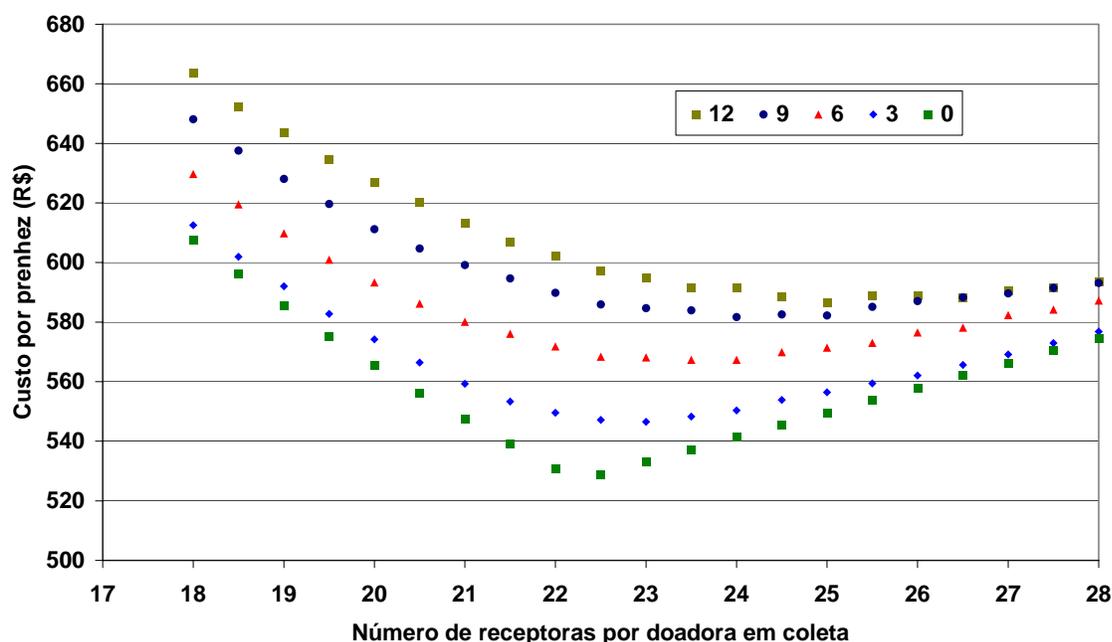


Figura 1. Análise de sensibilidade para o custo por prenhez em relação ao número de receptoras por meio de simulação de Monte Carlo para diferentes níveis de variabilidade na produção de embriões. Os valores nas legendas ilustram o desvio padrão do número de embriões produzidos por doadora considerado nas simulações. Utilizou-se custo médio de manutenção de receptoras de R\$ 30,00 mensais.

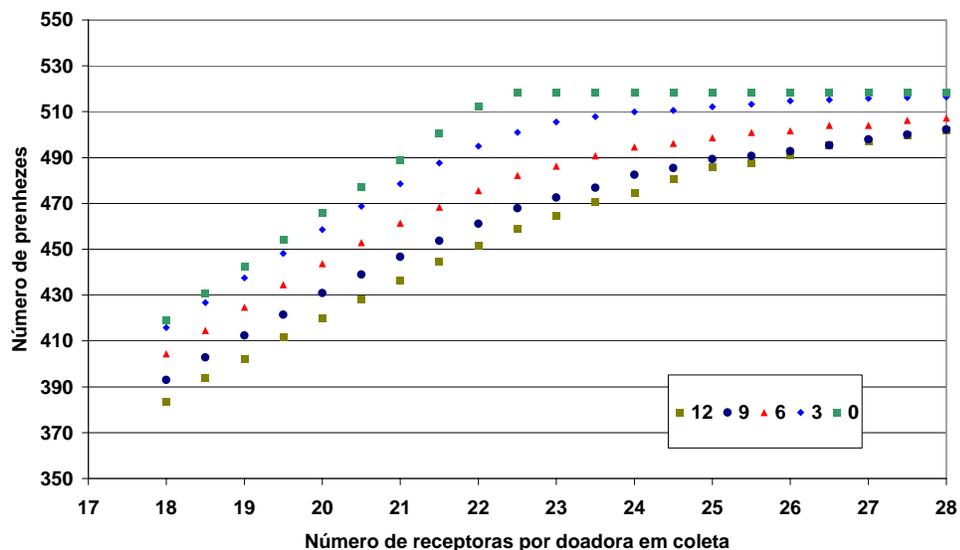


Figura 2. Número de prenhez em relação ao número de receptoras por meio de simulação de Monte Carlo para diferentes níveis de variabilidade na produção de embriões. Os valores nas legendas ilustram o desvio padrão do número de embriões produzidos por doadora considerado nas simulações. Utilizou-se custo médio de manutenção de receptoras de R\$ 30.00 mensais.

Quadro 1. Número ótimo de receptoras e custo mínimo por prenhez (em parêntesis) para diferentes níveis de variabilidade (desvio padrão do número de embriões)

<i>Desvio padrão do número de embriões viáveis coletados</i>					
Custo mensal por receptora	0	3	6	9	12
<i>Com congelamento de embriões</i>					
1522.26	23 (R\$ 434.12)	24 (R\$ 448.24)	25 (R\$ 462.52)	26.5 (R\$ 471.89)	(R\$ 472.61)
30	22.26 (R\$ 526.89)	23 (R\$ 546.50)	24 (R\$ 567.33)	24 (R\$ 581.68)	25 (R\$ 586.57)
60	22.26 (R\$ 712.42)	22.2 (R\$ 740.70)	22.5 (R\$ 769.98)	23.75 (R\$ 795.75)	23.5 (R\$ 807.02)
120	22.26 (R\$1083.47)	21.5 (R\$1124.78)	21 (R\$1170.02)	22 (R\$1208.13)	22.5 (R\$1232.29)
<i>Sem congelamento de embriões</i>					
1522.26	26 (R\$ 434.12)	30.5 (R\$ 460.51)	31.5 (R\$ 486.97)	32.5 (R\$ 512.27)	(R\$ 531.46)
30	22.26 (R\$ 526.89)	24 (R\$ 568.54)	27 (R\$ 613.55)	30.5 (R\$ 652.90)	31 (R\$ 684.25)
60	22.26 (R\$ 712.42)	22 (R\$ 775.31)	24 (R\$ 847.17)	27 (R\$ 917.02)	27 (R\$ 963.46)
120	22.26 (R\$1 083.47)	21 (R\$1 173.49)	21 (R\$1 289.85)	23 (R\$ 1409.76)	21.5 (R\$ 1490.92)

Quadro 2. Redução projetada no custo de prenhes devido à adoção do número de receptoras sugerido pelo método de simulação de Monte Carlo em relação ao número de receptoras recomendado pelo método algébrico-determinista.

Custo mensal por receptora	<i>Desvio padrão do número de embriões viáveis coletados</i>			
	3	6	9	12
Com congelamento de embriões				
15	R\$ 2.94 (0.65%)	R\$ 7.37 (1.7%)	R\$ 12.66 (2.6%)	R\$ 22.57 (4.6%)
30	R\$ 1.09 0.20%	R\$ 2.97 (1.0%)	R\$ 6.40 (1.1%)	R\$ 12.86 (2.1%)
60	R\$ 0 (0.0%)	R\$ 1.13 (0.1%)	R\$ 0 (0.0%)	R\$ 5.59 (0.7%)
120	R\$ 1.27 (0.11%)	R\$ 2.73 (0.2%)	R\$ 1.19 (0.1%)	R\$ 3.56 (0.3%)
Sem congelamento de embriões				
15	R\$ 11.91 (2.52%)	R\$ 31.30 (6%)	R\$ 52.17 (9.2%)	R\$ 72.43 (12%)
30	R\$ 4.82 (0.84%)	R\$ 15.46 (2%)	R\$ 32.15 (4.7%)	R\$ 48.68 (6.6%)
60	R\$ 0 (0%)	R\$ 3.33 (0.4%)	R\$ 9.25 (1.0%)	R\$ 27.55 (2.8%)
120	R\$ 5.56 (0.47%)	R\$ 3.63 (0.3%)	R\$ 0 (0%)	R\$ 16.24 (1.1%)

prostaglandina, em torno de 10 receptoras devem ser tratadas por doadora, já que se espera que 5 a 6 estejam aptas (com um CL) no momento da transferência de embriões. Entretanto, esta razão foi muito aquém da observada neste trabalho.

Pela análise determinista uma estimativa de 22.26 receptoras para cada doadora, independente do custo da receptora, foi obtida. Em contraste, as estimativas estocásticas variaram de 21.5 a 26.5, quando foi considerado a possibilidade de congelamento de embriões, e de 21 a 32.5, quando os embriões eram somente transferidos a fresco.

Embora a relação receptora x doadora ótima não tenha sido demonstrada em toda a literatura consultada, Bo *et al.* (2004) e Nasser *et al.* (2004) demonstraram existir variabilidade nos resultados de protocolos, na relação receptoras inovuladas/tratadas e no custo correspondente.

Nas análises de sensibilidade observou-se redução da relação ótima entre o número de receptoras e doadoras com aumento do custo da receptora.

Esse efeito foi mais acentuado quanto maior a variabilidade no número de embriões viáveis coletados por doadora por coleta. Adicionalmente, um menor número de prenhez foi obtido à medida que simularam-se níveis mais elevados de variação de número de embriões. Nas simulações, o congelamento mostrou-se eficaz para aumentar o número de prenhez, reduzir sua variabilidade e seu custo.

Nos trabalhos de Ruvuna *et al.*, (1992), Slenning *et al.*, (1992) e Fernandes *et al.*, (2006) a aleatoriedade inerente a algumas variáveis na MOTE não foi demonstrada. Um aspecto importante desta questão é que o uso da média do número de embriões para estabelecimento do número de prenhez superestima substancialmente a eficiência biológica do sistema, subestimando, conseqüentemente o custo de prenhez. Esta situação é demonstrada nas tabelas 1 e 2.

A superioridade da simulação foi mais pronunciada quando a variabilidade no número de embriões produzidos era elevada e o custo por receptora era

baixo, particularmente quando o congelamento de embriões não era utilizado (Quadro 2).

A variabilidade no número de embriões viáveis coletados e as estruturas de custo dentro do programa de MOTE podem modificar o número ideal de receptoras. Devido a isso, a simulação pode projetar

custo e eficiência biológica mais realistas em relação aos cálculos deterministas, com base no número médio de embriões viáveis coletados. As projeções de custo devem, portanto, serem feitas com base em simulações e não a partir de estimativas deterministas.

### Literatura citada

- Beltrame, R.T., Barioni, L.G., Veloso, R., Saueressig, M.G. 2003. Métodos para determinação do número de receptoras em programas de Transferência de Embriões. Comunicado Técnico, Distrito Federal, p. 1-6.
- Beltrame, R.T., Barioni, L.G., Quirino, C.R. 2006. Curva de densidade de probabilidade do número de embriões viáveis coletados em vacas nelore superovuladas. *Acta Scientiae Veterinariae*, Araxa, v. 30, n.1, p. 496, (Resumo).
- Bó, G., Moreno, L., Cutaia, L., Baruselli, O.S.; Reis, E.L. 2004. Manipulação do ciclo estral em doadoras e receptoras de embrião bovino. *Acta Scientiae Veterinariae* – Vol 32, p. 1.
- Fernandes, C.A.C., Oba, E., Viana, J.H.M., Figueiredo, A.C.S., Oliveira, E.R., Vasconcelos, T.D., Gioso, M.M. 2006. Avaliação econômica da bipartição de embriões em bovinos. *Acta Scientiae Veterinariae* – Vol 34, p. 507, (Resumo).
- Fernandes, C.A.C. 1999. Inovações não cirúrgicas e taxa de gestação de receptoras de embrião. *Arq. Bras. Méd. Vet. Zootec.* V.51, n.3, p.263.
- Friggens, N.C., Chagunda, M.G.G. 2005. Prediction of the reproductive status of cattle on the basis of milk progesterone measures: model description. *Theriogenology*. 64:155.
- Moraes, J.C.F., Souza, C.S.F., Gonçalves, P.B.D. Controle do estro e da ovulação em Bovinos e Ovinos. In: Gonçalves PBD, Figueiredo JR, Freitas UJF, Biotécnicas Aplicadas a Reprodução Animal. São Paulo: Varela, 2002. p.25.
- Nasser, L.F., Reis, E.L. Oliveira, M.A., Bó GA; Baruselli PS. 2004. Comparison of four synchronization protocols for fixed-time bovine embryo transfer in *Bos indicus* x *Bos taurus* recipients. *Theriogenology*. 62(9):1577.
- Ostergaard, S., Friggens, N.C., Chagunda, M.G.G. 2005. Technical and economic effects of an inline progesterone indicator in a dairy herd estimated by stochastic simulation. *Theriogenology*, 64:819.
- Perin, F.C. 1995. Introdução à Simulação de Sistemas. Campinas, SP: Editora da Unicamp, p. 163.
- Reis, E.L.; Nasser, L.F.; Mengatti, J.A.; Rezende, L.F.; Mantovani, A.P.; Baruselli, P.S. 2004. Effect of time and dose of eCG treatment in *Bos taurus* x *Bos Indicus* recipients treated with progesterone for timed embryo transfer. 15<sup>o</sup> International Congress on Animal Reproduction, Porto Seguro, Brazil (Resumo).
- Ruvuna, F., Taylor, J.F., Walter, J.P., Turner, J.W., Thallman, R.M. 1992. Bioeconomic evaluation of embryo transfer in beef production systems: I. description of a biological model for steer production. *J. Anim. Sci.* 70: 1077.
- Slennig, B.D., Wheelera, M.B. 1989. Risk evaluation for bovine embryo transfer services using computer simulation and economic decision theory. *Theriogenology*, v.31, p 653.
- Zanenga, C.A., Pedroso, M.S., Lima, G.S., Santos, I.C.C. 2000. Embryo transfer without estrous observation. *Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS, Porto Alegre, Brasil*, 28 (suppl): 337.