



**Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia**

**Mestrado Integrado em Medicina Veterinária**

Dissertação

**Influência da administração de Delibol® e Metrabol® no pós-parto na prevalência de doenças do puerpério e involução uterina em vacas de leite**

**Rita Balão Borges Ferreira**

Orientador(es) | Sandra Maria Branco  
Beatriz Tavares Rebimbas  
Dário Alexandre Nunes de Sá Guerreiro

Évora 2021





---

**Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia**

**Mestrado Integrado em Medicina Veterinária**

Dissertação

**Influência da administração de Delibol® e Metrabol® no pós-parto na prevalência de doenças do puerpério e involução uterina em vacas de leite**

**Rita Balão Borges Ferreira**

Orientador(es) | Sandra Maria Branco  
Beatriz Tavares Rebimbas  
Dário Alexandre Nunes de Sá Guerreiro

Évora 2021

---

---

---

---



A dissertação foi objeto de apreciação e discussão pública pelo seguinte júri nomeado pelo Diretor da Escola de Ciências e Tecnologia:

Presidente | Rita Payan-Carreira (Universidade de Évora)

Vogais | George Stillwell (Universidade de Lisboa - Faculdade de Medicina Veterinária)  
(Arguente)  
Sandra Maria Branco (Universidade de Évora) (Orientador)

## Agradecimentos

À Dra. Beatriz Rebimbas, por todo o conhecimento transmitido e pela sua paciência em responder a todas as minhas questões durante o estágio.

Ao Dr. Dário Guerreiro e Dr. André Parada, por todos os ensinamentos transmitidos e por toda a ajuda disponibilizada ao longo do período de estágio.

À Professora Doutora Sandra Branco, orientadora interna, por ter aceite orientar este trabalho, pelos inúmeros conselhos e disponibilidade que sempre demonstrou e por ter tornado esta dissertação na sua melhor versão possível.

Ao Sr. Nuno Policarpo pela sua disponibilidade em participar no meu estudo, pois sem ele não era possível a realização do mesmo.

A todos os meus amigos que me acompanharam durante o meu período académico, em especial aos “Fixes”, pelo companheirismo e horas de riso.

À Daniela, Catarina Guerreiro “Surfista”, Catarina “Carujo” e Raquel Leal “Tercena”, pela amizade para a vida e força que me deram durante todos estes anos. Por todos os momentos inesquecíveis que guardarei sempre na minha memória.

À tia Rosa e Vítor, pela forma carinhosa como me receberam durante o período de estágio, por toda o apoio e momentos bem passados.

Às minhas colegas de estágio, Marina Casaca, Rita Queiroga e Inês Leite, pela ajuda, amizade e alegria, dentro e fora do trabalho.

À tia Vira, pela disponibilidade e prontidão a ajudar, mesmo tendo pouco tempo.

Ao João Maria!

E por último aos meus pais, Bel, Nonô e avó Natália, pelo amor e apoio incondicional ao partilharem comigo as minhas alegrias, dificuldades e medos. Pela amizade e valores que me transmitiram, por sempre me incentivarem a lutar pelos meus sonhos, o meu sincero obrigada. Sou uma privilegiada!

## Resumo

O objetivo principal deste estudo foi verificar a influência da administração conjunta de delibol® e metrabol® (bolos de minerais) na obtenção de uma involução uterina em boas condições e no retorno à reprodução. Foi ainda estudada a relação entre a administração destes bolos e a redução na ocorrência de doenças puerperais.

Foram analisadas as seguintes variáveis: intervalo parto-primeira inseminação artificial; intervalo parto-inseminação artificial fecundante; número de inseminações artificiais por vaca; taxa de concepção à primeira inseminação artificial.

Os animais em estudo foram divididos em 2 grupos: grupo testemunha (n=18), não intervencionado; e grupo experimental (n=19) ao qual foi administrado via oral os bolos de delibol® e metrabol®, nas 12 horas pós-parto.

Concluiu-se que a administração de delibol® e metrabol® não conduziu a melhorias na involução uterina, retorno à reprodução e na redução da ocorrência de doenças puerperais, visto que não se verificaram diferenças significativas ( $p>0,05$ ). Também não se detetaram diferenças na prevalência de infecções uterinas, retenção placentária, cetose e deslocamento de abomaso.

**Palavras chave:** delibol® e metrabol®; Doenças puerperais; Involução uterina; Período de transição; Vacas de leite

# Influence of Delibol® and Metrabol® administration in postpartum on the prevalence of puerperium diseases and uterine involution in dairy cows

## Abstrat

The aim of this study was to study the influence of delibol® and metrabol® (mineral bolus) in promoting a good uterine involution and the return to ovarian activity. We also studied the relationship between the administration of delibol® and metrabol® and the reduction of puerperal diseases.

The following variables were analyzed: calving to first service interval; calving to conception interval; number of artificial inseminations per cow; conception rate at first artificial insemination.

The animals under study were divided into 2 groups, accordingly to the date of calving: control group (n=19), which was not intervened; and experimental group (n=18) to which delibol® and metrabol® was administered.

It was concluded that the administration of delibol® and metrabol® did not lead to improvements in uterine involution, in the return to reproduction and in the reduction of the occurrence of puerperal diseases. There were no significant differences ( $p > 0.05$ ) in the reduction of uterine infections, placental retention, ketosis or displacement of the abomasum.

**Keywords:** delibol® and metrabol®; Puerperal diseases; Uterine involution; Transition period; Dairy cattle

## Lista de abreviaturas e símbolos

>- Maior que

≥- Maior ou igual que

≤- Menor ou igual que

%- Percentagem

AGNE- Ácidos gordos não esterificados

AOAH- Acioxiacil Hidrolase

BEN- Balanço energético negativo

BHB- β-hidroxiacetato

CC- Condição corporal

CCS- Contagem de células somáticas

cm- Centímetros

DAE- Deslocamento do abomaso à esquerda

dl- Decilitros

DP- Desvio Padrão

FSH- Hormona folículo-estimulante

g- Grama

GnRH- Hormona libertadora de gonadotrofina

IA- Inseminação artificial

IBM- International Business Machines Corporation

L- Litro

LH- Hormona luteinizante

M- Média

mg- Miligrama

mmo- Milimole

MPL Vet- Medicina de Produção Leiteira Veterinária

N- Número

Q1- Primeiro Quartil

Q2- Segundo Quartil/Mediana

Q3- Terceiro Quartil

$p$ - Significância estatística

pH- Potencial hidroginiônico

PTH- Paratormona

®- Marca registada

RP- Retenção placentária

SPSS- Statistical Package for the Social Sciences

U- Estatística de Teste de Mann-Whitney

$\mu\text{mol}$ - Micromole

VS- Versus



# Índice Geral

Agradecimentos.....	I
Resumo .....	II
Abstrat- Influence of Delibol®-Metrabol® administration in postpartum on the prevalence of puerperium diseases and uterine involution in dairy cows.....	III
Lista de abreviaturas e símbolos.....	IV
Índice Geral .....	1
Índice de Figuras .....	3
Índice de Tabelas .....	3
1. Preâmbulo.....	4
2. Revisão Bibliográfica.....	6
<b>2.1 Período de transição</b> .....	6
<b>2.2 Involução uterina</b> .....	7
<b>2.3 Retenção Placentária</b> .....	7
2.3.1 Fisiopatogenia .....	8
2.3.2 Fatores de risco .....	10
2.3.3 Prevenção .....	10
<b>2.4 Infecções Uterinas</b> .....	11
2.4.1 Fisiopatogenia .....	12
2.4.2 Fatores de risco.....	13
2.4.3 Prevenção .....	14
<b>2.5 Mastite</b> .....	15
2.5.1 Fisiopatogenia .....	16
2.5.2 Fatores de Risco .....	17
2.5.3 Prevenção .....	18
<b>2.6 Cetose</b> .....	18
2.6.1 Fisiopatogenia .....	20
2.6.2 Fatores de risco.....	21
2.6.3 Prevenção .....	21

<b>2.7</b>	<b>Hipocalcemia</b> .....	23
2.7.1	Fisiopatogenia .....	23
2.7.2	Fatores de Risco .....	25
2.7.3	Prevenção .....	26
<b>2.8</b>	<b>Deslocamento de abomaso à esquerda</b> .....	28
2.8.1	Fisiopatogenia e Fatores de Risco .....	28
2.8.2	Prevenção .....	29
<b>3</b>	<b>Trabalho Experimental</b> .....	30
<b>3.1</b>	<b>Introdução</b> .....	30
<b>3.2</b>	<b>Objetivos</b> .....	32
<b>3.3</b>	<b>Materiais e Métodos</b> .....	33
3.3.1	Caracterização da exploração .....	33
3.3.2	Caracterização da amostra .....	33
3.3.3	Desenho Experimental .....	34
<b>3.4</b>	<b>Análise Estatística</b> .....	34
<b>4</b>	<b>Resultados</b> .....	36
<b>4.1</b>	<b>Intervalo em dias entre o parto e a 1ª IA</b> .....	36
<b>4.2</b>	<b>Intervalo em dias entre o parto e a IA fecundante</b> .....	37
<b>4.3</b>	<b>Número de Inseminações Artificiais por vaca até ficar gestante</b> .....	38
<b>4.4</b>	<b>Taxa de refugo por problemas reprodutivos e de concepção à 1ª IA</b> .....	40
<b>4.5</b>	<b>Doenças puerperais</b> .....	41
<b>5</b>	<b>Discussão</b> .....	43
<b>5.1</b>	<b>Avaliação do efeito da administração conjunta de delibol® e metrabol® na involução uterina e retorno à reprodução</b> .....	43
<b>5.2</b>	<b>Avaliação do efeito da administração conjunta de delibol® e metrabol® na redução da ocorrência de doenças puerperais</b> .....	44
<b>6</b>	<b>Conclusão</b> .....	46
<b>7</b>	<b>Bibliografia</b> .....	48
<b>8</b>	<b>Anexos</b> .....	i

## Índice de Figuras

Figura 1 - Gráfico do Intervalo em dias entre o parto e a 1ª IA .....	37
Figura 2 - Gráfico do intervalo em dias entre o parto e a IA fecundante .....	38
Figura 3 - Gráfico do número de inseminações artificiais até à fecundação no grupo testemunha .....	39
Figura 4 - Gráfico do número de inseminações artificiais até à fecundação no grupo experimental .....	40

## Índice de Tabelas

Tabela 1 - Comparação do intervalo de dias entre o parto e a 1ª IA entre grupos .....	36
Tabela 2 - Comparação do intervalo de dias entre o parto e a IA fecundante entre grupos .....	38
Tabela 3 - Comparação do número de inseminações artificiais até à fecundação entre grupos .....	40
Tabela 4 - Taxa de refugo por reprodução e taxa de concepção à 1ª IA, por grupo em estudo .....	41
Tabela 5 - Comparação das taxas de manifestação de doenças puerperais entre grupos .....	42

# 1. Preâmbulo

Ao longo dos anos, as vacas leiteiras têm vindo a ser seleccionadas para uma elevada produção de leite. Esta pressão produtiva, associada a um desafio nutricional constante, leva a um aumento da suscetibilidade a doenças puerperais e a falhas reprodutivas (Bruno, 2010).

No sector leiteiro, os animais apresentam fatores de risco semelhantes para diferentes doenças puerperais. Sendo que, o desenvolvimento de uma doença puerperal, normalmente, potencia o surgimento de outras doenças (Vergara *et al.*, 2014). Neste sentido, as doenças puerperais podem interferir com a futura produção, fertilidade e saúde, o que acarreta perdas económicas consideráveis (Gustafsson *et al.*, 2004), associadas à diminuição da *performance* reprodutiva e da produção de leite, custo com os tratamentos e aumento da taxa de refugo (Melendez e Risco, 2005).

O manejo nutricional no periparto é fundamental para satisfazer as necessidades metabólicas e energéticas, de modo a prevenir as doenças puerperais e a melhorar a taxa reprodutiva (Melendez e Risco, 2005; Bruno, 2010). Fatores como a perda de condição corporal (CC) em condições de balanço energético negativo (BEN) e vacas com elevada CC na altura do parto devem ser evitados. Adicionalmente, devem ser garantidos o conforto e bem-estar animal, o fornecimento de água limpa e a assistência ao parto (Melendez e Risco, 2005).

Devido às problemáticas apresentadas, decorrentes da seleção para a elevada produção leiteira, cada vez mais programas de controlo de saúde e produção animal são propostos às explorações, englobando equipas multidisciplinares que realizam uma abordagem preventiva das diversas doenças puerperais, de forma a aumentar a rentabilidade produtiva e, consequentemente, da exploração (Mulligan e Doherty, 2008).

O estágio curricular foi realizado em dois locais distintos, a MPL Vet- Medicina de Produção Leiteira Veterinária e a Clínica Sá Guerreiro Vet. O estágio curricular realizado na MPL Vet- Medicina de Produção Leiteira Veterinária, sob a orientação da Dra. Beatriz Rebimbas, ocorreu durante o período de 1 de outubro de 2019 a 30 de dezembro de 2019. A MPL Vet encontra-se situada na região de Válega, distrito de Aveiro tratando-se de uma equipa constituída por quatro médicos veterinários e prestando assistência a explorações no distrito de Aveiro, Coimbra, Porto e Braga. Disponibiliza assistência médico-veterinária em regime ambulatorio na área da assistência reprodutiva, clínica médica e cirúrgica de espécies pecuárias. A segunda etapa do estágio decorreu na Clínica Sá Guerreiro Vet, sob a orientação do Dr. Dário Guerreiro, no período compreendido entre 6 de janeiro de 2020 e 29 de março de 2020. A Clínica Sá Guerreiro Vet, com sede no Seixal é constituída por dois médicos veterinários e presta serviços em regime ambulatorio na região do Vale do Tejo, Alcácer do Sal e Alentejo. A empresa disponibiliza assistência na área da sanidade, assistência reprodutiva e clínica médica e cirúrgica de espécies pecuárias. Durante o período de estágio também houve a oportunidade de participar na prática de serviço de sanidade a cerca de 4000 ovinos, em conjunto com a empresa

agropecuária De Levie- Agriculture Produce Portugal, LDA. O acompanhamento destes profissionais teve como finalidade a aquisição de conhecimentos teóricos e práticos na área da clínica médica e cirúrgica de ruminantes. A participação ativa na atividade médico-veterinária e a oportunidade de acompanhar a evolução dos casos clínicos, permitiu uma consolidação dos conhecimentos teóricos e um desenvolvimento de competências práticas. Em ambas as empresas a maioria das intervenções médico-veterinárias foram devidas a doenças puerperais, despertando o interesse da autora para a importância da sua prevenção.

Na atualidade, deparamo-nos com a problemática da redução do uso de medicamentos na produção animal, devido ao seu impacto na saúde pública. Uma vez que a maioria das doenças das vacas leiteiras são doenças puerperais, é fundamental que sejam tomadas medidas com o intuito de reduzir a incidência das mesmas.

A *Natural By TECHNA* é uma empresa fundada em 1964, com sede em França, que comercializa produtos direcionados à nutrição de espécies pecuárias. Neste momento opera em cerca de 50 países, sendo que Portugal não é um dos contemplados. Com o intuito de começar a comercializar os seus produtos em Portugal, a *Natural By TECHNA*, propôs à autora a realização deste estudo, que consiste na avaliação da eficácia do delibol® e metrabol® (bolos de minerais) na obtenção de uma involução uterina em boas condições e no retorno à reprodução, assim como na redução da ocorrência de doenças puerperais. O presente estudo decorreu na exploração Casa Agrícola Policarpo, na Moita, entre janeiro de 2020 e setembro de 2020. A pertinência deste estudo reside na importância de investigar novas medidas para a redução das doenças puerperais, bem como para o retorno mais rápido à reprodução. Deste modo, o presente trabalho é um passo no sentido de encontrar alternativas à medicação clássica, especificamente avaliar o efeito da administração de bolos de minerais após o parto.

## 2. Revisão Bibliográfica

### 2.1 Período de transição

O período de transição é definido como as três semanas antes e as três semanas após o parto. Este período é caracterizado por vários desafios metabólicos e endócrinos relacionados com o parto e início da lactação. Se estes desafios não são combatidos eficazmente pelos mecanismos homeostáticos da vaca, esta pode desenvolver doenças como retenção placentária (RP), metrite, mastite, cetose, hipocalcemia e deslocamento de abomaso (Melendez e Risco, 2005). Adicionalmente, cerca de 75% das doenças das vacas leiteiras ocorrem nos primeiros 30 dias de lactação (LeBlanc *et al.*, 2006) e cerca de 30-50% das vacas altas produtoras são afetadas por alguma doença no periparto (LeBlanc, 2010). No período de transição é característico as vacas passarem por uma fase de BEN, sendo que a energia ingerida não é capaz de satisfazer as necessidades de manutenção, da produção de leite e de crescimento fetal. Neste período há uma diminuição da ingestão de matéria seca o que, conseqüentemente, leva a uma diminuição na absorção de glicose, minerais e vitaminas e ainda um aumento da mobilização de ácidos gordos não esterificados (AGNE), assim como a acumulação de produtos resultantes da oxidação incompleta dos AGNE, tal como beta-hidroxibutirato (BHB) (Galvão *et al.*, 2010). Neste sentido, a diminuição de ingestão de matéria seca e um aumento dos AGNE associa-se à imunossupressão no periparto (Grummer *et al.*, 2004).

Por outro lado, vacas com elevada CC (>3.5, numa escala de 5) antes do parto, apresentam maior risco de desenvolver problemas metabólicos, o que pode levar a um aumento da taxa de refugo (Bruno, 2010), uma vez que apresentam diminuição do apetite e desenvolvem BEN mais severo, quando em comparação com animais com CC apropriada (Garnsworthy e Topps, 1982 referido por Butler, 2000; Roche, 2006). Esta diminuição de apetite deve-se à produção de leptina pelos adipócitos. A leptina liga-se a recetores específicos no cérebro e transmite um sinal de saciedade ao sistema nervoso central, que reflete a quantidade de energia, na forma de gordura, no organismo (Negrão e Licínio, 2000). Para além disso, a leptina tem um efeito negativo sobre a produção de GnRH (Hormona libertadora de gonadotrofina), LH (Hormona luteinizante) e FSH (Hormona foliculo-estimulante), afetando deste modo a reprodução (Ribeiro *et al.*, 2007) Deste modo, vários autores defendem que uma CC de 3 na altura do parto otimiza a saúde e a probabilidade da vaca ficar gestante (Loeffler *et al.*, 1999 referido por Butler, 2000; Bruno, 2010; Leblanc, 2010). Nesta linha de pensamento, a perda de uma ou mais unidades de CC até à altura da primeira inseminação artificial (IA) diminui a probabilidade de concepção e aumenta a taxa de aborto (Bruno, 2010). Adicionalmente, vacas com doenças uterinas no pós-parto, hipocalcemia, cetose e deslocamento de abomaso,

possuem maior dificuldade em conceber à primeira IA, menor taxa de concepção e maior intervalo parto-concepção (Roche, 2006; Bruno, 2010).

## 2.2 Involução uterina

Para o útero se preparar para uma nova gestação, passa por um processo de involução uterina, durante o qual ocorre diminuição do tamanho uterino, depuração de detritos tecidulares e bactérias, assim como regeneração do endométrio (Gustafsson *et al.*, 2004). As contrações uterinas desempenham um papel importante na involução uterina. A contração da camada de músculo liso do útero é mediada por diferentes agentes, como estrogênio, prostaglandina, ocitocina e cálcio (Mateus e Lopes da Costa, 2002). Ocorre também expulsão de lóquio até 15-20 dias pós-parto. Ao longo da involução, o lóquio passa de um fluido vermelho-acastanhado para um material viscoso amarelo-esbranquiçado, devido à falta de suprimento sanguíneo (Sheldon *et al.*, 2006). A regeneração do epitélio uterino está completa aos 25 dias pós-parto, contudo as camadas tecidulares mais profundas só estão completamente restauradas entre seis a oito semanas pós-parto (Sheldon *et al.*, 2008). O processo involutivo apenas está finalizado aos 40-50 dias pós-parto (Sheldon *et al.*, 2008).

Considerando que alguns fatores como a idade, raça e nutrição influenciam a involução uterina, não é possível afirmar que esta seja um indicador específico de doença uterina (Sheldon *et al.*, 2006). Adicionalmente, a involução uterina é mais rápida em vacas primíparas do que em vacas mais velhas, sendo também mais rápida em vacas sem metrite, sem RP, sem doenças metabólicas e que não apresentaram distocia (Divers e Peek, 2008).

Por outro lado, o BEN tem sido relacionado com o atraso na ovulação pós-parto, comprometimento da concepção e sobrevivência embrionária, reduzindo assim a fertilidade (Butler, 2003; Bruno, 2010). Neste sentido, o retorno lento da atividade ovárica pós-parto é o principal impedimento para IA imediatamente após o período voluntário de espera. Contrariamente, vacas saudáveis normalmente ovulam a primeira vez 15 dias após o parto, a segunda 32 a 33 dias e as seguintes em ciclos de 21 dias (Divers e Peek, 2008).

## 2.3 Retenção Placentária

A RP trata-se de um acontecimento com importância significativa nas vacas leiteiras. Este é um assunto que causa alguma discordância entre os investigadores. A placenta é normalmente expelida três a oito horas após o parto. No entanto, há autores que consideram que há RP caso esta não seja expulsa nas 12 horas seguintes ao parto (Gustafsson *et al.*, 2004; Andrade *et al.*, 2008; Divers e Peek, 2008; Smith, 2009; Angrimani *et al.*, 2011; Hanafi e Ahmed,

2011). Já outros autores (Melendez e Risco, 2005; Hanafi e Ahmed, 2011) apenas consideram que estamos perante um caso de RP caso não haja expulsão da placenta num período até às 24 horas após o parto.

A expulsão da placenta depende de fatores mecânicos, hormonais e imunitários (Hanafi e Ahmed, 2011).

A RP é um problema importante, que causa um prejuízo significativo devido a perdas produtivas, reprodutivas, custos no tratamento da doença e diminuição do valor do animal no mercado (Kimura *et al.*, 2002). Para além disto, o animal fica subfértil mesmo após o tratamento e recuperação. Deste modo, é aconselhável investir na prevenção, de forma a controlar a situação, ao invés de ter gastos associados ao tratamento (Hanafi e Ahmed, 2011). A RP predispõe também para infeções uterinas e atrasa a involução uterina e o reinício da atividade ovárica pós-parto. Consequentemente, ocorre redução da *performance* reprodutiva, devido ao aumento do intervalo parto-conceção (um atraso de dois a seis meses na próxima gestação), aumento do número de inseminações por vaca e diminuição da taxa de conceção (Hanafi e Ahmed, 2011). Estes fatores levam a uma diminuição da rentabilidade da exploração (Andrade *et al.*, 2008).

Diversos autores sugerem valores diferentes de incidência de RP nas vacas leiteiras: Smith (2009) defende uma variação entre 8 a 12% em partos únicos; entre 3 a 39% segundo Kimura *et al* (2002); e entre 3 a 10% de acordo com Scott e Penny (2011). Um estudo realizado por Koch, numa vacaria (2013), obteve uma incidência de RP de 12,5%.

### 2.3.1 Fisiopatogenia

Várias semanas antes do parto dá-se o início ao processo fisiológico de destacamento da placenta, no entanto, este apenas termina no momento de expulsão do feto (Gustafsson *et al.*, 2004). A expulsão da placenta envolve três componentes: a maturação da placenta, a rutura do cordão umbilical e a contração uterina (Hanafi e Ahmed, 2011). O processo de maturação da placenta deve-se a alterações endócrinas no final da gestação e na altura do parto, o que leva a um enfraquecimento sucessivo da junção dos cotilédones com as carúnculas (Gustafsson *et al.*, 2004). Seguidamente, verifica-se a rutura do cordão umbilical e conseqüente hemorragia. Esta hemorragia provoca uma diminuição da pressão sanguínea da circulação placentária e, conseqüentemente, uma isquemia das estruturas. Ocorre assim a diminuição do tamanho dos vasos sanguíneos que, por sua vez, provoca uma diminuição da área superficial do epitélio coriônico, levando à separação das vilosidades coriônicas (Horta, 2000). Por fim, decorre a contração uterina, que provoca a separação física da placenta através da alteração da forma dos placentomas, permitindo a expulsão da mesma (Hanafi e Ahmed, 2011). A RP resulta assim da falha na separação dos cotilédones fetais das criptas das carúnculas maternas (Smith, 2009).



Embora a etiologia da RP não esteja bem definida, pensa-se que esta seja multifatorial (Andrade *et al.*, 2008). As causas principais para o seu desenvolvimento são: falhas nos mecanismos de maturação dos placentomas (cerca de 66% dos casos) e a inércia uterina (cerca de 5%) (Angrimani *et al.*, 2011; Prestes & Landim-Alvarenga, 2017). Existem várias razões que podem influenciar negativamente o destacamento dos placentomas, tais como a baixas concentração de estrogénios, diminuição da produção de prostaglandinas e a supressão do sistema imunitário (Noakes e Parkinson, 2015). As prostaglandinas, fundamentais para o mecanismo de expulsão da placenta, podem ser inibidas pela administração de anti-inflamatórios não esteroides no momento posterior à expulsão do feto (Horta, 1981 referido por Horta, 2000). A RP pode dever-se ainda a vários fatores como o stress, manejo inadequado, insuficiência imunitária materna, doenças bacterianas, deficiência de vitamina E, de iodo e selénio, intoxicações, distúrbios hormonais e doenças metabólicas como hipocalcémia e cetose (Andrade *et al.*, 2008).

Nos casos de RP ocorrem alterações imunológicas a nível dos placentomas, englobando uma redução do número de neutrófilos em circulação com consequente diminuição da sua migração para os placentomas (Divers e Peek, 2008), sendo esta fundamental na expulsão da placenta (Kimura *et al.*, 2002). Além disso, os neutrófilos possuem uma capacidade fagocítica reduzida, o que dificulta o reconhecimento da placenta como estranha ao organismo (Radostits *et al.*, 2006). Esta menor capacidade fagocítica poderá ser devido a carências de minerais e vitaminas ou a stress térmico. Adicionalmente, ocorre redução do número de linfócitos B e T, bem como uma diminuição do número e capacidade quimiotática e fagocítica dos leucócitos (Horta, 2000; Beagley *et al.*, 2010; Angrimani *et al.*, 2011; Benedictus *et al.*, 2011). Os leucócitos são uma fonte de collagenases que são essenciais para degradar o colagénio de tipo III, ao nível dos placentomas (Amin *et al.*, 2013). Vacas com RP apresentam menor quantidade de collagenases o que dificulta a separação dos cotilédones das carúnculas (Melendez *et al.*, 2006). O aumento do cortisol sanguíneo durante o parto, tem um efeito imunossupressor, prejudicando a função dos neutrófilos (Pathak *et al.*, 2015). Adicionalmente provoca uma diminuição da capacidade migratória dos linfócitos, com consequente redução da resposta imunitária (Amin *et al.*, 2013). Um estudo realizado por Hanafi e Ahmed (2011) demonstrou que vacas que desenvolvem RP possuem concentrações sanguíneas de cortisol mais elevadas, do que vacas saudáveis. Vacas com RP apresentam maior risco de desenvolver infeções uterinas e mastite, visto que apresentam um maior número de neutrófilos imaturos. Em adição, a acioxiacil hidrolase (AOAH), enzima capaz de neutralizar as endotoxinas, também se encontra em concentrações reduzidas, provavelmente devido ao maior número de neutrófilos imaturos nas vacas nestas condições (Dosogne *et al.* 1999).

A maioria das vacas que fazem RP não apresenta sinais clínicos graves. Regra geral os sinais passam pela diminuição do apetite e da produção leiteira (Smith, 2009). No entanto, esta diminuição da ingestão de alimento pode potenciar problemas metabólicos e deslocamento de abomaso (Divers e Peek, 2008).

### 2.3.2 Fatores de risco

Existem vários fatores de risco associados ao desenvolvimento de RP, tais como partos prematuros, aborto, nados-mortos, distocia, partos gemelares, indução do parto com corticosteroides e prostaglandina e cesariana (Gustafsson *et al.*, 2004; Divers e Peek, 2008; Smith, 2009; Scott e Penny, 2011; Noakes e Parkinson, 2015). Além disso, existe maior percentagem de casos de RP em fêmeas entre os cinco e sete anos de idade, uma vez que estas vacas possuem maior predisposição para a hipocalcémia e para BEN, e consequente imunodepressão. A taxa de ocorrência de RP é muito baixa em vacas primíparas (Angrimani *et al.*, 2011). Adicionalmente, vários autores relatam uma influência da descendência masculina numa maior expressão desta afeção. Tal é devido ao facto de um peso superior ao nascimento propiciar mais problemas no parto, sendo que, habitualmente, as crias do sexo masculino são mais pesadas do que as do sexo feminino (Horta, 2000; Smith, 2009; Hanafi e Ahmed, 2011). Por outro lado, Noakes e Parkinson (2015) afirmam uma predisposição hereditária para RP, defendendo que as vacas de carne são menos afetadas do que as vacas leiteiras, sendo que entre as últimas, a raça *Ayrshire* apresenta maior incidência do que a *Holstein-Frísia*. Outro dos fatores de risco apontados prende-se com vacas de elevada CC, dado que a obesidade pode levar a distocia e consequente RP. A partir de uma CC de 3,5 (numa escala de 5), o risco de RP aumenta (Noakes e Parkinson, 2015). Foi reportado também que animais sujeitos a stress térmico apresentam maior incidência de RP (Divers e Peek, 2008; Smith, 2009). As doenças metabólicas também são consideradas fatores de risco, especialmente a hipocalcémia (Smith, 2009).

Vacas com RP apresentam maior probabilidade de desenvolver esta condição nos anos seguintes, assim como uma maior predisposição para doenças metabólicas e por isso devem ser reavaliadas passadas quatro semanas após o parto (Gustafsson *et al.*, 2004; Andrade *et al.*, 2008; Divers e Peek, 2008).~

### 2.3.3 Prevenção

A prevenção deve focar-se nos fatores de risco. Deste modo, deve haver controlo da CC ao longo do ciclo produtivo, de modo a detetar vacas com elevada CC. Devem ser tomadas estratégias de minimização de BEN, através da maximização da ingestão de alimento no final do período seco e início da lactação. Para tal deve-se: evitar vacas com elevada CC na altura do parto; evitar a sobrelotação; evitar fazer mudanças no grupo de animais e na dieta; fornecer um espaço de manjedoura e bebedouro adequado ao número de animais; fornecer água e alimento de qualidade; optar por ração totalmente misturada, que permite incorporar componentes palatáveis como o melaço, que aumenta a energia da dieta; avaliar a quantidade de ração

fornecida e recusada (deve ser recusada cerca de 2-3%, sendo que esta deve ser retirada e poderá ser fornecida a animais numa fase produtiva menos crítica); ter atenção ao piso da exploração para que não haja redução do número de visitas à manjedoura e consequente redução da ingestão de alimento (Mullingan *et al.*, 2006). Deve ser evitada a carência de minerais e vitaminas, através da suplementação pré-parto com antioxidantes, vitamina E, selênio (Emtenan M. Hanafi & W.M. Ahmed, 2011). A hipocalcémia deve ser prevenida, através do fornecimento de dietas aniónicas, dietas pobres em cálcio antes do parto ou administração de cálcio oral após o parto (Thilsing-Hansen *et al.*, 2002). Para diminuir a probabilidade de ocorrência de RP, também deve ser evitadas situações de distocia, aborto e partos gemelares, e a componente genética pode e deve também ser considerada, selecionando touros que originem crias com peso ao nascimento adequado para a raça, por exemplo (Hanafi e Ahmed, 2011). Além disso, deve ser garantido o bem-estar antes e durante o parto.

## 2.4 Infeções Uterinas

O surgimento de infeções uterinas no pós-parto influencia negativamente quer o bem-estar animal, contribuindo para o desconforto da vaca, como também a economia da exploração, afetando a *performance* reprodutiva e reduzindo o potencial lucrativo da mesma (Bicalho *et al.*, 2012).

A metrite consiste na inflamação de todas as camadas da parede uterina (endométrio, submucosa, muscular e serosa) (Sheldon *et al.*, 2006). Existem dois tipos de metrite: puerperal e clínica. A metrite puerperal é caracterizada por um aumento do volume do útero com corrimento uterino fétido, vermelho-acastanhado, fluído a viscoso, esbranquiçado e associado a sinais sistémicos (diminuição da produção de leite, apatia e outros sinais de toxemia) e febre (>39,5°C), que pode ocorrer até 21 dias pós-parto (Sheldon *et al.*, 2006). Por outro lado, animais que não apresentam sinais sistémicos, mas que possuem um excessivo aumento do volume do útero e corrimento purulento no período de 21 dias pós-parto são diagnosticados com metrite clínica (Sheldon *et al.*, 2006).

A endometrite trata-se da inflamação superficial do endométrio, limitada à mucosa. Por este motivo, o útero de uma vaca com esta infeção não é muito maior do que o de uma vaca saudável (Sheldon *et al.*, 2008). Existem dois tipos de endometrite, a clínica e a subclínica. A endometrite clínica é descrita como a presença de corrimento uterino purulento (>50% de pus) após os 21 dias do parto, com diâmetro cervical >7,5cm, ou corrimento mucopurulento (50% pus e 50% de muco) detetável a partir dos 26 dias pós-parto, na ausência de sinais sistémicos (LeBlanc *et al.*, 2002; Sheldon *et al.*, 2006). Por sua vez, a endometrite subclínica é uma inflamação endometrial na ausência de sinais clínicos (Sheldon *et al.*, 2006), caracterizando-se pela presença de >18% de neutrófilos na citologia uterina, de 21-33 dias pós-parto ou >10%

entre os 34-47 dias pós-parto (Sheldon *et al.*, 2008). Esta inflamação está normalmente associada à não recuperação dos tecidos após endometrite clínica ou a trauma (Sheldon *et al.*, 2009).

A piometra pode ser definida como uma acumulação de material purulento no lúmen uterino na presença de corpo lúteo persistente (devido a falha na luteólise) e cérvix fechada. Ovulações muito precoces no período pós-parto e uma formação de um corpo lúteo ativo são causas apontadas para esta infecção (Sheldon *et al.*, 2006). Os cornos uterinos, por sua vez, estão aumentados e distendidos e frequentemente há assimetria uterina, devido a involução uterina incompleta (Noakes e Parkinson, 2015).

Normalmente, 25-40% dos animais apresentam metrite clínica nas primeiras duas semanas pós-parto (Sheldon *et al.*, 2008; Opsomer e Kruijff, 2009; Sheldon *et al.*, 2009; Galvão, 2013). A incidência de endometrite clínica apresenta uma grande variabilidade de valores percentuais entre diversos autores, 7,5-8,9% (Divers e Peek, 2008), 15-20% (Sheldon *et al.*, 2009), 16,9% (LeBlanc *et al.*, 2002) e 27% (Potter *et al.*, 2010). Relativamente à incidência de endometrite subclínica, esta pode variar entre 37 a 74% (Sheldon *et al.*, 2009), 35 a 50% (Kasimanickam *et al.*, 2004; Gilbert *et al.*, 2005) e 11 a >70% em algumas explorações (Kasimanickam *et al.*, 2004; Gilbert *et al.*, 2005; Hammon *et al.*, 2006; Barlund *et al.*, 2008; Galvão *et al.*, 2009; Cheong *et al.*, 2011). A piometra é rara, ocorrendo em apenas 5% dos casos de infecção uterina (Sheldon *et al.*, 2008). A discrepância nos valores de incidência das infecções uterinas deve-se a vários fatores, como a falta de homogeneidade nos métodos de diagnóstico, na classificação das infecções uterinas, bem como nas práticas de manejo aplicadas em cada exploração (Földi *et al.*, 2006).

#### 2.4.1 Fisiopatogenia

O balanço entre organismos patogênicos que contaminam o útero, o estado sanitário, o sistema imune da vaca, e a dieta são fatores apontados para o desenvolvimento e gravidade da doença uterina (Földi *et al.*, 2006; Sheldon *et al.*, 2006; Sheldon *et al.*, 2008).

Em condições normais, o útero tem vários mecanismos de defesa para prevenir a sua colonização por agentes patogênicos. O útero é protegido por barreiras físicas, como a vulva, vestíbulo, vagina e cérvix que atuam contra a ascensão bacteriana pelo trato genital (Noakes e Parkinson, 2015). Durante o parto, as barreiras físicas estão comprometidas, permitindo a progressão de bactérias do ambiente, fezes e pelo do animal (Sheldon e Dobson, 2004). Além destas barreiras físicas, o útero é protegido também por barreiras fisiológicas que incluem grande quantidade de muco secretado pela vagina e cérvix. Adicionalmente, o útero apresenta ainda uma barreira fagocitária constituída (Sheldon e Dobson, 2004). Os neutrófilos são as primeiras e mais importantes células fagocitárias a serem recrutadas da circulação periférica para o lúmen

uterino, contudo em muitos animais a capacidade funcional dos neutrófilos está comprometida após o parto, o que pode contribuir para o estabelecimento de infecção uterina. Para além dos neutrófilos, a mobilização de linfócitos e imunoglobulinas também é fundamental para a resposta imunitária (Sheldon e Dobson, 2004).

*Escherichia coli* e *Trueperella pyogenes* são as principais bactérias encontradas no útero de vacas com infecção uterina, seguidas de *Prevotella spp*, *Fusobacterium necrophorum* e *Fusobacterium nucleatum* (Földi *et al.*, 2006; Sheldon *et al.*, 2009; Kaufmann *et al.*, 2010). Infecções do útero com *E. coli* parecem potenciar infecções por *Trueperella pyogenes* (Sheldon e Dobson, 2004; Williams *et al.*, 2007; Divers e Peek, 2008; Sheldon *et al.*, 2009). Considera-se assim que as infecções mais severas são provocadas pela ação sinérgica entre os diferentes agentes (Sheldon e Dobson, 2004; Williams *et al.*, 2007; Divers e Peek, 2008; Sheldon *et al.*, 2009).

#### 2.4.2 Fatores de risco

O desenvolvimento de infecções uterinas está associado a diversos fatores de risco como lesões uterinas e manuseamento intra-uterino, nomeadamente durante a resolução de distocia; nados-mortos; aborto, cesariana; RP; atraso na involução uterina; doenças metabólicas (hipocalcémia, cetose e deslocamento de abomaso à esquerda); tipo de flora no lúmen uterino; e a administração de progesterona ou glucocorticoides (LeBlanc *et al.*, 2002; Sheldon *et al.*, 2008; Dubuc *et al.*, 2010; Galvão, 2013). Outro fator de risco está relacionado com a descendência masculina, uma vez que parece estar associado com maior probabilidade de trauma do trato genital feminino e perturbação das barreiras físicas contra a infecção. Pelo que, o uso de sémen sexado irá reduzir a incidência de endometrite clínica (Potter *et al.*, 2010).

Adicionalmente, a falta de exercício e a hipocalcémia são as principais causas de redução de contração do miométrio, resultando na estagnação e acumulação de lóquio, o que irá aumentar o risco de complicações bacterianas (Sheldon e Dobson, 2004; Földi *et al.*, 2006). Segundo Martinez *et al* (2012), vacas com hipocalcémia subclínica apresentam menores concentrações de neutrófilos em circulação e maior quantidade de neutrófilos com função comprometida, o que contribui para a maior predisposição para metrite quando comparadas com que vacas normocalcémicas. Na mesma linha de pensamento, a deficiência de minerais e vitaminas, principalmente selénio e vitamina E, tem sido identificada como causa de doença uterina, provavelmente devido ao efeito que apresenta na função dos neutrófilos (Cebra *et al.*, 2003). Em explorações com história de deficiência de selénio e uma elevada incidência de RP, a suplementação de vitamina E juntamente com selénio pode reduzir a incidência de RP, mas o efeito da suplementação noutras doenças reprodutivas é limitado (Galvão, 2013).

A hipercetonemia aumenta a probabilidade de infecção uterina, porque tem um efeito imunossupressor, além de refletir uma diminuição da ingestão de matéria seca e consequentemente uma redução da ingestão de antioxidantes e cálcio (Horst *et al.*, 1997). Além disso, vacas que desenvolvem metrite e endometrite apresentam diminuição da ingestão de matéria seca duas semanas antes do parto, prolongando-se até cinco semanas pós-parto (Huzzey *et al.*, 2007), o que explica também a maior incidência de deslocamento de abomaso à esquerda, devido a menor repleção ruminal (Opsomer e Kruif, 2009).

Surpreendentemente, o nível de higiene do ambiente parece estar pouco relacionado com a quantidade e qualidade da flora bacteriana uterina (Noakes *et al.*, 1991 referido por Sheldon e Dobson, 2004).

### 2.4.3 Prevenção

As doenças uterinas clínicas e subclínicas estão associadas a subfertilidade e infertilidade, levando ao aumento do intervalo parto-primeira IA, aumento do intervalo parto-concepção e aumento da taxa de refugo devido a problemas reprodutivos (Sheldon *et al.*, 2006). Estudos demonstram que vacas com endometrite apresentam taxas de concepção inferiores (29,8% vs. 37,9%), intervalo médio parto-concepção maior (151 vs. 119 dias) e a taxa de refugo superiores (6,7% vs. 3,8%) devido a problemas reprodutivos (LeBlanc *et al.*, 2002; Gilbert *et al.*, 2005; Hammon *et al.*, 2006; Williams *et al.*, 2007; Potter *et al.*, 2010). Neste sentido, vacas com endometrite clínica necessitam de mais 30 dias para ficarem gestantes, em comparação com vacas saudáveis (Dubuc, 2011). Adicionalmente, as infecções uterinas suprimem a secreção de hormona libertadora de gonadotrofina (GnRH) pelo hipotálamo, e subsequente inibição da secreção de hormona luteinizante (LH) pela hipófise, o que induz uma menor probabilidade de os animais ovularem (8% vs. 40%), comparativamente com animais saudáveis (Sheldon *et al.*, 2008; Sheldon *et al.*, 2009). Estes animais possuem também folículos mais pequenos (Sheldon *et al.*, 2008).

A infecção uterina não só influencia a ciclicidade ovárica, como também prejudica o estabelecimento da gestação, quer pela presença de pus, quer pela alteração da resposta imune (Opsomer e Kruif, 2009). A consequência reside mais uma vez na subfertilidade associada a ovulação tardia, corpo lúteo persistente e baixa taxa de concepção (Sheldon e Dobson, 2004).

Assim, é necessário implementar práticas que possam levar à prevenção das doenças uterinas. A avaliação dos animais após o parto deve permitir o processo normal de involução uterina, mas deve providenciar o tratamento antes do início da época reprodutiva (Sheldon *et al.*, 2006). O princípio para a prevenção das infecções uterinas é o de maximizar a função imune no periparto, principalmente através do aumento da ingestão de matéria seca no período de transição e maximização do conforto da vaca, que pode ser alcançado evitando mudanças nos

grupos de animais três semanas antes do parto, instalações apropriadas, manutenção do índice temperatura-humidade adequado e uma correta ventilação (Urton *et al.*, 2005; Galvão, 2013).

## 2.5 Mastite

Ao longo dos anos, o principal objetivo da indústria leiteira tem sido selecionar para uma maior produção de leite. Contudo parece haver uma correlação genética não favorável entre a ocorrência de mastite e a produção de leite. Deste modo, é expectável que a seleção para maior produção leve a uma diminuição genética da resistência a doenças, com consequente redução da saúde do úbere (Hansen *et al.*, 2002, Heringstad *et al.*, 2003).

A mastite pode ser descrita como a inflamação do parênquima da glândula mamária, independentemente da causa, que provoca alterações físicas e químicas do leite e alterações patológicas do tecido glandular (Radostits *et al.*, 2006). As principais alterações do leite incluem descoloração, presença de coágulos e principalmente grande quantidade de leucócitos. Em muitos casos clínicos há edema, calor e dor da glândula mamária (Radostits *et al.*, 2006).

A mastite pode ser classificada como mastite clínica ou mastite subclínica. A mastite clínica é definida como a inflamação da glândula mamária que pode ser detetada por coágulos de leite, endurecimento e edema do úbere, sendo que a vaca pode apresentar diminuição da produção de leite e sinais gerais de doença. Contrariamente, a mastite subclínica consiste numa ligeira infeção da glândula mamária, não sendo evidentes mudanças externas, como alterações macroscópicas do leite, do úbere ou do animal. No entanto, ocorre diminuição da produção de leite e aumento do número de células somáticas (CCS) (Smith, 2009; Blowey e Edmondson, 2013).

As mastites podem ainda ser classificadas como contagiosas ou ambientais, dependendo da fonte da infeção e modo de transmissão. Na mastite contagiosa, os quartos infetados são os principais reservatórios dos agentes patogénicos e a sua transmissão ocorre através do equipamento de ordenha contaminado (Radostits *et al.*, 2006; Divers e Peek, 2008; Smith, 2009). Os agentes mais frequentes deste tipo de infeção são, *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Mycoplasma* sp, *Staphylococcus* coagulase-negativos e *Corynebacterium bovis* (Radostits *et al.*, 2006; Divers e Peek, 2008; Smith, 2009; Blowey e Edmondson, 2013). Na mastite ambiental, como o próprio nome indica, o principal reservatório é o ambiente, pelo que a transmissão ocorre quando os tetos ficam contaminados com agentes patogénicos ambientais. Esta contaminação pode ocorrer através de mau manejo ambiental, como camas húmidas, cubículos sujos com matéria fecal, água contaminada, ordenha de úberes molhados, preparação pré-ordenha do teto e do úbere inadequadas, instalações que levam a trauma do teto, mau controlo de moscas, entre outros fatores (Radostits *et al.*, 2006; Smith, 2009; Blowey e Edmondson, 2013). Os microrganismo ambientais incluem *Escherichia coli*, *Klebsiella*

*pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, *Serratia* sp., *Proteus* sp., *Pseudomonas* sp, *Staphylococcus* coagulase-negativos, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Prototheca* e *Trueperella pyogenes* (Divers e Peek, 2008).

Aproximadamente 10% a 20% das vacas desenvolvem mastite clínica durante a lactação (Radostits *et al.*, 2006; Compton *et al.*, 2007; Smith, 2009; Castro, Ribeiro e Simões, 2019). Por outro lado, um estudo realizado em Brandenburg, na Alemanha obteve uma prevalência de mastite subclínica de 26,4% (Tenhagen *et al.*, 2006). Uma baixa percentagem de vacas (5%) morre ou é eutanasiada devido a mastite (Smith, 2009).

### 2.5.1 Fisiopatogenia

O úbere e o teto possuem mecanismos de defesa que permitem proteção contra a entrada de microrganismos (Smith, 2009). As defesas do teto atuam evitando a proliferação de microrganismos para o úbere, na medida em que a pele do teto intacta fornece um ambiente hostil para a multiplicação bacteriana. Adicionalmente, os mecanismos de fecho do canal do teto reduzem o risco de infecção entre ordenhas (Blowey e Edmondson, 2013). Por outro lado, as defesas do úbere atuam removendo os agentes patogênicos que conseguiram passar pelo canal do teto, por fagocitose, libertação de mediadores da inflamação e migração de leucócitos polimorfonucleares para o úbere infetado (Suriyasathaporn *et al.*, 2000). A intensidade da resposta inflamatória determina se a mastite é subclínica ou clínica (Smith, 2009). Contudo, quando os mecanismos de defesa estão comprometidos, por exemplo no periparto, ou quando os agentes patogênicos são capazes de resistir às defesas normais, pode desenvolver-se mastite clínica (Smith, 2009).

Embora a mastite possa ocorrer como resposta a um trauma, na maioria dos casos ocorre devido a infecção intramamária (Smith, 2009).

A CCS é uma medida para determinar a qualidade do leite, fornecendo também uma informação quanto ao estado de saúde da glândula mamária (Schukken *et al.*, 2003), sendo o indicador mais usado na identificação de mastites (Radostits *et al.*, 2006). Embora a infecção intramamária seja a principal responsável pelo aumento da CCS, este também pode ser influenciado pela fase de lactação e produção leiteira. Neste sentido, o colostro e o leite produzidos na primeira semana de lactação apresentam valores superiores de CCS do que o leite produzido após esta fase (Smith, 2009). Considera-se que há infecção quando a CCS é superior a 200,000 células/ml (Blowey e Edmondson, 2013). Contrariamente, contagens inferiores a 200.000 células/ml são geralmente indicativas de ausência de infecção do úbere (Radostits *et al.*, 2006).



## 2.5.2 Fatores de Risco

Os fatores de risco podem estar relacionados diretamente com o animal, com a sua nutrição ou com o seu ambiente.

A prevalência de infecção aumenta com a idade, atingindo o pico aos sete anos (Zadoks *et al.*, 2001; Radostits *et al.*, 2006; Bree *et al.*, 2009). A maioria de novas infecções ocorre durante o período seco e durante os primeiros dois meses de lactação, quando os mecanismos de defesa estão comprometidos, sendo que o maior risco de contrair mastite ocorre nos primeiros 50 dias de lactação (Leslie *et al.*, 2000; Radostits *et al.*, 2006). Adicionalmente, as vacas altas produtoras de leite são as mais suscetíveis (Suriyasathaporn *et al.*, 2000; Radostits *et al.*, 2006). Os fatores genéticos também devem ser considerados quando se analisa o risco de contrair mastite. Begley *et al.* (2009) mostram a superioridade da raça Vermelha Norueguesa, no que diz respeito à saúde do úbere, comparativamente com a *Holstein-Frísia*.

Em termos de nutrição, os mecanismos de defesa do úbere estão diminuídos durante o período de BEN, uma vez que a capacidade fagocítica de células polimorfonucleadas e macrófagos está prejudicada durante esta fase (Leslie *et al.*, 2000; Suriyasathaporn *et al.*, 2000). Consequentemente, as vacas apresentam maior suscetibilidade a mastite clínica (Suriyasathaporn *et al.*, 2000). Quando a ingestão de alimento diminui, dá-se igualmente uma diminuição da ingestão de vitaminas e minerais, o que pode potencializar a suscetibilidade à mastite. Dos existentes, destacam-se a vitamina E e o selênio, principalmente devido à sua atividade antioxidante e aos seus efeitos benéficos sobre o sistema imune, especialmente na função dos neutrófilos (Smith, 2009). Por esta razão, uma carência destes nutrientes potencia a mastite clínica (Radostits *et al.*, 2006). A suplementação de micronutrientes essenciais como cobre, selênio, zinco, vitamina A, betacarotenos, vitamina E, tem um efeito positivo na saúde do úbere, diminuindo a incidência e duração das mastites clínicas (Scaletti *et al.*, 2003; Radostits *et al.*, 2006; Cope *et al.*, 2009; Harmon e Torre, 1997 referido por Scaletti e Harmon, 2012).

Adicionalmente, quando existe hipercetonemia, os neutrófilos e leucócitos têm menor capacidade de defesa fagocítica o que compromete as defesas do úbere (Leslie *et al.*, 2000; Suriyasathaporn *et al.*, 2000). A hipocalcemia, por sua vez, prejudica a contração do músculo liso, que é fundamental para o encerramento do esfíncter do teto no pós-ordenha, predispondo assim para a mastite (Goff, 2008).

O mau manejo das instalações e das camas aumenta o risco de infecção e a incidência de mastite clínica, devido a microrganismos ambientais (Radostits *et al.*, 2006). O equipamento de ordenha pode afetar também a incidência de mastite clínica, na medida em que pode atuar como fonte de contágio, lesionar a ponta do teto e aumentar a colonização bacteriana na extremidade do teto (Blowey e Edmondson, 2013).

### 2.5.3 Prevenção

A mastite é considerada uma das doenças mais dispendiosas da indústria do leite, uma vez que apresenta perdas económicas com a diminuição da produção de leite, custos com medicação e serviços veterinários, leite rejeitado proveniente de animais doentes e tratados, alteração na composição e qualidade do leite, fatores que implicam penalizações no preço do leite, potencia o risco de outras doenças e refugo prematuro ou mesmo aumento da mortalidade (Bar *et al.*, 2008; Divers e Peek, 2008; Smith, 2009). As infeções podem ser prevenidas se implementados os seguintes pontos do controlo de mastites:

(1) A desinfeção germicida dos tetos antes da ordenha (*predipping*), uma importante medida de controlo de mastite ambiental (Smith, 2009). O *predipping* consiste na desinfeção do teto antes da ordenha, tendo como objetivo reduzir o número de bactérias no mesmo, antes da colocação da unidade de ordenha (Blowey e Edmondson, 2013);

(2) A remoção dos primeiros jatos de leite deve ser feita antes ou durante a limpeza pré-ordenha. Este procedimento remove as bactérias da extremidade e canal do teto e permite a vigilância de leite anormal, pelo que melhora a deteção de mastite (Divers e Peek, 2008; Blowey e Edmondson, 2013);

(3) A desinfeção germicida dos tetos pós-ordenha (*postdipping*) é importante na redução de novas infeções intramamárias. Os *dips* vão apenas prevenir novas infeções intramamárias, não tendo influência na duração de infeções já existentes (Divers e Peek, 2008);

(4) O refugo de vacas com infeções crónicas;

(5) O reconhecimento e tratamento rápido das vacas com mastite clínica;

(6) O uso correto e manutenção da máquina de ordenha;

O conjunto das medidas enumeradas permite reduzir a prevalência e incidência de mastite (Radostits *et al.*, 2006; Smith, 2009).

## 2.6 Cetose

A cetose é um distúrbio metabólico frequente em vacas leiteiras na fase inicial da lactação. Esta é caracterizada pelo aumento das concentrações de corpos cetónicos, como o ácido acetoacético, a cetona e o BHB, no sangue, urina e leite (Zhang *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2012). O corpo cetónico mais abundante e mais estável é o BHB, sendo medido mais frequentemente no sangue. Na urina detetam-se o ácido acetoacético e a cetona, em menor quantidade. No leite também são detetados o ácido acetoacético e a cetona, contudo é um teste menos sensível do que o teste feito na urina (Voyvoda e Erdogan, 2010). Nos últimos anos, os bovinos leiteiros têm sido selecionados geneticamente para alta produção de leite e dado que a

sua capacidade de ingestão, muitas das vezes, não é suficiente para satisfazer as suas necessidades energéticas, estes entram em BEN (Divers e Peek, 2008).

Uma vez que a elevação dos corpos cetónicos após o parto é considerada uma resposta metabólica normal, devido ao aumento das necessidades energéticas, a definição de concentração elevada de corpos cetónicos deve ser baseada nos impactos que esta causa na saúde e produção (Duffield *et al.*, 2009). Assim, a cetose torna-se uma doença apenas quando a produção de corpos cetónicos excede o seu uso como fonte de energia, levando a um aumento dos níveis séricos de corpos cetónicos e AGNE e diminuição da glucose sanguínea (Smith, 2009).

Segundo Radostits *et al* (2006), pode-se classificar a cetose como primária ou secundária e clínica ou subclínica. A cetose primária usualmente está associada a um consumo insuficiente de energia, que leva a BEN no início de lactação. Como consequência há uma redução da glucose no sangue e no fígado e um aumento da mobilização das reservas lipídicas, resultando numa acumulação de corpos cetónicos (Oetzel, 2004; Smith, 2009; Scott e Penny, 2011). Normalmente, a cetose primária ocorre entre a terceira e a sexta semanas após o parto, quando a produção de leite aumenta (Oetzel, 2004; Scott e Penny, 2011), e em vacas aparentemente bem alimentadas e com CC apropriada antes do parto e sem outras afeções clínicas, mas que estão em BEN (Divers e Peek, 2008). Deste modo, a cetose primária ocorre quando a vaca não consome energia suficiente para suprimir os requisitos de glucose para a lactogénese (Scott e Penny, 2011). A cetose secundária, por sua vez, está associada a um estado de lipidose hepática, devido a um armazenamento exagerado de AGNE (Fleming, 2015). Este tipo de cetose ocorre quando outras doenças, tais como deslocamento de abomaso, reticulite traumática, metrite, mastite, levam a uma diminuição da ingestão de alimento (Radostits *et al.*, 2006).

Os sinais clínicos de cetose são vagos e inespecíficos. Ainda assim, a cetose é classificada como clínica e subclínica com base nos níveis de corpos cetónicos no sangue, urina e leite e na presença ou ausência de sinais clínicos (Smith, 2009). Numa vaca saudável as concentrações de BHB no plasma são inferiores a 1mmol/L (Radostits *et al.*, 2006). Valores de BHB  $\geq 1,2$  a 1,4 mmol/L, na ausência de sinais clínicos, indicam cetose subclínica (Andersson, 1988; Divers e Peek, 2008; Zhang *et al.*, 2009), e muitas vezes são encontrados valores superiores a 3,0 mmol/L no caso de cetose clínica (Duffield *et al.*, 2009). Segundo Fleming (2015), estamos perante um caso de cetose clínica quando os valores de BHB no sangue são  $\geq 1,5$  mmol/L.

Normalmente, a prevalência de cetose clínica é de 13,1% (variando de 2% a 22%) (Smith, 2009) enquanto que a de cetose subclínica é de 21,8% (variando de 11,2% a 36,6%) (Suthar *et al.*, 2013). É difícil comparar resultados de incidência e de prevalência de cetose de diversos estudos, uma vez que inúmeros fatores, tanto intrínsecos à vaca, como fatores associados à exploração influenciam as taxas obtidas (Suthar *et al.*, 2013). Os fatores intrínsecos ao animal incluem, o número de gestações, a partir da terceira gestação o risco de desenvolver

cetose é superior, e o facto de o animal apresentar outra doença. Os fatores associados à exploração estão relacionados com o sistema de alimentação, sendo que explorações que fornecem alimento parcialmente misturado apresentam maior percentagem de casos de cetose do que explorações que fornecem alimento totalmente misturado. Isto pode ser explicado, pelo facto de com uma alimentação totalmente misturada, conseguirmos garantir que os animais têm à disposição uma dieta com valores pré-estabelecidos de forragem e concentrado para uma boa produção e saúde, sendo mais difícil o animal escolher uns alimentos e rejeitar outros. Deste modo é possível que os animais, a qualquer altura do dia, consumam uma dieta equilibrada em nutrientes. A sobrelotação também potencia o surgimento desta afeção. Explorações maiores têm tendência a apresentar menor percentagem de casos de cetose, dado que na maioria das vezes possuem maior controlo nutricional e um arraçoamento adequado para as diferentes fases de produção. Além disso, o método de diagnóstico utilizado, o valor limite estabelecido para o BHB e a escolha dos grupos de vacas a serem monitorizados vão influenciar as taxas de cetose obtidas (Berge e Vertenten, 2018).

### 2.6.1 Fisiopatogenia

Está documentado que uma deficiência em energia pode levar ao desenvolvimento de cetose, aumentando a suscetibilidade a doenças infecciosas e metabólicas (Duffield *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2009; McArt *et al.*, 2012). Em adição, na fase final da gestação, a cetose surge como resposta a fatores hormonais, diminuição da capacidade do rúmen para ingestão de matéria seca, assim como um aumento da lipólise (Divers e Peek, 2008).

O pico de produção de leite ocorre entre a quarta e sexta semana pós-parto, contudo a ingestão de matéria seca máxima só ocorre entre a oitava e décima semanas pós-parto. Deste modo, o consumo de energia pode não acompanhar as necessidades de manutenção e de produção de leite, ocorrendo um BEN (Suriyasathaporn *et al.*, 2000). Como resposta ao BEN e a baixas concentrações de glucose e insulina, as vacas mobilizam o tecido adiposo, com consequente aumento das concentrações de AGNE (Suriyasathaporn *et al.*, 2000; Radostits *et al.*, 2006). A oxidação completa de AGNE no fígado origina acetil-coenzima A, que pode ser usada para gerar energia através do ciclo de Krebs (Esposito *et al.*, 2014). Consequentemente, quando a acetil-coenzima A está em excesso, conduz à produção de corpos cetónicos, como ácido acetoacético, cetona e BHB. Este último é o corpo cetónico predominante no plasma. Os corpos cetónicos são os metabolitos intermediários da oxidação dos ácidos gordos, resultando especialmente da oxidação incompleta dos ácidos gordos, pela via da acetil-coenzima A (Leblanc, 2010).

## 2.6.2 Fatores de risco

Existem vários fatores de risco que podem aumentar a predisposição para a cetose. A incidência de cetose aumenta com a idade da vaca, descendência masculina, nados-mortos e reduzida facilidade de parto (McArt *et al.*, 2012). A sobrealimentação durante o período seco provoca uma elevada CC, aumenta os níveis de AGNE no pré-parto, diminui a ingestão de matéria seca depois do parto, aumentando os níveis de BHB pós-parto, o que potencia o risco de cetose (Smith, 2009; Janovick *et al.*, 2011). Um período seco muito extenso pode levar ao aumento da CC, sendo por isso um fator de risco para o aparecimento de cetose (Vanholder *et al.*, 2018). Podemos assim concluir que os fatores de risco alimentares incluem uma ração com quantidade insuficiente de energia, ingestão insuficiente de alimento, ingestão excessiva de alimento cetogénico como silagem com elevadas quantidades de ácido butírico, ou mau funcionamento do rúmen devido a mudanças bruscas na dieta ou excesso de concentrado (Scott e Penny, 2011). Em termos genéticos, vacas altas produtoras de leite são normalmente mais suscetíveis a cetose (Lyons *et al.*, 1991; Simianer *et al.*, 1991; Uribe *et al.*, 1995). O pico de incidência de cetose ocorre entre a quinta e sexta semana de lactação (Smith, 2009).

Adicionalmente, vacas que foram diagnosticadas com cetose clínica apresentam maior probabilidade de recorrência de cetose na lactação seguinte (Andersson e Emanuelson, 1985; Bendixen *et al.*, 1987; Smith, 2009).

Por outro lado, qualquer doença que ocorra no período de transição aumenta o risco de desenvolvimento de cetose, uma vez que reduz a ingestão de alimento, agravando o BEN (Smith, 2009).

## 2.6.3 Prevenção

A cetose fomenta a redução da produção leiteira, da fertilidade e da imunocompetência. A vaca torna-se assim mais vulnerável a outras doenças, visto que há um comprometimento da sua função imune e, assim um aumento do risco de refugo (Duffield, 2006). Vacas que desenvolvem cetose subclínica na primeira semana pós-parto, apresentam maior probabilidade de desenvolver DA, metrite, endometrite, cetose clínica, período anovulatório prolongado no pós-parto, aumento da severidade de mastite, de serem refugadas e menor taxa de concepção à primeira IA (McArt *et al.*, 2013). Adicionalmente, vacas com concentrações de BHB  $\geq 1,000$   $\mu\text{mol/L}$  na primeira semana após parto e  $\geq 1,400$   $\mu\text{mol/L}$  na segunda semana, têm menos 20% de probabilidade de ficar gestantes na primeira IA (Walsh *et al.*, 2007), sendo que o aparecimento de cetose subclínica nas duas primeiras semanas pós-parto aumenta o intervalo parto-concepção até aproximadamente 165 dias (Walsh *et al.*, 2007).

Podemos assim concluir que tanto a cetose clínica como a subclínica, são acompanhadas de perdas económicas resultantes da diminuição da produção de leite, menor taxa de concepção ao primeiro serviço, aumento do intervalo entre partos, aumento do risco de quisto ovárico, metrite, mastite e maior taxa de refugo (Radostits *et al.*, 2006). Deste modo, o maneio das vacas no final da lactação e durante o período seco é de extrema importância, devendo promover uma boa CC no momento do parto (Smith, 2009). Na altura do parto, a vaca deve possuir reservas de gordura suficientes para mobilização e produção de leite no pós-parto. A gordura corporal perdida no início da lactação deve ser repostada até ao final da mesma. Por outro lado, é também essencial que a vaca não esteja demasiado gorda antes do parto (Smith, 2009). O índice de CC deve ser assim supervisionado, uma vez que pode acrescentar informação sobre a eficiência da formulação da dieta e risco de cetose (Radostits *et al.*, 2006). Neste sentido, deve ser fornecida forragem de boa qualidade, não se deve suprir excesso de concentrado e a ingestão de matéria seca deve ser maximizada no período seco tardio e início de lactação, de forma a assegurar o balanço de proteína e energia da dieta (Leblanc, 2010). Além disso, quaisquer mudanças na alimentação devem ser feitas de forma gradual (Scott e Penny, 2011).

A monensina pode ser utilizada para reduzir a o BEN e diminuir o risco de cetose. Este ionóforo aumenta a concentração de propionato a nível ruminal, trazendo vantagens energéticas e nutricionais, como a redução da mobilização de gordura corporal, diminuindo a ocorrência de distúrbios metabólicos e aumentando a produção de leite (Conti *et al.*, 2008).

A medição da concentração de BHB deve integrar o plano de monitorização de vacas de leite, sendo que estas devem ser examinadas regularmente durante os primeiros dois meses após o parto (Zhang *et al.*, 2009). É aconselhável a realização de testes de cetose de rotina após o parto, de modo a que o diagnóstico seja precoce, prevenindo que casos subclínicos se tornem clínicos. Estes testes de diagnóstico devem ser realizados na segunda semana pós-parto, uma vez que é nesta altura que ocorre o pico de incidência de cetose (Duffield, 2004; Radostits *et al.*, 2006).

Por outro lado, as medidas de bem-estar são bastante importantes na prevenção de cetose. Neste sentido, deve ser fornecido um espaço adequado de manjedoura que facilite a alimentação e realização de algum exercício das vacas no periparto. Camas confortáveis e com área suficiente e um ambiente apropriado, possibilitam o descanso e a ruminação correta, favorecendo a ingestão de alimento (Duffield, 2006; Divers e Peek, 2008; Leblanc, 2010). Segundo Berge e Vertenten (2018) a forte associação entre cetose e outras doenças indica que as intervenções com fim de melhorar a nutrição e o maneio e, conseqüentemente reduzir a cetose vão provavelmente resultar numa redução de doenças associadas à produção.

## 2.7 Hipocalcémia

Entre as doenças metabólicas que afetam as vacas leiteiras, a hipocalcémia é o distúrbio macromineral mais importante, uma vez que potencia o aparecimento de outras afeções (Goff, 2006; Nogueira, 2012; Tsiamadis *et al.*, 2016). Trata-se de uma doença difícil de gerir, uma vez que os sinais clínicos iniciais são normalmente de curta duração e difíceis de detetar, em grande parte porque não são exibidos clinicamente. A hipocalcémia, geralmente é revelada pela medição da concentração de cálcio no sangue (Weaver *et al.*, 2016). Normalmente, os sinais clínicos de hipocalcémia só são notáveis a partir de concentrações de cálcio abaixo de 5mg/dl (Mateus e Lopes da Costa, 2002).

A concentração sérica de cálcio numa vaca adulta situa-se entre 2,1 e 2,5 mmol/L (8.5 e 10 mg/dL) (Goff, 2006; Goff, 2008). Dependendo dos autores, a hipocalcémia subclínica pode ser definida como a concentração de cálcio  $\leq 6$  mg/dL (Caixeta *et al.*, 2017); concentração de cálcio inferior a 7,5 mg/dl (Kara *et al.*, 2009; Smith, 2009). Por outro lado, a hipocalcémia clínica ocorre quando os valores de cálcio se situam abaixo de 5 mg/ dL (Mateus e Lopes da Costa, 2002).

As incidências apresentadas na literatura diferem consoante o país, tipo de exploração, nutrição, entre outros fatores. No geral, a incidência de hipocalcémia clínica varia entre 3.5% e 7%, mas pode atingir os 25% (DeGaris & Lean, 2008); em média 5-10% das vacas são afetadas por hipocalcémia clínica após o parto (Mulligan *et al.*, 2006a). Por outro lado, a incidência de hipocalcémia subclínica varia de 30 a 40% em alguns estudos (Roche *et al.*, 2002), de 23% a 39% noutros (Mulligan *et al.*, 2006a), existindo ainda outros autores que defendem que a hipocalcémia subclínica afeta cerca de 50% das vacas (Melendez, 2008; Oetzel e Goff, 1999 referido por Kara *et al.*, 2009). Outro estudo concluiu ainda que, 25% das vacas primíparas e cerca de 54% das vacas múltíparas apresentam hipocalcémia subclínica dentro de 48 horas pós-parto (Bisinotto *et al.*, 2012). Um estudo realizado por Koch (2014), obteve uma incidência média de hipocalcémia subclínica de 45.5%, variando consoante a lactação, sendo de 28.3%, 57.1%, 71.4% e 83.3% em vacas na segunda, terceira, quarta, quinta e mais lactações, respetivamente.

### 2.7.1 Fisiopatogenia

Durante a gestação, as necessidades de cálcio são mínimas, circunscrevendo-se apenas ao crescimento fetal e necessidades de manutenção (Nogueira, 2012). Contudo, na altura do parto, as necessidades de cálcio requeridas para produção de colostro e leite aumentam substancialmente. No entanto, a capacidade da vaca para mobilizar cálcio ósseo e absorver ativamente o cálcio a partir do intestino está reduzida, uma vez que durante a gestação estes mecanismos não foram usados, pelo que demoram alguns dias até serem ativados

(Nogueira, 2012). Deste modo, durante o parto, a vaca passa por um grande desafio para manter a homeostasia deste mineral, experienciando um certo grau de hipocalcemia durante os primeiros dias pós-parto, enquanto o mecanismo de absorção de cálcio a nível intestinal e de reabsorção de cálcio ósseo se adapta à lactação (Goff *et al.*, 1996 referido por Melendez, 2008). Neste sentido, muitas vacas encontram-se em balanço negativo de cálcio no início da lactação porque o cálcio que é excretado no leite, ou perdido por via fecal e urinária é superior àquele que é absorvido pela dieta ou reabsorvido do osso (Oetzel e Goff, 1999 referido por Melendez, 2008).

De modo a prevenir uma diminuição do cálcio no início da lactação, a vaca tem de repor aquele que é excretado no leite. Para isso, recorre à mobilização de cálcio dos ossos e aumenta a eficácia da sua absorção a partir do intestino (Goff, 2008). As concentrações sanguíneas de cálcio são reguladas pela glândula paratiroide que em resposta à diminuição das suas concentrações liberta a paratormona (PTH). A PTH atua primeiramente no rim, aumentando a reabsorção renal tubular de cálcio. Contudo, a quantidade de cálcio perdida na urina é reduzida, cerca de 1 a 2 g/dia, pelo que a ação da PTH é insuficiente para restabelecer as concentrações normais de cálcio (Goff, 2008; Smith, 2009). Neste sentido, grandes défices de cálcio estimulam a libertação prolongada de PTH, que, por sua vez, permite uma reabsorção osteoclástica de cálcio do osso e estimula a produção renal de 1,25-dihidroxitamina D. A 1,25-dihidroxitamina D potencia a absorção eficaz de cálcio a nível intestinal (Divers e Peek, 2008; Goff, 2008; Smith, 2009; Martín-Tereso e Martens, 2014).

As dietas aniónicas (ricas em cloro, enxofre e fósforo) estimulam a secreção de PTH e de 1,25-dihidroxitamina D, aumentando a absorção intestinal, reabsorção óssea e renal de cálcio, diminuindo assim a incidência de hipocalcemia (Sarwar *et al.*, 2000; Mulligan *et al.*, 2006b; Melendez, 2008). Adicionalmente, nas vacas em que é fornecida uma dieta rica em catiões (sódio, potássio, cálcio e magnésio), o pH pode tornar-se mais alcalino e mudar a conformação do recetor da PTH, diminuindo a sensibilidade dos tecidos à mesma. A falta de sensibilidade do osso à PTH leva à diminuição da reabsorção osteoclástica de cálcio. Igualmente, a falha de resposta dos rins à PTH leva à diminuição da reabsorção renal tubular de cálcio. Mais importante ainda, os rins não convertem a 25-hidroxitamina D em 1,25-dihidroxitamina D, e portanto a absorção intestinal de cálcio também fica afetada (Goff, 2006; Divers e Peek, 2008; Goff, 2008; Melendez, 2008; Smith, 2009).

Além do cálcio, o magnésio e o fósforo desempenham um papel importante na etiologia da hipocalcemia (DeGaris e Lean, 2008; Tsiamadis *et al.*, 2016). A hipomagnesiemia, por sua vez, provoca uma diminuição da sensibilidade do tecido ósseo e renal à PTH, podendo mesmo inibir a sua secreção, prejudicando a mobilização de cálcio (Smith, 2009; Neves *et al.*, 2017). Por outro lado, um aumento da ingestão de fósforo, aumenta a sua concentração no sangue, apresentando um efeito inibitório na produção de 1,25-dihidroxitamina D. Esta redução da produção de 1,25-dihidroxitamina D, vai por sua vez, diminuir a reabsorção de cálcio intestinal (Melendez, 2008).



## 2.7.2 Fatores de Risco

Existem vários fatores que potencializam a ocorrência de hipocalcemia nas vacas leiteiras, como a idade, raça, dieta e nível de produção leiteira (Melendez, 2008; Divers e Peek, 2009).

A idade aumenta o risco de hipocalcemia em cerca de 9% por lactação (DeGaris e Lean, 2008). Vacas mais velhas apresentam maior risco de hipocalcemia, devido à menor capacidade de mobilizar cálcio dos ossos. Tal ocorre, porque o número de células ósseas ativas diminui com a idade e o número de receptores para a 1,25-dihidroxitamina D no intestino delgado é menor (Horst *et al.*, 1990; Smith, 2009).

Quanto à raça, as vacas *Jersey* são mais suscetíveis a hipocalcemia do que as *Holstein-Frísia*, uma vez que o seu colostro e leite possuem maior concentração de cálcio e dispõem de menor número de receptores intestinais para a 1,25-dihidroxitamina D (Divers e Peek, 2008; Goff, 2008).

Em termos de dieta, como já foi referido, elevadas concentrações de fósforo e baixas concentrações de magnésio aumentam o risco de hipocalcemia (Lean *et al.*, 2006; Mulligan *et al.*, 2006a ; DeGaris e Lean, 2008). Por outro lado, a mobilização de cálcio dos ossos é mais lenta em vacas que foram alimentadas no pré-parto com dietas ricas neste mineral (Ramberg *et al.*, 1984 referido por DeGaris e Lean, 2008). Além disso, deficiências em selênio e iodo estão também relacionadas com o aumento da incidência de hipocalcemia (Husband, 2006 referido por Mulligan *et al.*, 2006a). O potássio é outro mineral cuja concentração plasmática influencia homeostase do cálcio. Uma dieta rica em potássio, aumenta notavelmente a incidência de hipocalcemia no puerpério (DeGaris e Lean, 2008). Uma elevada ingestão de potássio pode levar à hipocalcemia por duas vias distintas. Um aumento de potássio no plasma, pode conduzir a uma alcalose metabólica, e a uma diminuição da síntese renal de 1,25-dihidroxitamina D, que por sua vez diminui a absorção de cálcio no intestino (Bhanugopan *et al.*, 2010). Deste modo, é necessário ter em atenção os níveis de potássio na dieta, no pré-parto, uma vez que se estes níveis forem >1.8% é muito difícil controlar a hipocalcemia (Mulligan *et al.*, 2006b). Assim, um dos pontos importantes para a monitorização da hipocalcemia é fornecer dietas com ≤1.8% de potássio (Mulligan *et al.*, 2006b). Todavia, a redução deste mineral na dieta, por vezes, é difícil porque muitas pastagens possuem elevados teores potássio, como a luzerna (Goff, 2006)

Quanto ao nível de produção leiteira, o risco também parece aumentar com o aumento da quantidade de leite produzido (Payne, 1977).

### 2.7.3 Prevenção

A hipocalcemia acarreta grande prejuízo econômico, que inclui a diminuição da produção de leite, baixa *performance* reprodutiva, aumento dos custos com os tratamentos profiláticos ou clínicos e aumento do refugo (Goff, 2008; Melendez, 2008). A hipocalcemia reduz a eficácia da resposta imune no período pós-parto (Kimura *et al.*, 2006), visto que o cálcio intracelular desempenha um papel importante na ativação precoce das células (Kimura *et al.*, 2006). Desta forma, a ocorrência de hipocalcemia está relacionada com o aumento da incidência de outras doenças no período pós-parto. Dentro destas destacam-se, o deslocamento de abomaso à esquerda (DAE), uma vez que a hipocalcemia diminui a motilidade ruminal e abomasal. Isso ocorre porque o cálcio possui um papel importante na contratilidade muscular. A hipocalcemia também pode estar relacionada com a cetose, porque reduz a ingestão de alimento, fazendo com que haja uma maior mobilização das reservas corporais no início da lactação, mastite, metrite e RP, por afetar negativamente a contratilidade uterina, do esfíncter do teto e a imunidade da vaca (Mulligan *et al.*, 2006b ; Kimura *et al.*, 2006; DeGaris e Lean, 2008; Scheer, 2009; Smith, 2009; Vergara *et al.*, 2014).

Adicionalmente, um estudo realizado por Whiteford e Sheldon (2005) mostra que vacas com hipocalcemia apresentam o corno uterino gravídico com maior diâmetro, do que o não gravídico 15 a 45 dias pós-parto, o que comprova uma involução uterina mais lenta (Mulligan *et al.*, 2006). Outro estudo realizado por Mateus e Lopes da Costa (2002), mostra que concentrações de cálcio abaixo do limite fisiológico afetam a involução uterina normal e predis põem para infecção do útero, o que pode ser explicado pelo importante papel do cálcio na contração do miométrio no pós-parto, promovendo a expulsão de lóquio. Para além disto, estas vacas possuem um atraso na primeira ovulação pós-parto (Mulligan *et al.*, 2006b), uma vez que vacas com hipocalcemia subclínica possuem menos folículos ovulatórios 15, 30 e 45 dias pós-parto e folículos mais pequenos na primeira ovulação, quando comparadas com vacas normocalcémicas (Kamgarpour *et al.* 1999 referido por Mulligan *et al.*, 2006b).

Segundo vários autores, a hipocalcemia leva a um maior número de serviços por concepção (1,7 vs. 1,2), aumento do intervalo parto-primeiro serviço (68 versus 61 dias) e aumento do intervalo parto-concepção (88 vs. 76 dias) (Mulligan *et al.*, 2006b; Chapinal *et al.*, 2012; Martinez *et al.*, 2012; Weaver *et al.*, 2016). Permite-nos assim inferir que, a redução das concentrações sanguíneas de cálcio vão potenciar o desenvolvimento de infecções uterinas, atraso no retorno da função ovárica, atraso na involução uterina, tendo, deste modo, um impacto negativo sobre a fertilidade (Risco *et al.*, 1994; Mateus e Lopes da Costa, 2002; Mulligan *et al.*, 2006b; Caixeta *et al.*, 2017).

Várias medidas têm sido aplicadas para prevenir a hipocalcemia, tais como, a administração oral de cálcio facilmente absorvível na altura do parto, normalmente três a quatro doses 12-24 horas antes do parto a 24 horas pós-parto; dietas suplementadas com sais

aniônicos, fornecidas nas últimas semanas de gestação (21 a 45 dias antes do parto); dietas com baixo teor de cálcio e baixo teor de potássio durante as últimas semanas de gestação e administração de vitamina D, metabólitos ou análogos (dois a oito dias antes do parto) (Thilising-Hansen *et al.*, 2002). A suplementação de cálcio oral é uma prática comum, mas a sua eficácia depende da capacidade de absorção gastrointestinal. Estudos realizados por Goff e Horst (1993), onde utilizaram cloreto de cálcio e propionato de cálcio, verificaram que o cloreto de cálcio foi o sal com melhor resultado no aumento da concentração plasmática de cálcio e que a facilidade de absorção dos mesmos está relacionada com a sua facilidade de solubilidade na água. Contudo o cloreto de cálcio apresenta alguns riscos, podendo originar úlceras na mucosa bucal e na mucosa digestiva, por ser cáustico, e pode também levar a acidose ruminal, se fornecido em grande quantidade (Horst *et al.*, 1997). O propionato de cálcio, é uma boa alternativa pois não é cáustico para os tecidos, não é acidogénico e possui um precursor da glucose, o propionato, que pode ser importante para prevenir algum grau de cetose que a vaca possa vir a ter. Contudo, apesar da plausível eficácia no aumento da concentração plasmática de cálcio, é pouco prático de usar, uma vez que, são necessários 800ml água para diluir 50g deste sal (Goff e Horst, 1993). Seguindo o mesmo ponto de vista, quando é fornecida uma dieta pobre em cálcio, há estimulação da produção de PTH, potenciando a reabsorção óssea de cálcio e a produção de 1,25-dihidroxitamina D pelo rim. Na altura do parto os osteoclastos já estão ativos e em maior número, pelo que a perda de cálcio na lactação é mais facilmente repostada pelo cálcio ósseo. Se for fornecido cálcio na dieta, a estimulação prévia dos enterócitos pela 1,25-dihidroxitamina D, permite a sua utilização mais eficiente, evitando a hipocalcémia (Green *et al.*, 1981, referido por Goff, 2008). Contudo, uma dieta pobre em cálcio deve fornecer no máximo 20 g de cálcio absorvível por dia. Isto torna-se difícil em algumas explorações, mas existem soluções como aumentar a palha da dieta, adicionar à alimentação substâncias que se ligam ao cálcio como o zeólito e óleos vegetais (Lean *et al.*, 2006; Mulligan *et al.*, 2006; Smith, 2009; Martín-Tereso e Verstegen, 2011). Após o parto, a dieta deve mudar para uma alimentação com alto teor de cálcio (Goff, 2008). Para prevenção de hipocalcémia, também é usada uma suplementação com vitamina D, na dieta ou injetável, uma vez que esta aumenta a absorção intestinal de cálcio. Contudo, as doses efetivas são muito próximas das doses tóxicas. Por outro lado, doses baixas potenciam o surgimento de hipocalcémia, uma vez que níveis elevados de 1,25-dihidroxitamina D resultantes do tratamento suprimem a secreção de PTH e a síntese renal de 1,25-dihidroxitamina D endógena (Goff, 2006; Martín-Tereso e Verstegen, 2011).

## 2.8 Deslocamento de abomaso à esquerda

O deslocamento de abomaso à esquerda ocorre mais frequentemente nas primeiras seis semanas de lactação e em vacas multíparas, embora possa suceder em qualquer momento da lactação e gestação e em animais de várias idades (Radostits *et al.*, 2006; Divers e Peek, 2008). Esta doença pode ser caracterizada como um problema comum e economicamente importante nas vacas leiteiras no início da lactação (LeBlanc, Leslie e Duffield, 2005). Estas perdas económicas estão relacionadas com a diminuição na produção de leite, cerca de 30 a 50% e custo com o tratamento das vacas (LeBlanc, Leslie e Duffield, 2005; Divers e Peek, 2008).

A incidência de DAE varia entre explorações, de acordo com práticas de manejo (estabuladas vs. a campo), alimentação, probabilidade de outras afeções e clima (Smith, 2009). As alterações climáticas afetam negativamente a saúde dos animais, especialmente quando ocorrem de modo repentino e desequilibrado. Estas alterações afetam o sistema neurovegetativo do animal, resultando numa menor ingestão de matéria seca (Cannas da Silva *et al.*, 2002). Um estudo realizado em 26 explorações com 6500 animais da raça *Holstein-Frísia*, confirmou um aumento da incidência de DAE com a mudança de dias quentes e secos, para dias húmidos, chuvosos e frios (Radostits *et al.*, 2006). Martin (1972), averiguou uma maior incidência de DAE na primavera e início do verão. Esta associação poderá estar relacionada com a época de partos, bem como com a possível menor qualidade da silagem armazenada durante o inverno (Cannas da Silva *et al.*, 2002). Por outro lado, segundo Doll *et al.* (2009), o número de casos de DAE aumenta no inverno, provavelmente devido à redução da qualidade e quantidade de matéria seca ingerida durante esta estação do ano. Alguns estudos indicam que a incidência varia entre 0.5% a 2%, mas em algumas explorações pode atingir os 5 a 7% (LeBlanc, Leslie e Duffield, 2005; Radostits *et al.*, 2006; Steiner, 2006). Adicionalmente, sabe-se que a incidência tende a aumentar com a idade do animal (Smith, 2009). A hereditariedade e predisposição de certas raças para o DAE, foi sugerida e examinada, no entanto os resultados são inconclusivos (Radostits *et al.*, 2006). Certos autores defendem que a seleção genética levou ao aumento da profundidade corporal das vacas leiteiras, o que após o parto oferece maior espaço no abdómen para o abomaso se poder deslocar (Wittek *et al.*, 2007). A maior profundidade corporal pode ainda facilitar o DAE por conduzir a uma maior distância vertical entre o abomaso e o duodeno descendente, o que dificulta a saída do conteúdo do abomaso (Wittek *et al.*, 2007).

### 2.8.1 Fisiopatogenia e Fatores de Risco

As causas exatas de DA não estão bem definidas, contudo sabe-se que é uma doença multifatorial e que a falta de repleção ruminal, para criar uma barreira física ao movimento do abomaso, e a atonia dos reservatórios gástricos são os elementos chave da patogenia desta

afeção (LeBlanc, Leslie e Duffield, 2005; Smith, 2009). Neste sentido, após a atonia abomasal e ruminal ocorre acumulação de gases, produzidos pela fermentação microbiana, uma vez que os gases são menos expelidos do rúmen e passam menos para o intestino, causando então a distensão do abomaso (Doll *et al.*, 2009; Smith, 2009). Adicionalmente, a nutrição durante o período de transição é um dos principais fatores de risco na etiologia do DAE. A motilidade abomasal pode ser afetada por dietas ricas em concentrado e pobres em fibra, introdução muito rápida de concentrado no periparto e dietas ricas em silagem de milho (Windén, 2002; Melendez e Risco, 2005). A diminuição do rácio forragem/concentrado reduz a mastigação, o enchimento ruminal e a motilidade e aumenta significativamente a quantidade de ácidos gordos voláteis. Consequentemente, a pressão osmótica abomasal aumenta e o pH diminui, favorecendo a formação de metano e dióxido de carbono (Doll, Sickinger e Seeger, 2009). Por outro lado, os casos de DAE também aumentam com o fornecimento de forragens de má qualidade (Doll, Sickinger e Seeger, 2009). Podemos assim afirmar que, a diminuição da ingestão de forragem, assim como o fornecimento de forragem de má qualidade aumentam a suscetibilidade para DAE (Windén, 2002). Para além disso, a atonia abomasal pode estar relacionada com doenças metabólicas ou infecciosas, como hipocalcémia, cetose, RP, mastite e metrite. Estas doenças reduzem também o espaço ocupado pelo rúmen, uma vez que diminuem o apetite, potenciando assim o DAE (LeBlanc, Leslie e Duffield, 2005; Radostits *et al.*, 2006; Divers e Peek, 2008). Podemos deste modo afirmar que, a diminuição da incidência de outras doenças inflamatórias, como metrite e mastite, ajuda na prevenção de DAE (Smith, 2009).

Em termos genéticos, a vaca leiteira moderna foi selecionada para ser mais alta e ter o tórax e abdómen mais fundo, o que consequentemente providencia mais espaço para o movimento do abomaso (Wittek, Sen e Constable, 2007, Divers e Peek, 2008). Geralmente, há tanto maior risco de desenvolver DAE quanto maior for o nível produtivo (Fleischer *et al.*, 2001; Windén, 2002)..

## 2.8.2 Prevenção

Podemos assim concluir que as medidas de prevenção do DAE passam por otimizar a dieta no período seco, evitando vacas com excesso de CC no pré-parto, facilitar o processo de adaptação da vaca em lactação, socialmente e nutricionalmente e maximizar a ingestão de alimento pós-parto, de modo a evitar a falta de repleção ruminal (Windén, 2002). Tal pode ser conseguido através de uma introdução gradual de concentrado, aumento do tamanho da partícula de forragem e manutenção da concentração de cálcio após o parto (Smith, 2009). A qualidade, o comprimento mínimo de 1,3 a 2,5 centímetros, e o tipo de forragem (silagem de milho), assim como a elevada quantidade de concentrado fornecida são fatores a ter em conta de modo a evitar DA (Windén, 2002).

## 3 Trabalho Experimental

### 3.1 Introdução

Nos últimos anos, o principal objetivo do setor leiteiro tem sido selecionar geneticamente para uma maior produção de leite. Contudo, esta seleção acarretou alguns aspectos negativos como, um aumento dos problemas clínicos no pós-parto, má expressão do estro, embriões defeituosos e infecções uterinas, o que afeta negativamente a fertilidade (Dias *et al.*, 2013). Do aumento da produção advém um acréscimo dos requisitos nutricionais para a síntese de leite. Pelo que, se não existir uma maior ingestão de nutrientes, as funções reprodutivas podem ser afetadas (Dias *et al.*, 2013).

O correto funcionamento do organismo (ao nível do crescimento, da reprodução e da produção leiteira) exige um elevado número de elementos inorgânicos. De tal forma que, o balanço de minerais e vitaminas pode interferir na *performance* reprodutiva das vacas leiteiras (Dias *et al.*, 2013). A diminuição das concentrações sanguíneas de selênio, cobre, zinco, vitamina E e magnésio está relacionada com a redução da imunidade e uma maior suscetibilidade a doenças puerperais (Kincaid, 2008; Bicalho *et al.*, 2014). Neste sentido, perturbações nas concentrações destes minerais podem reduzir a ingestão de alimento, diminuir a motilidade ruminal e intestinal, abrandar a produtividade e potenciar o aparecimento de outras afeições (Goff, 2006). Os minerais são necessários em baixas quantidades, mas alterações na alimentação e a redução da ingestão de alimento podem reduzir o fornecimento de minerais em quantidades necessárias para o correto funcionamento do organismo (Bicalho *et al.*, 2014). Consequentemente, as concentrações sanguíneas destes minerais são influenciadas por fatores ambientais, principalmente a nutrição (Kronqvist, 2011; NRC, 2001). Os minerais e vitaminas são adicionados à alimentação em pequenas quantidades, mas é essencial que sejam fornecidos em quantidades adequadas, de forma a atender às necessidades dos animais (Scheer, 2009).

O zinco e o selênio são microminerais associados ao aumento do desempenho reprodutivo (Scheer, 2009), apresentando especial importância na involução uterina e doenças do pós-parto. O zinco auxilia na cicatrização e reestruturação dos tecidos, o que pode ser importante para a cicatrização uterina pós-parto (Scheer, 2009). Por outro lado, deficiências de zinco diminuem a ingestão de alimento (Kincaid, 2008), estando também associadas ao comprometimento do crescimento (Enjalbert *et al.*, 2006). Podemos assim afirmar que baixas concentrações deste mineral estão relacionadas com uma menor resistência a doenças (Shankar e Prasad, 1998).

A vitamina E e o selênio apresentam também benefícios, na medida em que reduzem os danos nos tecidos e participam na manutenção da integridade dos mesmos (Scheer, 2009). Deste modo, Scheer (2009) indica que a suplementação de selênio e vitamina E diminui a

incidência de RP e metrite, além de ajudar na involução uterina. Tal ocorre porque a vitamina E e o selênio desempenham um papel importante nas reações de stress oxidativo, sendo importantes para a função imune, prevenção de distúrbios reprodutivos e mastite (Nogueira, 2012; Bicalho *et al.*, 2014). Deficiências de selênio têm sido associadas a imunossupressão (Sordillo e Aitken, 2009) e falha reprodutiva (Spears e Weiss, 2008 referido por Bicalho *et al.*, 2014). Por outro lado, a concentração total de selênio tem sido relacionada com a função dos neutrófilos (Cebra *et al.*, 2003). Neste sentido, défices de nutrientes e minerais como vitamina E, selênio e cálcio podem provocar diminuição da função dos neutrófilos, e deste modo, potenciar o desenvolvimento de doenças no pós-parto (Galvão *et al.*, 2010).

O magnésio é também bastante importante na saúde e produtividade das vacas no pós-parto (Tsiamadis *et al.*, 2016).

O cobre afeta a fagocitose e a resposta imune específica (Spears e Weiss).

Deficiências em manganês estão associadas a anestro e redução nos sinais de estro, baixa concepção e mortalidade embrionária (González *et al.*, 2000).

O iodo influencia a *performance* reprodutiva dado que desempenha um papel vital na função da tiróide. Deficiências em iodo provocam disfunção da tiróide, levando a anestro e aborto. Por outro lado, deficiências em iodo também estão relacionadas com o aumento da incidência de RP, hipocalcemia e corrimento vaginal (Husband, 2006). Deste modo, os micronutrientes pode melhorar o ambiente uterino e levar a um aumento da fertilidade (Scheer, 2009). Considerando os benefícios dos minerais para os processos fisiológicos e para o estado imunológico das vacas, formulamos a hipótese de que involução uterina e a prevalência das doenças puerperais esteja associada aos níveis de minerais e a suplementação com delibol® e metrabol® mitigaria a ocorrência das mesmas.

O delibol® é composto por:

- Magnésio, mineral essencial para o funcionamento do organismo e que desempenha um papel importante na atividade enzimática e no sistema imune inato (Macêdo *et al.*, 2010);
- Cobre, mineral que possui poder antioxidante, atuando como cofator de enzimas que participam na atividade metabólica e na resposta imune (Macêdo *et al.*, 2010);
- Zinco, mineral fundamental para o metabolismo, crescimento, reprodução e funcionamento do sistema imunitário (Macêdo *et al.*, 2010);
- Iodo, mineral essencial para o organismo, muito importante para o funcionamento da glândula tiróide, reprodução e regulação de processos metabólicos (Vieja e Santisteban, 2018);
- Selênio, mineral essencial com efeito antioxidante, uma vez que faz parte da constituição da enzima glutathione peroxidase (Gierus, 2007);
- *Cohosh* preto (*Cimicifuga racemosa*), planta perene nativa da zona oriental dos Estados Unidos da América, que tem sido usada como alternativa mais natural à

utilização de hormonas, nomeadamente estrogénios (Coates *et al.*, 2005; Einbond, 2017). Além disso, tem sido usada em situações de inflamação, tosse e diarreia (Einbond, 2017);

- *Cinchona*, é uma planta da região dos Andes, com poder anti-inflamatório (Cavalcante, 2019);

- *Helonia bullata*, planta perene da América do Norte (Chakraborty 2012), é utilizada no tratamento de doenças relacionadas com o sistema reprodutivo, principalmente na retenção placentária (Sarswat e Purohit, 2020).

O delibol® deve ser administrado até 12 horas pós-parto, podendo ser aplicado juntamente com o metrabol para fortalecer a involução uterina por um período prolongado.

O metrabol ®é constituído por:

- Zinco;
- Manganês, mineral que faz parte da constituição de cartilagens, coagulação sanguínea, produção de colesterol e ação contra radicais livres (Bueno *et al.*, 2019). Influencia a capacidade reprodutiva uma vez que participa no desenvolvimento do corpo lúteo (González *et al.*, 2000);

- Cobre;
- Selénio;
- Vitamina E, vitamina lipossolúvel essencial para o organismo, embora necessária em pequenas quantidades (Catanidia *et al.*, 2009). Possui poder antioxidante, mantendo a integridade dos fosfolípidos contra agentes oxidantes. Atua contra os radicais livres, que podem causar infertilidade ao afetar o funcionamento ovárico, espermatogénese e implantação do embrião (Aréchiga *et al.*, 1998);

- Calêndula (*Calendula officinalis*), planta da família *Asteraceae*, proveniente do Mediterrâneo, possui papel antibacteriano, principalmente sobre bactérias Gram-positivas, papel cicatrizante e anti-inflamatório (Parente *et al.*, 2009);

- Canela (*Cinnamomum zeylanicum*), planta da família *Lauraceae*. possui propriedades antibacterianas contra fungos, bactérias Gram-Negativas e Gram-positivas, antioxidante, anti-inflamatória, analgésica e cicatrizante (Rao e Gan, 2014; Figueiredo *et al.*, 2017).

- 

### 3.2 Objetivos

O objetivo principal do presente estudo foi avaliar a associação entre a administração de delibol® e metrabol®, logo após o parto, na obtenção de uma involução uterina em boas condições e no retorno à reprodução. Para tal foram analisadas as seguintes variáveis: intervalo parto-primeira IA; intervalo parto-IA fecundante; número de IA por vaca; taxa de concepção à primeira IA. A título de curiosidade, também se avaliou a taxa de refugo devido a problemas



reprodutivos, de modo a analisar se havia diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos.

Este estudo teve também como objetivo o de averiguar a existência de relação entre a administração de delibol® e metrabol® e a redução da ocorrência de doenças puerperais.

### 3.3 Materiais e Métodos

#### 3.3.1 Caracterização da exploração

O presente estudo foi realizado na exploração Casa Agrícola Policarpo, que se situa na Moita (38.633943,-9.020413), sendo uma exploração que possui um efetivo de cerca de 400 animais da raça *Holstein-Frísia*, dos quais cerca de 200 são submetidos a três ordenhas diárias com intervalo de oito horas entre elas. Apresenta uma média de 162 dias em lactação com produção média diária de 38 litros por animal. Nesta exploração o período voluntário de espera é de 40 a 50 dias, sendo o número médio de dias em aberto 98 dias. As novilhas apresentam cerca de 13 meses à primeira inseminação fecundante. A alimentação é fornecida em sistema de *unifeed*, com arração realizado de acordo com a fase produtiva, contendo como matérias primas a silagem de milho, palha, soja e farinha de milho. O controlo reprodutivo é realizado de duas em duas semanas pelo médico veterinário assistente.

#### 3.3.2 Caracterização da amostra

O estudo é composto por 37 vacas, integrando 19 (51.4%) o grupo testemunha e 18 o grupo experimental (48.6%) (Figura 1). Das vacas do grupo testemunha, uma foi refugada sem IA, pelo que as análises relativas a IA reportam-se a somente 18 animais.

O tamanho da amostra foi definido pela *Natural by Techna*, (Techna Group, Route de Contigné - 49330 Chateaufort-sur-Sarthe- França) de acordo com o orçamento para o financiamento do estudo e disponibilidade de produto. Os grupos foram feitos de acordo com a data de parto, de modo a que todas as vacas tivessem parido até dia 15 de novembro de 2019. Os animais foram divididos de forma aleatória pelos dois grupos através do *Microsoft Excel*. Para além deste critério, os animais foram divididos de modo a equilibrar ao máximo o número de lactações, para que não interferisse com os resultados. O grupo testemunha foi constituído por sete vacas com três lactações, nove vacas com quatro lactações e três vacas com cinco lactações. O grupo experimental foi constituído por seis vacas com três lactações, oito vacas

com quatro lactações e quatro vacas com cinco lactações. Nenhuma vaca teve um parto distócico, e uma vaca do grupo experimental teve um parto gemelar.

### 3.3.3 Desenho Experimental

O delineamento experimental utilizado foi de dois grupos casualizados com comparação de médias pós-teste.

O ensaio decorreu entre novembro de 2019 e setembro de 2020. Os animais do grupo testemunha não foram intervencionados, enquanto que, aos animais do grupo experimental foi administrado, conjuntamente, um bolo de delibol® um bolo de metrabol® até 12 horas após o parto, com aplicador próprio. A administração foi feita pelo produtor. Os animais de cada grupo foram submetidos a exame ginecológico, através de palpação e ecógrafo, nos 30 a 60 dias após o parto, para avaliar a ciclicidade, a involução uterina, assim como a presença ou não de infecção uterina. Os cios foram detetados pelo produtor, e nas situações em que tal não ocorreu foi induzido pelo médico veterinário assistente, após o exame reprodutivo. Por sua vez, as inseminações foram realizadas pelo produtor após o período voluntário de espera, apenas se as vacas apresentassem corrimento transparente. Foi realizado um exame ecográfico nos 30 a 60 dias após a inseminação artificial para aferir a gestação.

Foram igualmente avaliadas as seguintes doenças: retenção placentária, infecção uterina, mastite, cetose clínica e subclínica, hipocalcemia clínica e deslocamento de abomaso. O diagnóstico e tratamento das doenças foram realizados pelo médico veterinário assistente da exploração. Considerou-se que havia RP quando se observava uma placenta pendular não totalmente extraível, após 12 horas do parto, havendo por vezes concomitantemente corrimento fétido, característico de um processo de metrite associado. Definiu-se que havia infecção uterina quando no momento do exame ginecológico, a vaca apresentava conteúdo vaginal purulento, assimetria uterina, útero com paredes espessadas e cérvix com diâmetro superior a 7,5cm. A cetose foi diagnosticada através do aparelho *FreeStyle Precision Neo*, e valores superiores a 1,2 mmol/L foram considerados positivos.

## 3.4 Análise Estatística

A análise dos resultados do estudo, foi efetuada através do software estatístico IBM® SPSS® V.25. tendo-se procedido a análises estatísticas de tipo descritivo e inferencial. A estatística descritiva baseou-se em análises de frequências absolutas e relativas no caso de variáveis de tipo qualitativo. No caso de variáveis de tipo quantitativo, analisaram-se a média e

mediana, enquanto medidas de tendência central, e os valores mínimo-máximo, quartis e desvio padrão para a análise de dispersão de resultados.

A análise inferencial foi realizada através da implementação de testes de hipótese paramétricos e não paramétricos. Para a comparação de médias entre dois grupos independentes relativamente a uma variável dependente de tipo quantitativo, foi utilizado o teste paramétrico *t* para amostras independentes. Para o efeito, foram assegurados os pressupostos de normalidade de distribuição (teste Shapiro-Wilk ( $N \leq 50$ ) e de homogeneidade (teste de Levene) de variâncias da variável dependente, para as amostras independentes. Quando se observou violação do pressuposto de normalidade foi utilizada a alternativa não paramétrica ao teste *t*, (teste de Mann-Whitney).

Ao nível da estatística não paramétrica, foi também utilizado o teste de homogeneidade do *qui-quadrado* para a testagem de igualdade de distribuições entre amostras independentes, relativamente à variável dependente de tipo qualitativo categorial. Neste âmbito, foram asseguradas as condições de aplicação deste teste, nomeadamente de observação de menos de 20% de células com frequências esperadas inferiores a 5 e nenhuma frequência esperada inferior a 1.

Valores de p-valor inferiores a 0,05 foram considerados estatisticamente significativos.

## 4 Resultados

### 4.1 Intervalo em dias entre o parto e a 1ª IA

De modo a avaliar o efeito do delibol® e metrabol® na obtenção de uma involução uterina em boas condições e no retorno reprodutivo, foi comparado o intervalo em dias entre o parto e a primeira IA do Grupo Testemunha e do Grupo Experimental.

Pela Tabela 1 e Figura 1, pode verificar-se que a primeira inseminação artificial das vacas do grupo testemunha foi realizada entre 35 a 84 dias após o parto, indicando uma média de 56,8 dias (DP=11,3) após o parto. Temos ainda que, pelo menos 25% das vacas realizaram a primeira inseminação artificial até 47 dias após o parto (Q1), 50% até 59 dias (Q2/mediana) e 75% até 63 dias (Q3). Já no grupo experimental, a primeira inseminação artificial foi realizada entre o 35º e o 80º dia após o parto, indicando uma média de 58,2 dias (DP=10,6) após o parto. Pelo menos 25% das vacas realizaram a primeira inseminação artificial até 53 dias após o parto (Q1), 50% até 58 dias (Q2/mediana) período similar às vacas do grupo testemunha e 75% até 63 dias (Q3). De notar que, duas das vacas apresentam tempos de inseminação após o parto dispares do padrão do grupo (*outliers*) nomeadamente de 35 e 80 dias, sendo que o padrão do grupo se situa entre os 40 e os 71 dias.

A diferença observada não se revela estatisticamente significativa ( $t_{(34)}=-0,381$ ,  $p=0,706$ ), não havendo evidências de que o intervalo de tempo mediado entre o parto e a primeira inseminação artificial seja diferente entre os grupos em estudo.

Tabela 1 - Comparação do intervalo de dias entre o parto e a 1ª IA entre grupos

Inseminação Artificial (IA)	Grupo	N	Min.-Máx	M ± DP	Q1	Q2	Q3	t <sub>(34)</sub>	p
Parto 1ª IA (dias)	Testemunha	18	35-84	56,8 ± 11,3	47	59	63	-0,381	0,706
	Experimental	18	35-80	58,2 ± 10,6	53	58	63		

Min. - Mínimo Máx.- Máximo M - Média DP - Desvio padrão Q1-1º Quartil Q2 - 2º quartil/Mediana Q3 - 3º Quartil

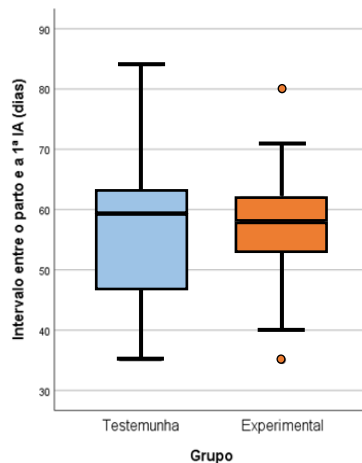


Figura 1 - Gráfico do Intervalo em dias entre o parto e a 1ª IA

## 4.2 Intervalo em dias entre o parto e a IA fecundante

De modo a avaliar o efeito do delibol® e metrabol® na obtenção de uma involução uterina em boas condições e no retorno reprodutivo foi comparado o intervalo em dias entre o parto e a IA fecundante do Grupo Testemunha e do Grupo Experimental.

De acordo com a Tabela 2 e Figura 2, as vacas do grupo testemunha levaram entre 47 e 366 dias até acontecer a inseminação artificial fecundante, revelando uma média de 122,7 dias (DP=85,7) até essa ocorrência. Para pelo menos 25% das vacas, a inseminação artificial fecundante ocorreu até 64 dias após o parto (Q1), 50% até 100 dias (Q2/mediana) e 75% até 144 dias (Q3). De notar que duas das vacas apresentam tempos de inseminação até à IA fecundante além do padrão do grupo (*outliers*), nomeadamente de 302 e 366 dias, sendo que o padrão do grupo se situa entre os 47 e os 169 dias. As vacas do grupo experimental levaram entre 40 e 278 dias até acontecer a inseminação artificial fecundante, revelando assim, uma média de 131,7 dias (DP=69,9) até essa ocorrência. Para pelo menos 25% das vacas, a inseminação artificial fecundante ocorreu até 74 dias após o parto (Q1), 50% até 109 dias (Q2/mediana) e 75% até 193 dias (Q3).

A diferença observada não se revela estatisticamente significativa (U=183.000, p=0.521), não havendo evidências de que o intervalo em dias mediado entre o parto e a inseminação artificial fecundante seja diferente entre os grupos em estudo.

Tabela 2 - Comparação do intervalo de dias entre o parto e a IA fecundante entre grupos

Inseminação Artificial (IA)	Grupo	N	Min.-Máx	M ± DP	Q1	Q2	Q3	U	p
Número de IA	Testemunha	18	1-11	3.3 ± 2.9	1	2	4	-0.381	0.706
	Experimental	18	1-8	3.3 ± 2.4	2	2	5		

Min. - Mínimo Máx.- Máximo M - Média DP - Desvio padrão Q1-1º Quartil Q2 - 2º quartil/Mediana Q3 - 3º Quartil  
U - Estatística de Teste de Mann-Whitney

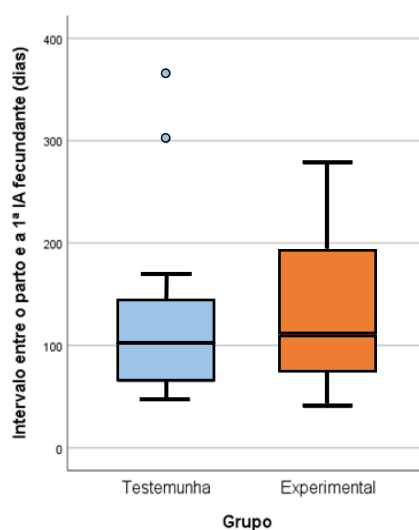


Figura 2 - Gráfico do intervalo em dias entre o parto e a IA fecundante

### 4.3 Número de Inseminações Artificiais por vaca até ficar gestante

De modo a avaliar o efeito do delibol® e metrabol® na obtenção de uma involução uterina em boas condições e no retorno reprodutivo foi comparado o número de IAs realizadas por vaca, para que fique gestante, do Grupo Testemunha e do Grupo Experimental.

Em termos de número de inseminações, os resultados do grupo testemunha indicam que as 18 vacas que foram submetidas a IA, realizaram entre uma e 11 inseminações até à fecundação, sendo uma inseminação a situação mais frequente, ocorrendo em 33,3% das vacas amostradas. Como referencial tem-se ainda que 50% dos animais realizaram até duas inseminações artificiais até à fecundação (Q2-Mediana) e 75% até quatro inseminações artificiais até à fecundação (Q3). Em média as vacas do grupo testemunha realizaram 3,3 inseminações artificiais (DP=2,9) até à fecundação (Figura 3 e Tabela 3). No que se refere ao grupo experimental as 18 vacas que integraram este grupo realizaram entre uma e oito inseminações até à fecundação, verificando-se que a situação mais frequente foi a de duas inseminações, que

se realizou em 38,9% das vacas. Como referencial tem-se ainda que, pelo menos 50% dos animais realizaram duas inseminações artificiais até à fecundação (Q2-Mediana) e 75% até cinco inseminações artificiais até à fecundação (Q3). Em média as vacas do grupo experimental realizaram 3,3 inseminações artificiais (DP=2,4) até à fecundação (Figura 4 e Tabela 3).

Decorrente e realizada a respetiva testagem estatística, cujos resultados são apresentados na Tabela 3, pode afirmar-se que não existem evidências de que o número médio de inseminações artificiais necessários até à fecundação, difiram entre o grupo testemunha e experimental ( $U=173.500$ ,  $p=0.719$ ). Temos assim que, não se observam diferenças estatisticamente significativas ao nível do número de inseminações até à fecundação, entre vacas do grupo testemunha e experimental.

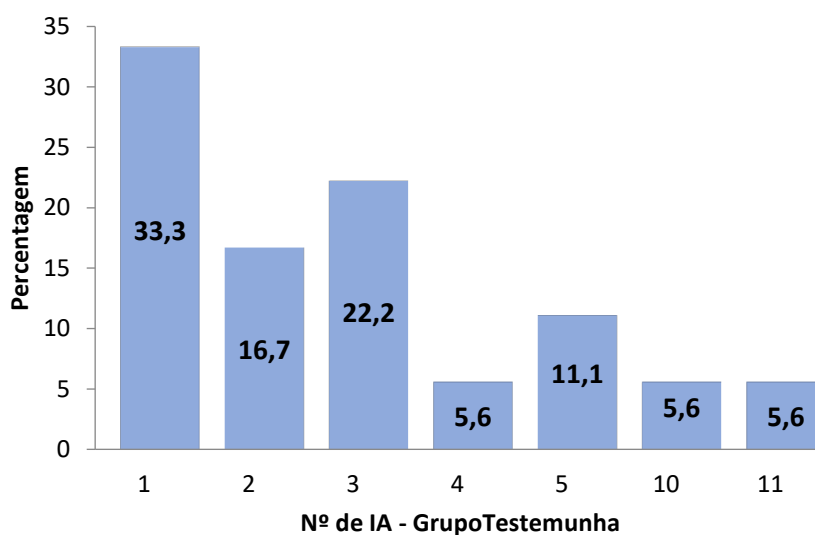


Figura 3 - Gráfico do número de inseminações artificiais até à fecundação no grupo testemunha

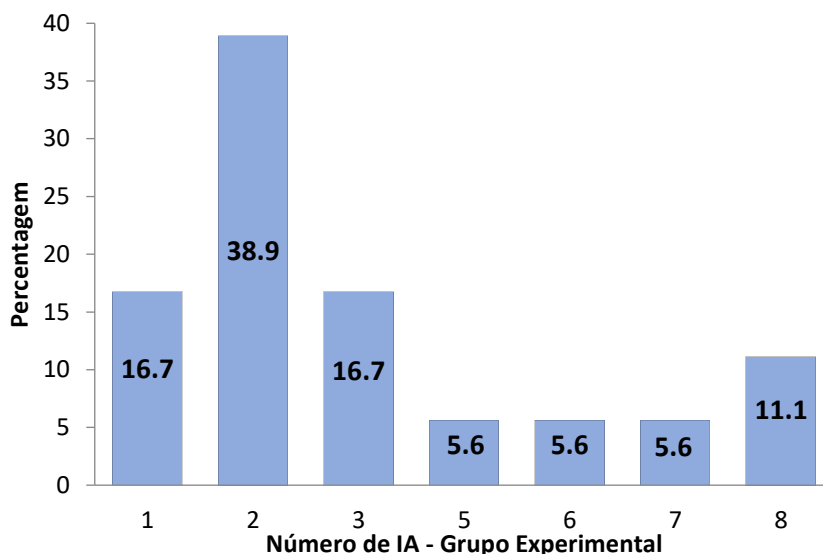


Figura 4 - Gráfico do número de inseminações artificiais até à fecundação no grupo experimental

Tabela 3 - Comparação do número de inseminações artificiais até à fecundação entre grupos

Inseminação Artificial (IA)	Grupo	N	Min.-Máx	M ± DP	Q1	Q2	Q3	U	p
Número de IA	Testemunha	18	1-11	3,3 ± 2,9	1	2	4	173,500	0,719
	Experimental	18	1-8	3,3 ± 2,4	2	2	5		

Min. - Mínimo Máx.- Máximo M - Média DP - Desvio padrão Q1-1º Quartil Q2 - 2º quartil/Mediana Q3 - 3º Quartil padrão U - Estatística de Teste de Mann-Whitney

#### 4.4 Taxa de refugo por problemas reprodutivos e de concepção à 1ª IA

De modo a avaliar o efeito do delibol® e metrabol® na diminuição da taxa de refugo devido a problemas reprodutivos e na taxa de concepção à primeira IA, foram comparadas estas mesmas taxas entre o Grupo Testemunha e o Grupo Experimental.

Pela leitura dos resultados apresentados na Tabela 4, verifica-se que no grupo testemunha, a taxa de refugo por razões reprodutivas foi de 10,5%, com duas vacas a serem refugadas e a taxa de concepção à primeira IA foi de 33,3% (seis vacas). Na Tabela 4 podemos observar que no grupo experimental nenhuma vaca foi refugada por motivos reprodutivos, apresentando assim este grupo uma taxa de 0% de refugo por problemas reprodutivos. Em termos de sucesso de concepção à primeira IA apresentou uma taxa de 16,7% (três vacas).

No que diz respeito às taxas de refugo por problemas reprodutivos, estas não se revelaram significativamente diferentes ( $X^2_{(1)}=2,003$ ,  $p=0,486$ ), não havendo evidências



estatísticas de que a taxa de refugo por problemas reprodutivos seja menor no grupo experimental.

No que se refere à taxa de concepção à primeira inseminação artificial, apesar da diferença de 16,7%, as taxas não se revelaram significativamente diferentes ( $X^2_{(1)}=1,333$ ,  $p=0,443$ ), não havendo evidências estatísticas de que a taxa de concepção à primeira inseminação artificial seja superior no grupo testemunha.

Tabela 4 - Taxa de refugo por reprodução e taxa de concepção à 1ª IA, por grupo em estudo

Variáveis	Grupo	Não		Sim		$X^2_{(1)}$	p	
		N	N	%	N			%
Refugo por reprodução	Testemunha	18	17	89,5	2	10,5	2,003	0,486 <sup>a</sup>
	Experimental	18	18	100	0	0,0		
Concepção à 1ª IA	Testemunha	18	12	66,7	6	33,3	1,333	0,443 <sup>a</sup>
	Experimental	18	15	83,3	3	16,7		

a. Significância do teste de Fisher

## 4.5 Doenças puerperais

De modo a avaliar o efeito do delibol® e metrabol® na redução de doenças puerperais foi comparada a sua prevalência entre o Grupo Testemunha e o Grupo Experimental.

Pela análise da Tabela 5, podemos constatar que, ao nível da manifestação de doenças puerperais (independentemente do tipo), as vacas do grupo testemunha apresentaram uma prevalência de manifestação de doenças puerperais de 52,6% e as do grupo experimental de 50,0%. Apesar da menor taxa de prevalência nas vacas do grupo experimental, a diferença para o grupo testemunha não se revelou estatisticamente significativa ( $X^2_{(1)}=0,026$ ,  $p=1,000$ ), não havendo evidências estatísticas de que a taxa de prevalência de manifestação de doenças puerperais difira entre os grupos em estudo.

As vacas do grupo testemunha apresentaram uma prevalência de infeções uterinas de 52,6% (10 vacas) e as do grupo experimental de 44,4% (oito vacas). Apesar da menor taxa de prevalência nas vacas do grupo experimental, a diferença para o grupo testemunha não se mostrou estatisticamente significativa ( $X^2_{(1)}=0,248$ ,  $p=0,618$ ), não havendo evidências estatísticas de que a taxa de prevalência de infeção uterina difira entre os grupos em estudo.

As vacas do grupo testemunha apresentaram uma prevalência de retenção placentária de 10,5% (duas vacas) e as do grupo experimental de 5,6% (uma vaca). Apesar da menor taxa de prevalência nas vacas do grupo experimental, a diferença para o grupo testemunha não se

revelou estatisticamente significativa ( $X^2_{(1)}=0,307$ ,  $p=1,000$ ), não havendo evidências estatísticas de que a taxa de prevalência de retenção placentária difira entre os grupos em estudo.

As vacas do grupo testemunha apresentaram uma prevalência de deslocamento de abomaso de 0,0% e as do grupo experimental de 5,6% (uma vaca). Apesar da menor taxa de prevalência nas vacas do grupo testemunha, a diferença para o grupo experimental não se mostrou estatisticamente significativa ( $X^2_{(1)}=1,085$ ,  $p=0,486$ ), não havendo evidências estatísticas de que a taxa de prevalência de deslocamento de abomaso difira entre os grupos em estudo.

As vacas do grupo testemunha apresentam uma prevalência de cetose de 5,3% (uma vaca) e as do grupo experimental de 0,0%. Apesar da menor taxa de prevalência nas vacas do grupo experimental, a diferença para o grupo testemunha não se revelou estatisticamente significativa ( $X^2_{(1)}=0,974$ ,  $p=1,000$ ), não havendo evidências estatísticas de que a taxa de prevalência de cetose difira entre os grupos em estudo.

Tabela 5 - Comparação das taxas de manifestação de doenças puerperais entre grupos

Doenças Puerperais	Grupo	Não		Sim		$X^2_{(1)}$	p	
		N	%	N	%			
		N	%	N	%			
Doenças Puerperais	Testemunha	19	9	47,4	10	52,6	0,026	1,000
	Experimental	18	9	50,0	9	<b>50,0</b>		
Infecção uterina	Testemunha	19	9	47,4	10	52,6	0,248	0,618
	Experimental	18	10	55,6	8	<b>44,4</b>		
Retenção placentária	Testemunha	19	17	89,5	2	10,5	0,307	1,000 <sup>a</sup>
	Experimental	18	17	94,4	1	<b>5,6</b>		
Deslocamento de abomaso	Testemunha	19	19	100	0	0,0	1,085	0,486 <sup>a</sup>
	Experimental	18	17	94,4	1	<b>5,6</b>		
Cetose	Testemunha	19	18	94,4	1	5,3	0,974	1,000
	Experimental	18	18	100	0	<b>0,0</b>		

a. Significância do teste de Fisher

## 5. Discussão

### 5.1 Avaliação do efeito da administração conjunta de delibol® e metrabol® na involução uterina e retorno à reprodução

Relativamente ao intervalo parto-primeira inseminação artificial, no grupo testemunha, decorreram em média 56,8 dias e no grupo experimental 58,2 dias. Não foi observada uma diferença estatisticamente significativa ( $p=0,706$ ), do intervalo de tempo entre o parto-primeira inseminação artificial entre os grupos em estudo. Tendo como objetivo um intervalo entre partos de 12 meses, o intervalo parto-primeira deverá variar entre 85 e os 90 dias (Farin e Slanning, 2001). Apesar da administração de delibol® e metrabol® não ter reduzido o intervalo parto-primeira inseminação, ambos os grupos retornaram à reprodução na média de dias esperada, de acordo com a bibliografia (Farin e Slanning, 2001).

Em média, no grupo testemunha, decorreram 122,7 dias entre o parto e a inseminação artificial fecundante e no grupo experimental 131,7 dias. Não se verificou uma diferença significativa ( $p=0,521$ ) entre os grupos, não sendo demonstrado que o intervalo de tempo mediado entre o parto e a inseminação artificial fecundante seja influenciado pela administração conjunta de delibol® metrabol®. Embora a suplementação com minerais melhore a fertilidade (Scheer, 2009) um estudo realizado por Machado *et al* (2013), tal como o presente estudo, também não revelou quaisquer benefícios da suplementação com minerais no intervalo parto-concepção.

No grupo testemunha, as vacas realizaram em média 3,3 inseminações artificiais até à fecundação, sendo que a média no grupo experimental também foi de 3,3 inseminações artificiais. Pode-se comprovar que não se observam diferenças ( $p=0,719$ ) ao nível do número de inseminações até à fecundação, entre vacas do grupo testemunha e experimental. Segundo Machado *et al* (2013) a suplementação com minerais tem tido resultados controversos, sendo que alguns estudos mostram que tem efeito negativo (Vanegas *et al.*, 2004), positivo (Sales *et al.*, 2011) ou neutro (Vanegas *et al.*, 2004) no desempenho reprodutivo. (Vanegas *et al.*, 2004) suplementou com cobre, magnésio e zinco, sendo que uma administração antes do parto não teve efeito na *performance* reprodutiva, enquanto que duas administrações, uma antes e outra depois do parto, reduziram a *performance* reprodutiva. Por outro lado, um estudo realizado por Sales *et al* (2011), constatou um aumento da taxa de concepção em novilhas que receberam suplementação com esses mesmos minerais. Para além dos fatores inerentes aos animais e à exploração, a eficácia dos estudos depende do tipo, concentração e altura de administração dos minerais.

A taxa de refugo por problemas reprodutivos no grupo testemunha foi de 10,5% e no grupo experimental de 0%. Embora a taxa tenha sido inferior no grupo experimental do que no

grupo testemunha, estas taxas não se revelaram significativamente diferentes ( $p=0,486$ ). No entanto, no presente estudo a taxa de refugo devido a problemas reprodutivos foi inferior à taxa de refugo nos estudos realizados por Machado *et al* (2013) e Nor, Steeneveld e Hogeveen (2014) que relatam uma taxa de refugo <25% e de 25,4% respectivamente.

No que se refere à taxa de concepção à primeira inseminação artificial, pode verificar-se que esta foi de 33,3% no grupo testemunha e de 16,7% no grupo experimental. Apesar da diferença de 16,7%, as taxas não se revelaram significativamente diferentes ( $p=0,443$ ), não havendo evidências estatísticas de que a administração conjunta de delibol® e metrabol® tenha aumentado a taxa de concepção à primeira inseminação artificial no grupo experimental. Estes resultados vão de acordo com o estudo realizado por Vanegas *et al* (2004), no qual a suplementação com minerais não trouxe benefícios na taxa de concepção-primeira inseminação artificial.

## 5.2 Avaliação do efeito da administração conjunta de delibol® e metrabol® na redução da ocorrência de doenças puerperais

Relativamente à infecção uterina, 52,6% das vacas do grupo testemunha e 44,4% das vacas do grupo experimental apresentaram esta doença. Não foram observadas grandes diferenças entre os grupos ( $p=0,618$ ), no entanto são valores altos quando comparados com a literatura, 7,5-8,9% (Divers e Peek, 2008), 15-20% (Sheldon *et al.*, 2009), 16,9% (LeBlanc *et al.*, 2002) e 27%. (Potter *et al.*, 2010). Os resultados deste estudo não estão de acordo com a bibliografia, na qual Machado *et al* (2013) reporta que a suplementação com minerais reduz o risco de infecções uterinas. Contudo, é importante salientar que muitos outros fatores, que não a suplementação com minerais, tais como partos distócicos, nados-mortos, aborto, cesariana, RP, doenças metabólicas como hipocalcemia e cetose e administração de progesterona e glucocorticoides pós-parto, podem influenciar a ocorrência de infecções uterinas.

Os casos de retenção placentária surgiram em 10,5% das vacas do grupo testemunha e em 5,6% do grupo experimental. Apesar do menor número de casos no grupo experimental do que no grupo testemunha, a diferença não foi estatisticamente significativa ( $p=1,000$ ). Os casos de retenção placentária no presente estudo são compatíveis com a literatura, 3 a 12% (Smith, 2009; Scott e Penny, 2011). Um estudo realizado por Vanegas *et al* (2004) também não revelou resultados diferentes na taxa de retenção placentária entre vacas suplementadas com minerais e o grupo testemunha.

Os casos de cetose surgiram em 5,3% das vacas do grupo testemunha e em 0,0% das vacas do grupo experimental. Estes casos foram detetados pela medição de BHB no sangue através do aparelho *FreeStyle Precision Neo*, sendo considerados positivos para cetose quando eram detetados valores acima de 1,2 mmol/L. Apesar do menor número de casos no grupo

experimental, a diferença para o grupo testemunha não se revela estatisticamente significativa ( $p=1,000$ ). Contudo, os casos totais de cetose encontram-se abaixo da média descrita, que é de 13,1% (Smith, 2009).

Em relação ao deslocamento de abomaso, este ocorre apenas em 5,6% das vacas do grupo experimental, não ocorrendo no grupo testemunha. Encontra-se uma ligeira diferença entre os dois grupos, no entanto esta não é significativa ( $p=0,486$ ). A percentagem de casos de deslocamento de abomaso encontram-se de acordo com o descrito a literatura, a qual indica que pode ocorrer de 0,5% a 7% (LeBlanc, Leslie e Duffield, 2005; Radostits *et al.*, 2006; Steiner, 2006). Um estudo realizado por Machado *et al* (2013), também não obteve diferenças significativas nos casos de deslocamento de abomaso entre o grupo testemunha e o grupo suplementado.

Nenhuma das vacas em estudo desenvolveu mastite nem hipocalcémia, pelo que podemos concluir que administração conjunta de delibol® e metrabol® não se revelou necessária para redução da prevalência destas doenças.

A administração de delibol® e metrabol® até 12 horas após o parto, não se revelou eficaz em nenhuma das variáveis analisadas. Porém, uma grande desvantagem da suplementação com minerais é o facto de estes poderem não ser bem absorvidos a nível ruminal, devido a interações com outros nutrientes (Goonerate *et al.*, 1989). Além disso, a aplicação destes bolos após o parto poderá não ter proporcionado tempo suficiente para corrigir eventuais défices.

Os minerais são necessários em quantidades mínimas, mas variações na alimentação e na ingestão de matéria seca podem dificultar a sua ingestão em quantidade suficiente (Bruno, 2010). Estudos anteriores, mostram que a resposta à suplementação mineral varia de acordo com a concentração de minerais na dieta. Em explorações onde existe desequilíbrio ou deficiência de minerais a suplementação aumenta a taxa de concepção (Allan *et al.*, 1993), diminui o intervalo parto-primeira inseminação artificial e os dias em aberto (Ingraham *et al.*, 1987). No caso de explorações em que a dieta foi formulada para suprir ou exceder os requisitos de minerais, a suplementação não revela resultados a nível reprodutivo (Campbell *et al.*, 1999).

É importante referir que, não foram recolhidas amostras de sangue antes da administração conjunta de delibol® e metrabol® das vacas em estudo, para avaliar potenciais deficiências em minerais, que poderiam explicar os nossos resultados. Contudo, a exploração não tem história de deficiências em minerais e as vacas foram alimentadas com dietas formuladas pelo veterinário nutricionista da exploração, tornando pouco prováveis as deficiências em minerais.

Os presentes resultados, referentes à administração conjunta de delibol® e metrabol®, poderão ser diferentes para outras explorações e a generalização dos mesmos deve ser feita de modo consciente. A resposta à suplementação pode ser diferente consoante a região, país, exploração, manejo nutricional, raça, genética e idade dos animais. O facto de a amostra ser pequena provoca uma maior variação dos resultados, o que reduz a força estatística. Deste modo

a amostra deveria ser maior, o que poderia originar outras conclusões. São necessários estudos futuros para determinar se os resultados se repetem noutras regiões geográficas e com maneios diferentes, de modo a clarificar tanto a influência do delibol® e metrabol® na involução uterina e no retorno à reprodução como na redução da ocorrência de doenças puerperais. Seria interessante a medição dos níveis de minerais antes da administração conjunta de delibol® e metrabol®, de modo a verificar se se encontram normais ou abaixo do recomendado.

## 6. Conclusão

As doenças puerperais constituem a maioria das doenças que afetam as explorações leiteiras, acarretando custos elevados para as mesmas, pelo que devem ser tomadas medidas para a sua minimização. A eficiência reprodutiva das vacas em lactação é uma componente bastante importante da rentabilidade das explorações. Baixa eficácia reprodutiva diminui o lucro da exploração uma vez que, aumenta a taxa de refugo devido a problemas reprodutivos e conseqüentemente aumenta os custos com a substituição dos animais, aumenta o intervalo entre partos, com conseqüente diminuição da produção de leite e menor descendência por ano, aumenta o trabalho do pessoal, custos com o sémen e médico veterinário. Os problemas reprodutivos reduzem a taxa de concepção das vacas, levando a que o intervalo entre partos aumente, e conseqüentemente conduzindo a períodos secos muito prolongados. Períodos secos muito longos predispõem para um aumento do índice de condição corporal, dado que, como não há gestação, não há gastos energéticos com o desenvolvimento fetal, pelo que a energia extra vai ser acumulada na forma de gordura. Deste modo, vacas com problemas reprodutivos e atrasos na ciclicidade ovárica vão chegar ao parto seguinte com um maior índice de condição corporal. Assim como, vacas com elevada condição corporal têm mais problemas pós-parto e menor fertilidade futura. A causa de baixa fertilidade é multifatorial, envolvendo mau manejo reprodutivo, grande incidência de doenças, falta de bem-estar e nutrição inadequada. Os minerais são fundamentais para o correto funcionamento do organismo, produção de leite e reprodução.

Este trabalho avaliou a influência da administração conjunta de delibol® e metrabol® na involução uterina e retorno à reprodução, bem como na redução de doenças puerperais. Não se identificaram diferenças significativas no intervalo parto-primeira inseminação, intervalo parto-inseminação fecundante, número de inseminações por vaca, taxa de concepção à primeira inseminação artificial e taxa de refugo devido a problemas reprodutivos. Deste modo, podemos concluir que a administração conjunta de delibol® e metrabol® não representou melhorias significativas na involução uterina nem no retorno à reprodução. Em adição, também não houve diferenças significativas na redução de infeções uterinas, retenção placentária, cetose e deslocamento de abomaso, pelo que, podemos concluir que a administração conjunta de

delibol® e metrabol® também não teve influência na redução da ocorrência de doenças puerperais. É de salientar, que não foi avaliado se existiam défices de minerais na dieta e nos animais incluídos no estudo antes da administração conjunta de delibol® e metrabol®, pelo que não sabemos se estes valores estão dentro da normalidade ou abaixo do recomendado.

## 7. Bibliografia

Allan CL, Hemingway RG & Parkins JJ (1993) Improved reproductive performance in cattle dosed with trace element/vitamin boluses. *Veterinary Record*, 132:463-464.

Amin RU, Bhat GR, Ahmand A, Swain PS & Arubakumari G (2013) Understanding pathophysiology of retained placenta and its management in cattle a review. *Veterinary Clinical Science*, 1(1): 1-9.

Andersson L, (1998) Subclinical ketosis in dairy cows. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 4: 233-248.

Andersson L & Emanuelson U (1985) An epidemiological study of hyperketonemia in Swedish dairy cows; determinants and the relation to fertility. *Preventive Veterinary Medicine*, 3(5):449-462.

Angrimani DSR, Rui BR, Cruz, LV, Romano, RM & Lopes HC (2011) Retenção de Placenta em vacas e éguas: revisão de Literatura. *Revista científica eletrônica de medicina veterinária*, 16:1–12.

Aréchiga CF, Vázquez-Flores S, Ortíz O, Cerón J, Porrás A, McDowell LR & Hansen JP (1998) Effect of the injection of  $\beta$ -carotene or the vitamin E and selenium on fertility of lactating dairy cows. *Theriogenology*, 50:65-76.

Bar D, Gröhn YT, Bennett G, González RN, Hertl JÁ, Schulte HF, Tauer LW, Welcome FL & Schukken YH (2008) Effects of repeated episodes of generic clinical mastitis on mortality and culling in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 91(6):2196–2204.

Bendixen PH, Vilson B, Ekesbo I & Astrand DB (1987) Disease frequencies in dairy-cows in Sweden. XI. Ketosis. *Preventive Veterinary Medicine*, 5(2):99–109.

Benedictus L, Jorritsma R, Knijn HM, Vos PLAM & Koets AP (2010) Chemotactic activity of cotyledons for mononuclear leukocytes related to occurrence of retained placenta in dexamethasone induced parturition in cattle. *Theriogenology*, 76: 802–809.

Beagley JC, Whitman KJ, Baptiste KE & Scherzer J (2010) Physiology and Treatment of Retained Fetal Membranes in Cattle. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 24:261–268.



Begley N, Buckley F, Pierce KM, Fahey AG & Mallard BA (2009) Differences in udder health and immune response traits of Holstein-Friesians, Norwegian Reds, and their crosses in second lactation. *Journal of Dairy Science*, 92(2):749–757.

Berge AC & Vertenten G (2018) A field study to determine the prevalence, dairy herd management systems, and fresh cow clinical conditions associated with ketosis in western European dairy herds. *Journal of Dairy Science*, 97(4):2145–2154.

Bhanugopan, M. S.; Fulkerson, W. J.; Fraser, D. R.; Hyde, M.; McNeill, D. M. (2010) Carryover effects of potassium supplementation on calcium homeostasis in dairy cows at parturition. *Journal of Dairy Science*, 93(5): 2119-2129.

Bicalho MLS, Machado VS, Oikonomou G, Gilbert RO & Bicalho RC (2012) Association between virulence factors of *Escherichia coli*, *Fusobacterium necrophorum*, and *Arcanobacterium pyogenes* and uterine diseases of dairy cows. *Veterinary Microbiology*, 157:125–131.

Bicalho MLS, Lima FS, Ganda EK, Foditsch C, Meira Jr EBS, Machado VS, Teixeira AGV, Oikonomou G & Bicalho RC (2014) Effect of trace mineral supplementation on selected minerals, energy metabolites, oxidative stress, and immune parameters and its association with uterine diseases in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 97(7):4281–4295.

Bisinotto RS, Greco LF, Ribeiro ES, Martinez N, Lima FS, Staples CR, Thatcher WW & Santos JEP (2012) Influences of nutrition and metabolism on fertility of dairy cows. *Animal Reproduction*, 9(3):260–272.

Blowey R & Edmondson P (2010) *Mastitis Control in Dairy Herds*, 2nd Edition. ISBN 9788578110796, pp. 20-162.

Breen JE, Green MJ & Bradley AJ (2009) Quarter and cow risk factors associated with the occurrence of clinical mastitis in dairy cows in the United Kingdom. *Journal of Dairy Science*, 92(6):2551–2561.

Bruno RGS (2010) Nutrition and reproduction in dairy cows. Mid-South Ruminant Nutrition Conference, Arlington, Texas. ISSN 07490720, pp. 51-56.

Bueno ESB, Souza AM, Deak FLGB, Fagiani MAB, Oba E, Chiacchio SB, Reis LSLS (2019) O manganês e as suas interações antagônicas e sinérgicas entre os elementos minerais sobre a reprodução e metabolismo de touros. *Veterinária e Zootecnia III Simpósio Nacional de Bovinocultura e Bubalinocultura*, 2178 – 3764.

Butler WR (2003) Energy balance relationships with follicular development, o ovulation and fertility in postpartum dairy cows. *Livestock Production Science*, 83:211–218.

Butler WR (2000) Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Animal Reproduction Science*, 60–61:449–457.

Caixeta LS, Ospina PA, Capel MB & Nydam DV (2017) Association between subclinical hypocalcemia in the first 3 days of lactation and reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology*, 94:1–7.

Campbell MH, Miller JK & Schrick FN (1999) Effect of additional cobalt, copper, manganese, and zinc on reproduction and milk yield of lactating dairy cows receiving bovine somatotropin. *Journal of Dairy Science*, 82(5):1019–1025.

Cannas da Silva, J., Serrao, S., & Oliveira, R. (2002). Deslocação do abomaso novos conceitos. *Congresso de Ciências Veterinárias, SPCV*. Oeiras: 39-62.

Castro D, Ribeiro C & Simões J (2009) Medicina da produção: incidência e distribuição de doenças metabólicas em explorações de bovinos de elevada produção leiteira na Região de Aveiro, Portugal. *Hilos Tensados. PUBVET, Londrina*, V 3, N 2, Art 487.

Cavalcante DE (2019) Uma história ambiental da árvore da quina (*cinchona*): transferência, aclimatização e circulação de conhecimento pelos impérios britânico e português no século XIX. *Universidade Federal do Ceará*, pp. 1-2.

Cebra CK, Heidel JR, Crisman RO & Stang BV (2003) The relationship between endogenous cortisol, blood micronutrients, and neutrophil function in postparturient Holstein cows. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 17:902-907.

Coates PM, Blackman MR, Cragg GM, Levine M, Moss J & White JD (2005) Black Chosh (*Cimicifuga racemosa*) In: *Encyclopedia of Dietary Supplements* ed. Fabricant, D.S. & Farnsworth, N.R., Marcel Deker, pp. 40-41.

Compton CWR, Heuer C, Parker K & McDougall S (2007) Risk factors for peripartum mastitis in pasture-grazed dairy heifers. *Journal of Dairy Science*, 90(9): 4171-4180.

Chakraborty D, Samadder A, Dutta S & Khuda-Bukhs AR (2012) Antihyperglycemic potentials of a threatened plant, *Helonias dioica*: antioxidative stress responses and the signaling cascade. *Experimental Biology and Medicine*, 237(1):64-76.

Chapinal N, Carson ME, LeBlanc SJ, Leslie KE, Godden S, Capel M & Santos JEP (2012) The association of serum metabolites in the transition period with milk production and early-lactation reproductive performance. *Journal of Dairy Science*, 95:1301-1309.

Cheong SH, Nydam DV, Galvão KN, Crosier BM & Gilbert RO (2011) Cow-level and herd-level risk factors for subclinical endometritis in lactating holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 94(2):762-770.

Noakes D, Parkinson T & England G (2001) Infertility in the cow. In *Veterinary Reproduction & Obstetrics*, 8th Edition, Saunders Ltd., EUA, ISBN 9788578110796, pp. 399-412.

Degarís PJ & Lean IJ (2008) Milk fever in dairy cows: A review of pathophysiology and control principles. *Veterinary Journal*, 176:58–69.

Dias JC, Ramos AF, Andrade VJ, Emerick LL, Martins JAM & Souza FA (2013) Alguns aspectos da interação nutrição-reprodução em bovinos: energia, proteína, minerais e vitaminas. *Journal of Chemical Information and Modeling, PUBVET, Londrina*, V 4, N 5, Ed. 110, Art 738.

Divers TJ & Peek SF (2008) Noninfectious Diseases of the Gastrointestinal Tract. In: *Rebhun's Diseases of Dairy Cattle*, 2th Edition, ed. Fubini, S. & Divers, T.J., Saunders, EUA, ISBN 9781416031376, pp. 156-159.

Divers TJ & Peek SF (2008) Diseases of the Teats and Udder. In: *Rebhun's Diseases of Dairy Cattle*, 2th Edition, ed. George, L.W., Divers, T.J., Ducharme, N. & Welcome, F.L., Saunders, EUA, ISBN 9781416031376, pp.358-382.

Divers TJ & Peek SF (2008) Reproductive Diseases. In: *Rebhun's Diseases of Dairy Cattle*, 2th Edition, ed. Hillman, R. & Gilbert, R.O., Saunders, EUA, ISBN 9781416031376, pp. 402-415.

Doll K, Sickinger M & Seeger T (2009) New aspects in the pathogenesis of abomasal displacement. *Veterinary Journal*, 181: 90–96.

Dosogne H, Burvenich C & Lohuis JACM (1999) Acyloxyacyl hydrolase activity of neutrophil leukocytes in normal early postpartum dairy cows with retained placenta. *Theriogenology*, 51:867-874.

Dubuc J (2011) Postpartum Uterine Diseases : Prevalence, Impacts, and Treatments. *WCDS Advances in Dairy Technology*, 23: 255–267.

Duffield TF (2006) Minimizing subclinical metabolic diseases in dairy cows. *WCDS Advances in Dairy Technology*, 18:43–55.

Duffield TF (2004) Monitoring strategies for metabolic disease in transition dairy cows. In: *Proceedings of the 23rd World Buiatrics Congress, Canada, 2004*.

Duffield TF, Lissemore KD, McBride BW & Leslie KE (2009) Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. *Journal of Dairy Science*, 92(2):571–580.

Einbond LS (2017) Anti-neoplastic compositions comprising extrats of black cohosh. *Research foundation of the city of New York, New York, NY (US, 13/374,496*.

Enjalbert F, Lebreton P & Salat O (2006) Effects of copper, zinc and selenium status on performance and health in commercial dairy and beef herds: Retrospective study. *Journal of Animal Physiology Animimal Nutrition*, Berlim, 90:459–466.

Esposito G, Irons PC, Webbb EC & Chapwanya A (2014) Interactions between negative energy balance, metabolic diseases, uterine health and immune response in transition dairy cows. *Animal Reproduction Science*, 144: 60–71.

Farin PW, Slenning BD (2001) Managing Reproductive Efficiency in Dairy Herdssl. Radostitis OM (Ed.) *Herd Health: Food Animal Production Medicine* 3º Ed, W.B. Saunders Company: 255-289.

Figueiredo CSSS, Oliveira PV, Saminez WFS, Diniz RM, Rodrigues JFS, Silva MAM Silva LCN & Grisotto MAG (2017) Óleo essencial da Canela (Cinamaldeído) e suas aplicações biológicas. *Revista de Investigação Biomédica*, São Luís, 9(2): 192-197.

Fleischer P, Metzner M, Beyerbach M, Hoedemaker M & Klee W (2001) The relationship between milk yield and the incidence of some diseases in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 84(9):2025–2035.

Fleming S. A. (2015). Bovine Metabolic Disorders. In *Large Animal Internal Medicine*. Smith B. P. EUA: Elsevier. 6:1252-1275.

Földi J, Kulcsar M, Pécsi A, Huyghe B, Sá C, Lohuis JACM, Cox P & Huszenicza G (2006) Bacterial complications of postpartum uterine involution in cattle. *Animal Reproduction Science*, 96:265–281.

Galvão KN (2013) Uterine diseases in dairy cows: understanding the causes and seeking solutions. *Animal Reproduction*, 10(3): 228–238.

Galvão KN, Flaminio MJBF, Brittin SB, Sper M, Fraga M, Caixeta L, Ricci A, Guard CL, Butler WR & Gilbert RO (2010) Association between uterine disease and indicators of neutrophil and systemic energy status in lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 93(7): 2926–2937.

Gierus M (2007) Organic and inorganic sources of selenium in the nutrition of dairy cows: digestion, absorption, metabolism and requirements. *Ciência Rural*, 37(4): 1-2.

Gilbert RO, Shin ST, Guard CL, Erb HN & Frajblat M (2005) Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology*, 64:1879-1888.

González FHD, Barcelloss J, Patino HO & Ribeiro LA (2000) Perfil metabólico em ruminantes seu uso em nutrição e doenças nutricionais. *Porto Alegre*, 2000, 1:63.

Goof JP (2006) Macromineral physiology and application to the feeding of the dairy cow for prevention of milk fever and other periparturient mineral disorders. *Animal Feed Science and Technology*, 126:237–257.

Goof JP (2008) The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. *Veterinary Journal*, 176:50–57.

Gooneratne SR, Buckley WT & Christensen DA (1989) Review of copper deficiency and metabolism in ruminants. *Canadian Journal of Animal Science*, 69(4):819–845.

Grummer RR, Mashek DG & Hayirli A (2004) Dry matter intake and energy balance in the transition period. *Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice*, 20:447–470.

Gustafsson H, Kornmatitsuk B, Königsson K & Kindahl H (2004) Peripartum and early post partum in the cow – physiology and pathology. In: *Proceedings of the 23rd World Buiatrics Congress*, Canada.

Hammon DS, Evjen IM, Dhiman TR, Goff JP & Walters JL (2006) Neutrophil function and energy status in Holstein cows with uterine health disorders. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 113:1–29.

Hanafi EM, Ahmed WM, El Khadrawy HH & Zabaal MM (2011) An Overview on Placental Retention in Farm Animals. *Middle-East Journal of Scientific Research*, 7(5):643–651.

Hansen M, Lund MS, Sorensen MK & Christensen LG (2002) Genetic parameters of dairy character, protein yield, clinical mastitis, and other diseases in the Danish Holstein cattle. *Journal of Dairy Science*, 85(2):445–452.

Heringstad B, Rekaya R, Gianola D, Klemetsdal G & Weigel KA (2003) Genetic change for clinical mastitis in Norwegian cattle: A threshold model analysis. *Journal of Dairy Science*, 86(1):369–375.

Horta AEM (2000) Etiopatogenia e terapêutica da retenção placentária nos bovinos. *Proc. 7as Jornadas Internacionales de Reproducción Animal*, Murcia, 181-192.

Horst R L, Goff JP, Reinhardt TA & Buxton DR (1997) Strategies for preventing milk fever in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 80(7):1269–1280.

Horst RL, Goff JP, Reinhardt TA (1990) Advancing age results in reduction of intestinal and bone 1,25-dihydroxyvitamin D receptor. *Endocrinology*, 126(2):1053–1057.

Husband, J (2006) Retained fetal membranes and vulval discharges in a dairy herd. *UK Vet Livestock*, 11(1):39–42.

Ingraham RH, Kappel LC, Morgan EB Srikandakumar A (1987) Correction of subnormal fertility with copper and magnesium supplementation. *Journal of Dairy Science*, 70(1):167–180.

Janovick NA & Drackley JK (2010) Parturition dietary management of energy intake affects postpartum intake and lactation performance by primiparous and multiparous Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 93(7):3086–3102.

Kara C, Orman A, Udum D, Yavuz HM & Kovanlıkaya A (2009) Effects of calcium propionate by different numbers of applications in first week postpartum of dairy cows on hypocalcemia, milk production and reproductive disorders. *Italian Journal of Animal Science*, 8(2):259–270.

Kaufmann TB, Westermann S, Drillich M, Plöntzke J & Heuwieser W (2010) Systemic antibiotic treatment of clinical endometritis in dairy cows with ceftiofur or two doses of cloprostenol in a 14-d interval. *Animal Reproduction Science*, 121:55–62.

Kimura K, Reinhardt TA & Goff JP (2006) Parturition and hypocalcemia blunts calcium signals in immune cells of dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 89(7):588–2595.

Kimura K, Goff JP, Kehrl Jr ME & Reinhardt TA (2002) Decreased neutrophil function as a cause of retained placenta in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 85(3):544–550.

Kincaid R (2008) Changes in the Concentration of Minerals in Blood of Peripartum Cows. *Mid-South Ruminant Nutrition Conference*, Arlington, Texas.

Koch, GMS (2014) Incidência e consequências da hipocalcemia subclínica no pós-parto de vacas leiteiras. Tese de Mestrado em Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária Universidade de Lisboa, Portugal, pp. 53.

Kronqvist C (2011) Minerals to dairy cows with focus on calcium and magnesium balance. Doctoral Thesis. Sveriges lantbruksuniv., Acta Universitatis agriculturae Sueciae, Uppsala, Sweden, pp 11-20.

Lean IJ, DeGaris JP, McNeil DM, Block E (2006) Hypocalcemia in Dairy Cows : Meta-analysis and Dietary Cation Anion Difference Theory Revisited. *Journal of Dairy Science*, 89(2):669–684.

LeBlanc SJ, Duffield TF, Leslie KE, Bateman KJ, Keefe GP, Walton JS & Johnson WH (2002) Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 85(9):2223–2236.

LeBlanc SJ, Leslie KE & Duffiel, TF (2005) Metabolic predictors of displaced abomasum in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 88(1):159–170.

LeBlanc SJ (2006) Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period introduction metabolic challenges in peripartum dairy cows and their associations with reproduction. *Journal of Reproduction and Development*, 56:29–35.

Leslie KE, Duffield TF, Schukken YH & LeBlanc SJ (2000) The influence of negative energy balance on udder health. *National Mastitis Council Regional Meeting Proceedings*, 25–33.

Lyons DT, Freeman AE & Kuck AL (1991) Genetics of health traits in Holstein cattle. *Journal of Dairy Science*, 74(3):1092–1100.

Luisa M & Luís LP (2002) Peripartum blood concentrations of calcium , phosphorus and magnesium in dairy cows with normal puerperium or puerperal endometritis Concentrações sanguíneas de cálcio , fósforo e magnésio no periparto de vacas leiteiras com puerpério normal ou com endome. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 97:35–38.

Macêdo EMC, Amorim MAF, Silva ACS & Castro CMMB (2010) Effects of copper, zinc and magnesium deficiency on the immune system of severely malnourished children. *Revista Paulista de Pediatria*, 28(3):1-2.

Machado VS, Bicalho MLS, Pereira RV, Caixeta LS, Knauer WA, Oikonomou G, Gilbert RO & Bicalho RC (2013) Effect of an injectable trace mineral supplement containing selenium, copper, zinc, and manganese on the health and production of lactating Holstein cows. *Veterinary Journal*, 197(2):451–456.

Martín-Tereso J & Verstegen MWA (2014) Calcium and Magnesium Physiology and Nutrition in Relation to the Prevention of Milk Fever and Tetany (Dietary Management of Macrominerals in Preventing Disease). *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*, 30(3):643–670.

Martín-Tereso J & Verstegen MWA (2011) A novel model to explain dietary factors affecting hypocalcaemia in dairy cattle. *Nutrition Research Reviews*, 24(2):228–243.

Martinez N, Risco CA, Lima FS, Bisinotto RS, Greco LF, Ribeiro ES, Maunsell F, Galvão K & Santos JEP (2012) Evaluation of peripartal calcium status, energetic profile, and neutrophil function in dairy cows at low or high risk of developing uterine disease. *Journal of Dairy Science*, 95(12):7158–7172.

Martin, W. (1972). Left abomasal displacement: an epidemiological study. *Can Vet J.*,13(3): 61–68.

Mateus L & Lopes da Costa L (2002) Peripartum blood concentrations of calcium, phosphorus and magnesium in dairy cows with normal puerperium or puerperal endometritis. *Concentrações sanguíneas de cálcio, fósforo e magnésio no periparto de vacas leiteiras com puerpério normal ou com endome.* *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 97:35–38.

McArt JAA, Nydam DV & Oetzel GR (2012) Epidemiology of subclinical ketosis in early lactation dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 95(9):5056–5066.

McArt JAA, Nydam DV & Oetzel GR (2013) Dry period and parturient predictors of early lactation hyperketonemia in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 96(1):198–209.

Melendez P (2008) Nutritional management of the transition period to optimize fertility in dairy cattle. *Veterinary Practitioner*, 9(1):83–88.



Melendez P & Risco CA (2005) Management of transition cows to optimize reproductive efficiency in dairy herds. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*, 21(2):485–501.

Mulligan FJ & Doherty ML (2008) Production diseases of the transition cow. *Veterinary Journal*, 176:3–9.

Mulligan FJ, O'Grady L, Rice DA & Doherty ML (2006a) A herd health approach to dairy cow nutrition and production diseases of the transition cow. *Animal Reproduction Science*, 96:331–353.

Mulligan F, O'Grady L, Rice DA & Doherty ML (2006b) Production diseases of the transition cow: Milk fever and subclinical hypocalcaemia. *Irish Veterinary Journal*, 59(12):697–702.

Neves RC, Leno BM, Stokol T, Overton TR & McArt JAA (2017) Risk factors associated with postpartum subclinical hypocalcemia in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 100(5):3796–3804.

Nogueira P (2012) Milk Fever and Low Blood Calcium in Dairy Cows. Part I. *The Latest Information on Dairy Cattle Nutrition*, 3(1):1–6.

Nor NM, Steeneveld W & Hogeveen H (2014) The average culling rate of Dutch dairy herds over the years 2007 to 2010 and its association with herd reproduction, performance and health. *Journal of Dairy Research*, 81:1–8.

Oetzel GR (2004) Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease. *Veterinary Clinics of North America Food Animal*, 20:651-674.

Opsomer G & Kruif A (2009) Metritis en endometritis bij hoogproductief melkvee. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*, 78:83–88.

Parente LML, Silva MSB, Brito LAB, Lino-Júnior RS, Paula JR, Trevenzol LMF, Zatta DT & Paulo NM (2009) Healing effect and antibacterial activity of *Calendula officinalis* L. cultivated in Brazil. *Revista brasileira das plantas medicinais*, 11(4):1-3.

Pathak R, Prasad S, Kumaresan A, Kaur M, Manimaran A Dang & AK (2015) Alterations in cortisol concentrations and expression of certain genes associated with neutrophil functions in cows developing retention of fetal membranes. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 168:164–168.

Payne JM (1977) Parturient paresis. In: Metabolic diseases in farm animals. *William Heinemann Medical Books, London, UK*, pp. 61–83.

Pelegriño RC, Andrade LRM & Carneiro LF (2008) Retenção De Placenta Em Vacas. *Revista Científica Eletônica De Medicina Veterinária*, VI(10).

Pestana MH & Gagueiro JN (2014) Análise de Dados para Ciências Sociais- A complementaridade do SPSS. Edições Silabo, 6ª edição, *Revista atualizada aumentada*.

Philip RS, Penny CD & Macrae AI (2011) Female reproductive tract diseases. *In: Cattle Medicine, 1 Edition*, ISBN 9781840761276, pp. 17-18.

Philip RS, Penny CD & Macrae AI (2011) Metabolic diseases. *In: Cattle Medicine, 1 Edition*, ISBN 9781840761276, pp. 255-256.

Potter TJ, Guitian J, Fishwick J, Gordon PJ & Sheldon IM (2010) Risk factors for clinical endometritis in postpartum dairy cattle. *Theriogenology*, 74:127–134.

Radostits OM, Gay CCK, Hinchcliff W & Constable PD (2006) Diseases of the alimentary tract - II. *In: Veterinary Medicine, A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*, 10th Edition, pp. 354-358.

Radostits OM, Gay CCK, Hinchcliff W & Constable PD (2006) Diseases of the mammary gland. *In: Veterinary Medicine, A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*, 10th Edition, pp. 674-684.

Rao PS & Gan SN (2014) Cinnamon: A Multifaceted Medicinal Plant. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, Volume 2014, ID 642942.

Renata MCC, Márcia SVS & Edison S (2008) Effects of administracion controlled released monensine capsules on performance of Holstein cows on the beggining of lactation. *Revista brasileira de zootecnia*, 37 (5) 1806-9290.

Roche JF (2006) The effect of nutritional management of the dairy cow on reproductive efficiency. *Animal Reproduction Science*, 96:282–296.

Sales JNS, Pereira RVV, Bicaclho RC & Baruselli PS (2011) Effect of injectable copper, selenium, zinc and manganese on the pregnancy rate of crossbred heifers. *Livestock Science*, 142(1):59-62.

Sarswat CS & Purohit GN (2020) Use of ethno-veterinary medicine for therapy of reproductive disorders in cattle. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 8(2):1006-1016.

Sarwar M, Hasan ZU & Iqbal Z (2000) Cation Anion Balance in the Ruminants I- Effects on Milk Fever. *International Journal of Agriculture & Biology*, 2(1-2):151–158.

Scaletti RW & Harmon RJ (2012) Effect of dietary copper source on response to coliform mastitis in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 95:654-662.

Schukken YH, Wilson DJ, Welcome F, Garrison-Tikofsky L & Gonzalez RN (2003) Monitoring udder health and milk quality using somatic cell counts. *Veterinary Research*. 34:579–596.

Shankar AH & Prasad AS 1998. Zinc and immune function: The biological basis of altered resistance to infection. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 68(2):447–463.

Simianer H, Solbu H Schaeffer LR (1991) Estimated genetic correlations between disease and yield traits in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 74(12):4358–4365.

Spain JN & Scheer WA (2009) The 100-Day Contract with the Dairy Cow : 30 Days Prepartum to 70 Days Postpartum The Transition Cow : Understanding The Challenge. *Tri-State Dairy Nutrition Conference*, 1–15.

Sheldon IM & Dobson H (2004) Postpartum uterine health in cattle. *Animal Reproduction Science*, 82–83: 295–306.

Sheldon IM, Lewis GS, LeBlanc S & Gilber RO (2006) Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology*, 65(8):1516–1530.

Sheldon IM, Williams EJ, Miller ANA, Nash DM & Herath S(2008) Uterine diseases in cattle after parturition. *Veterinary Journal*, 176:115–121.

Sheldon IM, Cronin J, Goetze L, Donofrio G & Schuberth HJ (2009) Defining Postpartum Uterine Disease and the Mechanisms of Infection and Immunity in the Female Reproductive Tract in Cattle1. *Biology of Reproduction*, 81:1025–1032.

Smith B P (2009) Diseases of the Alimentary Tract. In: *Large Animal internal Medicine*, 4th Edition, ed. Jones, S.L. & Smith, BP., Mosby Elsevier, pp. 857-859.

Smith B P (2009) Mammary Gland Health and Disorders. In: *Large Animal internal Medicine*, 4th Edition, ed. Morin, D.E., Mosby Elsevier, pp. 1114-1119.

Spears JW Weiss WP (2008) Role of antioxidants and trace elements in health and immunity of transition dairy cows. *The Veterinary Journal*, 176:70–76.

Steiner A (2006) Surgical treatment of the left displacemnet of abomasum. *World Buatrics Congress*, Nice, France.

Suriyasathaporn W, Heuer C, Noordhuizen-Stassen EN & Schukken YH (2000) Hyperketonemia and the impairment of udder defense: A review. *Veterinary Research*, 31(4):397–412.

Suthar VS, Canelas-Raposo J, Deniz A & Heuwieser W (2013) Prevalence of subclinical ketosis and relationships with postpartum diseases in European dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 96(5):2925–2938.

Thilising-Hansen T, Jørgensen RS & Østergaard S (2002) Milk fever control principles: a review. *Acta veterinaria Scandinavica*, 43(1):1–19.

Tenhagen BA, Köster G, Wallmann J & Heuwiese W (2006) Prevalence of mastitis pathogens and their resistance against antimicrobial agents in dairy cows in Brandenburg, Germany. *Journal of Dairy Science*, 89:2542–2551.

Trammell S, Smith BA & Harmon RJ (2003) Role of Dietary Copper in Enhancing Resistance to *Escherichia coli* Mastitis. *Journal of Dairy Science*, 63:1240-1249.

Tsiamadis V, Banos G, Panousis N, Konstantinou MK, Arsenos G & Valergakis GE (2016) Genetic parameters of calcium, phosphorus, magnesium, and potassium serum concentrations during the first 8 days after calving in Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 99:5535–5544.

Uribe HA, Kennedy BW, Martin SW & Kelton DF 1995. Genetic parameters for common health disorders of Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 78(2):421–430.

Urton G, Von Keyserlingk MAG & Weary DM (2005) Feeding behaviour identifies dairy cows at risk for metritis. *Journal of Dairy Science*, 88(8):2843–2849.

Vanegas JÁ, Reynolds J & Atwill ER (2004) Effects of an injectable trace mineral supplement on first-service conception rate of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 87:3665–3671.

Vanholder T, Papen J, Bemers R, Verteten G & Berge ACB (2018) Risk factors for subclinical and clinical ketosis and association with production parameters in dairy cows in the Netherlands. *Journal of Dairy Science*, 98:880–888.

Van Winden SCL & Kuiper R (2002) Left displacement of the abomasum in dairy cattle: recent developments in epidemiological and etiological aspects. *Veterinary Research*. 34:47–56.

Vergara CF, Döpfer D, Cook NB, Nordlund KV, Mcart JAA, Nydam DV & Oetzel GR (2014) Risk factors for postpartum problems in dairy cows: Explanatory and predictive modeling. *Journal of Dairy Science*, 97: 4127–4140.

Voyvoda, H., Erdogan, H., (2010) Use of a hand-held meter for detecting subclinical ketosis in dairy cows. *Veterinary Science*, 89:344-351.

Vieja AD & Santisteban P (2018) Role of iodide metabolism in physiology and cancer. *Endocrine-related cancer*, 25(4):225-245.

Walsh RB, Walton JS, Kelton DF, LeBlanc SJ, Leslie KE & Duffield TF (2007) The effect of subclinical ketosis in early lactation on reproductive performance of postpartum dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 90: 2788–2796.

Weaver SR, Laporta J, Moore SA & Hernandez LL (2016) Serotonin and calcium homeostasis during the transition period. *Domestic Animal Endocrinology*, 56:147–154.

Williams EJ, Fischer DP, Noakes DE, England GCW, Rycroft A, Dobson H & Sheldon IM (2007) The relationship between uterine pathogen growth density and ovarian function in the postpartum dairy cow. *Theriogenology*, 68:549-559.

Wittek T, Sem I & Constable PD (2007) Changes in abdominal dimensions during late gestation and early lactation in Holstein-Friesian heifers and cows and their relationship to left displaced abomasum. *Veterinary Record*, 161:155-161.

Zadoks RN, Allore HG, Barkema HW, Sampimon OC, Wellenberg GJ, Grohn YT & Schukke YH (2001) Cow- and quarter-level risk factors for *Streptococcus uberis* and *Staphylococcus aureus* mastitis. *Journal of Dairy Science*, 84:2649–2663.

Zhang Z, Liu G, Li X, Whang Z, Kong T, Zhang N & Guo C (2009) B-Hydroxybutyrate, Glucose, Calcium, Phosphorus, and Vitamin C Concentrations in Blood of Dairy Cows With Subclinical Ketosis During the Early Lactation. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 53: 71–74.

## 8. Anexos

## **Anexo I**

### **Delibol**

#### **Composição:**

Óxido de magnésio

Sais de ácidos gordos

Litotâmnio

Cinchona

Helonias

Cohosh preto

Magnésio 3%

Cálcio 4.7%

Pré-mistura de aromas

Zinco:2057mg

Cobre:286mg

Selénio:4.3mg

Iodo:2.9mg

Contém 20% de feno para aumentar a densidade.

#### **Forma farmacêutica:**

Bolo oral.

#### **Espécie alvo:**

Bovinos.

#### **Indicações:**

Promove a expulsão da placenta; secagem dos cotilédones; influência positiva na gravidez seguinte.

#### **Modo de emprego:**

Deve ser administrado até 12 horas após o nascimento em casos de parto difícil, parto gemelar. Se for desejada involução uterina mais longa, deve ser usado simultaneamente com o metrabol.

#### **Apresentação:**

Embalagens com 6 bolos de 60g.

## **Anexo II**

### **Metrabol**

#### **Composição:**

Ácidos gordos

Sais de ácidos gordos

Litotâmnio

Margarida

Cravo

Canela

Cálcio 0.9%

Pré-mistura de aromas

Vitamina E:4.85mg

Zinco:763mg

Cobre:95mg

Selénio:4mg

Manganês:238mg

Contém 17.7%% de feno para aumentar a densidade.

#### **Forma farmacêutica:**

Bolo oral.

#### **Espécie alvo:**

Bovinos.

#### **Indicações:**

Promove a involução uterina; esvaziamento uterino; retorno ao ciclo reprodutivo

#### **Modo de emprego:**

Deve ser administrado até 12 horas após o nascimento em casos vacas primíparas ou em caso de parto difícil. Pode ser administrado juntamente com o delibol, durante a fase de expulsão da placenta.

#### **Apresentação:**

Embalagens com 6 bolos de 60g.



### Anexo III

#### Pressupostos para teste paramétrico T- Intervalo entre o parto e a primeira inseminação artificial (dias)

Teste de Normalidade	Shapiro-Wilk			
	Grupo	Estatística	gl	p
Intervalo entre o parto e a 1ª IA (dias)	Testemunha	.954	18	.493
	Experimental	.948	18	.389

Teste de Levene de Homogeneidade de Variâncias				
Based on Mean	Estatística	gl1	gl2	p
Intervalo entre o parto e a 1ª IA (dias)	.487	1	34	.490

#### Anexo IV

#### Pressupostos para teste paramétrico T- Intervalo entre o parto e primeira inseminação artificial fecundante (dias)

Teste de Normalidade	Shapiro-Wilk			
	Grupo	Estatística	gl	Sig.
Intervalo entre o parto e a 1ª IA fecundante (dias)	Testemunha	.769	18	.001
	Experimental	.917	18	.115

## Anexo V

### Pressupostos para teste paramétrico T-Número de inseminações artificiais até à fecundação

Teste de Normalidade	Shapiro-Wilk			
	Grupo	Estatística	gl	Sig.
Número de IAs da Vaca	Testemunha	.749	18	.000
	Experimental	.801	18	.002