



UNIVERSIDADE DE ÉVORA

## **ESCOLA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA**

DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA

### **Cirurgia e Clínica De Espécies Pecuárias**

Ana Sofia Francisco de Sousa

Orientação | Prof<sup>a</sup>. Doutora Catarina Falcão Trigosso Vieira  
Branco Lavrador

Dr. António Álvaro Dias Lopes

**Mestrado Integrado em Medicina Veterinária**

Relatório de Estágio

Évora, 2018



UNIVERSIDADE DE ÉVORA

## **ESCOLA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA**

DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA

### **Cirurgia e Clínica De Espécies Pecuárias**

Ana Sofia Francisco de Sousa

Orientação | Prof<sup>a</sup>. Doutora Catarina Falcão Trigosso Vieira  
Branco Lavrador

Dr. António Álvaro Lopes Dias

**Mestrado Integrado em Medicina Veterinária**

Relatório de Estágio

Évora, 2018

## AGRADECIMENTOS

Quando me perguntavam o que queres ser quando fores grande, a minha resposta era unicamente uma: médica veterinária. Ainda nem sabia dizer o nome corretamente e escrevê-lo muito menos, mas persistia no meu sonho.

À minha mãe, por tudo o que significa para mim, por todo o seu amor incondicional em todas as fases da minha vida, por me ter formado enquanto pessoa e incentivado a ser forte e a nunca desistir dos meus sonhos.

À minha irmã, por toda a ajuda, apoio, motivação e para além de ser minha irmã ser a minha melhor amiga.

Ao meu namorado, por me apoiar e ajudar nos bons e maus momentos, por estar sempre presente e por me fazer feliz durante os últimos 5 anos.

A todos os amigos e colegas, que de alguma forma me ajudaram e apoiaram durante o meu percurso profissional e pessoal, proporcionando-me momentos que irei recordar com muito carinho.

A Deus, por me confortar nos momentos de aflição.

À minha orientadora de estágio, Professora Doutora Catarina Lavrador, pela sua orientação, dedicação e disponibilidade, fundamentais neste percurso.

Ao meu orientador externo, Dr. Álvaro, pela forma amável como me recebeu, pelo tempo disponibilizado e principalmente pelos ensinamentos que me transmitiu, contribuindo de forma essencial para o meu futuro profissional.

Ao Dr. Tiago Salvado, à Dra. Cristina Andreu e ao Enf. Veterinário Nuno Marques pelo apoio incansável, sendo que foram todos pilares na concretização do presente relatório de estágio.

Agradeço a todos de coração, obrigada.

## RESUMO

O presente relatório inicia-se pela descrição das atividades desenvolvidas durante o Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária da Universidade de Évora, no âmbito da cirurgia e clínica de espécies pecuárias. De seguida, desenvolve o tema “Imunossupressão do Período de transição”, com uma breve revisão bibliográfica. E por fim, apresenta o estudo de caso: “Investigação dos efeitos na administração de pegbovigrastim na saúde pós-parto e na produtividade de vacas leiteiras”; com o objetivo principal de avaliar os efeitos na administração de pegbovigrastim em vacas leiteiras, tanto na saúde pós-parto como na produtividade. Os resultados evidenciaram um efeito positivo, comprovado estatisticamente, na administração de pegbovigrastim na saúde pós-parto de vacas leiteiras, em particular na incidência da metrite. Contudo, no que diz respeito ao efeito na administração de pegbovigrastim na incidência da mastite e da retenção placentária, assim como na produção de leite, os resultados não se revelaram estatisticamente significativos.

**Palavras-chave:** espécies pecuárias; imunossupressão; período de transição; saúde pós-parto; pegbovigrastim.

# LARGE ANIMAL SURGERY AND CLINIC

## ABSTRACT

This report will firstly discuss activities performed throughout the Curricular Externship integrated on the University of Evora's Masters on Veterinary Medicine – Livestock Surgery and Medicine. Secondly, there will be a brief literature review concerning immunosuppression during the transition period. At last, it will be presented a case study about the effects on dairy cows peripartum health and productivity after pegbovigrastim administration. The results showed a statistically positive trend whenever there was a pegbovigrastim treatment, especially on the incidence of metritis. Regarding the other signs, mastitis, retained placenta and milk production, there was no meaningful change.

**Keywords: livestock:** immunosuppression; transition period; peripartum health; pegbovigrastim.

# ÍNDICE GERAL

Agradecimentos .....	I
Resumo .....	II
Abstract.....	III
Índice de gráficos.....	VI
Índice de tabelas .....	VII
Índice de figuras .....	IX
Lista de abreviaturas e siglas .....	X
1. Introdução.....	1
2. Atividades Desenvolvidas .....	2
2.1. Local de Estágio.....	2
2.1.1. Caracterização da Exploração M. Rito, Lda.....	2
2.2. Casuística .....	5
2.2.1. Medicina Preventiva .....	7
2.2.1.1. Bovinos .....	8
2.2.1.2. Pequenos Ruminantes .....	12
2.2.1.3. Suínos.....	15
2.2.1.4. Espécies Cinegéticas .....	16
2.2.2. Assistência Reprodutiva .....	18
2.2.2.1. Bovinos .....	19
2.2.2.2. Ovinos .....	23
2.2.3. Clínica Médica e Cirúrgica.....	25
2.2.3.1. Bovinos .....	26
2.2.3.2. Ovinos .....	35
2.2.3.3. Equinos.....	37
2.2.4. Neonatologia.....	41
3. Imunossupressão do Período de transição: Revisão bibliográfica.....	48
3.1. Introdução .....	48
3.2. Etiopatogenia da Imunossupressão .....	50

3.3.	Afeções associadas .....	59
3.3.1.	Metrite.....	59
3.3.2.	Mastite .....	61
3.3.3.	Retenção Placentária.....	63
3.4.	Prevenção e Controlo .....	66
4.	Estudo de Caso: Investigação dos efeitos na administração de pegbovigrastim na saúde pós-parto e na produtividade de vacas leiteiras .....	68
4.1.	Introdução e objetivos.....	68
4.2.	Materiais e métodos .....	71
4.2.1.	Exploração e Animais.....	71
4.2.2.	Programa de tratamento .....	73
4.2.3.	Recolha de dados .....	73
4.2.4.	Análise estatística .....	75
4.3.	Resultados .....	75
4.3.1.	Fatores Relevantes em Estudo .....	76
4.3.2.	Efeito do Pegbovigrastim na incidência da Metrite, Mastite e RP .	78
4.3.3.	Efeito do Pegbovigrastim na Produção de Leite.....	80
4.4.	Discussão e Conclusão.....	81
5.	Conclusão .....	86
6.	Bibliografia.....	87

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1</b> – Distribuição relativa das intervenções em função da espécie (n=11738).....	6
<b>Gráfico 2</b> – Distribuição relativa das intervenções profiláticas em função da espécie (n=9034).....	8
<b>Gráfico 3</b> – Distribuição relativa das intervenções de assistência reprodutiva nas diferentes espécies (n=1659).....	18
<b>Gráfico 4</b> – Distribuição relativa das intervenções na área da clínica médica e cirúrgica nas diferentes espécies (n=333).....	26
<b>Gráfico 5</b> – Distribuição relativa das intervenções de neonatologia nas diferentes espécies (n=712).....	41
<b>Gráfico 6</b> – Distribuição das vacas por número de lactações no grupo Imrestor e no grupo Controlo.....	76
<b>Gráfico 7</b> – Variação do Intervalo entre a 1ª Dose de Pegbovigrastim e o Parto nas vacas do grupo Imrestor (n=26).....	77
<b>Gráfico 8</b> – Ilustração gráfica da frequência relativa em cada doença, no grupo Imrestor e no grupo Controlo.....	78
<b>Gráfico 9</b> – Ilustração gráfica da produção de leite (em litros), no grupo Imrestor e no grupo Controlo.....	81

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Distribuição da casuística em função da área de intervenção e da espécie (n=11738).....	6
<b>Tabela 2</b> – Procedimentos de ação profilática realizados nos Bovinos (n=2073) .....	8
<b>Tabela 3</b> – Procedimentos de ação profilática realizados nos pequenos ruminantes (n=6874)....	12
<b>Tabela 4</b> – Procedimentos de ação profilática realizados nos suínos (n=14) .....	15
<b>Tabela 5</b> – Procedimentos de ação profilática realizados em espécies cinegéticas (n=73) .....	16
<b>Tabela 6</b> – Procedimentos na área da assistência reprodutiva realizados em bovinos (n=1179).....	19
<b>Tabela 7</b> – Procedimentos na área da assistência reprodutiva realizados em ovinos (n=480).....	23
<b>Tabela 8</b> – Distribuição dos casos clínicos na área clínica médica e cirúrgica, no exame físico pós-parto em bovinos (n=168) .....	27
<b>Tabela 9</b> – Distribuição dos casos clínicos na área da clínica médica e cirúrgica em bovinos, exceto os casos clínicos acompanhados no exame físico pós-parto (n=23) .....	32
<b>Tabela 10</b> – Distribuição dos casos clínicos na área da clínica médica e cirúrgica em ovinos (n=138) .....	36
<b>Tabela 11</b> – Distribuição dos casos clínicos na área da clínica médica e cirúrgica em equinos (n=11780) .....	37
<b>Tabela 12</b> – Procedimentos na área da neonatologia em bovinos (n=453) .....	41
<b>Tabela 13</b> – Distribuição dos casos clínicos na área da neonatologia em bovinos e ovinos (n=259).....	45
<b>Tabela 14</b> – Descrição da evolução dos sinais clínicos em termos da avaliação do vigor, do grau de desidratação e do reflexo de sucção em vitelos. Fonte: retirado de Boccardo <i>et al.</i> (2017).....	47
<b>Tabela 15</b> – Distribuição dos animais por grupo em função do número de animais.....	71
<b>Tabela 16</b> – Distribuição do número de vacas em estudo no grupo Imrestor e no grupo Controlo, depois do critério pré-estabelecido para as variáveis e para os outros distúrbios de saúde que foram recolhidos.....	72

<b>Tabela 17</b> – Distúrbios de saúde identificados, para além dos descritos em estudo.....	77
<b>Tabela 18</b> – Incidência das doenças em estudo no grupo Imrestor e no grupo Controlo, com o respetivo valor de P-value (Fisher´s exact test) para cada doença.....	78
<b>Tabela 19</b> – Análise estatística da produção de leite até aos 30 dias após o parto, no grupo Imrestor e no grupo Controlo (valores apresentados em litros).....	80

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Protocolo de sincronização 5-day CO-Synch + CIDR®. Fonte: Adaptado de ABSGlobal (2017).....	20
<b>Figura 2</b> – Técnica de inseminação artificial em bovinos.....	21
<b>Figura 3</b> – Protocolo de sincronização de estro realizado em ovinos.....	24
<b>Figura 4</b> – Vaca caída por hipocalcémia.....	29
<b>Figura 5</b> – Vaca com parto distócico.....	32
<b>Figura 6</b> – Vacas com úlceras de sola.....	35
<b>Figura 7</b> – Ovinos com sinais clínicos de língua azul.....	36
<b>Figura 8</b> – Protocolo de primovacinação utilizado em vitelos de leite na exploração M.Rito.....	44
<b>Figura 9</b> – Vaca com corrimento uterino fétido e sanguinolento de cor acastanhada.....	60
<b>Figura 10</b> – Vaca com retenção placentária.....	65
<b>Figura 11</b> – Protocolo aplicado no estudo de caso ao grupo Imrestor.....	73

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

**AGNE** – Ácidos gordos não esterificados (AGNE)

**bG-CSF** – Forma PEGilada da citocina Fator Estimulante de Colónias de Granulócitos bovinos

**BHV-1** - Vírus herpes bovino tipo 1 (BHV-1)

**BVD** – Vírus da diarreia vírica bovina (BVD)

**DGAV** – Direção Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV)

**fr, %** - Frequência relativa (fr, %)

**G-CSF** – Fator estimulante de colónias de granulócitos (G-CSF)

**IA** – Inseminação artificial (IA)

**IDTC** – Teste de intradermotuberculinização comparada

**IgG** – Imunoglobulina G (IgG)

**MS** – Matéria seca

**n** – Frequência absoluta (n)

**NEB** – Balanço energético negativo (NEB)

**OIE** – World Organization for Animal Health (OIE)

**ROS** – Espécies reativas de oxigénio (ROS)

**RP** – Retenção placentária (RP)

**SVC** – Síndrome de vaca caída (SVC)

**TCM** – Teste Californiano de Mastites

# 1. INTRODUÇÃO

O atual relatório de estágio surge no âmbito da unidade curricular denominada estágio curricular, inserida no mestrado integrado em medicina veterinária da universidade de Évora. O estágio curricular tem por objetivo colocar em prática os conhecimentos teóricos adquiridos ao longo do mestrado integrado em medicina veterinária, promovendo assim a transição do contexto formativo para o contexto profissional.

O estágio decorreu num período de 4 meses, entre 24 de Outubro de 2016 a 24 de Fevereiro de 2017, sob a orientação da Professora Dra. Catarina Lavrador e do Dr. António Álvaro Dias Lopes.

O presente relatório de estágio encontra-se assim dividido em três partes:

- A primeira parte descreve as atividades desenvolvidas durante o decorrer do estágio, caracterizando o local do estágio e apresentando a casuística, de acordo com as áreas de intervenção e as espécies assistidas, com desenvolvimentos das intervenções com maior destaque.

- A segunda parte é constituída por uma breve revisão bibliográfica sobre o tema “Imunossupressão do Período de transição”.

- A terceira e última parte é composta por um estudo de caso sobre a “Investigação dos efeitos na administração de pegbovigastim na saúde pós-parto e na produtividade de vacas leiteiras”. Este estudo tem como objetivos: avaliar o efeito na administração de pegbovigastim durante o periparto de vacas leiteiras, na incidência da mastite, metrite e retenção placentária; e o efeito na administração de pegbovigastim durante o periparto de vacas leiteiras, na produção de leite até aos 30 dias após o parto. Os dados deste estudo foram obtidos durante o período de estágio na exploração pecuária M.Rito, Lda no distrito de Castelo Branco.

## **2. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS**

### **2.1. Local de Estágio**

O estágio realizou-se no distrito de Castelo Branco, decorrendo maioritariamente numa vacaria de leite sediada na Herdade Couto dos Carris em Idanha-a-Nova e designada por M. Rito, Lda. Nesta exploração pecuária foi possível acompanhar todas as atividades diárias desenvolvidas numa vacaria, tanto a nível da produção animal como nas áreas da medicina preventiva, assistência reprodutiva, clínica médica e cirúrgica. Por outro lado, também foi possível acompanhar o Dr. António Álvaro Lopes e o Dr. João Diogo, no âmbito da clínica ambulatória, tendo sido realizadas ações médico-veterinárias em várias explorações do distrito de Castelo Branco nas áreas da medicina preventiva, clínica médica e cirúrgica e assistência reprodutiva.

#### **2.1.1. Caracterização da Exploração M. Rito, Lda.**

Dado que a maioria das atividades realizadas ao longo do estágio foram efetuadas na exploração M.Rito, será assim apropriado, relatar aqui o seu funcionamento para uma melhor compreensão da casuística.

A exploração pecuária M.Rito tem como principal negócio a produção de leite, contudo também dela faz parte a recria dos vitelos para posterior venda ou renovação do efetivo. É uma empresa de grande dimensão, com um efetivo de aproximadamente 1300 animais da raça *Holstein Frísia*, sendo que destes estão cerca de 500 vacas em lactação com uma produção média diária de 36 litros por vaca.

A vacaria está organizada espacialmente por lotes, estando estes demarcados consoante o período reprodutivo (período seco, periparto e lactante) em que cada vaca se encontra. Deste modo, há lotes que se dividem pela fase da lactação (média-baixa produção, alta produção e pico de lactação), assim como, pelo número de lactações (primíparas e múltiparas). Existem ainda lotes de refugio, lote de vacas com afeções crónicas e enfermaria, perfazendo um total de 15 lotes.

Lotes 1, 2 e 3 – Vacas de produção média-baixa com produção diária de leite inferior a 20-26 litros, não existindo aqui divisão por número de lactação.

Lote 4 – Vacas com mastite crónica, na sua maioria, e vacas no decurso de um tratamento. Por conseguinte, são colocadas aqui as vacas cujo leite não pode ser vendido diretamente para consumo humano, sendo este o último lote a ser ordenhado.

Lotes 5 e 6 – Vacas para venda ou refugio, funcionando também como enfermaria quando é necessário.

Lote 7 – Vacas com menos de sete dias pós-parto, onde se realiza todas as semanas um exame clínico minucioso e onde se estabelece uma vigilância permanente, uma vez que é um dos períodos mais suscetíveis da vaca. O leite, aqui ordenhado, é usado na alimentação dos vitelos, sendo o colostro separado do restante e dado à respetiva cria.

Lotes 8 e 9 – Vacas em pico de lactação, onde há uma divisão das primíparas para o lote 8 e múltíparas para o lote 9. Permanecem nestes lotes as vacas com menos de 120 dias em lactação e com uma média diária de leite superior a 45 litros.

Lotes 10 e 11 – Vacas de alta produção, abrange as vacas com mais de 120 dias em lactação e com uma produção média diária de leite entre os 45 a 26 litros. Assim, e respeitando a divisão por número de lactações, as vacas dos lotes 8 e 9 vão passar para os lotes 10 e 11, respetivamente.

Lote 12 – Vacas recentemente secas, onde se efetuam exames de diagnóstico de gestação.

Lotes 13 e 14 – Vacas no pré parto ou maternidade, com data prevista do parto nos próximos 15 dias, ocorrendo separação dos lotes em múltíparas e primíparas. Há um maior cuidado e controlo nestes lotes pois poderá ser necessária uma intervenção rápida durante o parto.

Lote 15 – Vacas no período seco.

À parte dos lotes, a exploração M. Rito, Lda. possui duas salas de ordenha mecanizadas, uma sala com 3 tanques de leite, outra sala com material necessário à inseminação artificial e dois escritórios técnicos. A ordenha dos lotes das vacas em período de lactação é realizada duas vezes por dia, começando a primeira às 4h30 e a segunda às 16h30.

No que diz respeito ao maneio reprodutivo, a deteção de cios é determinada através de um sistema computadorizado com o utensílio de pedómetros presentes nas coleiras das vacas, que medem a sua atividade individual, determinando assim o momento ideal para a inseminação artificial (IA). A IA é apenas realizada em vacas com um intervalo superior a 45 dias depois do parto e sem sinais clínicos de doença reprodutiva,

podendo ser novamente efetuado 18 dias depois da última IA. Todavia, para colmatar as falhas deste sistema e para as vacas que eventualmente não fiquem gestantes, também é utilizada a monta natural nos lotes 1, 2 e 3. Outros procedimentos referentes ao manejo reprodutivo são os protocolos de sincronização de estro com IA a tempo fixo quer às vacas multíparas não gestantes que, por alguma razão, se apresentam em anestro, quer a todas as novilhas primíparas. A partir dos 30 dias após a última IA, consoante a disponibilidade do médico veterinário, são realizados diagnósticos de gestação por palpação e ecografia transretal.

Quando a gestação atinge o 7º mês e a produção de leite é inferior a 6 litros diários, as vacas são secas e transferidas para o lote 15. Neste lote, são feitos diagnósticos do tempo de gestação por palpação transretal e com o auxílio do programa da exploração (*alpro Windows*), que prevê a data do parto. Ao 15º dia antes do parto previsto, as vacas são transferidas para as maternidades (lote 13 e 14) e após o parto são novamente transferidas para o lote 7, começando assim a fase da lactação.

Da exploração M. Rito também faz parte um viteleiro, com alojamentos individuais para 160 animais, onde são colocados os vitelos logo após o parto, e três parques de grupos para 50 animais, onde são instalados os vitelos desmamados. Estes permanecem na exploração até fazerem os 3 meses de idade sendo depois transferidos para outra unidade da exploração sediada na Zebreira onde é feita a recria e engorda dos vitelos. As fêmeas podem vir a fazer parte do efetivo leiteiro, enquanto que os machos serão vendidos para outra exploração ou para abate.

Esta exploração engloba o cultivo, maioritariamente, de milho, que é transformado em silagem e farinha de milho, e que faz parte da alimentação animal devido ao elevado valor energético desta matéria-prima. Esta alimentação também engloba concentrado proteico e palha com diferentes concentrações consoante o lote e as necessidades dos animais. Assim, com a recria dos vitelos e a produção agrícola de milho, baixam os custos económicos associados à produção de leite e conseguem acompanhar o mercado leiteiro nacional.

## **2.2. Casuística**

A casuística apresentada no presente relatório de estágio, é referente a todas as atividades médico-veterinárias desenvolvidas durante o período do estágio curricular que decorreu entre 24 de outubro de 2016 e 24 de fevereiro de 2017.

Foram feitos esforços no sentido de aproveitar todas as oportunidades de aprendizagem proporcionadas, tanto na exploração M. Rito como no serviço ambulatório, para assim colocar em prática as competências técnicas da formação académica recebida.

Deste modo, durante o decorrer do estágio curricular foi possível acompanhar e participar ativamente nas áreas da prevenção, clínica médica e cirúrgica, e assistência reprodutiva. Destaca-se a área da medicina preventiva como a área de maior número de procedimentos efetuados, enquanto que os ovinos foram a espécie com maior número de intervenções. Apesar de todas as ações médico-veterinárias serem de grande importância, as ações de controlo profilático alcançaram maior destaque pois foram efetuadas em maior número e apesar do contacto diário com a exploração de bovinos leiteiros, o concelho de Castelo Branco apresenta maior número de efetivos ovinos, tendo sido esta a espécie com maior representatividade, em termos de número de intervenções ao longo do estágio.

Serão aqui apresentadas todas as atividades desenvolvidas ao longo do estágio, porém, na impossibilidade de desenvolver todos os casos clínicos e procedimentos efetuados, elegeu-se os que apresentaram maior frequência ou os que, de alguma forma, apontaram maior interesse para a autora.

Organizou-se a casuística pelas áreas de intervenção predominantes: medicina preventiva, assistência reprodutiva e clínica médica e cirúrgica; optando-se por destacar também, como área de intervenção, a neonatologia, devido ao número elevado de neonatos intervencionados ao longo do estágio. As diferentes áreas intervencionadas foram descritas em função da espécie animal, como se pode verificar na tabela 1, onde se agruparam os caprinos (quando presentes) aos ovinos, pela razão de os caprinos exibirem uma frequência bastante reduzida.

Os dados serão apresentados em tabelas e gráficos, que surgirão ao longo da casuística, através dos valores de frequência absoluta (n), que correspondem ao número

exato dos procedimentos e casos clínicos, e de frequência relativa (fr, %), que correspondem aos respectivos valores percentuais.

O gráfico 1 apresenta a distribuição de todas as atividades desenvolvidas no estágio curricular em função da espécie animal, demonstrando uma maior prevalência nos pequenos ruminantes (64,22%), seguida dos bovinos (35,01%) e por último, com prevalências inferiores a 1%: as espécies cinegéticas (0,62%), os suínos (0,12%) e os equinos (0,03%).

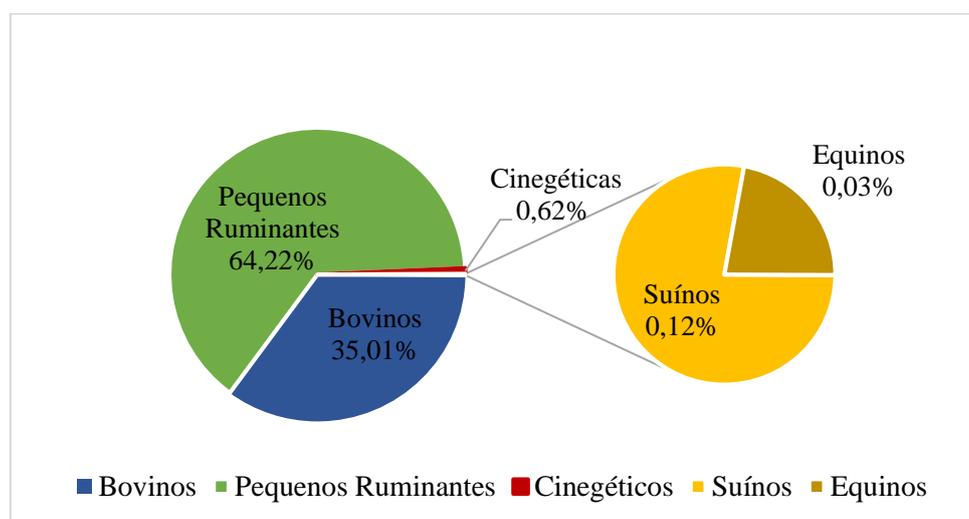


Gráfico 1: Distribuição relativa das intervenções em função da espécie (n=11738).

Tabela 1: Distribuição da casuística em função da área de intervenção e da espécie (n=11738).

<i>Espécie</i> \ <i>Área</i>	<i>Medicina preventiva</i>	<i>Clínica médica e cirúrgica</i>	<i>Assistência reprodutiva</i>	<i>Neonatologia</i>	<i>Total</i>	<i>%</i>
<i>Bovinos</i>	2073	191	1179	666	4109	35,01%
<i>Pequenos ruminantes</i>	6874	138	480	46	7538	64,22%
<i>Espécies Cinegéticas</i>	73	-	-	-	73	0,62%
<i>Suínos</i>	14	-	-	-	14	0,12%
<i>Equinos</i>	-	4	-	-	4	0,03%
<b><i>Total</i></b>	9034	333	1659	712	11738	100%
<b><i>%</i></b>	76,96%	2,84%	14,13%	6,07%	100%	

### 2.2.1. Medicina Preventiva

A medicina veterinária preventiva é uma área de grande importância na medicina veterinária, equiparando-se, por exemplo, às áreas da clínica e da cirurgia, uma vez que está diretamente relacionada com a saúde pública. Esta aplica conhecimentos de várias áreas, tendo como base a promoção e a preservação da saúde dos animais. Assim, reduz o risco de transmissão de zoonoses e garante a produtividade animal, assegurando também a produção de alimentos seguros (Pfuetzenreiter *et al.*, 2004).

No contexto do estágio, foram realizadas tanto intervenções profiláticas voluntárias, como obrigatórias, estando incluídos procedimentos como a vacinação, a desparasitação e o teste de intradermotuberculização comparada (IDTC). Em relação às intervenções profiláticas obrigatórias, estas estão a cargo da Direção Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV), existindo planos de sanidade animal vigentes para cada espécie.

A área da medicina preventiva, foi a que apresentou maior número de procedimentos ao longo do estágio curricular, como evidenciado na tabela 1. De forma global, o gráfico 2, apresenta a distribuição das ações profiláticas efetuadas de acordo com as espécies, tendo os pequenos ruminantes maior destaque com aproximadamente 76%. Contudo, se considerarmos o número total de animais intervencionados, e não o número de procedimentos, será de 3434 e não de 9034, uma vez que o total apresentado da medicina preventiva se refere ao número das várias ações profiláticas aplicadas num único animal.

Em seguida, destacam-se aqui as intervenções profiláticas obrigatórias para cada espécie, de acordo com a DGAV:

- Programa Nacional de Erradicação da Tuberculose Bovina (DGAV, 2017a);
- Programa Nacional de Erradicação de Brucelose Bovina (DGAV, 2017b);
- Programa Nacional de Erradicação da Brucelose dos Pequenos Ruminantes (DGAV, 2017c);
- Programa de Vigilância Controlo e Erradicação da Língua Azul (DGAV, 2014);
- Programa de Controlo e Erradicação da Doença de Aujeszky (DGAV, 2017d);
- Plano de Controlo e Erradicação da Tuberculose em Caça Maior (DGAV, 2011).

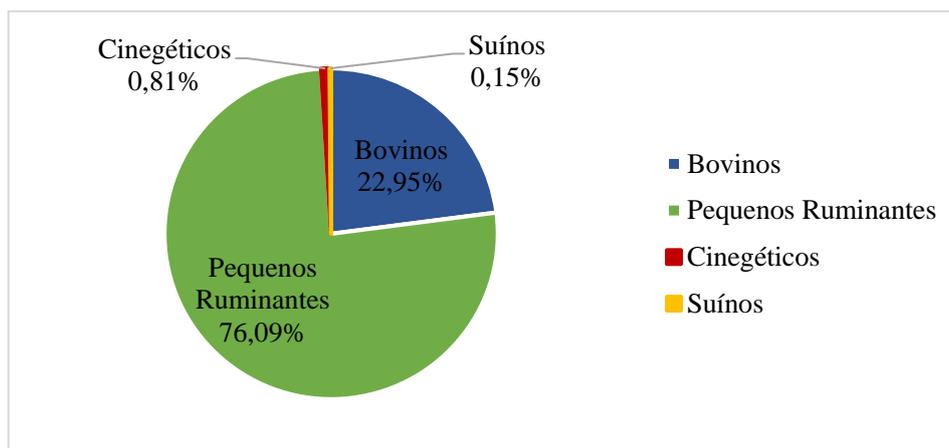


Gráfico 2: Distribuição relativa das intervenções profiláticas em função da espécie (n=9034).

### 2.2.1.1. Bovinos

Na tabela 2, apresentam-se os vários procedimentos efetuados ao longo do estágio, a nível profilático, realizados na espécie bovina. Observa-se um predomínio da desparasitação e da vacinação, pertencentes às intervenções profiláticas voluntárias, assim como das intervenções profiláticas obrigatórias, no que diz respeito ao plano de erradicação de tuberculose bovina e ao plano nacional de erradicação de brucelose bovina.

Tabela 2: Procedimentos de ação profilática realizados nos bovinos (n=2073).

<i>Procedimentos</i>	<i>n</i>	<i>%</i>
<i>Desparasitação</i>	502	24,2%
<i>Vacinação</i>	502	24,2%
<i>Colheita de Sangue</i>	502	24,2%
IDTC	502	24,2%
<i>Pré-movimentação</i>	65	3,1%
<b>Total</b>	2073	100%

#### ◆ Plano de Erradicação da Tuberculose Bovina

A tuberculose bovina é definida como uma doença infecciosa que afeta de forma crónica os bovinos, principalmente, mas também os animais de companhia, os animais selvagens, etc..., sendo igualmente considerada uma zoonose. É causada, na sua grande maioria, pelo *Mycobacterium bovis* e com menor frequência pelo *M.caprae* ou *M.tuberculosis* (Rivière *et al.*, 2014). Segundo a *World Organization for Animal Health* (OIE, 2015), a tuberculose bovina constitui um problema em termos de saúde pública, sendo que a principal via de infeção dos seres humanos é a exposição a aerossóis, seguida da ingestão de material contaminado.

Esta doença resulta em grandes perdas económicas a nível do sector pecuário, gerando custos para os produtores e para o governo, no sentido dos programas de erradicação, onde existe enorme vigilância, restrições de movimentos e abate em grande escala de animais (Rivière *et al.*, 2014).

Desde 1991, ano em que foi implementado o programa de erradicação da tuberculose bovina em Portugal, que, pela Diretiva 64/432 e o Decreto-Lei n.º 272/2000 de 8 de novembro de 2000, foram definidas normas técnicas e procedimentos para a atribuição dos estatutos sanitários de efetivos e para a execução do programa de erradicação (DGAV, 2017a).

A região do Algarve foi considerada como oficialmente indemne, podendo também os Açores ganhar este estatuto no presente ano. No restante território de Portugal continental, o programa abrange todos os bovinos com mais de seis semanas de idade, tendo como objetivo a redução da incidência e da prevalência da tuberculose nas explorações. Porém, a frequência e a idade dos animais do programa depende do estatuto sanitário do efetivo, e no caso particular dos efetivos oficialmente indemnes também depende dos indicadores epidemiológicos da região. Os indicadores nacionais refletem situações diferentes nas várias regiões do país, sendo a região do Alentejo uma das mais preocupantes. Contudo todas as regiões mostraram uma melhoria na prevalência da tuberculose bovina desde 2011 até 2015 (DGAV, 2017a).

O programa de erradicação em Portugal tem como prova oficial de diagnóstico em vida o teste de intradermotuberculização de comparação (IDTC), onde ocorre a

inoculação intradérmica de tuberculina bovina e tuberculina aviária. É realizada no terço médio da tabua do pescoço, tendo uma distância de 12 a 15 cm entre cada inoculação, com tricotomia e medição da espessura da prega de pele antes de cada inoculação. Após 72 horas, é novamente medida a prega de pele nos pontos de inoculação, onde se verifica o resultado da prova, através da reação de hipersensibilidade provocada e da diferença entre a tuberculose bovina e aviária. Esta prova poderá dar resultados positivos, duvidosos e negativos; podendo ser necessário, em algumas situações, outra prova complementar de diagnóstico em vida, em que se utiliza o teste interferão-gama. A IDTC e a prova do interferão-gama, quando necessária, são executadas em três situações distintas: no saneamento anual obrigatório, nos testes de pré-movimentação animal e nas reinspeções do efetivo. O diagnóstico após a morte é realizado através de exames de rotina no matadouro (DGAV, 2017a).

Através dos resultados das provas acima referidas, é atribuído a todas as explorações um estatuto sanitário pelos serviços veterinários oficiais (DGAV, 2017a), podendo ser classificadas por:

T3- Oficialmente indemne.

T2- Exploração não-livre, onde estão a tomar medidas sanitárias.

T2.1- Infetada, com isolamento de *Micobacterium bovis*.

Atualmente, as espécies selvagens, como os cervos e os javalis, representam um grande obstáculo à erradicação da tuberculose bovina, uma vez que são uma fonte contínua de re-infeção para as espécies domésticas (Rivière *et al.*, 2014).

#### ◆ Plano Nacional de Erradicação da Brucelose Bovina

A brucelose é uma doença contagiosa, causada por bactérias da família *Brucela*, sendo a *Brucella melitensis* a de maior importância em Portugal. No caso particular dos bovinos, a *Brucella abortus* é a maior causa de infeção. É uma doença considerada de elevados prejuízos económicos e também uma zoonose altamente infecciosa. A *Brucela*

*melitensis* é o principal agente etiológico da doença em humanos, designada por febre-de-malta. (Ganter, 2015; DGAV, 2017b).

A principal via de transmissão da brucelose ocorre no parto ou no aborto de fêmeas infetadas, através da placenta, dos líquidos fetais e das descargas vaginais. As bactérias conseguem manter-se viáveis por vários meses no ambiente, infetando também os animais que permanecem no pasto, quer por ingestão ou inalação do agente causador. A ingestão de produtos animais contaminados, como os produtos lácteos, e o contacto direto com os animais são os principais meios de transmissão da brucelose no Homem. (Ganter, 2015).

De um modo geral, os sinais clínicos não são muito evidentes, à exceção do aborto. Verificando-se, nos bovinos: abortos no terço final da gestação, retenção placentária, infertilidade, vitelos mortos ao nascimento e neonatos débeis (DGAV, 2017e).

A brucelose é uma doença de notificação obrigatória desde 1953, contudo só em 1991 se encontra no plano de erradicação nacional, para os bovinos e para os pequenos ruminantes, tendo o programa estabelecido um estatuto de saúde às explorações abrangidas em conformidade com a diretiva 64/432 / CEE de 26 de Junho e as suas alterações e Decretos-Lei 244/2000 e 79/2011 de 8 de Novembro e 20 de junho. Nos bovinos, o programa abrange todos os animais reprodutores com mais de 12 meses, com exceção de alguns distritos, como o de Castelo branco, onde os animais poderão ter mais de 24 meses de idade, baseando-se no controlo serológico uma vez por ano e em determinadas áreas na aplicação da vacina RB51 (DGAV, 2017b).

O controlo serológico Rosa Bengala é um dos testes de diagnóstico oficial, utilizado como teste de triagem, e em caso de se verificar positivo será aplicado outro dos testes oficiais, a prova de Fixação do Complemente, sendo está decisiva para determinar a positividade. O teste Elisa também poderá ser utilizado em condições definidas pelo programa, nos efetivos leiteiros através do leite. Após o abate sanitário, ainda poderá ser realizado o diagnóstico bacteriológico em animais que pertencem aos estatutos oficialmente indemne e indemne da doença e que apresentaram um teste serológico positivo (DGAV, 2017b).

As explorações são classificadas consoante os resultados dos testes de diagnósticos oficiais, onde os serviços veterinários oficiais atribuem a cada exploração um estatuto sanitário, que inclui os seguintes estatutos (DGAV, 2017b):

B4- Oficialmente indemne de brucelose;

B3- Indemne de brucelose;

B2- Explorações que estão sob medidas sanitárias e não estão livres de doença;

B2.1- Infetadas com isolamento de *B. abortus* e *B. mellitensis*.

### 2.2.1.2. Pequenos Ruminantes

Similarmente à espécie bovina, a maioria das ações profiláticas desenvolvidas ao longo do estágio, foram as intervenções voluntárias: desparasitação e vacinação; assim como, as intervenções obrigatórias: plano nacional de erradicação da brucelose dos pequenos ruminantes, baseado no procedimento da colheita de sangue para posterior análise serológica; e o programa de vigilância controlo e erradicação da língua azul, baseado na vacinação (tabela 3).

Tabela 3: Procedimentos de ação profilática realizados nos pequenos ruminantes (n=6874).

<i>Procedimentos</i>	<i>Ovinos</i>	<i>Caprinos</i>	<i>n</i>	<i>%</i>
<i>Desparasitação</i>	2786	50	2836	41,3%
<i>Vacinação</i>	2786	50	2836	41,3%
<i>Colheita de sangue</i>	810	50	860	12,5%
<i>Identificação animal</i>	329	13	342	5,0%
<b><i>Total</i></b>	6711	163	6874	100%
<i>%</i>	98%	2%	100%	

◆ Plano Nacional de Erradicação da Brucelose dos Pequenos Ruminantes

O plano nacional de erradicação de brucelose dos bovinos e o plano nacional de erradicação de brucelose dos pequenos ruminantes é muito similar, concentrando vários pontos idênticos que já terão sido anteriormente abordados neste relatório de estágio. Contudo, algumas diferenças serão aqui descritas, já que se trata de espécies distintas.

No caso particular dos ovinos e caprinos, estes são principalmente infetados pela *Brucella melitensis*, uma vez que esta é a principal causa da doença em humanos, estes animais representam assim uma importante via de infeção para os mesmos (Ganter, 2015).

Os sinais clínicos nos pequenos ruminantes, apesar de pouco evidentes, podem apresentar: abortos na segunda metade da gestação, retenção da placenta, alterações inflamatórias do ubere, infertilidade, orquites, mortalidade no nascimento ou borregos/cabritos fracos (Ganter, 2015; DGAV, 2017f).

O programa estabelecido para os ovinos e caprinos abrange todos os animais com mais de 6 meses de idade, devendo estes ser testados, com exceção dos efetivos vacinados com Rer-1, que poderão ser testados com mais de 18 meses de idade. O controlo poderá ser feito por amostragem da população uma vez por ano, implicando que sejam testadas 25% das fêmeas em idade reprodutiva (contudo nunca menos de 50 animais) e incluindo todos os machos e os novos animais na exploração. Isto só se aplica quando os efetivos são indemnes ou oficialmente indemnes; no caso de existirem efetivos com brucelose na mesma área geográfica, todos os animais do efetivo serão submetidos ao controlo serológico (DGAV, 2017c).

Tanto os testes de diagnóstico oficiais como o estatuto sanitário atribuído às explorações são idênticos ao plano nacional de erradicação de brucelose dos bovinos, tendo sido referidos anteriormente.

◆ Programa de Vigilância, Controlo e Erradicação da Língua Azul

A língua azul ou febre catarral ovina é uma doença infecciosa, não-contagiosa e não transmissível ao Homem. É uma doença viral, transmitida por vetores do género *Culicoides* infetados, tendo como animais suscetíveis os ruminantes, em que a espécie ovina é a mais afetada. A doença faz parte da lista de doenças de declaração obrigatória nacional e europeia pela sua alta patogenicidade e poder de difusão, sendo também uma doença de notificação obrigatória segundo a OIE (Lobão *et al.*, 2015; DGAV, 2017g).

Em Portugal, foram registados focos do serotipo 1 e do serotipo 4, surgindo em 2004 os primeiros casos de língua azul do serotipo 4 e apenas em 2007, o serotipo 1. Para evitar a propagação e o aparecimento de novos focos da doença foram implementadas várias medidas, centrando-se na restrição à movimentação animal e na implementação de um programa de vigilância e vacinação (DGAV, 2014).

Em 2017, Portugal declarou-se livre do serotipo 4 da língua azul, contudo o mesmo não se verificou para o serotipo 1, mantendo-se as medidas de controlo para este serotipo em todo o território nacional continental. Estas medidas são adotadas consoante a evolução epidemiológica e a avaliação de risco da doença. Devido a uma evolução favorável até 2012, a vacinação do efetivo ovino era de carácter obrigatório apenas em 3 concelhos do distrito de Castelo Branco (Idanha-a-Nova, Castelo Branco e Vila Velha de Rodão), uma vez que o risco da circulação viral nesta área era considerado elevado. Porém, como em 2015 e 2016 foram confirmados novos surtos do serotipo 1, a vacinação obrigatória nos efetivos ovinos alastrou-se para mais 4 regiões (Centro, Lisboa e Vale do Tejo, Alentejo e Algarve). Todas as restantes medidas anteriormente implementadas mantiveram-se idênticas: planos de vigilância clínica, sorológica e virológica, permissão da vacinação voluntária nos restantes efetivos ovinos e em todos os efetivos bovinos, restrição de movimentos nas áreas onde são detetados animais positivos e aplicação de inseticidas como medidas de controlo (Ribeiro, 2012; DGAV, 2014; DGAV, 2017g).

### 2.2.1.3. Suínos

As ações profiláticas na espécie aqui apresentada, incluem a vacinação e o rastreio serológico (no âmbito do programa de controlo e erradicação da doença de Aujeszky). A tabela 4 resume os 14 procedimentos efetuados.

Tabela 4: Procedimentos de ação profilática realizados nos suínos (n=14).

<i>Procedimentos</i>	<i>Suínos</i>	<i>n</i>	<i>%</i>
<i>Vacinação</i>	7	7	50,0%
<i>Colheita de sangue</i>	7	7	50,0%
<i>Total</i>	14	14	100%

#### ◆ Plano de Controlo e Erradicação da Doença de *Aujeszky*

A doença de *Aujeszky* ou pseudo-raiva é uma doença infecto-contagiosa de etiologia viral (herpes vírus: SHV-1), que infeta especialmente o sistema nervoso central dos suínos jovens e de outros mamíferos, não afetando o homem. É uma doença com consequências à escala mundial, com grande impacto económico no comércio internacional de suínos e nas explorações, nomeadamente devido à mortalidade dos leitões, atrasos no crescimento dos machos de engorda e também devido às perdas reprodutivas nas fêmeas gestantes (CFSPH, 2017).

É considerada uma doença altamente contagiosa, onde o suíno doméstico e o javali são reservatórios naturais da doença, estando o vírus presente nas secreções nasais e na saliva, permitindo desta forma a infeção pela via respiratória ou oral (CFSPH, 2017).

Uma vez que tem grandes repercussões no comércio internacional de suínos, é uma doença de declaração obrigatória quer a nível nacional, quer da Comissão Europeia e da OIE. As normas técnicas de execução do plano nacional de controlo e erradicação da doença de Aujeszky são estabelecidas pelo Decreto-lei n.º 85/2012 de 5 de fevereiro alterado pelo Decreto-lei n.º 222/2012 de 15 de outubro, baseando-se numa avaliação

epidemiológica de todas as explorações suinícolas, através de controlos serológicos por amostragem dos efetivos, e num plano vacinal dos efetivos com Vacinas deletadas (gE-) que possibilita a distinção dos animais vacinados e dos infetados (DGAV, 2017d; CFSPH, 2017).

Através dos rastreios serológicos são atribuídas classificações sanitárias às explorações suinícolas, organizando-se por (DGAV, 2017d):

A1- efetivo de estatuto desconhecido;

A2- efetivo positivo à doença de *Aujeszky*;

A2A- efetivo positivo ativo à doença de *Aujeszky*;

A2NA- efetivo positivo não ativo à doença de *Aujeszky*;

A3- efetivo em saneamento;

A4- efetivo indemne;

A5- efetivo oficialmente indemne;

A4S e A5S- efetivo indemne ou oficialmente indemne suspenso.

#### 2.2.1.4. *Espécies Cinegéticas*

Também na área da medicina preventiva, foram acompanhados exames iniciais a espécies cinegéticas (tabela 5), decorrendo este procedimento em várias montarias efetuadas no distrito de Castelo Branco.

Tabela 5: Procedimentos de ação profilática realizados em espécies cinegéticas (n=73).

<i>Procedimento</i>	<i>Javalis</i>	<i>Veados</i>	<i>n</i>	<i>%</i>
<i>Exame inicial</i>	31	42	73	100%
<b><i>Total</i></b>	31	42	73	100%
<i>%</i>	42%	58%	100%	

◆ Plano de Controlo e Erradicação de Tuberculose em caça maior

As espécies cinegéticas mais afetadas com a tuberculose são os exemplares de caça maior, como o javali e o veado, onde o agente causal é o *Mycobacterium bovis*. A tuberculose nas espécies cinegéticas, como já foi referido, apresenta atualmente um fator de risco para a re-infecção das espécies domésticas e assim um grande impedimento para a erradicação e controlo desta doença. Para tal, foi implementada uma estratégia sanitária para as espécies cinegéticas, através do plano de controlo e erradicação de tuberculose em caça maior, no sentido de melhorar o estado sanitário destas espécies, mas também no intuito da proteção da saúde pública e animal (DGAV, 2011; Cunha *et al.*, 2012).

Devido à crescente introdução das carnes da caça selvagem no mercado, torna-se importante o reforço da segurança alimentar proveniente destes produtos, identificando-se para tal uma área epidemiológica de risco onde foram selecionadas áreas geográficas de vários concelhos com maior prevalência e incidência de tuberculose em caça maior e aplicados vários objetivos. Os objetivos abrangem a proteção da saúde dos manipuladores de carnes e dos consumidores, a cessação do ciclo de contaminação entre estas espécies em causa e as espécies domésticas, e uma recolha de dados adequada para avaliação da real situação para sustentar futuras decisões (DGAV, 2011).

Para tal, os médicos veterinários designados, têm um papel fundamental, onde têm a seu cargo várias tarefas, como: identificar os animais abatidos, supervisionar e coordenar procedimentos de evisceração, aconselhar as condições de proteção individual e regras de segurança, realizar o exame inicial das peças de caça com destino ao autoconsumo ou à colocação no mercado, recolher amostras de animais com suspeita de tuberculose e enviá-las para exame laboratorial, encaminhar a eliminação dos subprodutos e a correta lavagem e desinfeção do local, e manter informada a direção de serviços veterinários da região do decorrer das operações ao preencher os documentos de suporte necessários (DGAV, 2011).

Assim como os médicos veterinários, também as entidades gestoras de caça têm a seu cargo várias atribuições que são obrigadas a cumprir, como por exemplo, garantirem a presença de um médico veterinário no decorrer de cada ação de caça e disponibilizar meios para garantir as condições higiosanitárias necessárias aos procedimentos a realizar. (DGAV, 2011).

O concelho de Castelo Branco, onde foi realizado o estágio, é um dos concelhos identificados como área epidemiológica de risco, tendo sido realizadas várias intervenções médico-veterinárias no âmbito deste plano de controlo e erradicação em montarias.

### 2.2.2. Assistência Reprodutiva

Com a crescente preocupação da rentabilidade nas atividades agropecuárias, o controlo da produção animal torna-se atualmente imprescindível, ganhando assim a área da assistência reprodutiva maior destaque para o sucesso das explorações, uma vez que está intimamente relacionada com a produtividade.

No decorrer do estágio, a área da assistência reprodutiva deteve grande parte das intervenções médico veterinárias realizadas, com um total de 1659 intervenções. No gráfico 3, é possível observar que a maioria das intervenções realizadas foram desenvolvidas na espécie bovina, com 71%, sendo que as restantes foram desempenhadas na espécie ovina, com 29%. Estes resultados advêm do facto de grande parte do estágio ter sido realizado na exploração M.Rito, com intervenções diárias realizadas na área da assistência reprodutiva.

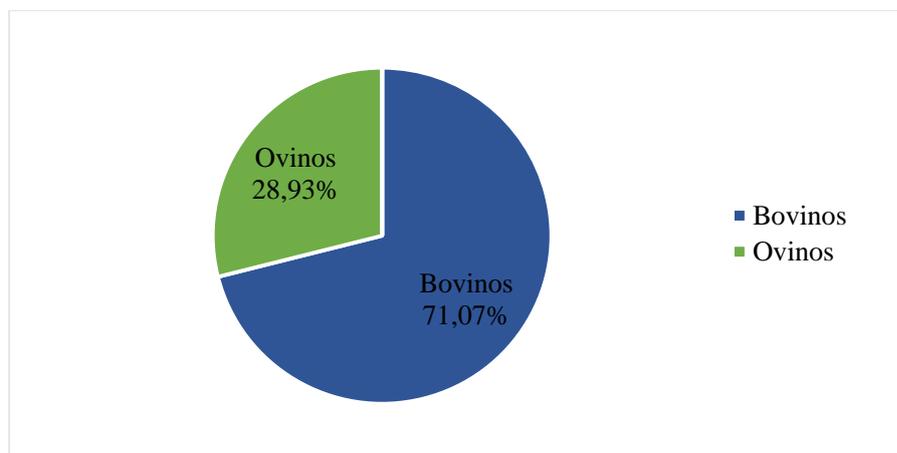


Gráfico 3: Distribuição relativa das intervenções de assistência reprodutiva nas diferentes espécies (n=1659).

### 2.2.2.1. Bovinos

A maioria das intervenções na área da assistência reprodutiva foram efetuadas na exploração M. Rito em bovinos leiteiros. As intervenções que se realizaram com maior frequência, ao longo do estágio, nesta área e espécie, foram a inseminação artificial (IA) com um total de 557 IA, seguida do diagnóstico de gestação, a sincronização de estro para posterior IA e o controlo ecográfico para posterior IA, respetivamente com 270, 158 e 145 intervenções. Com menor frequência e apenas 2 intervenções, foram também realizados exames andrológicos, tal como se pode constatar na Tabela 6.

Tabela 6: Procedimentos na área da assistência reprodutiva realizados em bovinos (n=1179).

<i>Procedimentos</i>	<i>n</i>	<i>%</i>
<i>Inseminação artificial</i>	557	47,2%
<i>Diagnóstico de gestação</i>	270	22,9%
<i>Sincronização de estro</i>	158	13,4%
<i>Controlo ecográfico para IA</i>	145	12,3%
<i>Secagem</i>	47	4,0%
<i>Exame andrológico</i>	2	0,2%
<b><i>Total</i></b>	1179	100%

#### ◆ Assistência Reprodutiva

A eficiência reprodutiva de uma exploração leiteira depende de um bom programa de reprodução, onde serão avaliados vários parâmetros do desempenho reprodutivo das vacas leiteiras, tais como: o intervalo entre partos, a taxa de gestação e as perdas de gravidez. Outro parâmetro importante é o intervalo pós-parto até à IA, ou o período de espera voluntária, que será determinado pelos critérios de manejo, produção de leite e secagem (Santos, 2011). No caso específico da vacaria M. Rito, este intervalo é de 46

dias, uma vez que é necessária uma completa involução uterina sem comprometer a futura fertilidade e consequentemente rentabilidade da vaca. Todos estes fatores devem ser equacionados e adaptados às características de cada exploração para definir uma estratégia de gestão adequada.

Uma vez definida a estratégia para um programa reprodutivo eficiente, são implementados prazos e patamares a atingir, sendo a IA atualmente um ponto fundamental e indispensável nas explorações leiteiras.

No decorrer do estágio foram efetuadas 557 IA, sendo que destas, 158 foram efetuadas a tempo fixo com recurso a protocolos hormonais, e as restantes foram realizadas diariamente pela indicação do programa de deteção do estro. Através da identificação eletrónica e de um podómetro que mede a atividade individual das vacas foi possível determinar o momento certo para a IA, sendo este o procedimento habitual da exploração em causa para a maioria do efetivo leiteiro.

Contudo, no caso das vacas – em anestro, sem sinais de estro evidentes, e com doenças do sistema reprodutor; e das novilhas, é necessário encontrar outras soluções como os protocolos de sincronização hormonal de IA a tempo fixo. Estes utilizam-se para diminuir o tempo de improdutividade das fêmeas, quer para antecipar a fase reprodutiva nas novilhas quer para retornar o ciclo éstrico nas vacas em anestro. Para tal, são administradas várias hormonas, consoante o protocolo escolhido, com a função de controlar o tempo do ciclo éstrico (controlam a fase lútea, sincronizam a onda folicular e induzem a ovulação) e consequentemente saber o momento ideal para realizar a IA (Santos, 2011; Bisinotto *et al.*, 2014). Um dos protocolos de sincronização utilizado no presente estágio está evidenciado na figura 1, tendo sido usado em novilhas com aproximadamente 2 anos.

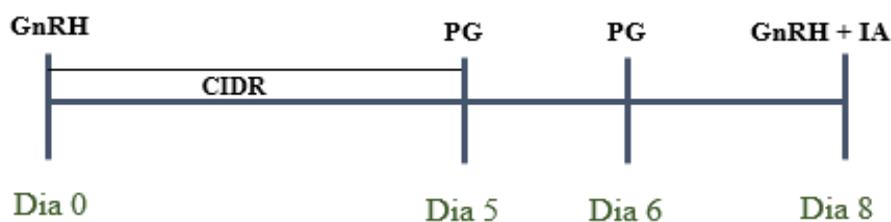


Figura 1: Protocolo de sincronização 5-day CO-Synch + CIDR®.

Fonte: Adaptado de ABSGlobal (2017).

Os medicamentos utilizados no protocolo acima descrito, foram: Prostol® como análogo sintético da Prostaglandina F2 $\alpha$  (PgF2 $\alpha$ ), administrado na dose de 150  $\mu$ g/animal IM; Veterelim® como análogo da hormona libertadora de gonadotrofinas (GnRH), administrado na dose de 10  $\mu$ g/animal IM; e o CIDR®, um dispositivo em forma de “T” impregnado com progesterona de aplicação intra-vaginal, durante cinco dias.

A técnica de IA utilizada foi a retovaginal, onde o *pistolet* de inseminação é guiado por uma mão, atravessando a vagina e o cérvix com o auxílio da outra mão, que através da palpação transretal permite conter e posicionar o cérvix para a passagem do *pistolet* até à entrada do útero onde se deposita o sémen congelado (figura 2).



Figura 2: Técnica de inseminação artificial em bovinos.

A taxa de concepção, ou seja, o número de vacas que ficam gestantes após a IA, é influenciada por diversos fatores, como por exemplo: a fertilidade da vaca, a qualidade do sémen e o procedimento de inseminação. No que diz respeito ao procedimento de IA é fundamental: que seja feito por um bom técnico de IA frequentemente treinado, que as práticas de higiene sejam adequadas nas instalações e nos materiais utilizados, e que se realize uma correta monitorização dos tanques de armazenamento de sémen e de todo o

material (*pistolet*, bainhas, pinças, luvas, entre outros). Só com a gestão adequada destes fatores é possível obter uma taxa de concepção alta, conseguindo assim alcançar um bom desempenho reprodutivo numa exploração de bovinos leiteiros (Bartolome & Archbald, 2011).

#### ◆ Diagnósticos de gestação

O exame clínico, onde se determina o diagnóstico positivo ou negativo de gestação, alcança grande relevância dentro das atividades de assistência reprodutiva, devendo pertencer à abordagem da avaliação da eficiência reprodutiva. Este permite a redução dos custos associados a uma não gestação, uma vez que possibilita a identificação dos animais não gestantes para uma nova avaliação e IA. Em explorações com uma taxa de deteção de estro admissível, a taxa de gestação – as vacas gestantes sobre as vacas apresentadas para diagnóstico de gestação – deve ser superior a 70% (Bartolome & Archbald, 2011).

Durante o estágio, foram realizados 270 diagnósticos de gestação, tanto com recurso à palpação transretal como ao exame ecográfico. O exame ecográfico era utilizado nos diagnósticos de gestação precoces, entre os 30 e os 45 dias; e a partir dos 45 dias o diagnóstico de gestação era executado através da palpação transretal. A maioria dos diagnósticos de gestação efetuados ocorreram na exploração M. Rito, onde se realizavam diagnósticos de gestação a todas as vacas com mais de 45 dias após a IA e às novilhas, 30 dias após o final do protocolo de sincronização efetuado. No caso das vacas secas, eram realizados diagnósticos do tempo de gestação, uma vez que teriam de ser transferidas posteriormente para a maternidade se o período de gestação fosse avançado. Este exame clínico, também se realizava, por exemplo, a vacas já anteriormente diagnosticadas positivas porém com sinais evidentes de estro, a vacas com comportamento do ciclo éstrico anormal ou a vacas com corrimentos vaginais anormais.

Outra vantagem do diagnóstico de gestação é a deteção de anomalias reprodutivas que passariam despercebidas se não recorrêssemos à palpação transretal ou ao exame ecográfico. É importante avaliar a consistência e conteúdo do útero e cornos uterinos, a presença de membranas fetais e placentomas e a presença do feto, contudo podem sugerir

outros achados, como: involução uterina inadequada, perdas embrionárias, quistos ováricos, endometrite, piometra e aderências uterinas. Todas as informações relevantes devem ser anotadas e equacionadas, uma vez que certas patologias como os quistos ováricos diminuem a taxa de gestação e poderão indicar problemas nutricionais ou problemas do período de transição que deverão ser melhorados (Bartolome & Archbald, 2011).

### 2.2.2.2. Ovinos

Na área da assistência reprodutiva, realizaram-se 480 ações na espécie ovina, que incluíram os diagnósticos de gestação e a aplicação de protocolos de sincronização de estro. De salientar que todos estes procedimentos de assistência reprodutiva foram praticados numa única exploração de produção leiteira de ovinos, com aproximadamente 800 animais adultos. O diagnóstico de gestação foi o procedimento com maior número de intervenções, cerca de 75%, encontrando-se os protocolos de sincronização de estro com os restantes 25% dos procedimentos efetuados, como é possível observar na tabela 7.

Tabela 7: Procedimentos na área da assistência reprodutiva realizados em ovinos (n=480).

<i>Procedimentos</i>	<i>n</i>	<i>%</i>
<i>Diagnóstico de gestação</i>	360	75,0%
<i>Protocolo de sincronização de estro</i>	120	25,0%
<i>Total</i>	480	100%

◆ Protocolos de sincronização de estro para posterior Inseminação Artificial

Os ovinos são uma espécie poliéstrica sazonal, ao contrário da espécie bovina, o que significa que têm ciclos éstricos regulares apenas num determinado período do ano, devido à influência do fotoperíodo. Esta característica é mais evidente no hemisfério norte, em países temperados como Portugal, pois apresentam um clima bem marcado com quatro estações do ano distintas. Esta espécie também se adaptou ao longo do tempo, à oferta de alimento e às condições climáticas nestes países (Granados *et al.*, 2006). Contudo, com a crescente procura de produtos animais e com a necessidade de apresentar esses produtos durante todo ano, torna-se fundamental arranjar métodos eficazes para responder à procura do mercado.

Os protocolos de sincronização de estro em ovinos acompanhados ao longo do estágio, foram realizados numa exploração de produção leiteira, tendo como objetivo distribuir os partos ao longo do ano e conseqüentemente manter os níveis de produção de leite relativamente estáveis.

O protocolo de sincronização de estro aplicado foi realizado em 120 ovelhas e consistia na colocação de uma esponja vaginal com a ajuda de um espéculo-aplicador próprio. As esponjas usadas continham um análogo da progesterona, acetato de flugesterona (Chronogest CR® ou Sicropart®), e eram retiradas 14 dias depois, administrando-se de seguida gonadotrofina sérica (Foligon® ou Intergonan®). Consoante a disponibilidade e os custos associados, poderia optar-se pela monta controlada ou pela IA (figura 3). O diagnóstico de gestação era realizado passados aproximadamente 40 dias, por ecografia transabdominal. Foram efetuados no estágio, maior número de diagnósticos de gestação (360) do que protocolos (120), uma vez que já tinha decorrido outro protocolo de sincronização de estro.



Figura 3: Protocolo de sincronização de estro realizado em ovinos.

O protocolo utilizado tem um período de manutenção da esponja vaginal de longa duração, sendo considerado um protocolo tradicional; todavia alguns autores sugerem que menores períodos de manutenção da esponja vaginal aumentam as taxas de concepção (Granados *et al.*, 2006). Os protocolos e a IA em ovinos não estão tão desenvolvidos como nos bovinos, havendo, por sua vez, cada vez mais esforços para o desenvolvimento desta área.

### **2.2.3. Clínica Médica e Cirúrgica**

A área clínica da medicina veterinária tem por objetivo alcançar um diagnóstico concreto para assim definir medidas terapêuticas e profiláticas o mais rapidamente possível, permitindo a resolução da doença com sucesso. Para tal, o exame clínico é o primeiro passo, se não o mais importante para efetuar numa abordagem de diagnóstico, sendo uma ferramenta imprescindível que fornece informações essenciais ao médico veterinário sobre o estado de saúde do animal. Um exame clínico completo é constituído pela história clínica ou anamnese, pelo exame físico detalhado e sistematizado e ainda, se necessário, pelos exames complementares de diagnóstico adequados (Terra, 2015).

As consultas acompanhadas durante o período de estágio, iniciaram-se sempre pelo exame físico e pela história do animal, em que o mesmo era por vezes o único recurso disponível para chegar ao diagnóstico e estabelecer o tratamento mais apropriado. Em algumas situações, o fator económico impossibilitava a realização de exames complementares necessários, definindo-se um diagnóstico presuntivo e não definitivo.

Foram realizadas cerca de 333 intervenções na área da clínica médica e cirúrgica, observando-se um predomínio de intervenções na espécie bovina, com 57 %, e logo de seguida na espécie ovina, com 41%, como se pode constatar no gráfico 4.

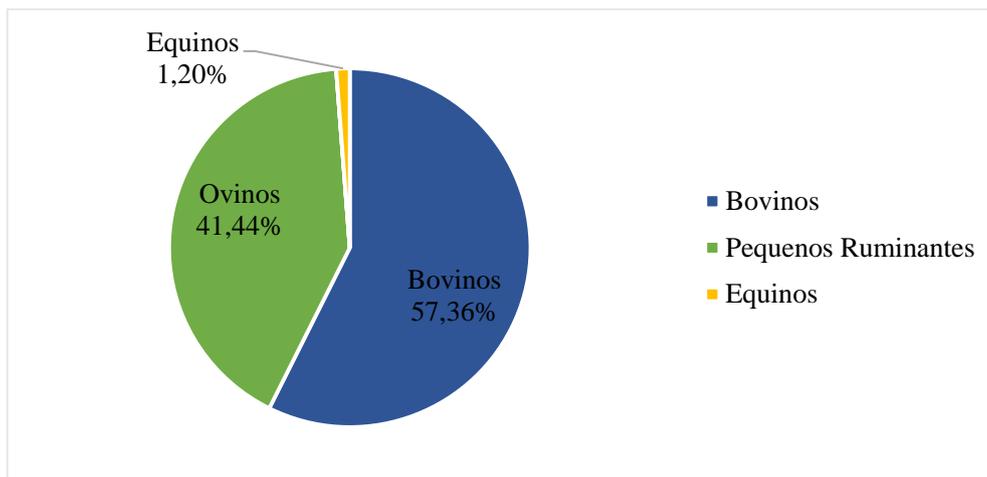


Gráfico 4: Distribuição relativa das intervenções na área da clínica médica e cirúrgica nas diferentes espécies (n=333).

### **2.2.3.1. Bovinos**

Ao todo, na espécie bovina, foram efetuados cerca de 200 exames físicos na área da clínica médica e cirúrgica, atendendo que a grande maioria foi realizada na vacaria M.Rito. Este número elevado, deve-se ao facto de todas as semanas serem realizados exames físicos às vacas em pós-parto, uma vez que é um período de grandes alterações e onde existe maior propensão a algumas patologias. Assim, devido ao predomínio de intervenções relacionadas com problemas pós-parto, as doenças na área da clínica bovina foram agrupadas no exame físico pós-parto, tabela 8, sendo que as restantes doenças que não se enquadravam nesta categoria são identificadas na tabela 9.

Tabela 8: Distribuição dos casos clínicos na área clínica médica e cirúrgica, no exame físico pós-parto em bovinos (n=168).

<i>Casos Clínicos</i>	<i>n</i>	<i>%</i>	
<i>Metrite</i>	55	32,7%	
<i>Mastite</i>	26	15,5%	
<i>Distócia</i>	<i>Tração mecânica</i>	13	7,7%
	<i>Fetotomia</i>	1	0,6%
	<i>Cesariana</i>	1	0,6%
	<i>Parto gemelar</i>	6	3,6%
<i>Vaca caída</i>	<i>Hipocalcémia</i>	7	4,2%
	<i>Cetose</i>	5	3,0%
	<i>Traumatismo</i>	4	2,4%
<i>Retenção placentária</i>	15	8,9%	
<i>Vaginite</i>	13	7,7%	
<i>Síndrome febril indeterminado</i>	12	7,1%	
<i>Edema do úbere</i>	5	3,0%	
<i>Deslocamento abomaso à esquerda</i>	3	1,8%	
<i>Prolapso vaginal</i>	1	0,6%	
<i>Prolapso uterino</i>	1	0,6%	
<b>Total</b>	168	100%	

◆ Síndrome de Vaca caída

O termo *vaca caída* expressa um animal com incapacidade em se levantar, e que se encontra há mais de 12 horas em decúbito. Na maioria das vezes, o animal apresenta-

se em decúbito esternal, alerta e com capacidade de ingerir alimento e água. Esta síndrome pode apresentar várias etiologias primárias, que deverão ser consideradas para um correto tratamento, como também lesões secundárias devido ao decúbito prolongado do animal. Das etiologias primárias destacam-se as causas sistêmicas (metabólicas e infecciosas) e as lesões anatómicas (Simões, 2015).

Ao longo do estágio, as situações acompanhadas (n=16) de síndrome de vaca caída (SVC) apresentaram-se no período pós-parto, sendo este um período de risco para esta síndrome, em especial em bovinos de aptidão leiteira. A maioria dos casos teve origem em afeções metabólicas, onde 7 animais foram diagnosticados com hipocalcemia e 5 animais com cetose. Os restantes animais assistidos (n=4) tiveram como causa primária lesão anatómica, devido a partos distócicos.

A **hipocalcemia** é comum em vacas de alta produção leiteira devido às necessidades elevadas de cálcio na fase final do crescimento fetal e à produção de colostro e leite nos dias seguintes ao parto. A maioria das vacas apresenta algum grau de hipocalcemia no período de transição, pois os mecanismos de homeostase do cálcio não conseguem ser eficazes, podendo em alguns casos resultar no SVC, em que as concentrações de cálcio estão demasiado baixas para suportar a função nervosa e muscular (Simenew & Wondu, 2013).

Nos casos clínicos acompanhados de hipocalcemia (figura 4), encontravam-se 5 animais em decúbito esternal e os restantes em decúbito lateral. Revelaram sons cardíacos abafados à auscultação, evidenciando menor força de contratilidade cardíaca e taquicardia compensatória. Também demonstravam fasciculações musculares, extremidades frias com hipotermia sistémica em alguns casos, e hipomotilidade ou estase gastrointestinal (resultado da paralisia da musculatura lisa do trato gastrointestinal).

O tratamento médico é considerado urgente, uma vez que o prolongamento do decúbito poderá causar lesões anatómicas irreversíveis. Torna-se assim fundamental o empenho e a perseverança dos tratadores, pois este é um tratamento demorado e muitas vezes com prognósticos reservados.

Em todos os casos clínicos de SVC acompanhados, colocou-se o animal confortável, numa cama de palha limpa e macia, com o intuito de reduzir a probabilidade de lesões compressivas e infeções secundárias, evitando mastites e infeções urinárias,

pela absorção da humidade através da palha e da sua limpeza diária. Outra etapa essencial no tratamento do animal, é auxiliá-lo a levantar-se com recurso a uma pinça de ancas, e encaminhá-lo aos pontos de água e alimento, efetuando-se este procedimento pelo menos duas vezes por dia. Também se colocou uma peia nos membros posteriores de forma a prevenir uma lesão por abdução destes membros. Sempre que o animal era levantado tinha-se em atenção a troca de posição, tentando colocá-lo em decúbito esternal para permitir a eructação necessária ao funcionamento do sistema digestivo.

Em praticamente todos os casos desta síndrome, administram-se anti-inflamatórios e vitaminas do complexo B, vitamina esta que tem um importante papel na transmissão neuromuscular e nos mecanismos que envolvem a condução dos potenciais de ação nos nervos periféricos (MedVet, 2017a).



Figura 4: *Vaca caída* por hipocalcémia.

Em relação ao tratamento dirigido à causa primária de hipocalcémia, administrou-se 500 ml de TAT CALCI 50® por via intravenosa, para restaurar a concentração de cálcio plasmático. Esta administração deve ser lenta, pois quando administrada de forma rápida, pode provocar uma arritmia cardíaca fatal.

Nesta afeção também seria conveniente a administração de TAT CALCI 50@ subcutâneo, para obter um efeito de absorção mais prolongado, assim como a administração de cálcio oral, sob a forma de cloreto de cálcio ou propionato de cálcio, e vitamina D com objetivo de aumentar a reabsorção renal de cálcio e a absorção intestinal de cálcio e fósforo (Bettencourt & Romão, 2013).

A **cetose** é caracterizada por uma alteração do metabolismo glucídico e lipídico, verificando-se pela concentração elevada e anómala de corpos cetónicos nos tecidos orgânicos e fluídos. As necessidades nutricionais associadas ao período de transição de vacas leiteiras e a diminuição do consumo de matéria seca devido a alterações endócrinas e ao *stress* ambiental vivido, são fatores que proporcionam um balanço energético negativo muito pronunciado, podendo mesmo levar a uma cetose clínica na altura do parto (Bettencourt & Romão, 2013).

Dos animais que apresentaram o SVC, 5 foram diagnosticados com cetose clínica no período de transição. Os animais assistidos foram associados a uma cetose clínica pelos sinais clínicos evidentes, mas também porque se encontravam sinalizados como “vacas gordas” (condição corporal de 4 e 5 numa escala de 1 a 5) no período seco, tendo por consequência a acumulação de gordura e esteatose hepática antes do parto. Nestas vacas, ocorre uma acumulação dos ácidos gordos sob a forma de triglicéridos no tecido adiposo e aquando do período do parto, as necessidades energéticas aumentam, sucedendo a libertação de ácidos gordos não esterificados (AGNE) que poderão ser esterificados (quando os níveis séricos de glicose ainda estão moderados) ou sofrer oxidação no fígado. O que ocorre nestes casos específicos é a esterificação dos AGNE mesmo antes do parto e, assim, o desenvolvimento de fígado gordo que conduz a uma menor capacidade hepática. Como consequência dá-se uma diminuição do processo de gliconeogénese realizado no fígado. Em síntese, devido a uma menor capacidade hepática por fígado gordo e a uma diminuição da taxa de gliconeogénese, ocorre a oxidação dos AGNE no fígado por consequência dos níveis baixos de glicose, resultando na produção de acetilCoA e de corpos cetónicos (Mulligan & Doherty, 2008).

Os sinais clínicos evidenciados por estes animais foram: a diminuição da produção de leite, hipersialia, odor a cetona no ar expirado e na urina, diminuição do grau de enchimento do rúmen, anorexia, dificuldade em levantar-se e apatia devido à

hipoglicemia. Quando se procedeu ao tratamento, os animais encontravam-se em decúbito esternal há mais de 12h, aparentemente com lesões anatómicas secundárias.

O tratamento realizado para os casos clínicos de SVC, anteriormente descrito, foi novamente efetuado para esta afeição, acrescentando a terapêutica específica pela administração de 500 ml de glicose a 50% (dextrose) por via intravenosa, repetindo-se o mesmo procedimento passado aproximadamente 48h. Como ação preventiva, era utilizado um dispositivo intrarruminal de monensina (Kexxtone) realizando-se a sua administração 3 a 4 semanas antes da data prevista do parto nas vacas sinalizadas como vacas gordas.

O Kexxtone tem como ação a diminuição das bactérias produtoras de acetato e butirado pelo aumento das bactérias produtoras de propionato (precursor gliconeogénico) no rúmen. Resultando portanto, numa melhoria da eficiência do metabolismo energético e consequentemente no aumento da glicose no sangue e na redução da incidência de cetose devido à diminuição de cetonas no sangue (MedVet, 2017b).

No que diz respeito à etiologia de SVC por **lesão anatómica**, foram assistidos 4 animais. Todos os casos decorreram em consequência de partos distócicos (figura 5), resultantes de uma desproporção feto-materna durante a passagem do feto no canal do parto.

Nestes animais, com paralisia de origem obstétrica ocorre a compressão do nervo ciático ou obturador (L4-L6) uni ou bilateral que resulta na dificuldade do animal se manter em estação (Simões, 2015).

Assim como nas situações anteriormente apresentadas, o tratamento é idêntico. Contudo, destaca-se como terapêutica adjuvante, a administração de anti-inflamatórios, utilizando-se Rimadyl® na dose de 1,4mg/kg p.v. (anti-inflamatório não esteroide - carprofeno), e a administração de vitaminas do complexo B, mais especificamente cloridrato de tiamina sob a forma comercial de Bê-fortil® na dose de 2mg/kg p.v.



Figura 5: Vaca com parto distócico.

Tabela 9: Distribuição dos casos clínicos na área da clínica médica e cirúrgica em bovinos, exceto os casos clínicos acompanhados no exame físico pós-parto (n=23).

<i>Casos clínicos</i>	<i>n</i>	<i>%</i>
<i>Claudicação</i>	13	56,5%
<i>Pneumonia</i>	3	13,0%
<i>Acidose metabólica</i>	2	8,7%
<i>Cetose</i>	2	8,7%
<i>Timpanismo gasoso</i>	1	4,3%
<i>Retículo-pericardite traumática</i>	1	4,3%
<i>Carbúnculo sintomático</i>	1	4,3%
<b><i>Total</i></b>	<b>23</b>	<b>100%</b>

## ◆ Claudicação

As afeções podais são atualmente consideradas doenças com grande impacto económico nas explorações leiteiras, destacando-se em 3º lugar, atrás da infertilidade e da mastite. O aumento das afeções podais deve-se sobretudo à intensificação e expansão das explorações, em particular dos efetivos leiteiros, podendo ocorrer também nos efetivos de carne (Janson, 2012).

A sua etiologia é vasta, surgindo devido a traumas ou em resultado da interação de diversos fatores, como: alterações metabólicas no parto; alimentação inadequada; manejo deficiente em termos de espaço, instalações e higiene; genética; idade do animal; e doenças sistémicas (Silva, 2009). Todos estes fatores predisõem para a incidência de afeções podais e deverão ser monitorizados para um correto diagnóstico e tratamento. Neste processo, é importante definir a sua etiologia e identificá-la, sendo usualmente dividida em afeções podais de origem infecciosa e não-infecciosa. Como afeções podais mais frequentes destacam-se a dermatite digital e a laminite subclínica (Janson, 2012).

Devido às particularidades anátomo-mecânicas dos bovinos, as extremidades dos membros posteriores têm maior propensão para desenvolver lesões do que as extremidades dos membros anteriores, sendo as úngulas laterais ou externas as mais vulneráveis. Contudo, as afeções podais que causam maior incómodo e dor estão sediadas nas extremidades anteriores (Silva, 2009).

A claudicação é considerada o sinal clínico mais característico das afeções podais, levando o animal a manifestar relutância em caminhar e em alimentar-se devido à dor, tendo consequências na condição corporal e na performance produtiva (Janson, 2012).

A correção funcional das úngulas é uma prática comum na área da podologia bovina, sendo considerada uma ferramenta importante na prevenção. Aconselha-se realizar a correção funcional das úngulas duas vezes por ano, porque apesar de não existir nenhuma afeção podal quando esta se executa, há sempre um sobre-crescimento das úngulas que pode levar ao posterior desenvolvimento de lesões podais (Silva, 2009; Janson, 2012). O corte corretivo deve ser realizado num local de contenção, como os troncos, que garanta a segurança do pessoal técnico mas também do animal. Este inicia-se pela limpeza das úngulas, removendo os resíduos de material inorgânico, para se

conseguirem visualizar todas as estruturas podais, como: parede axial, sola, talão e linha branca. Nos membros posteriores, o corte começa pela unha interna, enquanto que nos membros anteriores inicia-se na unha externa, uma vez que são as unhas com menor sobre-crescimento (Silva, 2009). Desbasta-se todo o estojo córneo em excesso (tendo em atenção a altura dos talões) e corrige-se o tamanho da unha contra lateral para uma distribuição do peso equilibrada, com recurso a uma rebarbadora com disco apropriado ou com uma faca de cascos. Com a faca de cascos procede-se a uma aparagem da porção média da sola, com o objetivo de obter uma forma côncava no bordo axial. Por fim, alisam-se uniformemente todas as estruturas para retirar todo o tecido necrótico ou com erosão, com foco principal nos talões (Janson, 2012).

No período de estágio, foram acompanhados na exploração M.Rito cerca de 13 animais com sinal clínico de claudicação devido a lesões podais. A maioria das lesões foi diagnosticada como dermatite digital e pododermatite circunscrita (úlceras da sola, figura 6), localizadas nas extremidades dos membros posteriores.

A **dermatite digital** é uma inflamação contagiosa da epiderme, podendo também afetar a derme. Tipicamente, apresenta-se com lesões erosivas, ulcerativas ou proliferativas (Silva, 2009). Esta afeção podal é altamente contagiosa, podendo atingir atualmente uma incidência de até 90% (Janson, 2012). Os animais diagnosticados com esta afeção foram sujeitos a um corte corretivo das úngulas, com limpeza de todas as extremidades locais e a um tratamento local com *spray* de oxitetraciclina. O pedilúvio, contendo formol a 5%, é aconselhado nestes casos, uma vez que assegura a limpeza do casco e promove o endurecimento do estojo córneo.

As **úlceras de sola** são frequentes em vacas leiteiras com excesso de peso e que mantêm uma alimentação com alto nível de hidratos de carbono e proteínas. Também predis põem para esta afeção o piso húmido e a laminite subclínica. Tipicamente, as úlceras de sola localizam-se entre a sola e os talões, sendo as unhas abaxiais dos membros posteriores mais afetadas (Silva, 2009).

O tratamento aplicado durante o estágio, consistiu no corte corretivo das úngulas, na sua limpeza e na remoção de todo o tecido necrótico das lesões. Para retirar a pressão da unha afetada e diminuir o desconforto do animal foi colocado um taco de plástico na unha contra lateral, durante um período de 4 a 6 semanas. Finalmente, foi aplicado

topicamente *spray* de oxitetraciclina, e em alguns casos mais graves também se administrou ceftiofur (Antibioterapia sistêmica) e Rimadyl® (anti-inflamatório não esteroide), devido a possíveis infecções secundárias. Também podem ser utilizados produtos como o Lotagen Gel® (Schering-Plough) que são bactericidas e fungicidas e que promovem o processo de cicatrização, tratando-se de uma boa aposta para um tratamento mais rápido e eficiente.



Figura 6: Vacas com úlceras de sola.

### 2.2.3.2. *Ovinos*

Na área da clínica médica e cirúrgica foram intervencionados cerca de 138 animais da espécie ovina, tendo sido observados 94,2% dos casos clínicos com a doença da língua azul, tabela 10.

Tabela 10: Distribuição dos casos clínicos na área da clínica médica e cirúrgica em ovinos (n=138).

<i>Casos Clínicos</i>	<i>n</i>	<i>%</i>
<i>Língua azul</i>	130	94,2%
<i>Acidose</i>	7	5,1%
<i>Mamite</i>	1	0,7%
<b>Total</b>	138	100%

◆ Língua azul

Aquando do estágio realizado, foram acompanhados novos focos de língua azul (serotipo 1) com cerca de 130 animais afetados, no distrito de Castelo Branco, confirmados por testes de RT-PCR. Os animais apresentavam-se prostrados, com hipertermia, dificuldades respiratórias, corrimento nasal (alguns com crostas em redor das narinas), inflamação da mucosa bucal e da língua, claudicação com hiperemia da banda coronária e fraqueza (figura 7).



Figura 7: Ovinos com sinais clínicos de língua azul.

As lesões causadas por esta doença são visíveis na fase aguda da infecção, sendo provocadas pelo aumento da permeabilidade vascular, edema, hemorragia, trombose, isquemia e necrose das várias estruturas e órgãos (cavidade oral, mucosa gastrointestinal, linfonodos, pulmões, etc.), em consequência das lesões nos capilares sanguíneos originados pelo vírus (Maclachlan, 2011; Lobão, 2015).

A maioria dos animais afetados eram novos no efetivo, quer por serem animais jovens ou animais adicionados recentemente ao mesmo. Nestes casos, a falta da vacinação foi crucial e resultou numa alta morbidade e mortalidade nestes animais. Uma vez que não existe tratamento específico para esta doença, foi implementada uma terapia de suporte com anti-inflamatório (carprofeno) e antibiótico (tetraciclina) para os animais afetados, assim como a implementação de um protocolo de prevenção com inseticida (cipermetrina) durante os meses de outubro a novembro de 8 em 8 dias, para todos os animais do efetivo. Como prevenção de novos surtos, as explorações foram aconselhadas a realizar quarentena e vigilância sorológica a novos animais, a fornecer abrigo aos animais nas horas de maior risco do vetor e a combater o vetor nos terrenos onde os animais permanecem.

### 2.2.3.3. *Equinos*

A espécie equina não obteve grande destaque em todo o decorrer do estágio e só na área da clínica médica e cirúrgica ganhou alguma visibilidade (1,20%), tendo sido realizadas 4 orquiectomias, tabela 11.

Tabela 11: Distribuição dos casos clínicos na área da clínica médica e cirúrgica em equinos (n=11780).

<i>Procedimento</i>	<i>Equinos</i>	<i>n</i>	<i>%</i>
<i>Orquiectomia</i>	4	4	100%
<i>Total</i>	4	4	100%

## ◆ Orquiectomia

A orquiectomia é um dos procedimentos cirúrgicos mais realizados em equinos, por norma com 1 a 2 anos de idade. A maioria das orquiectomias realiza-se com o intuito de reduzir ou prevenir a agressividade ou comportamento sexual em garanhões não destinados à reprodução pois, através da remoção da fonte primária de andrógenos, o animal torna-se mais dócil. Algumas doenças também podem ser motivo para a realização deste procedimento como, por exemplo, trauma testicular, neoplasia ou hérnia inguinal (Schumacher, 2012; Kilcoyne, 2013; Nath, 2014; Comino *et al.*, 2017).

A orquiectomia pode realizar-se recorrendo à técnica aberta, semi-fechada ou fechada, com abordagem inguinal ou escrotal. O cavalo pode estar em estação com recurso a sedação, com anestesia local, ou em decúbito, utilizando anestesia geral. A escolha da técnica cirúrgica e o tipo de anestesia deve fazer-se de acordo com o comportamento e temperamento do equino, localização dos testículos, experiência e preferência do veterinário, preferência do proprietário, condições ambientais e equipamento cirúrgico, entre outros (Schumacher, 2012; Kilcoyne, 2013; Nath, 2014).

Os garanhões dóceis, com testículos bem desenvolvidos, cuja genitália pode ser palpada com o animal sedado, são por norma os candidatos a uma orquiectomia em estação, pois o temperamento agressivo e desenvolvimento testicular pobre podem tornar a técnica mais perigosa e mais complexa (Schumacher, 2012).

Os garanhões orquiectomizados em estação devem ser sedados e receber anestesia local. Os fármacos comumente utilizados, isolados ou em combinação, são a xilazina, detomidina e butorfanol. A acetilpromazina, embora comumente administrada para tranquilizar garanhões antes da castração, pode raramente resultar em priapismo ou paralisia do pénis, pelo que o seu uso deve ser evitado. Como anestésico local é utilizada a lidocaína que deve ser injetada no escroto, intratesticularmente, e nos locais onde se vão fazer as incisões, em cada lado da rafe escrotal mediana. Outra técnica disponível é a injeção direta de lidocaína no cordão espermático, o que assegura uma boa anestesia do cordão mas ocasionalmente pode resultar em formação de hematomas do mesmo, interferindo com a adequada emasculação (Schumacher, 2012; Kilcoyne, 2013).

Para esterilizar cavalos com anestesia geral, são pré-requisitos um local limpo e uma área segura para aplicação da anestesia, derrube e recuperação, pois o cavalo deve ser colocado em decúbito lateral ou dorsal, consoante a preferência do veterinário, em segurança (Schumacher, 2012; Kilcoyne, 2013). Nestas orquiectomias, os cavalos são geralmente pré-medicados com  $\alpha 2$  – agonistas, como xilazina, e induzida a anestesia com quetamina e diazepam. De forma a facilitar estas administrações deve ser colocado um cateter intravenoso asséptico. A profundidade anestésica deve ser monitorizada com base na frequência cardíaca, frequência respiratória, reflexo palpebral e presença de nistagmo (Kilcoyne, 2013). A variedade de anestésicos disponíveis no mercado proporciona diferentes opções de escolha ao médico veterinário, onde não existe uma única opção correta mas várias associações possíveis.

Quer em estação ou decúbito, a área escrotal deve ser preparada para a cirurgia com iodopovidona diluída ou clorhexidina, antes de qualquer administração local (Kilcoyne, 2013).

O que diferencia as três técnicas possíveis numa orquiectomia é, essencialmente, a manutenção da túnica parietal na técnica aberta, enquanto que na técnica fechada ou semi-fechada a porção da túnica parietal que circunda o testículo e a porção distal do cordão espermático é removida (Schumacher, 2012).

A técnica aberta, na qual a túnica parietal é mantida, é possivelmente a mais utilizada, pois requer menos disseção que a técnica fechada sendo preferida pelos médicos veterinários (Schumacher, 2012; Kilcoyne, 2013). Na realização da técnica aberta é incidida a túnica parietal dos testículos e é cortado o ligamento da cauda do epidídimo, que une a túnica parietal ao epidídimo. O testículo, o epidídimo e a porção distal do cordão espermático são completamente separados da túnica parietal e removidos recorrendo a um emasculador (Schumacher, 2012; Kilcoyne, 2013). O emasculador é utilizado em qualquer técnica para alcançar a hemostase e excisão testicular (Comino et al, 2017).

Por sua vez, na técnica fechada a túnica parietal não é incidida e é removida juntamente com os testículos e com a porção do cordão espermático. É feita uma incisão na pele escrotal, túnica dartos e fáscia escrotal de forma a expor a túnica parietal; e posteriormente a túnica parietal é separada do ligamento e da fáscia escrotal, utilizando a disseção digital. Nesta altura o emasculador deve ser aplicado para remover a túnica

parietal e o seu conteúdo, com a atenção especial de não incluir no emasculador os grandes vasos pudendos, localizados dentro da fáscia (Schumacher, 2012; Kilcoyne, 2013).

A técnica semi-fechada pode considerar-se uma técnica fechada uma vez que a túnica parietal é removida juntamente com o testículo e porção distal do cordão espermático. O que diferencia ambas as técnicas é a realização de uma incisão de 2-3 cm na túnica parietal proximal ao testículo que permite inspecionar os conteúdos da mesma (Schumacher, 2012; Kilcoyne, 2013).

Uma vantagem da técnica fechada e semi-fechada é que a remoção da túnica parietal diminui a incidência de complicações pós-operatórias, como funiculite séptica e hidrocelo (Schumacher, 2012).

Independentemente da técnica, a pele escrotal é comumente deixada aberta para cicatrizar por segunda intenção (Schumacher, 2012; Kilcoyne, 2013).

Após a orquiectomia o cavalo deve ter a sua atividade restringida nas primeiras 24 horas de forma a prevenir hemorragias. Passadas as 24h o cavalo deve ser exercitado de modo adequado, prevenindo desta forma um excessivo edema escrotal e prepucial. A incisão escrotal deve ser mantida limpa, aberta e a drenar, se o cavalo assim o permitir; a ferida deve cicatrizar em média por um período de três semanas. Por norma, não é necessária proteção local da ferida, recorrendo-se por sua vez a soluções antissépticas (Schumacher, 2012).

As complicações resultantes de orquiectomias incluem edema escrotal, hemorragia, herniação do omento, eventração, trauma peniano, infeção bacteriana do cordão espermático, hidrocelo e peritonite. Na sua maioria são complicações leves, porém complicações como eventração, hemorragia, trauma peniano ou peritonite podem ocorrer e ser fatais (Kilcoyne, 2013).

Nas orquiectomias realizadas no decorrer do estágio utilizou-se a técnica aberta em decúbito, uma vez que se tratavam de animais com temperamento instável e também pela preferência e experiência do médico veterinário.

## 2.2.4. Neonatologia

A neonatologia é o ramo da medicina veterinária que se dedica aos animais recém-nascidos, devido às particularidades e características deste grupo etário. Simultaneamente, também devido ao número relativamente elevado de intervenções realizadas em neonatos, decidiu-se separar a neonatologia das restantes áreas descritas em cima. Serão aqui abordados os procedimentos e os casos clínicos que foram acompanhados na neonatologia, tanto nos vitelos da exploração M.Rito como nos borregos de outras explorações visitadas. No total, foram realizadas 712 intervenções em neonatos, com 453 intervenções profiláticas (tabela 12) e 259 casos clínicos acompanhados (tabela 13); maioritariamente na espécie bovina com cerca de 93,54%, seguindo-se a espécie ovina com 6,46% (gráfico 5).

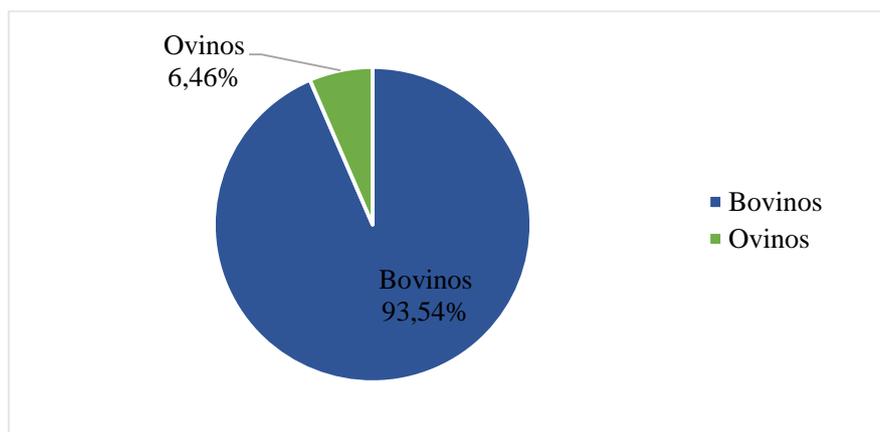


Gráfico 5: Distribuição relativa das intervenções de neonatologia nas diferentes espécies (n=712).

Tabela 12: Procedimentos na área da neonatologia em bovinos (n=453).

<i>Procedimento</i>	<i>Bovinos</i>	<i>n</i>	<i>%</i>
<i>Vacinação</i>	453	453	100%
<i>Total</i>	453	453	100%

## ◆ Imunidade

A transferência de imunoglobulinas da mãe para o neonato, denominada de transferência passiva, é muito importante na proteção dos neonatos contra doenças infecciosas, pelo que a falha da transferência passiva de imunoglobulinas é um fator predisponente para o aparecimento de doenças (Weaver *et al.*, 2000).

Nos grandes animais domésticos, como é o caso da vaca, o tipo de placenta não permite a passagem das imunoglobulinas da mãe para o feto no útero, pois o suprimento sanguíneo materno e fetal é separado. Este facto faz com que a ingestão de colostro seja fundamental para a absorção de quantidades adequadas de imunoglobulinas e consequente desenvolvimento de imunidade passiva nos vitelos (Weaver *et al.*, 2000).

Independentemente de os vitelos produzirem anticorpos endógenos, e portanto considerados imunocompetentes, estes são incapazes de responder a alguns antigénios até aos 30 dias de idade, apresentando uma concentração de imunoglobulinas séricas bastante reduzida antes da ingestão do colostro, e tornando-se assim suscetíveis aos agentes patogénicos (Weaver *et al.*, 2000).

O colostro distingue-se do leite porque contém grandes concentrações de nutrientes, energia e proteínas. Semanas antes do parto ocorre a colostrogénese, onde há a passagem de imunoglobulinas do soro para a glândula mamária; além das imunoglobulinas, também células imunologicamente ativas e mediadores solúveis são transportados para a glândula mamária (Weaver *et al.*, 2000; House *et al.*, 2015). Assim, o colostro inclui imunidade humoral, como as imunoglobulinas (IgG, IgM e IgA), e imunidade celular, como a lisozima, lactoferrina, lactoperoxidase, linfócitos, monócitos e neutrófilos (Bettencourt & Romão, 2013).

O fator inibidor da tripsina também presente no colostro é essencial para a subsistência das imunoglobulinas, uma vez que a sua função é a proteção destas da digestão enzimática. A IgG, derivada do soro materno, é a imunoglobulina primária com maior concentração no colostro. Esta imunoglobulina tem como função principal a proteção contra infeções sistémicas e permanece no soro dos vitelos durante várias semanas, devido ao seu período de meia vida prolongado (Weaver *et al.*, 2000).

A falha na transferência da imunidade passiva depende de inúmeros fatores, contudo estudos comprovam que baixas concentrações séricas de IgG nas 24h a 48h após o nascimento, aumentam o risco de morbidade e mortalidade dos neonatos. Logo após o nascimento ocorre uma diminuição da capacidade das células intestinais na absorção de IgG, tornando-se assim essencial a rápida ingestão de colostro (ideal nas primeiras 6 a 8 horas de vida) com elevadas concentrações de imunoglobulinas ( $> 10 \text{ mg / mL}$ ) (Weaver *et al.*, 2000; Osaka *et al.*, 2014).

Outros fatores importantes para a transferência da imunidade passiva são a eficiente absorção intestinal de imunoglobulinas do colostro por parte do vitelo, a garantia de uma administração de colostro em quantidades aconselhadas (3 a 4 litros) e ainda a confirmação de que o colostro é ingerido pelo vitelo (Bettencourt & Romão, 2013).

Na exploração M.Rito, uma vez que o vitelo era retirado da mãe aquando do parto, o colostro era administrado por biberão ou por sonda esofágica se necessário, onde se administrava cerca de 3 litros, o mais breve possível após o nascimento. O colostro era retirado quando a vaca passava à ordenha e era administrado ao vitelo; em alguns casos, devido à quantidade reduzida de colostro produzida pela mãe, recorria-se ao colostro congelado disponível na exploração.

Apesar da transferência da imunidade passiva ser fundamental nos primeiros dias de vida do vitelo, também é importante minimizar os fatores de agressão a que este está sujeito, ou seja, minimizar a sua exposição aos agentes patogénicos. Os cuidados na maternidade, em termos de higiene e espaço, tipo de instalações, agrupamento de animais, desinfeção da cicatriz umbilical, manejo nutricional e alterações climáticas sentidas, devem ser tidas em conta para prevenir a presença de doenças nos vitleiros (Izzo *et al.*, 2015).

Com a transferência da imunidade passiva assegurada e o ambiente controlado, os vitelos têm maiores oportunidades de se manterem saudáveis. Contudo, a partir dos 4 dias de vida, as concentrações de imunoglobulinas não são suficientes para proporcionar uma proteção eficiente contra os agentes patogénicos, existindo nesta fase um risco elevado de desenvolverem uma doença (Izzo *et al.*, 2015). Para tal, é necessária a implementação de um protocolo de primovacinação, a partir dos 5 dias de vida, para garantir a proteção contra agentes patogénicos.

O protocolo de primovacinação utilizado na exploração M.Rito foi aplicado a 151 vitelos durante o decorrer do estágio curricular, com cerca de 453 intervenções, uma vez que cada vitelo era intervencionado 3 vezes consoante o protocolo realizado. A figura 8 demonstra o protocolo de primovacinação utilizado, com os nomes dos fármacos administrados.



Figura 8: Protocolo de primovacinação utilizado em vitelos de leite na exploração M.Rito.

Para as enterotoxémias e assim contra as infeções causadas pelas espécies de *clostrídeos* foi administrado Bravoxin 10® ou Covexin 8® subcutâneo, na dose de 2ml ou 5ml respetivamente. No que diz respeito ao sistema respiratório administrou-se a vacina Bovilis Bovipast RSP®, 2ml subcutâneo, indicada para a imunização ativa do vírus do complexo respiratório sincicial bovino, vírus da parainfluenza- 3 e serotipo A1 da Mannheimia haemolytica. Finalmente, foi administrada a vacina Bovilis IBR viva marcada®, contra o vírus herpes bovino tipo 1 (BHV-1), conjugada com a vacina Bovilis BVD®, contra o vírus da diarreia vírica bovina (BVD), numa dose única de 2ml intramuscular.

Tabela 13: Distribuição dos casos clínicos na área da neonatologia em bovinos e ovinos (n=259).

<b>Casos Clínicos</b>	<b>Bovinos</b>	<b>Ovinos</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
<i>Diarreia</i>	176	34	210	81,1%
<i>Pneumonia</i>	32	12	44	17,0%
<i>Alergia dérmica</i>	3	-	3	1,2%
<i>Fratura óssea</i>	1	-	1	0,4%
<i>Artrite séptica</i>	1	-	1	0,4%
<b>Total</b>	213	46	259	100%
<b>%</b>	82%	18%	100%	

◆ Diarreia

As diarreias neonatais nos vitelos têm um elevado impacto económico na produção animal, uma vez que continuam a ser a doença mais comum em termos de mortalidade neonatal em vitelos e pela sua elevada taxa de prevalência e incidência, principalmente em vitelos leiteiros (Meganck *et al.*, 2014).

Designa-se frequentemente diarreia neonatal, quando esta ocorre no primeiro mês de vida do vitelo e apresenta sinais clínicos como: fezes líquidas e profusas, acidose metabólica, desidratação progressiva e conseqüentemente a morte, se não existir tratamento prévio (Félix, 2016).

A diarreia poderá ser conseqüência da secreção intestinal aumentada ou da absorção intestinal diminuída, sendo definida pelo aumento da frequência, fluidez ou volume da produção fecal (Izzo *et al.*, 2015; Félix, 2016). É desencadeada por causas infecciosas ou alimentares, porém é considerada uma doença multifatorial, onde ocorre uma interação entre diferentes fatores (Meganck *et al.*, 2014). Os fatores englobam a exposição do neonato a agentes enteropatogénicos responsáveis pelas diarreias neonatais, a imunidade inata e adquirida do neonato, a nutrição e o próprio meio ambiente a que o neonato é sujeito (Izzo *et al.*, 2015).

Os principais agentes enteropatogénicos associados às diarreias neonatais em vitelos são: *Escherichia coli* (*E. coli*); *Rotavírus*; *Coronavírus* e *Cryptosporidium parvum*. A incidência dos agentes etiológicos varia de acordo com a idade do vitelo, surgindo nos primeiros 3 dias de vida diarreias por E.Coli, ao passo que os restantes agentes etiológicos referidos surgem, maioritariamente, durante as primeiras 3 semanas de vida (Meganck *et al.*, 2014; Izzo *et al.*, 2015).

Contudo, um diagnóstico etiológico definitivo das diarreias é difícil, pois os vários fatores sucedem interligados, sendo então denominas de diarreias neonatais indiferenciadas. Independentemente da dificuldade num diagnóstico etiológico baseado em sinais clínicos, este seria essencial, pois existem diferentes tratamentos consoante o agente patogénico, podendo ditar a morte ou a sobrevivência do vitelo (Félix, 2016).

Numa abordagem inicial, o objetivo do tratamento instituído é o alívio dos sinais clínicos, para tal é necessário corrigir os desequilíbrios hidroelectrolíticos, corrigir o desequilíbrio ácido base e prover o suporte nutricional do vitelo (Félix, 2016).

Durante o estágio, a terapia para os casos de diarreias neonatais dependia dos sinais clínicos, evidentes na tabela 14, existindo um protocolo predefinido para sinais clínicos ligeiros a moderados e para sinais clínicos severos. Assim, quando o vitelo apresentava diarreia com sinais clínicos de fraqueza, com uma desidratação ligeira a moderada e com reflexo de sucção fraco, era instituído um tratamento de fluidoterapia oral, durante 3 a 5 dias, segundo a persistência da diarreia e dos sinais clínicos. Este tratamento consistia na administração diária de uma solução de eletrólitos (100g de Vitavitel®) e sulfato de aminosidina (50g de Gabbrocol 100®) diluídos em 2 litros de água morna. Em casos de desidratação marcada a severa, sem reflexo de sucção e permanente prostração, era instituído um tratamento de fluidoterapia endovenosa. Este consistia na administração de uma solução salina hipertónica, para repor rapidamente a volémia, associada com a administração oral de 2 litros de água morna para corrigir a desidratação intersticial e celular exacerbada pela fluidoterapia hipertónica. Após o vitelo melhorar, era administrado o tratamento para sinais clínicos ligeiros a moderado, anteriormente descrito.

Tabela 14: Descrição da evolução dos sinais clínicos em termos da avaliação do vigor, do grau de desidratação e do reflexo de sucção em vitelos. Fonte: retirado de Boccardo *et al.* (2017).

	<b>Grau</b>	<b>Sinais Clínicos</b>
<b>Vigor</b>	5	Levanta-se sem assistência, curioso, alerta
	4	Levanta-se após encorajamento, fraco, queda da cabeça e orelhas
	3	Permanece em decúbito esternal, quando levantado apresenta postura insegura
	2	Decúbito esternal/lateral permanente
	1	Débito lateral, coma
<b>Desidratação</b>	0	Sem sinais clínicos evidentes, prega da pele <2s
	1-Desidratação moderada (3-5%)	Enoftalmia ligeira, prega da pele entre > 2s e <4s
	2- Desidratação marcada (6-8%)	Enoftalmia marcada, nariz seco, prega da pele > 5
	3- Desidratação severa (> 9%)	Enoftalmia muito marcada (distinguindo-se facilmente o globo ocular e a pálpebra), extremidades frias, mucosas secas, prega da pele persistente
<b>Reflexo de Sucção</b>	0	Forte
	1	Fraco
	2	Ausente ou movimentos de mastigação

### 3. IMUNOSSUPRESSÃO DO PERÍODO DE TRANSIÇÃO: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1. Introdução

A imunossupressão que ocorre no período do periparto, tem sido evidenciada por vários autores (Oliver & Sordillo, 1988; Kehrl *et al.*, 1989; Goff & Horst, 1997; Kimura *et al.*, 1999; Kimura *et al.*, 2002; Goff, 2008; Mallard *et al.*, 2009). Esta etapa da vida dos bovinos leiteiros é um momento crítico que poderá definir todo o seu trajeto futuro, em particular nos bovinos leiteiros de alta produção. Isto por que estão sujeitos a uma exploração intensiva, em que o rendimento económico e as demandas do mercado são fundamentais para o sucesso dos produtores. Cada vez mais se requer maior desempenho dos animais, levando por vezes ao limite das suas capacidades fisiológicas.

O período de transição ou periparto ocorre três semanas antes do parto e prolonga-se até três semanas após o parto. É marcado por diversas mudanças nos sistemas endócrino e imunológico da vaca (Oliver & Sordillo, 1988; Kehrl *et al.*, 1989; Goff, 2008; Aleri *et al.*, 2016). Estas mudanças e exigências implícitas à vaca são necessárias para que ocorra: o desenvolvimento do feto, a colostrogénese, o próprio parto e a lactogénese (Mulligan & Doherty 2008; Aleri *et al.*, 2016).

As doenças de produção continuam a ter um grande impacto a nível económico, principalmente nos produtores de produtos lácticos e do próprio bem-estar do animal. Dentro das doenças com maior impacto no período de transição e com maior associação à imunossupressão estão a mastite, metrite e retenção placentária (RP) (Mulligan & Doherty, 2008; Simenew & Wondu, 2013; Esposito *et al.*, 2014; Jackson, 2017). Estas geram custos diretos, como o custo do médico-veterinário, do tratamento ou mesmo dos associados à morte do animal, mas também indiretos, como a eficiência reprodutiva, a redução da produção de leite, a fertilidade e a possibilidade do abate involuntário (Simenew & Wondu, 2013). Assim, devido a uma crescente preocupação na prevenção das doenças associadas ao periparto, ao melhoramento do bem-estar animal e à rentabilidade dos produtores, a política agrícola da União Europeia passou de uma política

centrada no aumento da produção para uma política de desenvolvimento rural relacionada com o bem-estar animal, a aptidão agrícola, a qualidade e segurança alimentar e ainda com a sustentabilidade ambiental (Mulligan & Doherty, 2008).

No caso concreto dos médicos veterinários, estes têm um papel importante, pois podem informar e motivar os produtores na implementação de novas estratégias, no sentido de aumentarem o rendimento através da melhoria na saúde do rebanho e do seu bem-estar.

Devido à maior incidência de doenças no periparto da vaca, têm sido feitos esforços para compreender as alterações que ocorrem e quais os fatores implicados nessas alterações. Muitos são os autores que se debruçam na pesquisa de respostas concretas, porém não se encontrou até hoje uma única causa, mas sim um culminar de acontecimentos que poderão em simultâneo, ou como causa-efeito, aumentar a probabilidade de contrair doença durante este período. Cerca de 44% das vacas são sinalizadas como não saudáveis nos 60 dias após o parto (Jackson, 2017).

A imunossupressão do periparto é descrita como multifatorial, contudo, pensa-se que existe uma relação entre a baixa de imunidade com o aparecimento das afeções clínicas. Desta forma, para compreender os motivos da imunossupressão, é importante conhecer o funcionamento da vaca, desde o seu comportamento, alimentação, metabolismo, fisiologia e sistema imunitário (Simenew & Wondu, 2013; Kehrlí, 2015; Jackson, 2017).

Será assim elaborada uma breve revisão bibliográfica dos fatores diretamente relacionados à imunossupressão, como também uma breve descrição das doenças que lhe são mais associadas e das estratégias de prevenção e controlo para minimizar a imunossupressão do periparto.

### 3.2. Etiopatogenia da Imunossupressão

O sistema imunitário tem um papel primordial para a manutenção da vida, protegendo o organismo contra agressões externas e internas, utilizando vários mecanismos contra doenças infecciosas, entre outras, de forma a defender potenciais ameaças (Tizard, 2013).

Dentro do sistema imunitário, a imunidade inata atua de forma inespecífica e fornece uma proteção inicial ao organismo. Dispõe de mecanismos gerais, físicos, químicos e biológicos, utilizando na primeira linha de defesa, por exemplo: pele, mucosas, cílios, esfíncteres, vômito, diarreia, urina, tosse, espirro e secreções naturais. A ativação de proteínas do sistema do complemento, a libertação de mediadores inflamatórios, a fagocitose e a síntese de proteínas de fase aguda como as citocinas são todos mecanismos da segunda linha de defesa da imunidade inata. É considerada uma rede de subsistemas, onde estão incluídos os macrófagos, as células dendríticas, os neutrófilos e as células *natural killer*. Atua com diferentes ações, podendo destruir diretamente o *invasor*, seja de que natureza for, ou promover essa destruição por células defensivas. Todos estes subsistemas estão em constante alerta e sempre ativos para responder de forma mais rápida e eficaz (Tizard, 2013).

A imunidade adaptativa ou adquirida, por sua vez, fornece uma proteção efetiva prolongada e específica contra a ameaça, utilizando anticorpos e células especializadas para eliminar potenciais perigos. Possui uma dualidade na sua resposta imunológica, atuando através da imunidade humoral e dos mecanismos da imunidade celular. Tem uma adaptação seletiva consoante a ameaça e uma resposta com memória que se torna mais eficiente, contudo é mais lenta que a imunidade inata (Tizard, 2013; Nace *et al.*, 2014).

De uma forma geral, a doença infecciosa ocorre quando o hospedeiro não é capaz de combater eficazmente a progressão de um patógeno, porém tal não acontece se houver uma resposta imune que forneça uma proteção adequada e consiga controlar ou prevenir a infecção (Silva, 2010; Kehrlí, 2015). Atualmente sabe-se que a imunidade inata e adquirida cooperam entre si para uma maior eficácia na proteção contra infecções microbianas, utilizando ambas neutrófilos e macrófagos nesta parceria (Silva, 2010).

Durante o periparto, há diminuição da eficiência do sistema imunitário, originando uma resposta menos eficaz do mesmo (Kimura *et al.*, 2014, referido de Kehrlí *et al.*, 1989 e Kimura *et al.*, 1999). Segundo Goff (2008), há uma diminuição de 25 a 40 % na função dos leucócitos, em particular dos neutrófilos e linfócitos, quer na capacidade de agregação e fagocitose dos neutrófilos quer na atividade citotóxica dos linfócitos. Também Kimura *et al.* (2002) referiu uma diminuição na atividade da mieloperoxidase dos neutrófilos e uma redução na capacidade funcional de células monocleares do sangue periférico total, especificamente nas populações de linfócitos do subconjunto de células T com especificidade para combater a infeção, enquanto que a percentagem de monócitos aumentou. A produção de anticorpos e a produção de citocinas que ativam e direcionam a imunidade inata e adaptativa também se encontram diminuídas neste período (Kehrlí, 2015). Todas estas mudanças suprimem a capacidade da maioria dos mecanismos do sistema imunitário, tanto celulares como humorais, aumentando a suscetibilidade a doenças infecciosas. O periparto é assim um período de acentuada imunossupressão e de grandes agressões, com entrada de microrganismos no momento do parto pelo canal reprodutivo bem como no esfíncter do teto (Nonnecke *et al.*, 2003; Kehrlí, 2015; Aleri *et al.*, 2016).

#### ◆ Importância dos neutrófilos

Os neutrófilos são leucócitos polimorfonucleares, representando uma das principais defesas do organismo contra infeções agudas, muito devido à sua rápida ação mas também à sua capacidade de fagocitose sem necessitarem de exposição prévia. (Tizard, 2013; Kehrlí, 2015). Estão presentes em grande concentração no início do processo inflamatório e são o principal tipo de leucócito recrutado para secreções e tecidos corporais como o tecido mamário e o útero (Sordillo, 2005; Waldron & Revelo, 2008; Simenew & Wondu, 2013), sendo essenciais na proteção destas estruturas.

Em média, uma vaca tem 3.500 neutrófilos por microlitro de sangue. Tendo estes uma semivida de aproximadamente 6 horas, têm que ser substituídos pela medula óssea durante este período para a concentração se manter sempre homogénea (Kehrlí, 2015). A produção dos neutrófilos é regulada consoante a sua taxa de apoptose, por uma citocina

chamada fator estimulante de colónias de granulócitos (G-CSF) (Tizard, 2013). A manutenção deste mecanismo requer gasto energético e proteico, que neste período são utilizados no desenvolvimento fetal e na lactação (Kehrli, 2015).

Os neutrófilos atuam como bactericidas através da fagocitose, sendo que o processo de destruição bacteriana tem dois mecanismos distintos: a formação de espécies reativas de oxigénio (ROS) ou também denominado por explosão respiratória, e o mecanismo independente do oxigénio que produz e liberta enzimas e péptidos a partir de grânulos intracelulares, como por exemplo a protease, hidrolase, lactoferrina, lisozima e mieloperoxidase (Simenew & Wondu, 2013; Tizard, 2013).

No caso das ROS, estas são compostas por oxidantes poderosos como o anião superóxido e o peróxido de hidrogénio, sendo este convertido em ácido hipocloroso pela mieloperoxidase (Waldron & Revelo, 2008; Kimura *et al.*, 2014). A mieloperoxidase é uma enzima que se encontra nos grânulos primários dos neutrófilos e, quando ocorre a sua ativação, esta é lançada nos fagossomas ou libertada no exterior dos neutrófilos por exocitose, gerando as substâncias microbianas mais potentes presentes nesta célula imune (Kimura *et al.*, 2014). Desta forma, a sua atividade é considerada primordial para a capacidade bactericida dos neutrófilos e aceite como um bom teste da função neutrofilica (Hammon *et al.*, 2006). Segundo Kimura *et al.* (2002) e Hammon *et al.* (2006), a capacidade bactericida dos neutrófilos diminui no periparto em todas as vacas, contudo em vacas com metrite puerperal ou endometrite, a atividade da mieloperoxidase diminui drasticamente.

Num estudo realizado por Kimura *et al.* (1999) (um dos autores mais citados sobre esta matéria), comparando vacas mastectomizadas e inteiras, verificou-se que a atividade da mieloperoxidase diminuiu em ambas, porém aumentou rapidamente em vacas mastectomizadas e em contrapartida nas vacas inteiras demorou aproximadamente duas semanas até recuperar a atividade normal. Esta evidência sugeriu que os efeitos hormonais e energéticos da lactação têm influências negativas na imunossupressão do periparto (Kimura *et al.*, 1999; Goff, 2008). Um estudo mais recente do mesmo autor (2014) confirmou que a função dos neutrófilos e dos linfócitos no periparto é, de facto, reduzida, constatando diminuição da exocitose pela mieloperoxidase (Kimura *et al.*, 2014).

Quando ocorre invasão bacteriana o endotélio da região afetada aumenta a expressão de várias moléculas de adesão intercelular que se ligarão, por sua vez, às integrinas  $\beta_2$  dos neutrófilos para que haja migração destes para o interior do endotélio (Kimura *et al.*, 1999). Este processo desencadeia-se devido a estímulos inflamatórios que estão presentes aquando da invasão bacteriana, em que é necessário existir a eficiente migração e quimiotaxia dos neutrófilos. Assim, de forma a garantir esta eficiência, os quimiotáticos (fator de necrose tumoral, fator estimulante de colónias de granulócitos e macrófagos, interleucina 8, ativador de plaquetas e fragmento do complemento C5<sub>a</sub>) regulam a expressão das integrinas  $\beta_2$  e da L-selectina (proteína da superfície dos neutrófilos que medeia a adesão nas superfícies endoteliais). Kimura *et al.* (1999) refere uma diminuição da expressão de L-selectina no parto, enquanto que as interleucinas 8 aumentam até ao parto e diminuem logo após este. O autor afirma que a capacidade dos neutrófilos em gerar agentes bactericidas fica comprometida e, uma vez que há diminuição das suas funções, também haverá diminuição na migração, aderência e fagocitose.

De um modo geral, vários autores também evidenciam a diminuição das capacidades bactericidas dos neutrófilos no periparto, quer pela expressão de ROS quer pela atividade da mieloperoxidase, quer pela migração celular e quimiotaxia (Meglia *et al.*, 2005; Sordillo, 2005; Waldron & Revelo, 2008; Ruegg *et al.*, 2015).

Comprovada a importância dos neutrófilos na proteção do organismo e a sua função prejudicada no periparto, diversos autores apontam para que esta seja uma das principais causas da imunossupressão evidente neste período da vaca, aumentando assim também o risco de doença (LeBlanc, 2012; Mordak & Stewart, 2015; Ruiz *et al.*, 2017).

#### ◆ Alterações metabólicas e hormonais

As alterações metabólicas e endócrinas deste período impõem grandes desafios para a manutenção do equilíbrio fisiológico da vaca (Retamal, 2011). As exigências nas fases finais do desenvolvimento fetal e da produção de leite são enormes para a vaca, excedendo as fontes alimentares. Como agravante, ocorre a diminuição da ingestão de

matéria seca (MS) duas semanas antes do parto, cerca de 20%, atingindo o seu mínimo no parto (Retamal, 2011; Gilbert, 2016).

Devido à carência de aminoácidos e glicose e à diminuição da ingestão de matéria seca, sucede inevitavelmente um *balanço energético negativo (NEB)*, que todas as vacas experienciam em maior ou menor grau (Mulligan & Doherty, 2008; Retamal, 2011; Gilbert, 2016). Este *NEB* tem como consequência a mobilização de tecido adiposo para tentar colmatar o déficit energético, originando no processo a libertação de ácidos gordos não esterificados (AGNE). Os AGNE podem ser oxidados ou esterificados no fígado dependendo do nível de glicose. Quando existem níveis moderados de glicose ocorre a esterificação dos AGNE, podendo resultar numa esteatose hepática ou fígado gordo se ocorrer uma mobilização excessiva de ácidos gordos. Com o aumento da concentração de AGNE ocorre um acumular de triglicéridos nos hepatócitos, que em conjunto com uma diminuição da glicose disponível, pode prejudicar o funcionamento da capacidade hepática, fundamental na manutenção da glicogénese. Por consequência, é aumentada a oxidação dos AGNE e por sua vez, a produção de acetilCoA e corpos cetónicos que em excesso podem originar uma Cetose (Retamal, 2011).

Segundo LeBlanc (2012), a mobilização de tecido adiposo e o agravamento do *NEB* podem estar associados à diminuição da capacidade bactericida dos neutrófilos. Alguns estudos realizados comprovaram que o aumento dos AGNE está associado a um elevado risco de doença clínica, nomeadamente metrite, RP e deslocamento do abomaso. As suas elevadas concentrações têm influência direta nas células do sistema imunitário, como na diminuição da atividade da mieloperoxidase (LeBlanc, 2012). Outras pesquisas associaram o aumento dos AGNE à concentração elevada de glucocorticoides na circulação e à estimulação de mediadores pró-inflamatórios que reprimem a função imune (Aleri *et al.*, 2016).

Muitos tipos de células imunes são afetadas num ambiente onde há baixas concentrações de glicose e altas concentrações de corpos cetónicos e AGNE, estando assim estes mecanismos metabólicos interligados à imunossupressão do periparto. Todas estas alterações foram relacionadas, através de estudos, com um elevado risco de mastite (Waldron & Revelo, 2008), evidenciando uma associação do balanço energético negativo

com alterações metabólicas e doenças infecciosas (Waldron & Revelo, 2008; Aleri *et al.*, 2016).

É, por conseguinte, fundamental manter a ingestão de matéria seca e fazer uma alteração gradual da alimentação do período seco até ao período do parto (Meglia *et al.*, 2005; Simenew & Wondu, 2013; Gilbert, 2016). Pois, sabe-se que, uma mudança rápida para uma dieta rica em energia (concentrado) e com menor proporção de forragem pode dar início a um processo de acidose. A fermentação rápida dos hidratos de carbono não estruturais aumenta a concentração de ácido propiónico e butírico, verificando-se, conseqüentemente, um aumento da concentração de lactado que não consegue ser absorvido devido a uma capacidade reduzida da absorção do rúmen característica no parto. O agravamento da concentração dos ácidos gordos voláteis e do lactato pode dar origem a uma acidose ruminal subaguda, que poderá evoluir para uma paraqueratose e ruminite, e levar posteriormente à formação de microabscessos ruminais (Aleri *et al.*, 2016).

Alguns autores referem que a inflamação do epitelial ruminal ou ruminite pode comprometer o sistema imunológico como também pode afetar negativamente o apetite e, assim, a ingestão de matéria seca (Aleri *et al.*, 2016). Outros, associam a acidose ruminal subaguda a uma atividade fagocítica, a uma velocidade migratória dos neutrófilos comprometida e ainda, a uma redução da secreção de insulina e a um aumento da secreção do cortisol (Mulligan & Doherty, 2008).

O maior desenvolvimento do feto (cerca de 60%) ocorre no último trimestre da gravidez. A par deste acontecimento, a colostrogénese e o início da lactação, que decorrem no parto, exigem grandes concentrações disponíveis de cálcio para manter a homeostase deste mineral (Aleri *et al.*, 2016). O cálcio tem um papel importante nas funções celulares, nomeadamente na produção de citocinas, na expressão do recetor de citocinas e na proliferação celular (Simenew & Wondu, 2013). Os mecanismos do cálcio encontram-se de certa forma “inativados” durante o período seco, demorando alguns dias até à sua ativação, para assim colmatar os seus défices (Bettencourt & Romão, 2013). A maioria das vacas desenvolve algum grau de hipocalcémia nos dias anteriores e subsequentes ao parto, seja esta do tipo subclínica ou mesmo clínica (LeBlanc, 2012). Várias pesquisas relatam o impacto de uma alimentação insuficiente na função do sistema

imunitário evidenciando o papel que o cálcio e as vitaminas têm na função das células imunes e consequentemente associando estes ao risco de desenvolvimento de doenças (Kimura *et al.*, 2006; Sordillo & Aitken, 2009; Simenew & Wondu, 2013).

Kimura *et al.* (2006) demonstrou que a função das células mononucleares do sangue periférico era prejudicada quando o cálcio intracelular diminuía. Segundo este autor, as vacas mastectomizadas não desenvolvem hipocalcemia nem imunossupressão tão marcadas em comparação com vacas inteiras. De acordo com Martinez *et al.* (2012), a hipocalcemia eleva a probabilidade de desenvolvimento de metrite, porém Cheong *et al.* (2011) não identificaram ligação entre a hipocalcemia e as doenças reprodutivas. Verificou-se ainda uma associação entre a hipocalcemia e a diminuição da explosão respiratória e da contagem de neutrófilos (Kimura *et al.*, 2006). Similarmente, a hipocalcemia está relacionada com o aumento das concentrações plasmáticas de cortisol, bem como com a diminuição das contrações de vários grupos musculares, nomeadamente do miométrio e do tônus do esfíncter da tetina (Aleri *et al.*, 2016). Tais evidências estão interligadas ao agravamento da imunossupressão e à presença de doenças como a metrite, RP e mastite (Martinez *et al.*, 2012; Aleri *et al.*, 2016).

Apesar dos efeitos benéficos da ROS, estas geram uma carga de *stress* oxidativo e aumentam a produção pró-inflamatória das células fagocíticas. Devido à disponibilidade insuficiente de antioxidantes, característica do periparto, o ciclo da inflamação pode ser exacerbado. A inflamação excessiva causa efeitos colaterais e prejudiciais aos tecidos afetados, sendo que um nível adequado de antioxidantes auxilia na prevenção e na manutenção de respostas imunes eficazes (Sordillo & Aitken, 2009; LeBlanc, 2012). As vitaminas E e C e o precursor da vitamina A,  $\beta$ -caroteno, auxiliam na eliminação de radicais livres, impedindo assim o *stress* oxidativo e a inflamação excessiva (Sordillo & Aitken, 2009). Estas vitaminas e outros oligoelementos, como o selênio e o cobre, contribuem nas funções da imunidade celular, funcionando como excelentes antioxidantes (Mulligan & Doherty, 2008; Sordillo & Aitken, 2009). Por outro lado, a vitamina D está associada à supressão do sistema imunológico, uma vez que afeta a homeostase do cálcio sérico e a expressão de genes do *DNA* das células imunes (Simenew & Wondu, 2013; Aleri *et al.*, 2016).

Estudos comprovam que a suplementação com vitamina E, selênio e cobre parecem melhorar a função dos neutrófilos, aumentando, por exemplo, a sua capacidade de fagocitose, e além disso reduzindo o risco de desenvolver doença neste período de maior suscetibilidade (Sordillo & Aitken, 2009; Kimura *et al.*, 2014). Várias pesquisas têm focado os benefícios da suplementação com vitamina E e selênio antes do parto, mostrando uma redução da incidência da retenção placentária em vacas suplementadas (Retamal, 2011; Gilbert, 2016). É, desta forma, crucial manter uma alimentação equilibrada e se necessário suplementá-la com micronutrientes essenciais, como é o caso das vitaminas e minerais fundamentais ao bom funcionamento do sistema imunológico (LeBlanc, 2012; Simenew & Wondu, 2013).

O *stress* metabólico e hormonal, característico do periparto, é considerado atualmente como um dos fatores mais importantes da imunossupressão. Este *stress* pode ser desencadeado por simples mudanças ambientais, como o calor, transferência de parque, mistura com animais desconhecidos ou intervenção do veterinário no parto; mas também por distúrbios hormonais e metabólicos como a hipocalcemia (Goff, 2008; Simenew & Wondu, 2013). As consequências podem ser diversas, destacando-se o aumento da concentração de glucocorticoides plasmáticos e de catecolaminas, consequentemente com um efeito negativo nas células do sistema imunitário (Goff, 2008; Mordak & Stewart, 2015; Aleri *et al.*, 2016).

As alterações provenientes do *stress* podem ativar o eixo hipotálamo-hipófise-adrenocortical, que assim aumenta a concentração de glucocorticoides plasmáticos, sobretudo do cortisol plasmático. O cortisol, na altura do parto, tem um aumento de 3 a 4 vezes a sua concentração plasmática basal normal (5 ng / ml), podendo mesmo aumentar até 7 vezes mais a sua concentração se ocorrerem distúrbios metabólicos associados. O cortisol é conhecido por ser um agente imunossupressor que causa depressão na proliferação e na função dos leucócitos. (Goff, 2008; Mordak & Stewart, 2015). Para além disso, diminui a produção de prostaglandinas, como a prostagladina F2 $\alpha$ , que estimula a fagocitose e quimiotaxia dos neutrófilos mas também a produção de citocinas. Vacas com desequilíbrios nas concentrações de prostaglandinas F2 $\alpha$  demonstraram um risco superior de desenvolver RP. A capacidade de expressão de moléculas do complexo de histocompatibilidade principal, que coordenam o reconhecimento imunológico materno de antígenos fetais e que são necessárias para uma expulsão eficiente da placenta logo

após o parto, também é afetada com o aumento do cortisol (Mordak & Stewart, 2015). O cortisol tem ainda influência na perda de expressão da L-selectina (proteína expressa na superfície de células imunes) que possibilita a passagem dos neutrófilos pelo endotélio vascular (Simenew & Wondu, 2013). Outra consequência deste *stress* é uma ativação na produção de catecolaminas (por exemplo a adrenalina) que poderá causar uma hipomotilidade do útero que afeta a expulsão do feto, onde é passível a ocorrência de problemas no desprendimento da placenta e secundariamente de infecção uterina (Mordak & Stewart, 2015).

O *stress* vivido pela vaca e as alterações hormonais associadas à gravidez e ao momento do parto demonstram um impacto negativo nas funções dos neutrófilos e linfócitos, como é o exemplo das alterações da progesterona, do estradiol, do fator de crescimento semelhante à insulina tipo1 e da hormona de crescimento (Sordillo, 2005). A concentração de estradiol aumenta logo antes do parto, sendo relacionada a uma supressão da função dos neutrófilos. A progesterona mantém a gravidez, encontrando-se elevada no plasma durante o período seco, contudo ocorre uma diminuição rápida dois dias antes do parto, coincidindo com o aumento da prostaglandina F<sub>2</sub> $\alpha$  uterina e a regressão do corpo lúteo. Esta regressão tem influência direta nos linfócitos, macrófagos e citocinas, ocorrendo um recrutamento e proliferação de células imunes neste local. O estrogénio aumenta no último trimestre da gestação e diminui logo após o parto, sendo considerado um potente imunossupressor (Simenew & Wondu, 2013).

### 3.3. Afeções associadas

#### 3.3.1. Metrite

A metrite é classificada como a inflamação severa das quatro camadas do útero – mucosa, submucosa, muscular e serosa. Distingue-se da endometrite por apresentar sinais sistêmicos como a depressão, febre e toxemia severa (Troedsson & Christensen, 2015). Dependendo do autor, poderá ser definida como metrite puerperal, uma vez que é na altura do parto (puerperal) que ocorre inevitavelmente uma contaminação bacteriana, podendo ser eliminada ou desenvolver uma infecção uterina entre os primeiros 10 a 21 dias após o parto (Sheldon *et al.*, 2006; Haimerl *et al.*, 2017). É caracterizada por um acúmulo de secreções pós-parto, bactérias e produtos de inflamação (Troedsson & Christensen, 2015).

Os sinais clínicos mais evidentes são: anorexia, desidratação, depressão, corrimento uterino fétido e sanguinolento de cor avermelhada ou acastanhada (figura 9), temperatura rectal superior a 39°C e diminuição da produção de leite (LeBlanc, 2008; Risco & Retamal, 2011). Laboratorialmente, a depressão é por norma acompanhada de neutropenia e leucopenia (Troedsson & Christensen, 2015). Dependendo da gravidade dos sinais clínicos e do tipo de bactérias que colonizam o útero, a doença poderá ser definida por vários graus de intensidade, podendo mesmo ser fatal (Risco & Retamal, 2011).

Cerca de 10 a 30% das vacas em lactação apresentam metrite (Bicalho *et al.*, 2017). Fatores como a distócia, RP, abortos, inércia uterina, partos gemelares, traumas no parto, má higiene das camas e hipocalcémia estão associados ao desenvolvimento desta **doença**. (Risco & Retamal, 2011; Troedsson & Christensen, 2015) Segundo Hammon *et al.* (2006), as vacas que desenvolvem metrite apresentam uma falha nas funções dos neutrófilos e na capacidade de eliminar a contaminação bacteriana mesmo antes do parto, comparadas com vacas sem metrite. Similarmente as vacas com metrite apresentam maiores concentrações de AGNE no sangue, o que sugere uma maior mobilização de gordura no periparto (Hammon *et al.*, 2006). Num estudo semelhante

foram também evidenciados a ingestão alimentar diminuída e o balanço energético negativo, associados a um maior risco de metrite (Goff, 2008).

Os efeitos da metrite na saúde da vaca são prejudiciais a vários níveis: no desempenho reprodutivo (deteriorando o ambiente uterino, reduzindo a taxa de concepção e aumentando a perda embrionária), na produção de leite (com menor quantidade produzida, menor composição de proteínas e eliminação de leite não próprio para consumo humano) e no abate prematuro. Esta doença gera perdas económicas elevadas, o aumento do uso de antibióticos e o aumento do número de tratamentos necessários e, ainda, consequências no bem-estar animal, gerando dor intensa nas vacas afetadas, levando a pesquisas de novas estratégias para minimizar a sua incidência (Sheldon *et al.*, 2006; Giuliadori *et al.*, 2013; Bicalho *et al.*, 2017; Haimerl *et al.*, 2017).



Figura 9: Vaca com corrimento uterino fétido e sanguinolento de cor acastanhada.

### 3.3.2. Mastite

A definição de mastite é extensível a qualquer inflamação da glândula mamária, desde lesões nos tecidos até às agressões de organismos patogénicos (Ruegg, 2011; Ruegg *et al.*, 2015). Contudo, a causa mais comum de mastite em vacas leiteiras são os organismos patogénicos de origem bacteriana, como estafilococos, estreptococos e enterobactérias. A mastite é classificada consoante a sua intensidade, por subclínica ou clínica, contudo, se considerarmos a sua transmissão e reservatório primário pode ser designada como contagiosa ou ambiental (Ruegg *et al.*, 2015; Gomes & Henriques, 2016). Após a invasão do patógeno, ocorre um período de latência que poderá progredir para uma mastite subclínica ou clínica ou, ainda, para uma resposta eficaz do sistema imunitário com a resolução da infeção (Ruegg *et al.*, 2015).

As infeções referentes a microrganismos contagiosos têm principalmente origem nas glândulas mamárias de vacas infetadas, estando associadas maioritariamente a infeções bacterianas por *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae*. Enquanto que nas infeções causadas por microrganismos de origem ambiental, podemos encontrar bactérias como *Escherichia coli* e *Klebsiella spp* (Bogni *et al.*, 2011). O canal da tetina é a principal porta de entrada, pois quando se inicia a lactação ocorre a sua dilatação (Sordillo, 2005).

A mastite, principalmente a mastite subclínica, que tem sinais clínicos pouco evidentes, é comumente detetada através do TCM (Teste Californiano de Mastites) que evidencia o aumento das células somáticas no leite. O teste TCM é um dos mais utilizados e de grande importância para contabilizar os casos de mastite, promovendo assim a implementação de programas de controlo. Os programas de controlo dão especial atenção aos múltiplos fatores que podem originar a mastite e baseiam-se em três áreas primordiais: a) envolvência da vaca, b) funcionamento dos sistemas de ordenha e c) instalações e manejo das vacas (Ruegg, 2011; Ruegg *et al.*, 2015).

Apesar dos esforços para a prevenção e controlo da mastite, a mesma continua a ter grande impacto na produção leiteira, destacando-se como a doença com maior custos associados, tanto custos diretos como indiretos (Kehrlí, 2015; Ruegg *et al.*, 2015; Gomes & Henriques, 2016). Nos custos diretos podemos enumerar o leite descartado, o tempo

despendido, os tratamentos necessários e mesmo a possível morte do animal. Em relação aos custos indiretos (que muitas vezes não são contabilizados mas detêm grandes prejuízos) sobressai a diminuição da produção e qualidade do leite, a secagem antecipada, a diminuição do bem-estar animal, o aumento do abate involuntário e ainda outros problemas de saúde associados (Kehrli, 2015; Gomes & Henriques, 2016). O sistema reprodutor pode ser afetado, tal como vários estudos indicam, ocorrendo um aumento do número de dias não gestantes, baixas taxas de concepção, aumento do risco de abortos e mudanças hormonais que resultam em alterações do estro (Risco & Retamal, 2011; Ruegg *et al.*, 2015).

O papel do sistema imunitário parece estar interligado ao desenvolvimento da mastite. É no periparto que a incidência desta afeção aumenta, concretamente nas três primeiras semanas pós-parto (Oliver & Sordillo, 1988). Por sua vez, o período de secagem também pode ter algumas implicações, pois a reincidência de infeções no periparto poderá estar associada a infeções latentes do período seco (Goff & Horst, 1997). Encontrando-se a infeção num estado de latência ou sendo considerada uma nova infeção, é no período do periparto que os mecanismos de defesa se apresentam deprimidos, tornando a vaca mais suscetível a adesão e multiplicação de microrganismos que poderão levar à ocorrência da infeção (Kimura *et al.*, 1999; Nonnecke *et al.*, 2003; Sordillo, 2005).

Em vacas com mastite, os neutrófilos são as células mais predominantes na defesa da glândula mamária, constituindo cerca de 90% da população total de leucócitos. Em contrapartida, em vacas saudáveis as células dominantes na glândula mamária são os macrófagos, porém na fase da inflamação estes tendem a diminuir a sua atividade comparados com os neutrófilos (Sordillo, 2005). Agravando a situação, o número de neutrófilos também se encontra diminuído no periparto, assim como diminui: a sua atividade bactericida, a migração e a quimiotaxia (Kimura *et al.*, 2014) Conjuntamente, a concentração de IgG2 (principal imunoglobulina presente nos processos inflamatórios da glândula mamária) encontra-se diminuída no parto, estando esta relacionada com a incidência de mastite em estudos anteriores. No que diz respeito às proteínas do complemento estão elevadas no colostro, em leite mastítico e nas secreções mamárias, tendo o seu principal papel como mediador pró-inflamatório no decorrer da mastite. Várias citocinas da fase aguda também foram descritas como tendo um papel crítico na mastite, encontrando-se concentrações elevadas de citocinas em vacas com mastites mais severas.

O *stress* oxidativo e a inflamação excessiva poderão afetar os mecanismos de defesa e agravar os danos nos tecidos, correlacionando-se com mastites mais severas e prognósticos reservados (Sordillo, 2005).

O uso de antibióticos é o tratamento mais utilizado no combate a esta doença. Contudo, as atuais resistências aos antibióticos, os resíduos no leite e a baixa taxa de cura têm levado os investigadores a encontrar outras soluções (Gomes & Henriques, 2016). A seleção genética a longo prazo, as vacinas e os imunomoduladores a curto prazo, aparentam ser boas alternativas à prevenção e controlo da alta incidência da mastite (Kehrli, 2015; Aleri *et al.*, 2016; Gomes & Henriques, 2016).

### **3.3.3. Retenção Placentária**

A expulsão da placenta acontece dentro de 3 a 8 horas após o parto. A retenção de membranas fetais (RP) ocorre quando não há expulsão da placenta cotiledonar entre 12 a 24 horas após o parto (figura 10) (LeBlanc, 2008; Troedsson & Christensen, 2015), tendo uma incidência de 10% na população de vacas leiteiras dentro da União Europeia (Mordak & Stewart, 2015).

Na maior parte dos casos de RP, a grande responsável é a falha dos mecanismos de separação das vilosidades cotiledonares das carúnculas uterinas (Mordak & Stewart, 2015). Deste modo, a perda de ancoragem das membranas fetais ao útero está na origem da doença e desenrola-se através de um processo complexo que depende de vários fatores começando ainda antes do parto, durante a maturação placentária. O processo de maturação placentária traduz-se numa diminuição do número de células do epitélio materno, levando ao enfraquecimento da ligação materno-fetal, incluindo também uma remodelação do tecido conjuntivo e uma atração quimiotática de leucócitos. Podem ser ainda considerados outros mecanismos inerentes à expulsão da placenta, tais como: a isquémia das vilosidades fetais, o aumento da secreção de estrogénios, entre outros (Borges, 2014).

A RP pode ocorrer devido a placentomas imaturos mas também devido ao edema das vilosidades coriônicas, à placentite e à atonia uterina (Gustafsson *et al.*, 2004). Recentemente, novas causas prováveis foram apontadas, sugerindo o envolvimento do sistema imunitário na RP. Estas indicam diminuição da fagocitose e quimiotaxia dos neutrófilos, diminuição da capacidade citotóxica dos linfócitos e redução na atividade das citocinas; todos estes participam no reconhecimento e rejeição da placenta (Kimura *et al.*, 2002; LeBlanc, 2008; Mordak & Stewart, 2015). Segundo Kimura *et al.* (2002), num estudo comparativo de vacas com RP e sem RP, a função dos neutrófilos encontra-se diminuída nas vacas que apresentaram RP (mesmo antes do parto), assim como os cotilédones de vacas com RP apresentaram menor atração química aos neutrófilos, sugerindo que a imunossupressão verificada antes do parto poderá ser a causa da RP.

O *stress* metabólico do periparto também se revelou influente no desenvolvimento da RP, concretamente no reconhecimento e rejeição da placenta devido ao aumento da concentração do cortisol e da adrenalina (Mordak & Stewart, 2015). Um balanço energético negativo mais acentuado e um aumento da concentração de AGNE também estão relacionados com a RP (LeBlanc, 2008). Esta afeção do periparto está associada a vários fatores de risco, sendo os mais relevantes: distocia, indução do parto, aborto, gestação gemelar, cesariana, deficiências nutricionais (como a carência de betacaroteno, vitamina A, vitamina E e selénio), hipocalcémia, imunossupressão (característica do periparto) e doenças infecciosas (Gilbert, 2016).

O impacto da RP está interligado com o risco de atrasos na involução uterina, metrites, endometrites e com os custos económicos associados (LeBlanc, 2008). O desempenho reprodutivo e a perda de produção de leite, só parecem ser afetados quando secundariamente à RP se desenvolve uma metrite ou endometrite (LeBlanc, 2008). Contudo, alguns autores discordam desta ideia, associando diretamente vacas com RP a uma diminuição da produção de leite como também a um aumento do intervalo parto-1ºcio, do intervalo parto-conceção e do nº de IA- conceção. Outras doenças relacionadas ao aparecimento da RP são: a cetose, o deslocamento do abomaso, os quistos ováricos e a mastite (Gilbert, 2016).

Em casos considerados simples, a taxa de recuperação espontânea é alta, não sendo necessário qualquer tratamento. Sabe-se, atualmente, que a remoção manual da placenta não apresenta nenhuma vantagem comprovada (Gustafsson *et al.*, 2004).

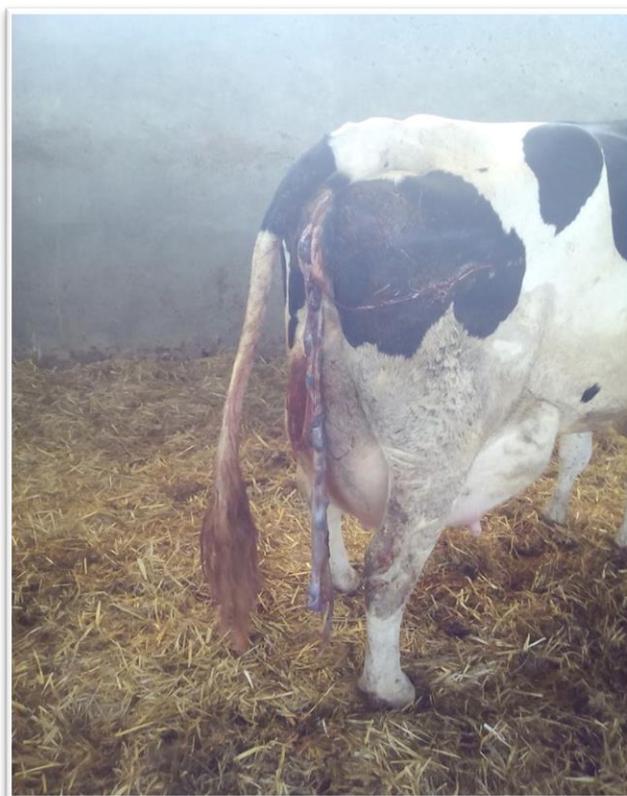


Figura 10: Vaca com retenção placentária.

### 3.4. Prevenção e Controle

A imunossupressão experimentada pela vaca no período do periparto ainda não é bem compreendida, muito pela sua complexidade de fatores envolvidos. Neste sentido, diversas pesquisas têm sido desenvolvidas com o intuito de preencher esta lacuna, tentando aglomerar e desvendar novos conhecimentos que analisem todas as mudanças ocorridas no periparto e que possam exacerbar a depressão do sistema imunológico, convergindo numa maior incidência de doenças características deste período.

Relativamente à redução do nível e eficiência dos neutrófilos e dos linfócitos descrita anteriormente por diversos autores, ainda não existe uma justificativa unânime. Em primeira instância, alguns autores defendem que a base do problema se encontra no decréscimo dos níveis de vitaminas do tipo A e do tipo E provenientes da diminuição do consumo de MS (Drackley *et al.*, 2005). Outros defendem que o problema está no aumento da concentração de estrogênios e glucocorticoides presentes na altura do parto e em situações de maior *stress* (Preisler *et al.*, 2000; Aleri *et al.*, 2016). Outros autores mencionam também o papel do *stress* oxidativo e do ciclo da inflamação na supressão do sistema imunitário (Sordillo & Aitken, 2009). Admite-se ainda a hipótese de o balanço energético negativo associado à mobilização de gordura ser o responsável pela maior suscetibilidade do organismo. (Hammon *et al.*, 2006; LeBlanc, 2012).

Para conseguir intervir de uma forma eficaz no melhoramento da saúde das vacas leiteiras e maximizar o seu rendimento nos sistemas de produção de leite é necessário perceber todas as alterações acima descritas e a associação entre si, criando programas pré-estabelecidos no período do periparto. No geral, existem três funções fisiológicas básicas que devem ser respeitadas para prevenir as doenças de transição: 1) manter uma dieta adequada para uma boa adaptação do rúmen e uma diminuição do balanço energético negativo; 2) manter a homeostasia do cálcio; e 3) minimizar a imunossupressão. Para tal, as estratégias de prevenção a curto prazo passam, por exemplo, pela minimização do *stress*, pela melhoria do bem-estar animal, da higiene das camas e pela manutenção de uma boa alimentação (Goff, 2008; Simenew & Wondu, 2013).

No que diz respeito ao *stress*, é necessário dar especial atenção a mudanças de parques, pois a vaca enfrentará um novo cenário onde são estabelecidas novas hierarquias

com diferentes grupos de animais, e ainda considerar o manuseamento desnecessário por parte dos próprios trabalhadores das explorações e do médico veterinário que pode gerar ansiedade na vaca com consequências a vários níveis (Simenew & Wondu, 2013; Mordak & Stewart, 2015).

A estratégia alimentar passa por manter continuamente as necessidades nutricionais da vaca, através de uma dieta pré-estabelecida por especialistas, que deverá ser completa e equilibrada em micro e macro nutrientes, adaptando o rúmen através de uma mudança progressiva da alimentação desde o período seco até ao período de transição. Contextualmente, a monensina de sódio é muito utilizada para uma adaptação ideal do rúmen, enquanto que suplementos de cálcio, magnésio, fósforo e insulina são utilizados para suprimir as necessidades nutricionais do periparto (Aleri *et al.*, 2016).

A seleção genética é também considerada uma estratégia, por sua vez, de longo prazo, que contempla um melhoramento da saúde e da aptidão das vacas leiteiras, fazendo com que as mesmas consigam combater eficazmente os desafios impostos (Kehrli, 2015; Aleri *et al.*, 2016).

Atualmente existem soluções inovadoras que ajudam a restaurar o sistema imunitário – os imunomoduladores. Neste sentido, têm surgindo vários estudos com o intuito de encontrar compostos bio-terapêuticos capazes de fortalecer a imunidade dos animais e, ainda, passíveis de serem comercializados e adquiridos por todos os interessados nesta área, tendo as citocinas alcançado um maior destaque nas pesquisas de sucesso (Nace *et al.*, 2014; Kehrli, 2015; Aleri *et al.*, 2016). Um exemplo de um imunomodulador é o fator estimulante de colónias de granulócitos (G-CSF) que desencadeia a produção de leucócitos na medula óssea, especialmente de neutrófilos (Kimura *et al.*, 2014; Ruiz *et al.*, 2017).

O objetivo na prevenção e controlo da imunossupressão é restaurar o sistema imunitário dando uma oportunidade à vaca de combater agressões que podem provocar doenças no periparto e consequentemente perdas económicas aos produtores. Reduzir a incidência das doenças neste período implica a melhoria da produtividade, da fertilidade e da saúde global da vaca, reduzindo também custos adicionais em tratamentos e medicamentos (Kehrli, 2015; Jackson, 2017).

## **4. ESTUDO DE CASO: INVESTIGAÇÃO DOS EFEITOS NA ADMINISTRAÇÃO DE PEGBOVIGRASTIM NA SAÚDE PÓS-PARTO E NA PRODUTIVIDADE DE VACAS LEITEIRAS**

### **4.1. Introdução e objetivos**

O periparto é definido como o período mais suscetível das vacas leiteiras de alta produção, onde ocorre a maioria das doenças metabólicas e infecciosas de transição. Estas doenças prejudicam negativamente a rentabilidade das explorações de leite, nomeadamente através da diminuição da produção de leite e do aumento dos custos do tratamento e do abate involuntário, não permitindo que a vaca atinja o seu potencial produtivo (Mulligan & Doherty, 2008; Waldron & Revelo, 2008; Aleri *et al.*, 2016; Jackson, 2017).

O fortalecimento do sistema imunitário, a manutenção de uma alimentação adequada e suplementada (principalmente com cálcio) e um ambiente sem efeitos causadores de *stress* estão na base das funções fisiológicas primordiais da vaca. Estes fatores-chave devem assim ser preservados, sobretudo no periparto, uma vez que as suas alterações, acrescidas às agressões e mudanças próprias deste período, estão fortemente associadas ao elevado risco de desenvolvimento de doenças (Goff, 2008).

Verifica-se praticamente em todas as vacas, uma supressão das funções do sistema imune durante o periparto, confirmada por vários autores (Kimura *et al.*, 2002; Goff, 2008; LeBlanc, 2012; Kimura *et al.*, 2014). As exigências impostas pelo desenvolvimento fetal e pelo início da lactação são fatores associados à diminuição do sistema imunitário, assim como a diminuição da capacidade de ingestão e o balanço energético negativo vivido no início da lactação, onde ocorrem carências ao nível da energia e das proteínas, minerais e vitaminas necessárias ao bom funcionamento do sistema imunitário (LeBlanc, 2012; Martinez *et al.*, 2012). A imunossupressão aparenta ser uma das causas diretamente relacionada com a incidência elevada da mastite, metrite e RP durante este período (Kimura *et al.*, 2002; Hammon *et al.*, 2006).

Estudos comprovam uma diminuição do número e da função dos neutrófilos e linfócitos durante o parto e um aumento progressivo durante as três semanas seguintes ao mesmo (Kimura *et al.*, 2014). Como referido anteriormente, os neutrófilos desempenham um papel primário na defesa das glândulas mamárias e do útero (Sordillo, 2005; Waldron & Revelo, 2008; Simenew & Wondu, 2013). Os neutrófilos têm vindo a ganhar destaque nesta matéria, sendo considerados fundamentais para a redução da imunossupressão e consequentemente para a redução do risco no desenvolvimento de mastite, metrite e RP (Kimura *et al.*, 2002; Hammon *et al.*, 2006).

As agressões da glândula mamária e do útero após o parto estão assim dependentes da resposta rápida e eficiente dos neutrófilos para que não se instale uma infeção e, como é de esperar, uma deficiente ação destas células imunitárias pode dar origem ao desenvolvimento das doenças em destaque. Torna-se essencial aumentar o desempenho e a concentração dos neutrófilos para minimizar os efeitos prejudiciais que, atualmente, estas doenças provocam.

O pegbovigrastim é um medicamento imunomodulador apresentado recentemente pela Elanco®, constituído pela forma PEGilada da citocina Fator Estimulante de Colónias de Granulócitos bovinos (bG-CSF) e com nome comercial de Imrestor™ (CE, 2017). Os Fatores Estimulantes de Colónias pertencem a uma família de glicoproteínas, as citocinas, sendo estas mensageiras que desempenham um papel central contra a infeção e a inflamação, coordenando a intensidade e a duração da resposta imunitária (Kehrli *et al.*, 1991; CE, 2017; Ruiz *et al.*, 2017).

Em particular, o Fator Estimulante das Colónias de Granulócitos (G-CSF) é produzido pelos leucócitos, pelas células endoteliais e pelos fibroblastos; atuando no crescimento, na regulação e na diferenciação das células precursoras de neutrófilos na medula óssea. A forma comercial do bG-CSF é homóloga ao bG-CSF nativo, em cerca de 98%, mantendo a mesma atividade biológica. Esta sofre um processo de *PEGilação* que protege a proteína da degradação proteolítica e reduz a velocidade de eliminação pelos rins, prolongando assim a sua semivida de horas para dias (Molineux, 2003; CE, 2017). Em medicina humana o G-CSF tem sido usado em pacientes com cancro e que são sujeitos a quimioterapia, no sentido de melhorar a capacidade no combate às infeções (Kuritzkes, 2000; Hata *et al.*, 2011); contudo, na medicina veterinária o seu uso é recente,

remetendo para o ano de 2016 (Elanco, 2017). O efeito do pegbovigastim, demonstrado em vacas leiteiras no periparto, é restabelecer a atividade dos neutrófilos maduros e aumentar o seu número, acreditando-se assim que reduz o impacto da imunossupressão e conseqüentemente da incidência de doenças deste período (Kimura *et al.*, 2014; CE, 2017; Ruiz *et al.*, 2017). Segundo o estudo de Kimura *et al.* (2014) as vacas que receberam G-CSF ligadas covalentemente ao polietileno glicol durante o periparto, demonstraram o número e a função dos neutrófilos melhorados. Outra pesquisa, desenvolvida por Hassfurth *et al.* (2015), demonstrou uma redução na incidência de mastite clínica, comparando o efeito do mesmo composto do estudo anterior, em vacas alojadas com poucas condições de higiene.

O presente estudo tem como objetivo avaliar os efeitos na administração de pegbovigastim em vacas leiteiras, tanto na saúde pós-parto como na produtividade.

Concretamente serão avaliados:

- O efeito na administração de pegbovigastim durante o periparto de vacas leiteiras, na incidência da mastite, metrite e RP.
- O efeito na administração de pegbovigastim durante o periparto de vacas leiteiras, na produção de leite até aos 30 dias após o parto.

## 4.2. Materiais e métodos

### 4.2.1. Exploração e Animais

Esta investigação realizou-se no concelho de Castelo Branco na exploração M. Rito, anteriormente caracterizada. O estudo foi constituído por 53 vacas multíparas da raça Holstein-Frisian, com número de lactações compreendidas entre a 2ª e a 6ª lactação. Foram distribuídas aleatoriamente em dois grupos: grupo Imrestor e Grupo Controlo (Tabela 15).

Tabela 15: Distribuição dos animais por grupo em função do número de animais.

<i>Grupos</i>	<i>n</i>	<i>%</i>
<i>Imrestor</i>	26	49%
<i>Controlo</i>	27	51%
<i>Total</i>	53	100%

O critério para a escolha das vacas em estudo, desenvolvido desde novembro de 2016 até abril de 2017, foi aleatório e consoante a disponibilidade existente na exploração.

Ao longo do estudo, o número total dos animais contabilizados para cada doença foi variável, pois foi considerado o período de risco estabelecido e não se contabilizaram as vacas que acabaram por morrer fora desse período. Para a RP o período estabelecido foi de 24h, ao passo que para a mastite, metrite e produção de leite foi de 30 dias. No que diz respeito aos outros distúrbios de saúde que foram sendo identificados ao longo do estudo, estabeleceu-se o momento do parto como o período de risco para a distócia, e nas restantes doenças o período estabelecido foi de 30 dias após o parto. Deste modo, após o critério de exclusão, o número de vacas em estudo variou conforme a doença e a produção de leite, evidenciado na tabela 16.

Tabela 16: Distribuição do número de vacas em estudo no grupo Imrestor e no grupo Controlo, depois do critério pré-estabelecido para as variáveis e para os outros distúrbios de saúde que foram recolhidos.

<i>Variáveis em Estudo</i>	<i>Grupo Imrestor</i>	<i>Grupo Controlo</i>	<i>Nº de Vacas Não Contabilizadas</i>	<i>Nº Total em Estudo</i>
<i>Metrite</i>	25	25	3	50
<i>Mastite</i>	25	24	4	49
<i>RP</i>	25	27	1	52
<i>Produção de leite</i>	25	24	4	49
<i>Outros Distúrbios de Saúde</i>	<i>Grupo Imrestor</i>	<i>Grupo Controlo</i>	<i>Nº de Vacas Não Contabilizadas</i>	<i>Nº Total em Estudo</i>
<i>Cetose</i>	25	24	4	49
<i>Hipocalcémia</i>	25	25	3	50
<i>Deslocamento do Abomaso</i>	25	25	3	50
<i>Distócia</i>	26	27	0	53
<i>Claudicação</i>	25	25	3	50

As condições, tanto ambientais como de manejo, foram as mesmas para o grupo Imrestor como para o grupo Controlo: cama de palha, dois bebedores automáticos e alimentação de mistura (maioritariamente de silagem e farinha de milho com associação de concentrado proteico e palha) duas vezes por dia. Todas as vacas foram selecionadas aproximadamente 15 dias antes do parto previsto, dentro no lote 15 (grupo de vacas no período seco), com o objetivo de transitarem para o lote 14 (grupo de vacas no pré parto) onde permaneceram até ao momento do parto. A data prevista do parto foi consultada no programa da exploração – alpro Windows.

### 4.2.2. Programa de tratamento

O programa de tratamento foi mantido conforme a bula do Imrestor™, apresentando-se a dose administrada numa seringa de plástico pré-carregada com uma dose individual de 2,7ml por vaca, contendo 15 mg de pegbovigrastim. O Imrestor™ foi conservado a 4°C no frigorífico da exploração.

- 1) Grupo Imrestor – administração subcutânea das duas doses na tábua do pescoço. Sendo que a primeira dose de pegbovigrastim foi administrada aproximadamente 7 dias antes do parto previsto, enquanto que a segunda dose foi administrada dentro das 24h após o parto (figura 11).
- 2) Grupo Controlo – não foi administrada qualquer dose.

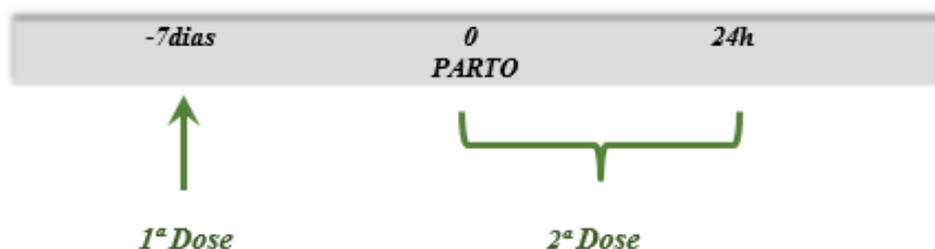


Figura 11: Protocolo aplicado no estudo de caso ao grupo Imrestor.

### 4.2.3. Recolha de dados

Todas as vacas em estudo foram submetidas a um exame clínico pós-parto realizado pelo médico veterinário da exploração, acompanhado pela autora do estudo, e posteriormente a exames clínicos semanais efetuados pelo enfermeiro veterinário da exploração e mais uma vez pela autora, até perfazer os 30 dias pós parto.

### *Metrite*

A metrite foi identificada por palpação vaginal, onde a presença de um corrimento uterino fétido e sanguinolento de cor avermelhada ou acastanhada foi detetado. Também a palpação do útero flácido e a presença de sinais clínicos sistêmicos como a febre (temperatura rectal superior a 39°C) foram contabilizados para assinalar a vaca com metrite. Estas manobras foram efetuadas uma vez por semana até ao final dos 30 dias pós-parto.

### *Mastite*

A mastite foi diagnosticada, principalmente, com recurso ao TCM. Em todas as vacas em estudo foi realizado o TCM, mais uma vez com a regularidade de 1 vez por semana, por 30 dias, para assim detetar o aumento de células somáticas no leite. O aspeto visual do leite e das quatro glândulas mamárias e o estado geral da vaca também foi observado semanalmente e contabilizado para identificar a vaca com mastite.

### *Retenção placentária*

Ao fim de 24h após o parto as vacas que mantinham visíveis as membranas fetais foram categorizadas com retenção placentária.

### *Produção de leite*

A produção de leite dos 30 dias subsequentes ao parto foi registada com o auxílio do programa da exploração (alpro Windows), que contabilizou as duas ordenhas diárias de cada vaca até perfazer o período estabelecido.

#### 4.2.4. Análise estatística

Para analisar estatisticamente os dados, utilizou-se o *software* JMP® versão 13 do SAS (Sistema de Análise Estatística). Numa primeira análise dos dados registados, utilizou-se a estatística descritiva, através de frequências absolutas e relativas, de medidas de localização (média e quantis) e de medidas de dispersão (variância e desvio-padrão). Posteriormente utilizaram-se diferentes testes de análise univariada: *Chi-square* (o *Fisher's exact test*, quando alguma das frequências era inferior a 5) para comparar a incidência das doenças pós-parto e o *T-student* para comparar as médias da produção de leite entre o grupo de controlo e o grupo Imrestor. Recorreu-se ainda à análise multivariada, pelo modelo de regressão logística, para valorizar o efeito de outras variáveis presentes em estudo como, por exemplo, doenças identificadas que não pertenciam às três estudadas. Para todos os testes, foram considerados valores de  $p < 0,05$  como estatisticamente significativos.

### 4.3. Resultados

Os resultados deste estudo são apresentados perante dois itens fundamentais: 1) efeito do pegbovigastim nas doenças em causa, no periparto; 2) efeito do pegbovigastim na produção de leite até aos 30 dias após o parto; tendo sido feita em ambos os parâmetros uma análise comparativa do grupo Imrestor e do grupo de Controlo. Contudo, inicialmente serão destacados alguns fatores que estiveram presentes durante a experiência, nomeadamente a ordem de distribuição por grupo do número de lactações das vacas, a variação de intervalos verificada entre a 1ª dose e o parto (tento variado dentro do grupo Imrestor) e ainda, o facto de algumas vacas terem manifestado outros distúrbios de saúde para além das descritas em estudo.

A apresentação dos resultados advém de uma análise estatística descritiva, bem como de testes de análise univariada e multivariada.

### 4.3.1. Fatores Relevantes em Estudo

Ao longo do estudo, verificou-se que a distribuição dos animais por número de lactações não é uniforme entre os dois grupos (Gráfico 6); existindo maior percentagem do número de vacas em 2ª lactação no grupo Imrestor (46%) em comparação com o grupo controlo (22,2%).

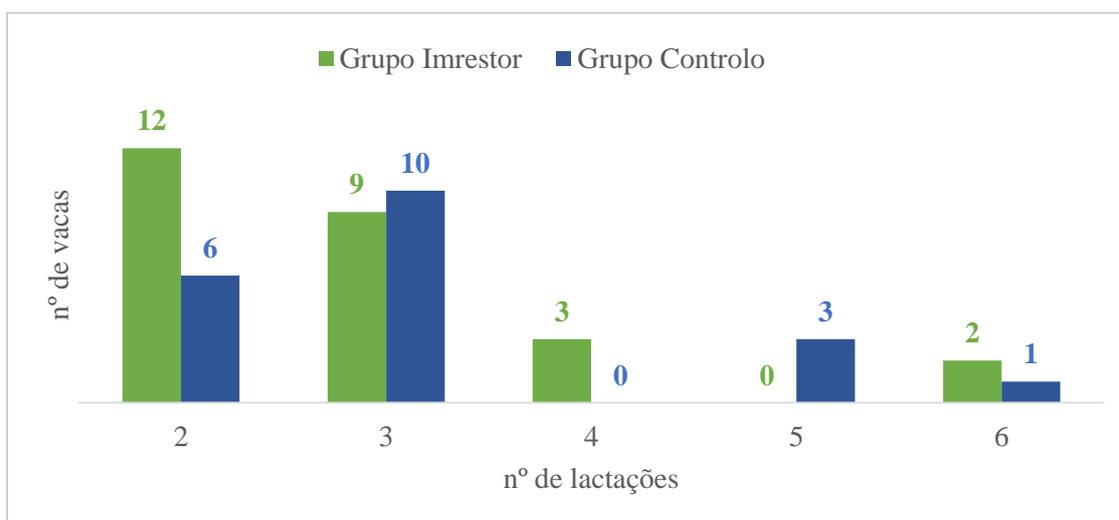


Gráfico 6: Distribuição das vacas por número de lactações no grupo Imrestor e no grupo Controlo.

Há que destacar também que existe uma grande variabilidade na precisão da data do parto, constatando-se por isso algumas diferenças no intervalo real entre a primeira dose de Imrestor e o parto (Gráfico 7). Em média, as vacas do grupo Imrestor receberam a primeira dose 10,8 dias antes do parto, tendo um desvio padrão de 3,64. O intervalo máximo verificado entre a primeira dose e o parto, foi de 17 dias, encontrando-se o intervalo mínimo nos 5 dias. Verificou-se assim um intervalo superior a 14 dias em 25% dos animais (5 vacas).

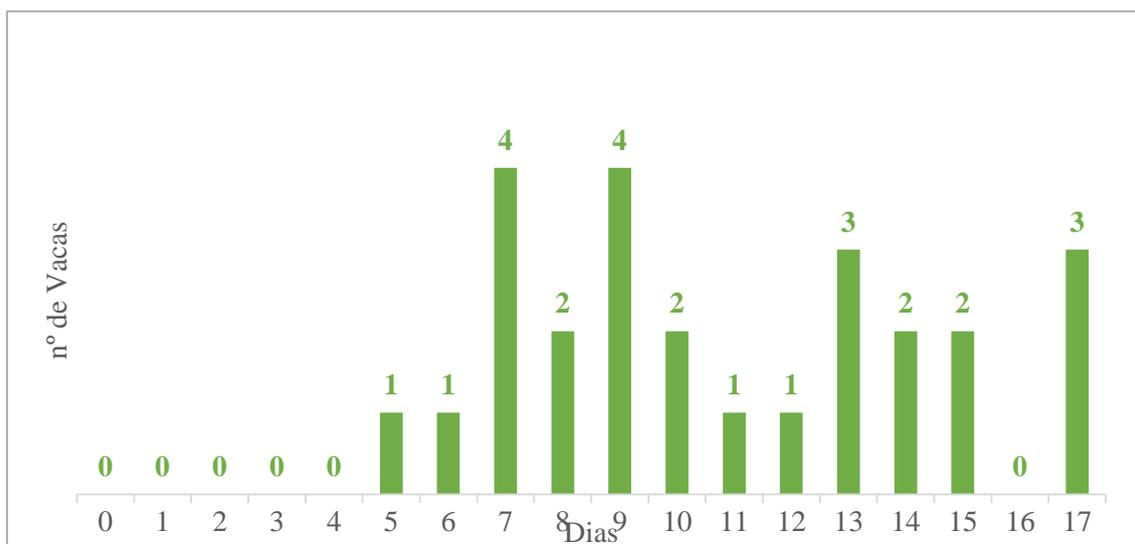


Gráfico 7: Variação do Intervalo entre a 1ª Dose de Pegbovigrastim e o Parto nas vacas do grupo Imrestor (n=26).

De referir também que, no decorrer do estudo, se identificaram outros distúrbios de saúde associados ao período do periparto, estando estes representados na tabela 17. A distócia (dificuldade no parto) mostrou ser um fator importante em estudo, visto que afeta o risco de doença pós-parto.

Tabela 17: Distúrbios de saúde identificados, para além dos descritos em estudo.

<b>Grupos</b>		<b><i>Distúrbios de Saúde</i></b>				
		<i>Cetose</i>	<i>Hipocalcémia</i>	<i>Deslocamento do abomaso</i>	<i>Distócia</i>	<i>Claudicação</i>
<i>Imrestor</i>	n	2	1	0	2	1
	%	8%	4%	0%	7,69%	4%
<i>Controlo</i>	n	3	1	3	1	1
	%	12,5%	4%	12%	3,7%	4%

### 4.3.2. Efeito do Pegbovigrastim na incidência da Metrite, Mastite e RP

A tabela 18 e o gráfico 8 resumem a análise estatística da incidência da mastite, metrite e RP no grupo Imrestor e no grupo controlo.

Tabela 18: Incidência das doenças em estudo no grupo Imrestor e no grupo Controlo, com o respetivo valor de P-value (*Fisher's exact test*) para cada doença.

<i>Grupos</i>		<i>Doenças em Estudo</i>		
		<i>Metrite</i>	<i>Mastite</i>	<i>RP</i>
<i>Imrestor</i>	n	2	2	2
	%	8%	8%	8%
<i>Controlo</i>	n	8	1	2
	%	32%	4,17%	7,14 %
<i>P-value</i>		0,037	0,875	0,724

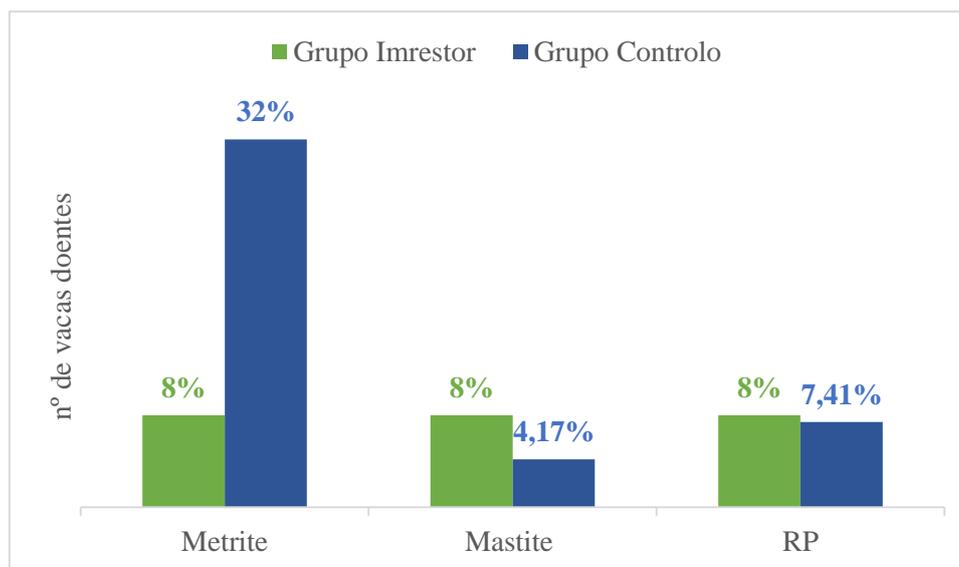


Gráfico 8: Ilustração gráfica da frequência relativa em cada doença, no grupo Imrestor e no grupo Controlo.

Estes dados revelam que ocorreram mais casos de metrite nas vacas do grupo controle em comparação com as vacas do grupo Imrestor, obtendo assim, uma menor percentagem da incidência de metrite no grupo Imrestor (8%) do que o grupo Controle (32%); reduzindo a incidência de metrite em 75%. Contudo, verificou-se um ligeiro aumento da incidência da RP e da mastite no grupo Imrestor em comparação ao grupo Controle, com maior ênfase na mastite. A incidência da mastite no grupo Imrestor foi de 8% e no grupo controle foi de 4,2%. No que diz respeito à RP, a incidência no grupo Imrestor também foi de 8% e no grupo Controle de 7,41%.

Com recurso ao *Fisher's exact test*, comparou-se a diferença da percentagem das doenças entre o grupo Imrestor e o grupo Controle, podendo-se afirmar que a diferença na incidência de metrite é estatisticamente significativa ( $p=0,037$ ). No que diz respeito à mastite e à RP, os resultados não são estatisticamente significativos. Existe uma probabilidade de 96% na mastite e de 72% na RP, que a diferença entre grupos não se deva à administração do Imrestor.

Comparando a probabilidade de ocorrer alguma doença (metrite, mastite e RP) entre os grupos em estudo, apurou-se uma probabilidade de 38,55% para o grupo controle e de 20% para o grupo Imrestor. Porém, não podemos falar de significância mas de uma tendência, uma vez que a probabilidade que esta diferença se deva ao acaso seja de  $p=0,15$  (não é estatisticamente significativa). Seria necessário um maior número de animais em estudo para confirmar o efeito benéfico do tratamento com pegbovigastim, na redução da incidência das doenças pós-parto em causa.

A regressão logística para o risco de desenvolver doença pós-parto (metrite, mastite e RP) associada à imunossupressão, indicou uma diferença estatística entre o grupo Controle e o grupo Imrestor de  $p = 0,03$  (*Odds Ratio* de 5,2). Sugere-se deste modo, que as vacas do grupo Controle sejam 5,2 vezes mais propensas a desenvolver uma doença pós-parto do que as vacas do grupo Imrestor. Estes valores confirmam os resultados da análise da incidência da metrite acima referidos. Similarmente, através da regressão logística (pela análise estatística do *Odd Ratio*), observou-se que os animais com partos distócicos são 13 vezes mais propensos a desenvolver uma doença pós-parto, contudo esta não teve significado estatístico ( $p=0,06$ ).

### 4.3.3. Efeito do Pegbovigrastim na Produção de Leite

Os dados da análise estatística da produção de leite (tabela 19 e gráfico 9), mostram que as vacas do grupo Imrestor produzem em média  $\approx 50$  litros a mais nos primeiros 30 dias de lactação do que as vacas do grupo Controlo. Apresentando o grupo Controlo uma média de 885,017 litros e o grupo Imrestor uma média de 937,620 litros. Apesar de ser evidente uma maior produção de leite nas vacas do grupo Imrestor, ao comparar as médias entre os grupos (*T-Student*) verificou-se que o risco de ser devido ao acaso é de  $p=0,19$ .

Tabela 19: Análise estatística da produção de leite até aos 30 dias após o parto, no grupo Imrestor e no grupo Controlo (valores apresentados em litros).

<i>Análise estatística</i>	<i>Produção de leite</i>	
	Grupo Imrestor	Grupo Controlo
<i>Mínimo</i>	477,2	497
<i>Máximo</i>	1178,9	1321,1
<i>1º Quartil</i>	775,85	728,175
<i>Mediana</i>	991,8	855,8
<i>3º Quartil</i>	1107,55	1000,675
<i>Média</i>	937,620	885,017
<i>Desvio-padrão</i>	198,498	211,026
<i>Diferença entre grupos</i>		52,60

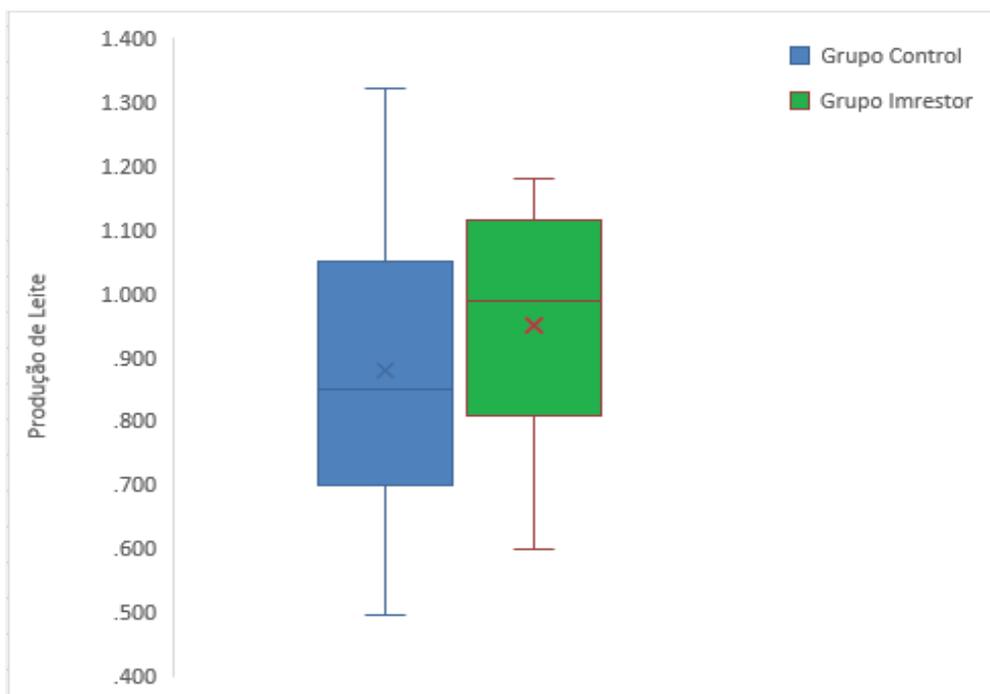


Gráfico 9: Ilustração gráfica da produção de leite (em litros), no grupo Imrestor e no grupo Controlo.

#### 4.4. Discussão e Conclusão

A imunossupressão evidente no período do periparto em vacas leiteiras, parece ser uma das causas mais relevantes na alta incidência de doenças pós-parto, nomeadamente mastite, metrite e RP (Waller, 2000; Kimura *et al.*, 2002; Hammon *et al.*, 2006; Kimura *et al.*, 2006). O mesmo acontece com a lactação inicial que parece ser prejudicada pela presença de distúrbios de saúde associados à imunossupressão, conduzindo a um menor desempenho na produção de leite total da vaca (Waller, 2000; Martinez *et al.*, 2012; Simenew & Wondu, 2013).

Sabe-se que há uma conexão da metrite, da mastite e da RP com a imunossupressão do periparto, associada a uma diminuição do número e da função dos neutrófilos, uma vez que os neutrófilos desempenham um papel fundamental como

primeira linha de defesa celular contra a colonização bacteriana do útero e da glândula mamária (Kimura *et al.*, 1999; Waller, 2000; Kimura *et al.*, 2002; Hammon *et al.*, 2006). De acordo com LeBlanc (2012), a infecção e inflamação do útero afeta uma em cada três vacas leiteiras, implicando consequências produtivas. Vários autores relatam a metrite como uma doença altamente prevalente, causando grandes prejuízos na indústria dos laticínios e com efeitos diretos na diminuição do desempenho reprodutivo e da produção de leite (Sheldon *et al.*, 2006; Giuliadori *et al.*, 2013). Mordak & Stewart (2015) identificaram a RP, como uma das causas, na diminuição da produção de leite, no aumento do risco de metrite, na diminuição do desempenho reprodutivo e em elevados prejuízos financeiros. Igualmente, a mastite foi associada a comprometimentos a nível reprodutor e a perdas na produção de leite, sendo esta considerada a doença com maiores custos na produção leiteira (Sordillo, 2005; Hammon *et al.*, 2006; Kehrl, 2015; Ruegg *et al.*, 2015).

O tempo em torno do parto é assim um período crítico da vaca leiteira, conduzindo a várias pesquisas na tentativa de apoiar o sistema imunitário. Porém, a maioria dos distúrbios de saúde característicos deste período manteve iguais prevalências durante os últimos 27 anos (Bradford *et al.*, 2015), o que leva à necessidade de encontrar novas estratégias para fazer frente aos desafios que surgem no período do parto.

Uma vez que estudos comprovam que o tratamento com pegbovigrastim resulta num aumento da contagem e da capacidade funcional dos neutrófilos (melhoria na atividade da mieloperoxidase) no parto (Kimura *et al.*, 2014; Hassfurth *et al.*, 2015), este estudo de caso tentou associar o efeito do pegbovigrastim na possível redução da incidência da mastite, metrite e RP, assim como no efeito da lactação até aos 30 dias após o parto.

No grupo Imrestor, idealmente, teria sido administrada a 1ª dose no sétimo dia antes do parto, contudo tal não foi possível. Em média, a 1ª dose foi administrada, aproximadamente, 11 dias antes da data do parto. No futuro é fundamental melhorar as datas previstas do parto, recomendando a anotação dos dias da monta natural nos parques com machos e posteriormente na observação atenta dos sinais do parto pelo menos uma vez por dia, nas duas semanas que antecedem o mesmo. Serão necessários esforços por parte das explorações para uma correta administração da 1ª dose de Imrestor na data exata

prevista na bula. Na administração da 2ª dose de Imrestor há maior facilidade, pois a data é nas 24h após o parto. No atual estudo, a administração da 2ª dose de Imrestor até 24h após o parto foi realizada em todas as vacas do grupo Imrestor (100%) dentro do prazo estabelecido.

Apesar do estudo incluir vacas multíparas, nem todas as vacas se encontravam na mesma lactação, no grupo Imrestor existe uma maior percentagem de vacas em 2ª lactação em comparação com o grupo Controlo. De acordo com a bibliografia, existe maior risco de desenvolver determinadas doenças, como a hipocalcémia, quanto maior for o número de lactações do animal (De Garis & Lean, 2008; Mulligan & Doherty, 2008). Pode também verificar-se uma associação entre o número crescente de lactações e as doenças em estudo (Gundling *et al.*, 2015), sendo este um aspeto a ser futuramente mais aprofundado.

Os resultados da análise estatística revelaram que o tratamento com pegbovigastim reduz a incidência de metrite. Obteve-se uma menor incidência no grupo Imrestor, de 8%, em comparação com as vacas do grupo controlo, de 32%. Resultados opostos foram identificados noutro estudo (Ruiz *et al.*, 2017), onde a incidência da metrite foi mais elevada no grupo tratado com pegbovigastim do que no grupo controlo, contudo não foi estatisticamente significativo. No presente estudo, esta análise verificou-se significativa ( $p=0,03$ ), podendo-se afirmar uma redução da metrite de 75% nos animais tratados com pegbovigastim. Tais resultados poderão estar associados à alta incidência da metrite na exploração do estudo de caso, verificando-se um total de 110 vacas identificadas com metrite, com uma frequência relativa de 17%, no ano de 2016. Desta forma, a elevada incidência de metrite na exploração permitiu testar um maior número de vacas afetadas em estudo, e retirar conclusões significativas no efeito do pegbovigastim nesta doença pós-parto. Uma vez que o pegbovigastim terá melhorado o sistema imunitário das vacas tratadas, estas apresentaram maior capacidade de fazer frente à infeção uterina após o parto e consequentemente existiu menor incidência de metrite comparativamente às vacas não tratadas.

Em contraste com a doença anterior, a incidência da mastite e da RP em estudo, relevou-se maior no grupo Imrestor do que no grupo Controlo. Segundo Ruiz *et al.* (2017) e Hassfurther *et al.* (2015), o tratamento com pegbovigastim na redução da incidência da

mastite revelou-se significativamente positivo, reduzindo a mesma em aproximadamente 25 a 35%. Estes estudos comprovam os ensaios clínicos do Imrestor onde se verifica uma redução da incidência da mastite de 26% (CE, 2017). Em relação à RP, também Ruiz *et al.* (2017) demonstrou uma ligeira redução na sua incidência, contudo os resultados não foram estatisticamente significativos.

Apesar da análise dos resultados em estudo ser oposta aos restantes estudos, esta não tem significado estatístico, dado que o número de vacas que apresentaram mastite e RP, ao longo do estudo, foi exíguo para retirar conclusões. Seria interessante confirmar ou contrapor estes resultados com a continuação do estudo, e obrigatoriamente com maior número de animais.

Na análise de regressão logística, verificou-se que as vacas do grupo Controlo têm 5,2 vezes maior risco de desenvolver uma doença pós-parto relacionada com a imunossupressão do periparto do que as vacas do grupo Imrestor. Todas as variáveis foram aqui analisadas para corrigir o possível efeito de confusão que poderia causar no estudo. Confirma-se, deste modo que apesar de não se verificar a redução na incidência da mastite e da RP, o tratamento com pegbovigrastim reduz uma ou mais doenças pós-parto relacionadas com a imunossupressão.

Observou-se também a distócia, como um fator importante no risco de desenvolver uma doença pós-parto, concluindo-se que os animais com partos distócicos são 13 vezes mais propensos a desenvolver uma doença pós-parto, apesar de estatisticamente não ser significativo ( $p=0,06$ ).

Em relação à produção de leite das vacas em estudo, verificou-se uma maior produção de leite por parte do grupo Imrestor em comparação com o grupo Controlo. As vacas tratadas com pegbovigrastim alcançaram, em média, mais 50 litros de leite nos primeiros 30 dias em lactação do que as vacas do grupo Controlo, contudo os resultados não tiveram valor significativo ( $p=0,19$ ). Ruiz *et al.* (2017), Kimura *et al.* (2014) e Hassfurther *et al.* (2015) também tentaram relacionar a produção de leite (até aos 28 dias) com o efeito do pegbovigrastim, contudo os resultados não foram conclusivos, sendo precisos estudos adicionais para afirmar que o tratamento com pegbovigrastim tem efeitos no aumento da produção de leite.

Em conclusão, comprovou-se a redução da incidência da metrite, como também a redução do risco de doença pós-parto com a administração de pegbovigrastim. Por outro lado, não foi possível confirmar o efeito do pegbovigrastim na redução da incidência da mastite e da RP, assim como no aumento da produção de leite até aos 30 dias em lactação, sendo necessário aumentar o número de animais em estudo para resultados significativos. No estudo apenas foram analisados três distúrbios associados à imunossupressão, contudo outras doenças também são referidas neste período do periparto.

Seria interessante conduzir investigações a longo prazo, para confirmar a eficácia do medicamento na prevenção da mastite e RP, como também nos eventuais benefícios que poderá trazer noutros distúrbios de saúde relacionadas com a imunossupressão do periparto nos bovinos leiteiros. De igual modo, estudos relacionados com os efeitos da administração medicamentosa em animais poderão ser esclarecedores noutras áreas, nomeadamente nas decisões de gestão e economia realizadas dentro das explorações leiteiras, onde a rentabilização do negócio e a sobrevivência das vacas são o principal objetivo.

Em particular, torna-se imprescindível investigar num futuro próximo, a relação custo- benefício do uso do pegbovigrastim na redução da incidência de distúrbios clínicos e numa maior produção de leite, gerindo a sua compra e aplicação no caso de se verificar rentável para a exploração.

## 5. CONCLUSÃO

Concluída a descrição das atividades realizadas ao longo do estágio curricular foi possível completar a aprendizagem académica da autora, muito assente nas numerosas oportunidades diversificadas e gratificantes.

O estágio possibilitou a observação e participação em diferentes práticas e áreas clínicas, contribuindo para uma aprendizagem que excedeu todas as experiências anteriormente realizadas. Através de uma prática diária, o estágio proporcionou o desenvolvimento de maior autonomia e independência, onde o estagiário é obrigado a adaptar-se continuamente. O acompanhamento dinâmico no dia-a-dia de um médico veterinário contribuiu fortemente para o crescimento profissional e pessoal.

O facto de se optar pela realização de uma investigação, obriga tanto à recolha de dados como à sua análise posterior. Apesar de terem surgido alguns obstáculos durante a construção do estudo, os mesmos foram ultrapassados e no final, obteve-se um leque diversificado de aprendizagens que podem ser utilizadas num futuro profissional.

Com o final da investigação e a conclusão do relatório de estágio, depreendeu-se que a medicina veterinária é uma área em constante evolução. Está sujeita a rápidas mudanças e a novas inovações, onde é necessária uma persistente atualização e sentido crítico, no sentido de ser o melhor profissional possível, aquele que sempre terá a responsabilidade inerente da vida e da morte de um animal.

## 6. BIBLIOGRAFIA

- ABSGlobal (2017) Synchronization Protocols. ABSGlobal, Wisconsin, USA. Disponível em: <http://www.absglobal.com/synchronization-protocols>, acessado em 4/7/2017.
- Aleri JW, Hine BC, Pyman MF, Mansell PD, Wales WJ, Mallard B & Fisher AD (2016) Periparturient immunosuppression and strategies to improve dairy cow health during the periparturient period. *Research in Veterinary Science*, 108, pp. 8–17.
- Bartolome JA & Archbald FL (2011) Reproductive Management in Dairy Cows. In *Dairy Production Medicine*, 1th Edition, ed. Risco, C.A. & Melendez, P., John Wiley & Sons, EUA, 978-0-8138-1539-8, pp. 73-79.
- Bettencourt EMV & Romão RJ (2013) *Patologia e Clínica de Espécies Pecuárias (Texto de apoio à disciplina de Patologia e Clínica de Espécies Pecuárias)*, Universidade de Évora.
- Bicalho MLS, Machado VS, Higgins CH, Lima FS & Bicalho RC (2017) Genetic and functional analysis of the bovine uterine microbiota. Part I: Metritis versus healthy cows. *Journal of Dairy Science*, 100(5), pp. 3850–3861.
- Bisinotto RS, Ribeiro ES & Santos JEP (2014) Synchronisation of ovulation for management of reproduction in dairy cows. *Animal*, 8(s1), pp. 151–159.
- Boccardo A, Biffani S, Belloli A, Biscarini F, Sala G & Pravettoni D (2017) Risk factors associated with case fatality in 225 diarrhoeic calves: A retrospective study. *The Veterinary Journal*, 228, pp. 39.
- Bogni C, Odierno L, Raspanti C, Giraudo J, Larriestra A, Reinoso E, Lasagno M, Ferrari M, Ducro's E, Frigerio C, Bettera S, Pellegrino M, Frola I, Dieser S & Vissio C (2011) War against mastitis: current concepts on controlling bovine mastitis Pathogens. In: Méndez-Vilas A (ed) *Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances*. World Scientific, Singapore, pp 483–494
- Borges SM (2014) Retenção placentária em bovinos de leite: um estudo de caso na ilha de São Miguel-Açores. Tese de Mestrado em Medicina Veterinária, Universidade de Vila Real, Portugal, pp. 11-30.
- Bradford BJ, Yuan K, Farney J, Mamedova L & Carpenter A (2015) Invited review: Inflammation during the transition to lactation: New adventures with an old flame. *J. Dairy Sci.* 98, pp. 6631-6650.

- CE (2017) Imrestor, Pegbovigrastim – Comissão Europeia, Bruxelas, Bélgica. Disponível em: [https://ec.europa.eu/health/documents/communityregister/2015/20151209133350/anx\\_133350\\_pt.pdf](https://ec.europa.eu/health/documents/communityregister/2015/20151209133350/anx_133350_pt.pdf), acessado em 2/4/2017.
- CFSPH (2017) Aujeszky's Disease. The Center for Food Security and Public Health, Iowa, EUA. Disponível em: <http://www.cfsph.iastate.edu/DiseaseInfo/factsheets.php>, acessado em 1/9/2017.
- 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. *J Dairy Sci* 94, pp. 762–770.
- Comino F, Giusto G, Caramello V & Gandini M (2017) Do different characteristics of two emasculators make a difference in equine castration? *Equine Veterinary Journal*, 50(1), pp. 141–144.
- Cunha MV, Matos F, Canto A, Albuquerque T, Alberto JR., Aranha JM, Vieira-Pinto M, Botelho A (2012) Implications and challenges of tuberculosis in wildlife ungulates in Portugal: A molecular epidemiology perspective. *Research in Veterinary Science*, 92(2), pp. 225–227.
- De Garis PJ & Lean IJ (2008) Milk fever in dairy cows – a review of pathophysiology and control principles. *The Veterinary Journal* 176 (1), pp. 58–69.
- DGAV (2011) Plano de Controlo e Erradicação da Tuberculose em Caça Maior. Direção Geral de Alimentação e Veterinária, Lisboa, Portugal. Disponível em: <http://www.dgv.min-agricultura.pt/portal/page/portal/DGV/genericos?actualmenu=150486&generico=20291&cboui=20291>, acessado em 26/7/2017.
- DGAV (2014) Programa de Vigilância Controlo e Erradicação da Língua Azul. Direção Geral de Alimentação e Veterinária, Lisboa, Portugal. Disponível em: <http://www.dgv.min-agricultura.pt/portal/page/portal/DGV/genericos?actualmenu=150486&generico=20291&cboui=20291>, acessado em 26/7/2017.
- DGAV (2017a) Programa Nacional de Erradicação da Tuberculose Bovina. Direção Geral de Alimentação e Veterinária, Lisboa, Portugal. Disponível em: <http://www.dgv.min-agricultura.pt/portal/page/portal/DGV/genericos?actualmenu=150486&generico=20291&cboui=20291>, acessado em 12/7/2017.
- DGAV (2017b) Programa Nacional de Erradicação da Brucelose dos Bovinos. Direção Geral de Alimentação e Veterinária, Lisboa, Portugal. Disponível em: <http://www.dgv.min-agricultura.pt/portal/page/portal/DGV/genericos?actualmenu=150486&generico=20291&cboui=20291>, acessado em 12/7/2017.
- DGAV (2017c) Programa Nacional de Erradicação da Brucelose dos Pequenos Ruminantes. Direção Geral de Alimentação e Veterinária, Lisboa, Portugal. Disponível em: <http://www.dgv.min-agricultura.pt/portal/page/portal/DGV/genericos?actualmenu=150486&generico=20291&cboui=20291>

agricultura.pt/portal/page/portal/DGV/genericos?actualmenu=150486&generico=20291&cboui=20291, acedido em 12/7/2017.

DGAV (2017d) Programa de Controlo e Erradicação da Doença de Aujeszky - Manual de Procedimentos. Direção Geral de Alimentação e Veterinária, Lisboa, Portugal. Disponível em: <http://www.dgv.min-agricultura.pt/portal/page/portal/DGV/genericos?actualmenu=5686039&generico=5849894&cboui=5849894>, acedido em 18/8/2017.

DGAV (2017e) Brucelose bovina. Direção Geral de Alimentação e Veterinária, Lisboa, Portugal. Disponível em: <http://www.dgv.min-agricultura.pt/portal/page/portal/DGV/genericos?actualmenu=18550&generico=18472&cboui=18472>, acedido em 12/7/2017.

DGAV (2017f) Brucelose dos pequenos ruminantes. Direção Geral de Alimentação e Veterinária, Lisboa, Portugal. Disponível em: <http://www.dgv.min-agricultura.pt/portal/page/portal/DGV/genericos?actualmenu=18457&generico=18471&cboui=18471>, acedido em 12/7/2017.

DGAV (2017g) Língua Azul. Direção Geral de Alimentação e Veterinária, Lisboa, Portugal. Disponível em: <http://www.dgv.min-agricultura.pt/portal/page/portal/DGV/genericos?actualmenu=18284&generico=18285&cboui=18285>, acedido em 21/8/2017.

Drackley J, Dann H, Douglas G, Guretzky N, Litherland N, Underwood J & Loor J (2005) Physiological and pathological adaptations in dairy cows that may increase susceptibility to periparturient diseases and disorders. *Ital. J. Anim. Sci.*, 4 (4), pp. 323-344.

Drackley JK (1999) ADSA Foundation Scholar Award. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? *Journal of Dairy Science* 82, pp. 2259-2273.

Elanco (2017) Elanco Animal Health Announces U.S. Food and Drug Administration (FDA) Approval of Imrestor™ (pegbovigrastim injection), Elanco, Greenfield, USA. Disponível em: <https://www.elanco.com/news/press-releases/Imrestor-Press-Release>, acedido em 2/4/2017.

Esposito G, Irons PC, Webb EC & Chapwanya A (2014) Interactions between negative energy balance, metabolic diseases, uterine health and immune response in transition dairy cows. *Animal Reproduction Science*, 144(3-4), pp. 60-68.

Félix JDSN (2016) Tratamento de diarreias neonatais em vitelos. Tese de Mestrado em Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa, Portugal, pp. 3-37.

- Ganter M (2015) Zoonotic risks from small ruminants. *Veterinary Microbiology*, 181(1–2), pp. 53–58.
- Gilbert RO (2016) Management of Reproductive Disease in Dairy Cows. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 32(2), pp. 387–401.
- Giuliodori MJ, Magnasco RP, Becu-Villalobos D, Lacau-Mengido IM, Risco CA & Sota RL (2013) Metritis in dairy cows: Risk factors and reproductive performance. *Journal of Dairy Science*, 96(6), pp. 3621–3629.
- Goff JP & Horst RL (1997) Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders 1, 2. *Journal of dairy science*, 80(7), pp. 1260–1266.
- Goff JP (2008) Transition cow immune function and interaction with metabolic diseases. *Em Tri-State Dairy Nutrition Conference*, pp. 45–54.
- Gomes F & Henriques M (2016) Control of Bovine Mastitis: Old and Recent Therapeutic Approaches. *Current Microbiology*, 72(4), pp. 377–381.
- Granados LB, Dias AJ & Sales MP (2006) Aspectos Gerais da Reprodução de Caprinos e Ovinos. *Capril Virtual*, Porto Alegre, Higienópolis. Disponível em: <http://www.caprítec.com.br/pdf/reproducaodeovinoscaprinos.pdf>, acessado em 3/6/2017.
- Grummer RR (1995) Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. *Journal of Animal Science* 73, pp. 2820-2833.
- Gundling N, Ruddat I, Prien K, Hellerich B & Hoedemaker M (2015) Lactational incidences of common diseases in dairy herds in Schleswig-Holstein (Germany): effect of first test-day milk yield, herd milk yield and number of lactation. Doi: 10.2376/0005-9366-128-225
- Gustafsson H, Kornmatitsuk B, Königsson K & Kindahl H (2004) Peripartum and early post partum in the cow – physiology and pathology. 23rd World Buiatrics Congress, Quebec City, Canada, pp. 1-4.
- Haimerl P, Arlt S, Borchardt S & Heuwieser W (2017) Antibiotic treatment of metritis in dairy cows—A meta-analysis. *Journal of Dairy Science*, 100(5), pp. 3783–3793.
- 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(1–2), pp. 21–28.
- Hassfurther RL, TerHune TN & Canning PC (2015) Efficacy of polyethylene glycol–conjugated bovine granulocyte colony-stimulating factor for reducing the incidence of naturally occurring clinical

- mastitis in periparturient dairy cows and heifers. *American journal of veterinary research*, 76(3), pp. 231–238.
- Hata A, Katakami N, Fujita S, Kaji R, Nanjo S, Otsuka K, Kida Y, Higashi Y, Tachikawa R, Hayashi M, Nishimura T & Tomii K (2011) Amrubicin at a lower-dose with routine prophylactic use of granulocyte-colony stimulating factor for relapsed small-cell lung cancer. *Lung Cancer* 72, pp. 224–228.
- House JK, Gunn AA, Chuck G & Mcguirk SM (2015) Initial Management and Clinical Investigation of Neonatal Disease. In *Large Animal Internal Medicine*, 5th Edition, ed. Smith, B.P., Mosby, USA, 978-0-323-08839-8, pp. 286-291.
- Izzo M, Gunn AA & House JK (2015) Neonatal Diarrhea. In *Large Animal Internal Medicine*, 5th Edition, ed. Smith, B.P., Mosby, USA, 978-0-323-08839-8, pp. 314-335.
- Jackson N (2017) Periparturient immune suppression in dairy cows: outlines how to maintain dairy cow health during the critical early lactation period. *Veterinary Ireland Journal I Volume 7, Number 3*, pp. 126-128.
- Janson FB (2012) Podologia em Bovinos de Leite. Relatório Final de Estágio de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, Universidade do Porto, Portugal, pp. 2-19.
- Kehrli JME (2015) Immunological dysfunction in periparturient cows: Evidence, causes and ramifications. Em 2015 Florida Ruminant Nutrition Symposium, pp. 14-20.
- Kehrli ME, Cullor JS & Nickerson SC (1991) Immunobiology of hematopoietic colony-stimulating factors: Potential application to disease prevention in the bovine. *J. Dairy Sci.* 74, pp. 4399–4412.
- Kehrli ME, Nonnecke BJ & Roth JA (1989) Alterations in bovine PMN function during the periparturient period. *Am. J. Vet. Res.* 50, pp. 207–214.
- Kilcoyne I (2013) Equine castration: A review of techniques, complications and their management: Equine castration. *Equine Veterinary Education*, 25(9), pp. 476–481.
- Kimura K, Goff JP & Kehrli ME (1999) Effects of the Presence of the Mammary Gland on Expression of Neutrophil Adhesion Molecules and Myeloperoxidase Activity in Periparturient Dairy Cows<sup>1</sup>. *Journal of dairy science*, 82(11), pp. 2385–2391.
- Kimura K, Goff JP, Canning P, Wang C & Roth JA (2014) Effect of recombinant bovine granulocyte colony-stimulating factor covalently bound to polyethylene glycol injection on neutrophil number and function in periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 97(8), pp. 4842–4850.

- Kimura K, Goff JP, Kehrli ME & Reinhardt TA (2002) Decreased Neutrophil Function as a Cause of Retained Placenta in Dairy Cattle<sup>1</sup>. *Journal of dairy science*, 85(3), pp. 544–550.
- 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), pp. 2588–2594.
- Kuritzkes DR (2000) Neutropenia, neutrophil dysfunction, and bacterial infection in patients with human immunodeficiency virus disease: The role of granulocyte colony-stimulating factor. *Clin. Infect. Dis.* 30, pp. 256–260.
- LeBlanc S (2010) Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period. *J Reprod Dev* 56:S29–S35
- LeBlanc S (2012) Interactions of Metabolism, Inflammation, and Reproductive Tract Health in the Postpartum Period in Dairy Cattle: Reproductive Tract Inflammation in Cattle. *Reproduction in Domestic Animals*, 47, pp. 18–28.
- LeBlanc SJ (2008) Postpartum uterine disease and dairy herd reproductive performance: A review. *The Veterinary Journal*, 176(1), pp. 102–110.
- Lobão FM, Melo CB, Mendonça CED, Leite RC, McManus C, Krewer CC & Uzêda RS (2015) Língua azul em ovinos: uma revisão. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 38 (2), pp. 69 – 72.
- Maclachlan NJ (2011) Bluetongue: History, global epidemiology, and pathogenesis. *Preventive Veterinary Medicine*, 102(2), pp. 107–110.
- Mallard BA, McBride BW, Kehrli ME & Coussens PM (2009) Bovine immunophysiology and genetics: A review of the research and career of Jeanne L. Burton. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 128(1–3), pp. 96–101.
- Martinez N, Risco CA, Lima FS, Bisinotto RS, Greco LF, Ribeiro ES, Galvão MF & 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), pp. 7158–7171.
- MedVet (2017a) Bê-Fortil. MedVet - Direção Geral de Alimentação e Veterinária, Lisboa, Portugal. Disponível em: <http://www.medvet.simposium.pt/Especialidade/80>, acessado em 6/7/2017.
- MedVet (2017b) Kexxtone. MedVet - Direção Geral de Alimentação e Veterinária, Lisboa, Portugal. Disponível em: <http://medvet.dgav.pt/Especialidade/1850>, acessado em 2/7/2017.

- Meganck, V, Hoflack G & Opsomer G (2014). Advances in prevention and therapy of neonatal dairy calf diarrhoea: a systematical review with emphasis on colostrum management and fluid therapy. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 56(1), 75, pp. 1-4.
- Meglia GE, Johannisson A, Agenäs S, Holtenius K & Waller KP (2005) Effects of feeding intensity during the dry period on leukocyte and lymphocyte sub-populations, neutrophil function and health in periparturient dairy cows. *The Veterinary Journal*, 169(3), pp. 376–383.
- Molineux G (2003) Pegylation: Engineering improved biopharmaceuticals for oncology. *Pharmacotherapy* 23:3S–8S.
- Mordak R & Stewart PA (2015) Periparturient stress and immune suppression as a potential cause of retained placenta in highly productive dairy cows: examples of prevention. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 57(1), pp. 1-6.
- Mulligan FJ & Doherty ML (2008) Production diseases of the transition cow. *The Veterinary Journal*, 176(1), pp. 3–9.
- Nace EL, Nickerson SC, Kautz FM, Breidling S, Wochele D, Ely LO & Hurley DJ (2014) Modulation of innate immune function and phenotype in bred dairy heifers during the periparturient period induced by feeding an immunostimulant for 60 days prior to delivery. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 161(3–4), pp. 240–249.
- Nath LC (2014) Reproductive management of the athletic horse. In *Equine Sports Medicine and Surgery*, 2th Edition, ed. Hinchcliff, K.W., Kaneps, A.J., Geor, R.J., Saunders, EUA, 978 0 7020 4771 8, pp. 1175-1176.
- Nonnecke BJ, Kimura K, Goff JP & Kehrli ME (2003) Effects of the mammary gland on functional capacities of blood mononuclear leukocyte populations from periparturient cows. *Journal of dairy science*, 86(7), pp. 2359–2367.
- OIE (2015) Bovine tuberculosis. World Organization for Animal Health, Paris, France. Disponivel em: [http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Media\\_Center/docs/pdf/Disease\\_cards/BOVINE-TB-EN.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Media_Center/docs/pdf/Disease_cards/BOVINE-TB-EN.pdf), acedido em 2/8/2017.
- Oliver SP & Sordillo LM (1988) Udder health in the periparturient period. *Journal of Dairy Science*, 71(9), pp. 2584–2601.
- Osaka I, Matsui Y & Terada F (2014) Effect of the mass of immunoglobulin (Ig)G intake and age at first colostrum feeding on serum IgG concentration in Holstein calves. *Journal of Dairy Science*, 97(10), pp. 6608–6612.

- Pfuetzenreiter MR, Zylbersztajn A & Pires Dias de Avila F (2004) Evolução histórica da medicina veterinária preventiva e saúde pública. *Ciência Rural*, 34(5), pp.1661-1667.
- Preisler M, Weber P, Tempelman R, Erskine R, Hunt H & Burton J (2000) Glucocorticoid receptor expression profiles in mononuclear leukocytes of periparturient Holstein cows. *Journal of Dairy Science* 83, pp. 38-47.
- Retamal PM (2011) Nutritional Management of the Prepartum Dairy Cow. In *Dairy Production Medicine*, 1th Edition, ed. Risco, C.A. & Melendez, P., John Wiley & Sons, EUA, 978-0-8138-1539-8, pp. 7-16.
- Ribeiro R (2012) Febre catarral ovina- Língua Azul. Estudo de avaliação de risco acrescido de circulação viral nos concelhos de Idanha-a-Nova, Castelo Branco e Vila Velha de Ródão. Universidade de Lisboa, Portugal, pp. 1-14.
- Risco CA & Retamal PM (2011) Diseases that Affect the Reproductive Performance of Dairy Cattle. In *Dairy Production Medicine*, 1th Edition, ed. Risco, C.A. & Melendez, P., John Wiley & Sons, EUA, 978-0-8138-1539-8, pp. 123-130.
- Rivière J, Carabin K, Le Strat Y, Hendrikx P & Dufour B (2014) Bovine tuberculosis surveillance in cattle and free-ranging wildlife in EU Member States in 2013: A survey-based review. *Veterinary Microbiology*, 173(3-4), pp. 323-324.
- Ruegg PL (2011) Managing Mastitis and Producing Quality Milk. In *Dairy Production Medicine*, 1th Edition, ed. Risco, C.A. & Melendez, P., John Wiley & Sons, EUA, 978-0-8138-1539-8, pp. 207-230.
- Ruegg PL, Erskine RJ & Morin DE (2015) Mammary Gland Health. In *Large Animal Internal Medicine*, 5th Edition, ed. Smith, B.P., Mosby, USA, 978-0-323-08839-8, pp. 1015-1039.
- Ruiz R, Tedeschi LO & Sepúlveda A (2017) Investigation of the effect of pegbovigrastim on some periparturient immune disorders and performance in Mexican dairy herds. *Journal of Dairy Science*, 100(4), pp. 3305-3316.
- Santos JE (2011) Reproductive Management of Lactating Dairy Cows for First Postpartum Insemination. In *Dairy Production Medicine*, 1th Edition, ed. Risco, C.A. & Melendez, P., John Wiley & Sons, EUA, 978-0-8138-1539-8, pp. 81-96.
- Schumacher J (2012) Testis. In *Equine surgery*, 4th Edition, ed. Auer, J.A., John A. Stick, J.A., Saunders, EUA, 978-1-4377-0867-7, pp. 817-836.
- Sheldon IM, Lewis GS, LeBlanc S & Gilbert RO (2006) Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology* 65, pp. 1516-1530.

- Silva MAF (2009) Podologia em bovinos conceitos basilares. Relatório Final de Estágio de Licenciatura em Medicina Veterinária, Universidade de Vila Real, Portugal, pp 8-33.
- Silva MT (2010) Neutrophils and macrophages work in concert as inducers and effectors of adaptive immunity against extracellular and intracellular microbial pathogens. *Journal of Leukocyte Biology*, 87(5), pp. 805–810.
- Simenew K & Wondu M (2013) Transition Period and Immunosuppression: Critical Period of Dairy Cattle Reproduction. *International Journal of Animal and Veterinary Advances*, 5(2), pp. 44-53.
- Simões J (2015) Síndrome da vaca caída: etiofisiopatologia e o seu maneio. Proceedings of the 5th jornadas de Medicina Veterinária ICBAS, Porto, Portugal, pp. 2-9.
- Sordillo LM & Aitken SL (2009) Impact of oxidative stress on the health and immune function of dairy cattle. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 128(1–3), pp. 104–108.
- Sordillo LM (2005) Factors affecting mammary gland immunity and mastitis susceptibility. *Livestock Production Science*, 98(1–2), pp. 89–96.
- Terra RL (2015) Ruminant History, Physical Examination, Welfare Assessment, and Records. In *Large Animal Internal Medicine*, 5th Edition, ed. Smith, B.P., Mosby, USA, 978-0-323-08839-8, pp. 2-9.
- Tizard IR (2013) *Veterinary immunology*, 9th Edition, Elsevier/Saunders, St. Louis, EUA. 978-1-4557-0362-3, pp. 1-224.
- Troedsson MHT & Christensen BW (2015) Diseases of the Reproductive System. In *Large Animal Internal Medicine*, 5th Edition, ed. Smith, B.P., Mosby, USA, 978-0-323-08839-8, pp. 1324-1332.
- Waldron MR & Revelo XS (2008) Metabolic considerations for immunity in transition cows. *WCDS Advances in Dairy Technology*, Volume 20, pp. 97-106.
- Waller KP (2000) Mammary gland immunology around parturition. Influence of stress, nutrition and genetics. *Adv. Exp. Med. Biol.* 480, pp. 231–245.
- Weaver DM, Tyler JW, VanMetre DC, Hostetler DE & Barrington GM (2000) Passive Transfer of Colostral Immunoglobulins in Calves. *J Vet Intern Med*, 14(6), pp. 569–574.