



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

PERDAS DE GESTAÇÃO EM VACAS LEITEIRAS

LAURA CARVALHO PEREIRA TOSCANO

Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI:

Doutor Miguel Luís Mendes Saraiva Lima
Doutor José Ricardo Dias Bexiga
Doutor João Nestor das Chagas e Silva

ORIENTADOR

Doutor José Ricardo Dias Bexiga

CO-ORIENTADOR

Dra. Carolina Maia

2016

LISBOA

Agradecimentos

Ao meu orientador, Doutor Ricardo Bexiga, pelo apoio constante no planeamento de todo o trabalho, pelo empenho, dedicação e paciência na execução desta dissertação.

À minha co-orientadora, Dra. Carolina Maia, pela ajuda no acesso e recolha dos dados, por tudo o que me ensinou durante o estágio e pela paciência nos momentos de desespero.

Ao Dr. Bruno Carneiro pela ajuda na recolha e tratamento dos dados.

Aos veterinários que me acompanharam durante a segunda parte do estágio e que tanto me ensinaram, Dr. Pedro Alegria, Dra. Marisa Alegria, Dr. Filipe Granadeiro e Dra. Cheila David, foram muito importantes para o meu desenvolvimento pessoal e técnico.

À MSD® pela colaboração na realização das sorologias das explorações, nomeadamente ao Dr. André Preto pela ajuda na interpretação das mesmas.

Um especial agradecimento aos proprietários das explorações onde recolhi os dados para a realização desta dissertação.

Ao meu Tio Johnny por me ter ensinado como se escreve uma dissertação e onde e como se pesquisa a bibliografia.

Ao meu irmão João Maria por me fazer tantas vezes os jantares em Lisboa. Às minhas Avós por me apoiarem tanto durante todo o curso e estágio. Aos meus pais pelo carinho e força que me deram desde sempre e por todos os sacrifícios que fizeram por mim.

À Maria pela ajuda preciosa nas formatações do texto e na organização do mesmo.

À Margarida pela ajuda na revisão do texto e pelo apoio.

Ao meu sogro Luís pela ajuda e paciência na organização da minha base de dados.

Por fim, mas não menos importante, ao meu marido. Luís, obrigada pelo carinho, apoio, motivação e segurança que me dás todos os dias.

A todos muito obrigada!

Perdas de gestação em vacas leiteiras

Resumo

A reprodução impulsiona o ciclo produtivo dos bovinos de aptidão leiteira e cárnica e representa um grande peso económico nas explorações.

Depois dos custos relacionados com a nutrição, a fertilidade é o fator com maior impacto na economia da exploração leiteira, representando as perdas de gestação uma das causas de decréscimo da fertilidade na exploração.

Neste trabalho pretende-se estudar a mortalidade embrio-fetal e aborto em vacas leiteiras, em três explorações no Alentejo, tal como as suas causas e consequências. A recolha de dados foi realizada durante 6 meses (de Agosto de 2014 a Janeiro de 2015) em 3 explorações de bovinos leiteiros situadas nos distritos de Portalegre (uma) e Évora (duas), em Portugal. Todas as explorações apresentaram valores de mortalidade embrio-fetal dentro do esperado (2,70%, 4,08% e 4,57%), entre os 30 e os 60 dias após a inseminação.

É importante analisar possíveis causas de natureza infecciosa que poderão estar por trás deste achado, através das ferramentas ao dispor do médico-veterinário. Estando no Alentejo, e no que diz respeito ao *stress* hipertérmico durante o Verão, que tanto prejudica a fertilidade de bovinos de aptidão leiteira, é também importante elucidar o produtor sobre o manejo alimentar e hormonal dos animais sujeitos a condições de calor.

Palavras-chave: reprodução, bovinos de aptidão leiteira, perdas de gestação.

Pregnancy losses in dairy cows

Abstract

Reproduction boosts the productive cycle of dairy and beef cattle and is a major source of income for the farms.

After costs related to nutrition, low fertility can impact the farm economy with abortions representing the main factor of decreased fertility in the farm.

This work aims to study the causes and consequences of embryo-fetal mortality and abortion in dairy cattle at three farms in Alentejo, Portugal. Data collection was carried out in the districts of Portalegre (one of the farms) and Évora (the other two farms) for a period of 6 months, between August 2014 and January 2015. All farms showed embryo-fetal mortality values within the expected range (2.70%, 4.08% and 4.57%), between 30 and 60 days after insemination.

It is important to analyze possible causes of decreased fertility including the impact of infectious diseases that may be behind this result, using the available tools for the veterinary practitioner. Being in Alentejo, and regarding thermal stress during the summer, which also affects the fertility of dairy cattle, it is equally important that farmers are duly educated on the diet and hormonal management of animals dealing with high environmental temperatures.

Keywords: reproduction, dairy cattle, pregnancy losses.

Índice

Agradecimentos	III
Resumo.....	V
Abstract	VI
Índice de figuras	IX
Índice de tabelas	XI
Lista de abreviaturas e símbolos	XII
Introdução	1
Relatório de estágio	1
Resumo das atividades desenvolvidas durante o estágio.....	2
Tema específico.....	11
Revisão dos conhecimentos	11
Ciclo éstrico da vaca	12
Fisiologia da gestação.....	14
Mortalidade embrio-fetal e aborto.....	17
Diagnóstico de gestação.....	43
Prevalência de perdas embrio-fetais	50
Objetivos	54
Objetivo geral	54
Objetivos específicos.....	54
Metodologia.....	55
Recolha de dados	55
Caracterização das explorações	56
Resultados.....	57

Discussão	60
Conclusão	65
Bibliografia	66

Índice de figuras

Figura 1 – Feto abortado encontrado no chão de um pavilhão durante o controlo reprodutivo (fotografia original).	3
Figura 2 – Lesão do nervo tibial em vaca leiteira (fotografia original).....	3
Figura 3 – Distribuição das principais atividades desenvolvidas durante o estágio na Diessen.....	4
Figura 4 – Distribuição dos principais casos clínicos registados durante o estágio na Diessen.....	4
Figura 5 – Distribuição das atividades desenvolvidas, por espécies, durante o estágio no C.S.A.	5
Figura 6 – Parto assistido por desproporção feto-materna com tração de nado-morto e enfisematoso (fotografia original).	6
Figura 7 – Laceração provocada por mordedura de canídeo em ovino, antes da sutura (fotografia original).	6
Figura 8 – Desinfecção e sutura da laceração num ovino provocado por mordedura de canídeo (fotografia original).	6
Figura 9 – Lesão do nervo tibial em vaca de aptidão cárnica (fotografia original).	7
Figura 10 – Proporção das atividades desenvolvidas com bovinos durante o estágio no C.S.A.	7
Figura 11 – Proporção dos principais casos clínicos registados em bovinos durante o estágio no C.S.A.	7
Figura 12 – Proporção das atividades desenvolvidas com ovinos e caprinos durante o estágio no C.S.A.	8
Figura 13 – Proporção dos principais casos clínicos registados em ovinos e caprinos durante o estágio no C.S.A.	8
Figura 14 – Cirurgia em canídeo para remoção de corpo estranho intestinal em que se observam ansas intestinais muito dilatadas e áreas de necrose (fotografia original).....	9
Figura 15 - Corpo estranho intestinal num canídeo removido por enterotomia (partes de capa de colchão) (fotografia original).....	9
Figura 16 – Ecografia tranabdominal para diagnóstico de gestação em cadela (fotografia original). ..	10
Figura 17 – Ecografia transabdominal de diagnóstico de gestação numa cadela com diagnóstico positivo- visualização de um feto (fotografia original).	10

Figura 18 – Proporção das atividades desenvolvidas com canídeos e felídeos durante o estágio no C.S.A.	10
Figura 19 - Ondas de crescimento folicular durante o ciclo éstrico da vaca leiteira adulta (Fonte: Controlo Reprodutivo em Bovinos- Bayer®).	14
Figura 20 - Alterações hormonais no ciclo éstrico de bovinos (Adaptado de Practical Guide to Bovine Reprod. Management - Intervet).	14
Figura 21 – Esquema da diferenciação entre o vírus de campo/vírus deletado vacinal por ELISA (Preto, 2008).	21
Figura 22 - Representação esquemática do ciclo biológico de <i>N.caninum</i> (Giraldi et al., 2001).....	30
Figura 23 - Correlação entre a percentagem de vacas gestantes e os dias de gestação (de 28 a 98), em vacas de leite em lactação inseminadas com um protocolo a tempo fixo (Vasconcelos et al., 1997). .	53

Índice de tabelas

Tabela 1 – Principais perdas gestacionais verificadas em bovinos, provocadas por causas de natureza infecciosa.	33
Tabela 2 - Tamanho fetal e características mais utilizadas na determinação dos tempos de gestação (adaptado de Whittier, 2013; Carolina Maia, comunicação pessoal, Agosto 2014).....	45
Tabela 3 – Vantagens e desvantagens dos métodos de diagnóstico de gestação: palpação transretal, ultrassonografia e exame sanguíneo (adaptado de Whittier, 2013).	49
Tabela 4 – Incidência das perdas de gestação consoante a idade gestacional (adaptado de Diskin & Sreenan, 1980, Inskip & Dailey, 2005, Santos, Thatcher, Chebel, Cerri & Galvao, 2004, citados por BonDurant, 2007).....	50
Tabela 5 – Taxa de gestação em vacas leiteiras de alta produção consoante a idade gestacional (adaptado de Santos, Thatcher, Chebell & Galvão, 2004)	51
Tabela 6 – Caracterização das três explorações em estudo.	56
Tabela 7 – Taxas de concepção e perdas registadas nas 3 explorações entre os 30 e 60 dias.....	57
Tabela 8 – Critérios de interpretação das sorologias (MSD®, 2015).....	57
Tabela 9 – Resultado das sorologias da exploração 1.....	58
Tabela 10 – Resultado das sorologias da exploração 2.....	58
Tabela 11 – Resultado das sorologias da exploração 3.....	59

Lista de abreviaturas e símbolos

AINEs- anti-inflamatórios não esteróides.

BHV – herpesvírus bovino.

BVD – diarreia vírica bovina.

BVDV – vírus da diarreia vírica bovina.

CIDR – dispositivo intravaginal de progesterona.

CL – corpo lúteo.

C.S.A. – Centro de Saúde Animal®.

ELISA - *enzyme-linked immunosorbent assay*.

EUA – Estados Unidos da América.

gB – glicoproteína B.

gE – glicoproteína E.

GnRH – *gonadotropin-releasing hormone*.

Gp53 – glicoproteína 53.

IBR – rinotraqueíte infecciosa bovina.

IFN- τ – interferão tau.

IPV – vulvovaginite pustular.

Kg – quilograma.

LH - hormona luteinizante.

MAT- testes de aglutinação microscópica.

mg - miligrama.

OT – oxitocina.

OTR – recetor para a oxitocina.

P80 – proteína 80.

PCR – reação em cadeia de polimerase.

PGF2 α – prostaglandina F2 α .

pH – potencial de hidrogénio.

PI – persistentemente infetado.

RT-PCR – reação em cadeia de polimerase em tempo real.

SBV – vírus Schmallerberg.

% - percentagem

Introdução

A presente dissertação é o desfecho de um estágio curricular de natureza profissional e, como tal, está dividida em duas partes. A primeira trata-se de uma descrição sucinta das atividades desenvolvidas durante o estágio que, por seu lado, também se desenrolou em duas fases distintas, que mais à frente especificarei. A segunda parte desta dissertação trata um tema específico, as perdas de gestação em vacas leiteiras, que também dá o nome ao presente trabalho. A escolha deste tema prende-se com uma proposta da Dra. Carolina Maia, co-orientadora deste trabalho e responsável por uma das partes do estágio, aprovada pelo Doutor Ricardo Bexiga, orientador desta dissertação.

Relatório de estágio

O estágio curricular final de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária foi desenvolvido em duas partes, entre 1 de Agosto de 2014 e 31 de Janeiro de 2015, sob orientação do Doutor Ricardo Bexiga, Médico Veterinário especialista em clínica de bovinos e docente na Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa.

A primeira parte foi realizada entre 1 de Agosto e 31 de Outubro de 2014 sob a supervisão da Dra. Carolina Maia, Médica Veterinária cujo trabalho incide em reprodução e clínica de bovinos leiteiros na zona do Alto e Baixo Alentejo, proprietária da empresa Diessen-Serviços Veterinários, sediada em Évora. A Diessen fornece o seu serviço a cerca de 20 clientes, maioritariamente holandeses. Estas explorações caracterizam-se por ter animais da raça Holstein Frísia e por apresentarem dimensões consideráveis, sendo que a exploração mais pequena apresentava cerca de 100 vacas e a maior cerca de 2500 vacas, sendo a média de aproximadamente 400 animais. O controlo reprodutivo consiste não só nas palpações e ecografias transretais, mas também no auxílio aos produtores com os programas informáticos de gestão das suas vacarias e análise de dados acerca de diversos parâmetros reprodutivos. Desta primeira parte do estágio foram retirados os dados utilizados no tema específico da presente dissertação.

A segunda parte foi realizada entre 1 de Novembro de 2014 e 31 de Janeiro de 2015 sob a supervisão do Dr. Pedro Alegria, sócio-gerente da empresa Centro de Saúde Animal, cujo trabalho incide em clínica de espécies pecuárias e de animais de companhia. Esta empresa está sediada em Portalegre e a equipa técnica é constituída por 4 Médicos Veterinários e 1 Enfermeira Veterinária.

Pretende-se com este estágio que o aluno tenha um contacto mais aprofundado com a profissão, familiarizando-se com os casos clínicos mais comuns da prática de campo e de clínica, de forma a que, juntamente com os conhecimentos teórico-práticos que adquiriu durante o curso de Medicina Veterinária, lecionado na Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, se possa tornar num bom profissional. É também expectável que o aluno desenvolva conhecimentos um pouco mais especializados numa determinada área de estudo, neste caso a clínica de bovinos, sendo este um fator de diferenciação no seu futuro como profissional e no mercado de trabalho que, como todos sabemos, atravessa uma crise de oportunidades e de oferta. Em ambas as entidades foi acompanhado permanentemente o trabalho dos Médicos Veterinários participando, sempre que possível, no mesmo, o que permitiu adquirir prática em vários procedimentos e casos clínicos, assim como aprofundar os conhecimentos teóricos.

Resumo das atividades desenvolvidas durante o estágio

Este pequeno relatório faz-se acompanhar de algumas fotografias recolhidas no decorrer do estágio e que, por retratarem situações, de alguma forma peculiares, foram aqui representadas.

Temas como o controlo reprodutivo e consultoria técnica em explorações de bovinos de leite foram muito abordados e desenvolvidos durante o acompanhamento do trabalho de campo efetuado pela Dra. Carolina Maia e pelo Dr. Bruno Carneiro, Médico Veterinário colaborador da Diessen. A realização de palpações retais para controlo reprodutivo começou por ser efetuado em vacas diagnosticadas imediatamente antes pela Dra. Carolina. Após o primeiro mês de acompanhamento, começou a efetuar-se esta técnica sem qualquer indicação acerca do estado reprodutivo do animal palpado, sendo este indicado apenas posteriormente ao diagnóstico verbal do estagiário. Foi possível avaliar todos os animais vazios (avaliação do estado reprodutivo do ciclo éstrico ou involução uterina pós-parto) e os animais gestantes em estadios superiores a 32 dias. Os animais com gestações inferiores a esta duração eram avaliados apenas pela Dra. Carolina Maia por ultrassonografia. Geralmente, ao chegar à exploração realizava-se o controlo reprodutivo dos animais nas diversas fases de produção e, posteriormente, observavam-se os casos clínicos presentes nesse dia (Figura 1), sendo os mais comuns os que diziam respeito a patologia respiratória, gastrointestinal (diarreias/indigestões), balanço energético negativo (cetoses) ou quadros difusos em que apenas se sabia que a produção leiteira tinha baixado. Poderiam ainda surgir alguns casos de chamadas de urgência mas habitualmente os produtores guardavam os animais para observação aquando do controlo reprodutivo agendado, a não ser em casos

de urgências (por exemplo deslocamentos de abomaso ou nos partos distócicos que não conseguiam resolver).

Foram bastante desenvolvidas as capacidades diagnósticas por palpação retal, tanto de gestações precoces como de patologias uterinas e ováricas. Os casos clínicos existentes, foram acompanhados sempre que possível, realizando exames clínicos, administrações farmacológicas, auxiliando nas intervenções cirúrgicas (deslocamentos de abomaso e orquiectomias em vitelos), na resolução dos prolapsos uterinos e nas descornas em vitelos. Na figura 2 podemos observar uma vaca leiteira com uma lesão pós-parto, que se suspeitou ser do nervo tibial, pela posição do membro. O curvilhão apresentava-se ligeiramente fletido, com membro mais avançado do que o contralateral, associado a hiperflexão do boleto (Stilwell, 2013). Foi realizada uma fetotomia e dada assistência a partos em que era apenas necessário tracionar um pouco o feto, sem necessidade de manobras obstétricas (distócias de proporção).



Figura 1 – Feto abortado encontrado no chão de um pavilhão durante o controlo reprodutivo (fotografia original).



Figura 2 – Lesão do nervo tibial em vaca leiteira (fotografia original).

A figura 3 retrata a distribuição das principais atividades desenvolvidas no decorrer desta parte do estágio sendo que, percentualmente, os casos clínicos se tornam quase insignificantes pelo número muitíssimo superior de animais sujeitos a controlo reprodutivo (palpações transretais) e profilático (saneamento). Por esta razão a distribuição dos principais casos clínicos registados será apresentada na Figura 4.

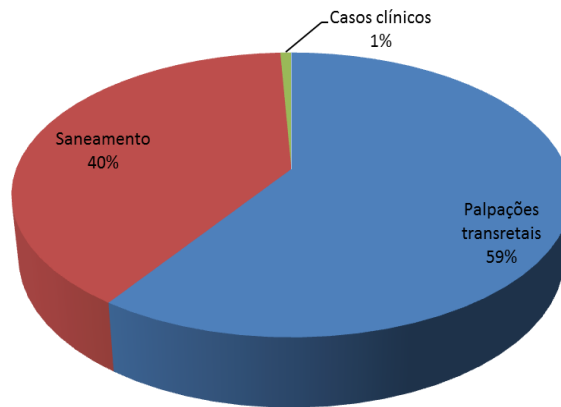


Figura 3 – Distribuição das principais atividades desenvolvidas durante o estágio na Diessen.

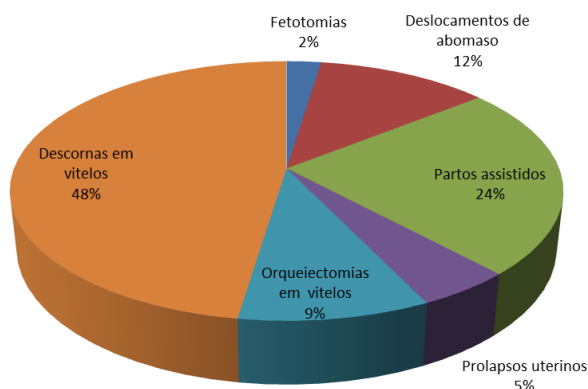


Figura 4 – Distribuição dos principais casos clínicos registados durante o estágio na Diessen.

Entre Agosto e Outubro de 2014 foram recolhidos os dados resultantes dos controlos reprodutivos efetuados, para posterior tratamento, que será apresentado e discutido na componente específica deste trabalho. A estes dados juntaram-se os relativos aos meses de Novembro e Dezembro de 2014 e Janeiro de 2015, fornecidos pela Dra. Carolina Maia.

O Dr. Pedro Alegria, o Dr. Filipe Granadeiro e a Dra. Marisa Alegria (Médicos Veterinários do Centro de Saúde Animal - C.S.A., a trabalhar principalmente na área das espécies pecuárias) permitiram que a autora os acompanhasse tanto no trabalho diário de saneamento de espécies pecuárias, consultas e acompanhamento de casos clínicos como

nas urgências que foram surgindo. Ao final do dia era possível acompanhar algumas consultas na Clínica com canídeos e felídeos. A figura 5 ilustra proporcionalmente, por espécie, o trabalho desenvolvido junto desta equipa, sendo que a maior parte do trabalho foi desenvolvido com bovinos, ovinos e caprinos.

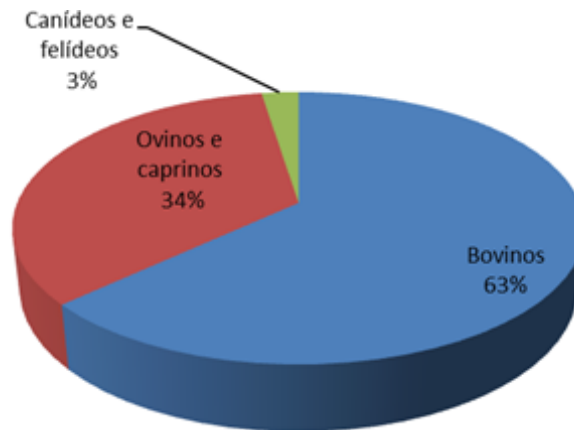


Figura 5 – Distribuição das atividades desenvolvidas, por espécies, durante o estágio no C.S.A.

De entre inúmeras situações clínicas destaca-se a resolução de partos distócicos em bovinos (Figura 6) e ovinos, de prolapsos uterinos em bovinos, traumatismos provocados por cães em ovinos (Figuras 7 e 8), patologia respiratória e digestiva em bovinos, doenças infecciosas como BVD, IBR, tuberculose, brucelose, paratuberculose e leptospirose, parasitárias como anaplasmose e babesiose em bovinos. Foram realizadas inúmeras necrópsias com o objetivo de confirmar diagnósticos *ante-mortem*, de observar as lesões macroscópicas presentes, de recolher órgãos ou partes destes para análise laboratorial ou mesmo para tentar averiguar causas de morte em casos de progressão mais repentina. Foi observado um bovino de aptidão cárnica com lesão do nervo tibial (Figura 9), à semelhança do já observado num bovino de aptidão leiteira. Esta situação é frequente no pós-parto ou no decorrer da síndrome da vaca caída. Devem manter-se as camas espessas (sejam de palha ou de areia) e levantar frequentemente os animais que não o façam sozinhos com a ajuda de uma pinça ilíaca. É aconselhável massajar o membro afetado e fazer o animal movimentar-se a passo. Está indicada a administração de anti-inflamatórios não esteróides (AINES) e de vitamina B1, tendo este tipo de lesão bom prognóstico (Stilwell, 2013).



Figura 6 – Parto assistido por desproporção feto-materna com tração de nado-morto e enfisematoso (fotografia original).



Figura 7 – Laceração provocada por mordedura de canídeo em ovino, antes da sutura (fotografia original).



Figura 8 – Assépsia e sutura da laceração num ovino provocado por mordedura de canídeo (fotografia original).



Figura 9 – Lesão do nervo tibial em vaca de aptidão cárnica (fotografia original).

As figuras 10 e 11 apresentam, proporcionalmente, as principais atividades desenvolvidas com bovinos e os casos clínicos registados com a mesma espécie, verificando-se que a atividade mais desenvolvida foi a realização de saneamentos, ou seja, controlo profilático das explorações. As figuras 12 e 13 referem-se às atividades desenvolvidas com ovinos e caprinos.

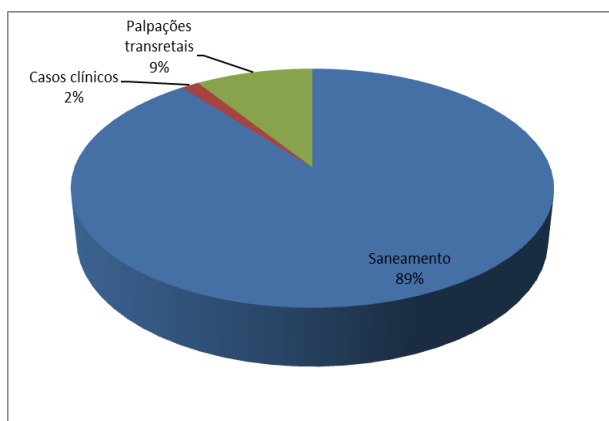


Figura 10 – Proporção das atividades desenvolvidas com bovinos durante o estágio no C.S.A.

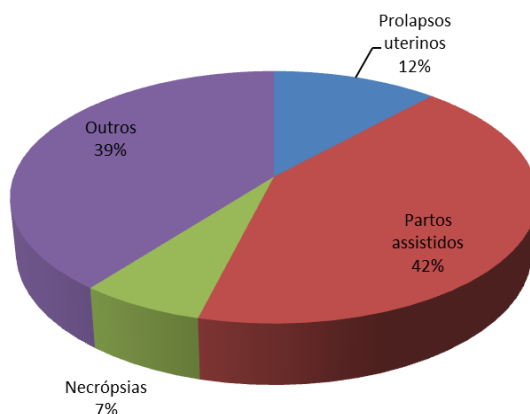


Figura 11 – Proporção dos principais casos clínicos registados em bovinos durante o estágio no C.S.A.

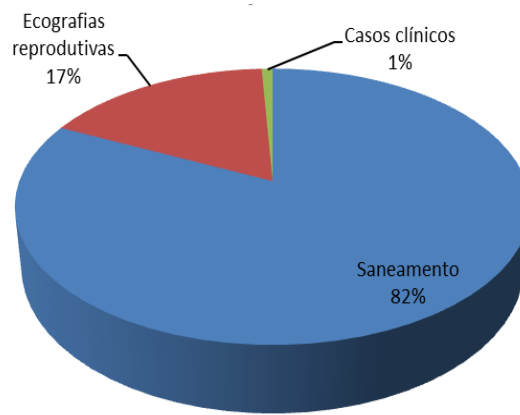


Figura 12 – Proporção das atividades desenvolvidas com ovinos e caprinos durante o estágio no C.S.A.

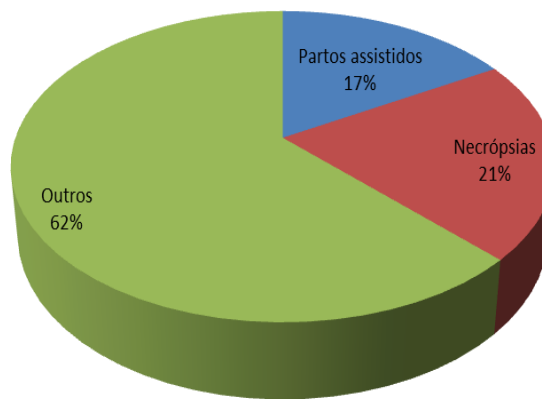


Figura 13 – Proporção dos principais casos clínicos registados em ovinos e caprinos durante o estágio no C.S.A.

Relativamente à clínica de animais de companhia, foram acompanhadas as consultas de rotina (vacinação, desparasitação e identificação eletrónica de canídeos e felídeos), algumas cirurgias (ovariohisterectomias em cadelas e gatas, orquiectomias em gatos, entero e gastrotomia (Figura 14) para remoção de corpo estranho em cão (Figura 15) e enucleação do globo ocular em cão) e acompanhamento de outros tantos casos clínicos. A remoção de corpos estranhos é uma das indicações mais frequentes para cirurgia gastro-intestinal. O prognóstico é bom se não houver peritonite e se o trato gastro-intestinal estiver íntegro. Sem cirurgia, o prognóstico é reservado uma vez que os animais podem morrer de choque hipovolémico ou endotóxico, septicémia, peritonite ou anorexia (Fossum et al., 1997). No caso mencionado o animal sobreviveu, apesar do intestino já apresentar alguns focos de necrose. Foram realizados alguns exames ecográficos de diagnóstico de gestação em cadelas (Figuras 16 e 17). Esta prática contribui para o aumento da eficiência reprodutiva, permitindo adaptar uma dieta adequada para as fêmeas gestantes e definir um plano vacinal

e de desparasitação eficiente. Desta forma também é possível, após a identificação da gestação, avaliar a viabilidade fetal e fazer uma estimativa bastante aproximada da idade dos fetos através de medições dos mesmos (Freitas & Silva, 2008). No caso representado nas figuras supracitadas os cachorros nasceram precisamente num dos dois dias apontados pelo Dr. Pedro Alegria como prováveis para o parto. A figura 18 demonstra que a atividade mais desenvolvida em clínica de animais de companhia (canídeos e felídeos) durante o período referido foi, no C.S.A., a identificação e profilaxia o que, a meu ver, retrata verdadeiramente a casuística diária das clínicas generalistas do nosso País.



Figura 14 – Cirurgia em canídeo para remoção de corpo estranho intestinal, observando-se ansas intestinais muito dilatadas e áreas de necrose (fotografia original).



Figura 15 - Corpo estranho intestinal num canídeo removido por enterotomia (partes de capa de colchão) (fotografia original).



Figura 16 – Ecografia transabdominal para diagnóstico de gestação em cadela (fotografia original).



Figura 17 – Ecografia transabdominal de diagnóstico de gestação numa cadela com diagnóstico positivo- visualização de um feto (fotografia original).

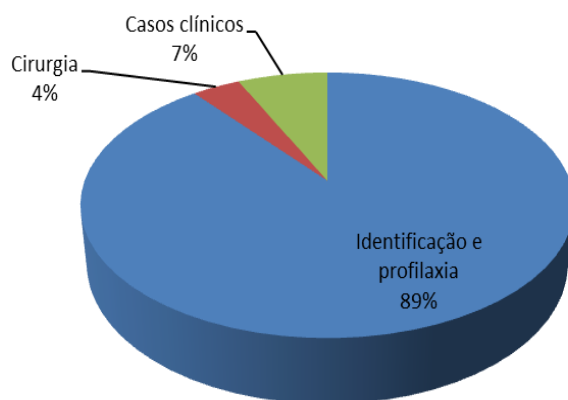


Figura 18 – Proporção das atividades desenvolvidas com canídeos e felídeos durante o estágio no C.S.A.

Tema específico

Revisão dos conhecimentos

A reprodução impulsiona o ciclo produtivo dos bovinos de aptidão leiteira e cárnica e representa um grande peso económico nas explorações. Maximizar o potencial reprodutivo em bovinos exige a compreensão e aplicação de muitos princípios básicos das várias disciplinas da área das ciências veterinárias, incluindo genética, nutrição, fisiologia e fisiopatologia da reprodução, bem como gestão e manejo (Stevenson, 2007).

Depois dos custos relacionados com a nutrição, a fertilidade é o fator com maior impacto na economia da exploração leiteira, representando as perdas de gestação uma das maiores causas de decréscimo da fertilidade na exploração (Fortunato, Guerreiro & Stilwell 2010).

A fertilidade em vacas de leite tem diminuído, ao longo das últimas cinco décadas, como consequência do aumento de produção registado por vaca (Walsh, Williams & Evans, 2011). Nos últimos 60 anos a taxa de conceção em vacas leiteiras de alta produção diminuiu de 55% para 35% por todo o mundo (Schuller, Burfeind & Heuwieser, 2014).

A vontade de ter vacas cada vez mais produtivas, parece estar associada a redução global da performance reprodutiva (Lucy, 2001; Pryce et al., 2004). Vacas com elevada produção leiteira tendem a ter uma maior incidência de infertilidade não associada a causas clínicas, embora possam existir outros fatores a afetar a reprodução (Lucy, 2001).

Walsh, Williams & Evans (2011) referem alguns fatores que consideram afetar muito negativamente a fertilidade de um efetivo de aptidão leiteira e que devem ser melhorados. Em primeiro lugar, temos o balanço energético negativo e as infeções uterinas do pós-parto. Em segundo lugar, a expressão e deteção de cio seguida de inseminação com sémen de alta qualidade (dia 0). Em terceiro lugar, a ovulação e a fertilização de um oócito que se quer de alta qualidade (dia 1). Em quarto lugar, um aumento precoce da secreção de progesterona pelo corpo lúteo (CL) (dias 3-7). Em quinto lugar, o endométrio deve produzir rapidamente um ambiente favorável ao desenvolvimento embrionário (dias 6-13). Isto leva-nos ao sexto ponto, que é a produção pelo embrião de quantidades adequadas de interferão tau (dias 14-18) que altera a secreção de prostaglandina pelo útero e assinala o reconhecimento materno da gestação (16-18 dias).

Dados obtidos a partir de registos antigos tentam estimar o custo global da perda de gestação tendo chegado a valores de aproximadamente 1,26 biliões de euros por ano nos

Estados Unidos da América (EUA) (Gerritts et al., 1976, citado por Thurmond & Picanso, 1993) e 345 milhões de euros por ano no Reino Unido (Thurmond & Picanso, 1993). Usando um modelo matemático, De Vries et al. (2005) estimaram que o custo por vaca por dia em aberto extra (após os 80 dias pós-parto) nos Estados Unidos da América variava entre 0,73 a 12 euros e ia subindo com o aumento dos dias em aberto. De Vries (2006) concluiu que o custo da perda de uma gestação era de 500 euros.

As causas de perda embrionária em bovinos são multifatoriais, sendo 70% de ordem não infecciosa, que correspondem a problemas intrínsecos do embrião, da vaca e do ambiente. As principais causas infecciosas e parasitárias relacionadas com perdas embrionárias e fetais são a brucelose, leptospirose, campilobacteriose genital bovina, micoplasmose bovina, clamidífilose bovina, histofilose bovina, rinotraqueíte infecciosa bovina/vulvovaginite pustular infecciosa (IBR/IPV), diarreia viral bovina (BVD), tricomoníase bovina e neosporose bovina (Pituco & DeFava, 2003). Algumas destas causas serão aprofundadas no decorrer desta revisão bibliográfica.

A mortalidade embrionária é uma das principais causas de falhas reprodutivas numa exploração leiteira (Walsh, Williams & Evans, 2011).

Ciclo éstrico da vaca

Em condições normais, as vacas são animais com um ciclo poliéstrico contínuo, que se inicia por volta dos 10 meses de idade, a idade em que geralmente atingem a puberdade. Contudo a idade da puberdade depende do tamanho corporal dos animais e da altura do ano em que nasceram, e são estes fatores que podem antecipar (a partir dos 7 meses de idade) ou retardar (aos 18 meses de idade) o início da atividade reprodutiva (Noakes, Parkinson & England, 2001).

O ciclo éstrico tem a duração média de 21 dias, mas pode variar entre 18 e 24 dias e é constituído por uma fase lútea (14 a 18 dias) e uma fase folicular (4 a 6 dias) (Forde et al., 2011). O estro ou “cio” é considerado o dia zero do ciclo e é de duração relativamente curta, pois normalmente persiste durante 18 horas, existindo variações que vão desde as 4 até às 24 horas (Ptaszynska & Molina, 2007).

Durante o ciclo, há duas ou três ondas de crescimento folicular (Figura 19), com seleção de um folículo dominante e posterior atresia ou ovulação do mesmo (Forde et al., 2011). A ovulação ocorre por norma, cerca de 30 horas após o início do estro, o que corresponde a 12 horas após o final dos sinais de estro (Ptaszynska & Molina, 2007).

A fase folicular (pró-estro e estro) é o período seguinte à regressão do CL e é nesta fase que o folículo dominante sofre a maturação final (Forde et al., 2011). A fase lútea (metaestro e diestro) é o período mais longo do ciclo éstrico, pois compreende cerca de 80% do ciclo, desde a ovulação até à regressão do CL (Forde et al., 2011). Após a gestação, que varia entre 279 e 290 dias, surge em todas as vacas a condição de anestro fisiológico (Ptaszynska & Molina, 2007). Os sinais característicos de anestro são ovários pequenos, ausência de um CL e atividade folicular mínima. Quando a vaca está em anestro o cérvix encontra-se fechado, com a mucosa vaginal pálida e as secreções do trato reprodutivo reduzidas (Wiltbank, Gümen & Sartori, 2002). Os principais fatores que afetam a duração do anestro são as reservas corporais, a raça, a idade, o número de lactações, o nível de produção leiteira, a involução uterina e dificuldade do parto, a duração da amamentação (nas vacas aleitantes) e o estado de saúde geral (Ball & Peters, 2004; Crowe, 2008; Montiel & Ahuja, 2005).

Resumindo, as características fisiológicas das fases folicular e lútea (Figura 20) (adaptado de Noakes, Parkinson & England, 2001) são:

- Pró-estro: duração de 2 a 3 dias, precede o estro, ocorrência de crescimento folicular, útero ligeiramente aumentado, endométrio congestionado e edematoso, mucosa vaginal hiperémica.
- Estro: duração de 18-19 horas (2-30 horas), a vaca aceita a monta, cérvix relaxado, epitélio vaginal e endométrio hiperémicos e congestionados, crescimento folicular sem CL, o estrogénio é a hormona predominante.
- Metaestro: ovulação (12-15 horas após o fim dos sinais de estro), duração de 4 a 5 dias, sucede o estro, células da granulosa dão origem a células luteínicas, há redução das secreções do trato reprodutivo.
- Diestro: duração de 12 a 14 dias, CL presente, o cérvix encontra-se fechado, epitélio vaginal pálido, as secreções do trato vaginal tornam-se escassas, a progesterona é a hormona predominante.

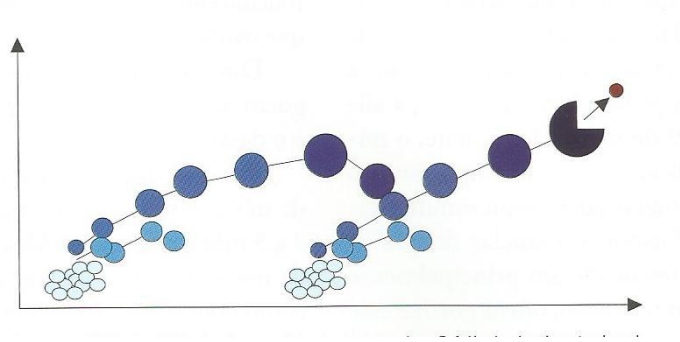


Figura 19 - Ondas de crescimento folicular durante o ciclo éstrico da vaca leiteira adulta (Fonte: Controlo Reprodutivo em Bovinos- Bayer®).

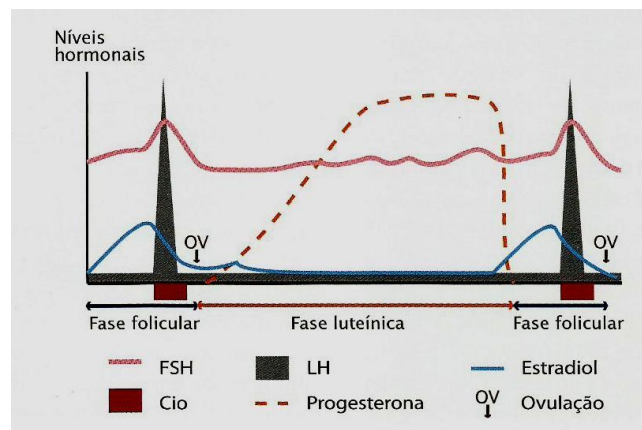


Figura 20 - Alterações hormonais no ciclo éstrico de bovinos (Adaptado de Practical Guide to Bovine Reprod. Management - Intervet).

Fisiologia da gestação

A gestação inicia-se com a união do óócito com o espermatozóide na ampola do oviduto materno (Bartolomé, 2009). Corresponde ao período desde a fertilização até ao parto. Em bovinos dura aproximadamente 280 dias, com um intervalo normal entre os 270 e os 292 dias e divide-se em duas fases: embrionária e fetal. A variabilidade no tempo de gestação é influenciada pelo sexo, número de fetos, raça, genótipo do pai, da mãe e do feto, nutrição e fatores ambientais (Stevenson,2007).

As novilhas podem ter gestações mais curtas do que as vacas e as gestações de gémeos e de fêmeas podem ser mais curtas que as de machos. Vacas subalimentadas ou em *stress* térmico também podem encurtar a gestação (Bartolomé, 2009).

Reconhecimento materno da gestação

Nos bovinos o CL periódico tem um tempo de vida limitado. Havendo uma gestação, esta tem que ser reconhecida pelo organismo materno através de um mecanismo que permite inibir a luteólise e prolongar a vida do CL (reconhecimento materno da gestação). O estabelecimento da gestação envolve interações entre dois sistemas independentes, o concepto (embrião e membranas extra embrionárias) e o útero (Thatcher et al., 1984). Para a gestação se estabelecer, o concepto tem de sinalizar a sua presença no útero. Os sinais provenientes do concepto têm como objetivo prevenir a luteólise, assegurando a manutenção de um ambiente uterino capaz de suportar a implantação e desenvolvimento embrionário (Bowen e Burghardt, 2000), o que requer a manutenção da produção de progesterona por parte do CL (Spencer et al., 2004). Em vacas cíclicas, no fim do diestro inicia-se a produção de prostaglandina F₂α (PGF₂α) por parte do endométrio. Esta libertação de PGF₂α estimula a libertação de oxitocina (OT) pelas células do CL, o que faz com que haja um aumento da libertação de PGF₂α pelo endométrio (Funchs, 1987). A produção de PGF₂α pelo endométrio e a manutenção da libertação de OT por parte do CL asseguram a libertação pulsátil de PGF₂α. Esta provoca a lise do CL, responsável pelo reinício do ciclo éstrico e em algumas situações pela morte embrionária (Bowen & Burghardt, 2000).

Por volta do dia 16 ou 17 pós-fertilização, o embrião sinaliza a sua presença, um evento conhecido como reconhecimento materno de gestação (Thatcher, 1995). Nos suínos e ruminantes, as hormonas do trofoblasto possuem atividade antiluteolítica e atuam no endométrio, prevenindo a libertação de PGF₂α (Spencer et al., 2004). Desta forma, o concepto viável tem a capacidade de libertar proteínas específicas de forma a que ocorra o reconhecimento materno da gestação. Nos bovinos a glicoproteína que está na base deste processo de manutenção da gestação é o interferão-tau (IFN-τ) (Bowen & Burghardt, 2000). A síntese deste interferão inicia-se por volta do dia 15 e mantém-se por um período limitado. A principal função é inibir a produção de PGF₂α, através da redução do número de recetores para a OT no endométrio, mas o mecanismo exato de atuação do IFN-τ ainda não está completamente esclarecido (Demmers et al., 2001). O *timing* deste reconhecimento foi determinado por uma experiência na qual embriões foram transferidos para o útero materno em vários momentos. Concluiu-se que um embrião viável deve estar presente no útero no dia 16 ou 17 pós-fertilização para evitar luteólise. Se o embrião morrer antes do dia 16 a vaca vai ciclar em 18 a 24 dias, como se a conceção nunca tivesse ocorrido. Se o embrião morrer após o reconhecimento materno da gestação, a vaca pode ter um retorno atrasado ao estro, prolongando o ciclo (Stevenson, 2007).

Implantação

O desenvolvimento de um embrião acontece em várias fases: após a fecundação, o ovo passa de um estadió unicelular a mórula de 4, 8 e 16 células, e posteriormente a um estadió de desenvolvimento mais complexo, o blastocisto. Para que atinja este último estadió, o embrião viável tem que ter a capacidade de ativar o seu próprio genoma. Nos bovinos este processo ocorre na fase em que o embrião entra no útero. Depois de eclodir, o embrião alonga-se, sendo este alongamento indispensável à ativação dos acontecimentos associados ao reconhecimento materno da gestação e à aposição e adesão com o objetivo da implantação (Bazer et al., 1993). Para que aconteça a implantação é necessário que ocorram alterações na concentração de proteínas, além de alterações fisiológicas no embrião e útero. O trofoblasto bovino vai desenvolver vilosidades (papilas) que vão penetrar no interior do lúmen das glândulas uterinas. As papilas têm a função de providenciar uma ligação temporária entre o embrião e o útero. O epitélio uterino adere à superfície do trofoblasto, ligando-se através de projeções citoplasmáticas, que surgem inicialmente na superfície do trofoblasto. Esta aposição íntima entre o epitélio do útero e o trofoblasto estimula o desenvolvimento de novas microvilosidades formando-se o complexo de adesão (Bazer et al., 1993). Estas ligações que se estabelecem entre o trofoblasto e o epitélio uterino são inicialmente pouco sólidas, todavia com o decorrer da implantação a deposição de cimento intercelular entre os compartimentos materno e fetal torna-as mais firmes.

Fases da gestação

De acordo com o “Committee on Bovine Reproductive Nomenclature” (1972) a mortalidade embrionária é definida como sendo “a morte ou perda do concepto durante a fase embrionária”. O mesmo Comité apresenta como definição de fase embrionária: “o período desde a concepção até ao final da fase de diferenciação”. O período embrionário tem sido subdividido em várias fases mais precisas do desenvolvimento: desenvolvimento embrionário precoce, que inclui o período desde a fecundação até aos 20 dias de gestação; desenvolvimento embrionário tardio - período entre os 20 e os 45 dias após a fertilização. O desenvolvimento fetal é o período desde o dia 45 até ao termo da gestação. Por desenvolvimento fetal precoce entende-se o período de gestação desde o fim da diferenciação até ao dia 60 de gestação (Committee on Bovine Reproductive Nomenclature, 1972).

Mortalidade embrio-fetal e aborto

A mortalidade embrionária, interpretada “à letra”, refere-se às perdas ocorridas durante a fase embrionária, ou seja, ao período entre a fertilização e o final da diferenciação que, na vaca, ocorre aproximadamente entre os 42 e os 45 dias (Committee on Reproductive Nomenclature, 1972). Pode subdividir-se também em mortalidade embrionária precoce (até aos 20 dias de gestação) e tardia (dos 20 aos 45 dias).

Desde a formação e diferenciação completa do embrião (45 dias de gestação) até ao parto, a perda gestacional denomina-se mortalidade fetal ou aborto.

Por aborto entende-se a terminação da gestação com a expulsão do feto antes de este ser viável, ou seja, antes dos 260 dias de gestação (Fortunato, Guerreiro & Stilwell, 2010). As perdas ocorridas entre os 260 e os 270 dias classificam-se geralmente como parto prematuro e/ou nado morto.

Walsh, Williams & Evans (2011) apontam alguns dos fatores com mais peso nas taxas de mortalidade embrionária e fetal, consoante os dias de gestação. Entre os dias 0 e 24 de gestação (mortalidade embrionária precoce) há a necessidade de a vaca ter ovulado oócitos de boa qualidade e o desenvolvimento embrionário num útero que tenha experimentado o mínimo de distúrbios metabólicos e de doença pós-parto é desejável. Um aumento adequado das concentrações circulantes de progesterona antes do dia 7 de gestação também beneficia substancialmente o desenvolvimento do embrião. Desta forma, conclui-se que a infeção uterina anterior à inseminação e o desenvolvimento de embriões pequenos (devido ao ambiente uterino inadequado causado por baixas concentrações de progesterona circulante) aumentam significativamente a probabilidade de mortalidade embrionária precoce e diminuem a probabilidade de reconhecimento materno de gestação e de estabelecimento da mesma.

Os fatores que causam mortalidade embrionária tardia e fetal (dias 24 a 270 de gestação) são categorizados como genéticos, fisiológicos, endócrinos e ambientais (Diskin & Morris, 2008). Além disso, a infeção por agentes patogénicos pode causar perdas significativas em bovinos. Embora a incidência de mortalidade embrionária tardia e fetal precoce seja relativamente baixa em comparação com as perdas observadas nos primeiros 24 dias pós-inseminação, as perdas após os 24 dias de gestação resultam em grandes prejuízos financeiros e dificuldades de gestão para o produtor de leite. Desta forma, é importante minimizar a exposição a agentes ambientais causadores de *stress* e a agentes patogénicos durante a gestação para evitar abortos e nados-mortos.

Causas de natureza infecciosa

Os agentes infecciosos podem causar aborto através de diferentes modos de atuação:

-efeitos diretos sobre o embrião/feto;

-efeitos indiretos que afetam a sobrevivência do embrião (inclui os agentes patogênicos causadores de alterações na função uterina e na componente maternal da placenta);

-doenças maternas sistêmicas que levam a abortos e suas manifestações, como a mastite aguda por coliformes, as pneumonias, as pericardites traumáticas, a desidratação, a acidose e a febre (Fortunato, Guerreiro & Stilwell, 2010).

O resultado das agressões ao concepto depende da apetência do agente para o trato reprodutivo gestante, da virulência do agente e do desenvolvimento de maturidade/competência imunológica do concepto no momento da infecção (BonDurant, 2007).

Causas virais

BVD

O vírus da diarreia viral bovina (BVDV) tem distribuição mundial e é responsável por perdas económicas, produtivas e reprodutivas, na indústria pecuária bovina (Canário, Simões, Monteiro & Mira, 2009). Pertence à família Flaviviridae, género *Pestivirus* e é um vírus de RNA (Collett, Anderson & Retzel, 1988). Apresenta dois genótipos, o BVDV-1 (forma predominante na natureza) e o BVDV-2 (associado a doença hemorrágica grave), divididos em vários subgrupos, e apresenta dois biótipos, o citopatogénico e o não-citopatogénico (Canário, Simões, Monteiro & Mira, 2009). É transmitido transplacentariamente ou através de inalação ou ingestão de material contaminado com secreções infetadas (Givens & Marley, 2008). As secreções podem ser a saliva, secreções oculonasais, urina, fezes, secreções uterinas, placentárias e fluido amniótico (Kelling, 2007). Os animais com infeção aguda apresentam febre, corrimento nasal, enterite, e leucopénia. Fêmeas grávidas infetadas até aos 45 dias de gestação podem ter taxas de fertilidade diminuídas e morte embrionária. As infeções entre 45 e 210 dias de gestação podem resultar em aborto (Larson, 2005). No entanto, os fetos que sobrevivem a infeção com uma estirpe não-citopática do BVDV entre 45 e 125 dias de gestação, geralmente tornam-se persistentemente infetados (PI) (Larson, 2005). Os animais que são PI excretam grandes quantidades de BVDV e, por norma, não produzem anticorpos contra o vírus. Estes animais

podem ter um crescimento atrofiado ou parecer normais. A infecção fetal ocorre aos 100-150 dias de gestação e pode resultar em anomalias congênitas, incluindo hipoplasia cerebelar, microcefalia, cataratas oculares, microftalmia, aplasia do timo, entre outras. Fetos infetados entre os 150 e os 285 dias de gestação geralmente são capazes de eliminar o vírus, desenvolvem-se normalmente e apresentam anticorpos neutralizantes pré-ingestão de colostro para BVDV (Givens & Marley, 2008). A ocorrência destas diferentes formas clínicas depende da interação de vários fatores no momento da infecção: propriedades biológicas do vírus, idade e altura da gestação das fêmeas bovinas, nível de imunidade da exploração e a existência ou não de fatores de *stress* (Perdrizet, Rebhun, Dubovi & Donis, 1987).

Os abortos podem surgir em qualquer fase, no entanto, a grande maioria das perdas de gestação ocorre antes do terceiro trimestre de gestação. Os fetos abortados, geralmente, encontram-se em avançado estado de autólise. Não existem lesões patognomónicas de infecção pelo BVDV, porém, a presença de dermatite, meningite, bronquiolite e lesões no córtex cerebelar é comum (Parkinson, 2009).

O diagnóstico pode ser feito através do isolamento do vírus, de detecção antigénica (por exemplo por PCR) ou avaliação sorológica (ELISA). Pode enviar-se para o laboratório colheitas de sangue com anticoagulante, soro, órgãos (baço, timo, intestino e linfonodos), fetos, placenta, placentomas, amostras de leite (individual ou de tanque) e órgãos/tecidos com lesões macroscópicas (Canário, Simões, Monteiro & Mira, 2009).

O teste de ELISA deteta anticorpos contra a proteína não estrutural P80, proteína que é detetada quando há replicação viral. A P80 está presente quando ocorre uma infecção natural ou quando o animal foi vacinado com uma vacina viva. Este teste é utilizado para diferenciar animais que foram vacinados com uma vacina inativada (P80 negativo) dos que foram infetados (P80 positivo). A glicoproteína de envelope Gp53 é a mais antigénica e os anticorpos de neutralização viral são direcionados primeiramente contra esta proteína (Bolin, 1988, Li et al, 2013).

O PCR em tempo real está disponível para pesquisa de BVDV. As análises de imunofluorescência indireta permitem a detecção de anticorpos em fetos com mais de 125 dias de gestação. Por outro lado, as análises imunohistoquímicas podem ser usadas em abortos ocorridos no primeiro trimestre de gestação, usando como amostra o encéfalo fetal fixado (Cabell, 2007). A interpretação dos títulos de anticorpos não é fácil, sendo que títulos altos podem ser indicativos de história de BVDV na exploração mas também de vacinação. Animais entre os 6 a 12 meses de idade, não vacinados, podem ser usados como “animais

sentinela”, podendo servir para determinar se a infecção se encontra activa na exploração ou não (Parkinson, 2009).

IBR

O vírus BoHV-1 (herpesvírus bovino serótipo 1) pertence à família Herpesviridae, subfamília α -Herpesvirinae. A infecção por BoHV-1 provoca doença reprodutiva e respiratória, causando aborto, rinite, conjuntivite e traqueíte (Kelling, 2007; Givens & Marley, 2008), assim como encefalomielite e infecção sistémica fatal nos neonatos (Anderson, 2007), podendo também contribuir para o desenvolvimento de broncopneumonia bacteriana. Quando a infecção acontece em fêmeas gestantes não imunes, ocorre infecção sistémica e fetal. As infecções genitais podem levar ao desenvolvimento de vulvovaginite pustular e balanopostite que, geralmente, se resolvem espontaneamente (Kelling, 2007). Quando as fêmeas são infetadas precocemente na gestação pode ocorrer morte embrionária (Anderson, 2007). A transmissão ocorre através do contato com o trato respiratório superior, mucosas conjuntivais, fetos abortados ou através da transmissão venérea. Os abortos são mais comumente associados com a forma respiratória da doença e não com a forma genital. As vacas podem ter febre, anorexia, mucosa nasal congestionada, tosse e conjuntivite, seguido de aborto em 15-64 dias. O aborto ocorre geralmente entre os 4 e os 8 meses de gestação. A exposição ao vírus dos animais gestantes que nunca contactaram com este e que não foram vacinados, pode resultar em surtos de abortos em que 25 a 60% das vacas abortam (Anderson, 2007), no entanto, também podem ocorrer abortos esporádicos, principalmente nas explorações com história prévia de infecção ou vacinação (Kelling, 2007). A infecção também pode resultar em morte embrionária precoce. O herpesvírus bovino 1 estabelece infecção latente no gânglio trigeminal e sacral e na presença de imunossupressão o vírus pode ser reativado. Desta forma, estes animais servem como uma fonte de infecção para os seus pares (Givens & Marley, 2008).

O diagnóstico pode ser realizado através de análises de imunofluorescência ou de análises imunohistoquímicas dos órgãos fetais (Cabell, 2007). Sorologia – ELISA (*Enzyme-linked Immunosorbent Assay*) e PCR (*Polymerase Chain Reaction*) também são frequentemente utilizados. Os testes convencionais incluem testes de neutralização viral e vários testes imunoenzimáticos ELISA (de bloqueio e indiretos) para a deteção de anticorpos específicos anti-BoHV-1 no soro sanguíneo. Através de testes ELISA podem detetar-se anticorpos no soro ou no plasma e, com uma sensibilidade mais baixa, em amostras de leite individual ou de tanque. Os testes ELISA têm tido utilização crescente para a deteção de anticorpos em

amostras de leite (individuais e de tanque), embora apresentem ainda algumas limitações (OIE, 2008b). Para detecção de DNA viral utiliza-se rotineiramente o PCR (OIE, 2008b).

Há vários tipos de vacinas disponíveis comercialmente. As vacinas convencionais contêm vírus atenuados ou inativados, conferindo imunidade durante 6 a 9 meses. Existem ainda vacinas de subunidades e vacinas marcadas deletadas (Ackermann & Engels, 2006; Radostits, Gay, Hinchcliff & Constable, 2007a). As vacinas atenuadas ou inativadas são obtidas a partir de mutantes com deleção de uma ou mais proteínas virais e são muito utilizadas na Europa. Estas vacinas permitem fazer a distinção sorológica entre animais doentes e vacinados (Patel, 2005; Radostits, Gay, Hinchcliff & Constable, 2007a). É o caso da vacina deletada na glicoproteína E (gE), em que os animais vacinados não desenvolvem anticorpos anti-gE (apesar de os desenvolverem contra outros antígenos de BoHV-1), o que não acontece com animais infectados pelo vírus de campo ou imunizados com vacinas convencionais (Figura 21). Nestes são necessários testes de diagnóstico específicos, baseados em técnicas de ELISA dirigidas para proteínas não-estruturais (neste caso, a gE), que permitam diferenciar os animais vacinados dos infectados através da detecção de anticorpos antiglicoproteína excluída da vacina, no soro e/ou no leite individual ou do tanque de mistura (Patel, 2005; Thiry et al, 2006; Radostits, Gay, Hinchcliff & Constable, 2007a).

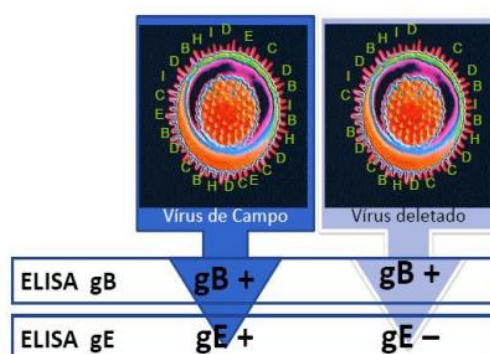


Figura 21 – Esquema da diferenciação entre o vírus de campo/vírus deletado vacinal por ELISA (Preto, 2008).

Outras causas de natureza viral

As perdas reprodutivas de origem viral em bovinos podem também ocorrer por infecção pelo vírus da Língua Azul, um orbivírus pertencente à família Reoviridae, transmitido por *Culicoides* spp., um inseto hematófago. Quando a infecção acontece durante os primeiros 100 dias de gestação, pode ocorrer morte embrionária ou aborto. Se a infecção ocorrer entre os 75 e os 100 dias, podem nascer nados-mortos, vitelos fracos ou com anomalias

cerebrais. Normalmente, se ocorrer depois dos 150 dias, não provoca efeitos adversos nos fetos (Kelling, 2007; Givens & Marley, 2008). Outro vírus, descoberto mais recentemente, que pode ser diagnóstico diferencial do vírus da Língua Azul e que é também transmitido por *Culicoides* spp. é o vírus Schmallenberg (SBV). Este vírus foi descoberto em 2011 na Alemanha e na Holanda mas já há conhecimento de animais positivos um pouco por toda a Europa, havendo casos identificados em Espanha (Beer, Conraths & Van Der Poel, 2012; EFSA, 2014). É um Arbovírus pertencente à família Bunyaviridae, infeta ruminantes domésticos, veados e bisontes e provoca sintomatologia difusa em bovinos adultos como febre, diminuição da condição corporal, diminuição da produção leiteira, anorexia e diarreia. Geralmente os animais recuperam em poucos dias (duas a três semanas). Se os hospedeiros forem infetados durante a gestação provoca malformações congénitas como artrogripose, hidrocefalia, braquignatia, anquilose, escoliose e torcicolo, podendo ocorrer aborto nestes animais (Beer, Conraths & Van Der Poel, 2012; EFSA, 2014). Estes vírus não são objeto de estudo detalhado nesta dissertação.

Causas bacterianas

Leptospirose

Microrganismos do género *Leptospira* são espiroquetas aeróbias. Os serotipos patogénicos pertencem à espécie *Leptospira interrogans*, sendo conhecidos mais de 200 serovares diferentes (Yaeger & Holler, 2007). Tal como a brucelose, a leptospirose é uma doença zoonótica (Givens & Marley, 2008). Existem dois grupos de hospedeiros diferentes, os reservatório e os acidentais. Nos hospedeiros reservatório, a transmissão destas espiroquetas entre animais é fácil, há uma grande incidência de infeção, prevalece fundamentalmente a doença crónica e há persistência da infeção no rim e trato genital. A infeção acidental conduz a doença aguda, ocorre apenas transmissão esporádica entre os hospedeiros e existe uma curta fase de infeção renal. Na leptospirose aguda os títulos de anticorpos encontram-se bastante elevados e são encontradas inúmeras espiroquetas nos tecidos do animal infectado (Yaeger & Holler, 2007).

Os bovinos são hospedeiros reservatório para alguns serovares (como a *L. interrogans hardjo*) e acidentais para outros (como a *L. interrogans icterohaemorrhagiae*) (Givens & Marley, 2008).

Entre hospedeiros reservatório a transmissão ocorre por contacto direto com urina, fluidos placentários ou leite infetado, podendo também ocorrer transmissão venérea (principalmente quando o serovar *hardjo* está presente) e transplacentária. A infeção acidental normalmente

ocorre por contacto indireto com fontes de água ou outras fontes ambientais contaminadas pela urina dos hospedeiros reservatório (Givens & Marley, 2008). A infeção dos animais susceptíveis ocorre através das mucosas (dos olhos, nariz, vagina e pénis) e também através de abrasões ou de zonas cutâneas enfraquecidas por terem estado em contacto com a água durante longos períodos de tempo (Yaeger & Holler, 2007; Givens & Marley, 2008).

Nos animais gestantes a infeção fetal pode resultar em abortos, nados-mortos ou no nascimento de vitelos fracos (Givens & Marley, 2008). Os serovares hardjo e pomona são os mais frequentemente implicados (Yaeger & Holler, 2007), no entanto, o icterohaemorrhagiae e o grippotyphosa também podem estar associados ao aborto bovino, embora mais raramente (Anderson, 2007). Os abortos ocorrem no último trimestre da gestação (serovar pomona) ou a partir do quarto mês (serovar hardjo). A sua percentagem é menor quando o surto é provocado pelo serovar hardjo, no entanto, a infertilidade encontra-se frequentemente associada a este serovar (Givens & Marley, 2008).

As técnicas de diagnóstico mais adequadas variam consoante o propósito do diagnóstico, estando disponíveis, para a identificação do agente: isolamento e identificação e PCR; para deteção de resposta imunitária: MAT (*microscopic agglutination test* ou testes de microaglutinação) e ELISA (OIE, 2014). O diagnóstico deve ser baseado na demonstração de anticorpos específicos no soro fetal ou materno, ou pela demonstração da existência destas espiroquetas nos fluidos fetais ou na urina da vaca, através de um microscópio de fundo escuro ou através de imunofluorescência (Parkinson, 2009). No entanto, estes processos não são realizados rotineiramente uma vez que são processos difíceis e morosos. Dado que os anticorpos maternos não atravessam a placenta, a demonstração de anticorpos num feto de 4 ou mais meses de gestação é indicativo de infeção uterina, pois só nesta fase este apresenta um sistema imunitário competente (Yaeger & Holler, 2007).

Os MAT são realizados em amostras de soro materno, sendo a técnica serológica mais frequentemente realizada para o diagnóstico em bovinos no nosso país. Estes resultados devem ser interpretados com cautela, uma vez que existem diferenças nas respostas imunitárias consoante se tratem de hospedeiros reservatório ou acidentais. Existe uma forte probabilidade do aborto ter sido causado por leptospirose caso sejam encontrados títulos elevados ($\geq 1:1000$) na altura do aborto num animal que não tenha sido vacinado recentemente. São comuns títulos elevados, após o aborto, nos hospedeiros acidentais, no entanto, nos hospedeiros reservatório, os títulos encontram-se estabilizados ou em declínio (um terço dos animais que abortam devido a leptospirose apresentam títulos inferiores a

1:100) (Yaeger & Holler, 2007). As vacinas multivalentes normalmente induzem títulos baixos e de curta duração, comparativamente aos induzidos pelo contacto com o agente. Este tipo de vacinas apresentam títulos elevados para vários serovares, o que não se verifica na infeção natural (Anderson, 2007).

Salmonelose

A *Salmonella* é uma bactéria intracelular facultativa que pertence à família das Enterobacteriáceas. Nos bovinos, a salmonelose tem uma grande importância devido aos surtos que provoca e ao facto de se tratar de uma doença zoonótica. As espécies de *Salmonella* responsáveis por causar abortos em bovinos são a *S. dublin*, *S. typhimurium* (Radostits, Gay, Hinchcliff & Constable, 2007b) e a *S. newport* (com importância relativamente baixa) (Parkinson, 2009).

Os animais infetam-se por contacto direto com animais infetados ou por contacto indireto, ao comerem em locais contaminados com fezes de animais infetados, esgotos humanos ou águas provenientes de rios contaminados (Radostits, Gay, Hinchcliff & Constable, 2007b; Parkinson, 2009). Desta forma pode presumir-se que a infeção tenha origem no trato intestinal (Anderson, 2007). Os episódios de bacteriémia fazem com que o agente consiga atingir os placentomas em 6 a 8 dias após a infeção, provocando placentite (Parkinson, 2009) e levando à destruição das vilosidades fetais, o que provoca aborto sem que seja necessária a infeção bacteriana do feto (Anderson, 2007).

Os sinais clínicos mais frequentes nos bovinos adultos são febre elevada (> 40° C), diarreia e disenteria graves, que podem ou não, estar associadas aos abortos (Parkinson, 2009). Os abortos são mais comuns entre os 124 e os 270 dias de gestação. As vacas que abortam podem apresentar febre, anorexia e quebra de produção leiteira, ocorrendo em algumas vezes retenção placentária. Muitas vezes os animais não abortam mas nascem vitelos prematuros que morrem em poucos dias. Na maioria dos casos, apenas um ou dois animais da exploração são afetados, no entanto, já foram reportados surtos em que muitos dos animais da exploração sofreram abortos e apresentaram sinais de doença entérica (Parkinson, 2009). Esta doença é menos frequente nos animais que se encontram em pastagem do que nos animais estabulados (Radostits, Gay, Hinchcliff & Constable, 2007b). As vacas que abortam excretam o agente durante um curto período de tempo (Parkinson, 2009). O diagnóstico definitivo é realizado através de cultura e isolamento a partir de amostras de fezes, sangue, leite e outros fluidos corporais ou tecidos. É necessário ter em atenção o facto de alguns animais, os portadores assintomáticos, excretarem o agente intermitentemente. A serologia também pode ser útil, sendo preferíveis as análises ELISA

baseadas nos antigénios flagelares de forma a estimar a seroprevalência. Também podem ser utilizadas provas de aglutinação, no entanto, os testes ELISA são mais económicos (Veling, Van Zijderveld, Van Zijderveld-Van Bommel, Barkema & Schukken, 2000).

Clamidiose

A *Chlamydophila abortus* (anteriormente denominada como *Chlamydia psittaci* serótipo 1) tem sido descrita em vários países, associada principalmente com patologias reprodutivas em ovinos, bovinos e caprinos. O aborto enzoótico dos ovinos e caprinos, e o aborto epizoótico dos bovinos são as doenças mais importantes causadas por esta bactéria (Silva, Freitas & Muller, 2006). A infeção de bovinos por *Chlamydophila abortus* pode resultar em aborto, principalmente entre os 6 e os 8 meses de gestação, ou no nascimento de bezerros fracos (Givens & Marley, 2008). Consoante a espécie animal envolvida, pode ocorrer aborto, infertilidade, pneumonia, rinite, queratoconjuntivite, artrite, enterite, vaginite, endometrite e mastites crónicas. É comum a ocorrência da infeção em animais sem sintomatologia clínica (Shewen, 1980; Everett, 2000).

Nos touros pode causar infertilidade ou subfertilidade. Os touros infetados podem desenvolver vesiculite ou não apresentar sintomatologia clínica (à semelhança das fêmeas). Curiosamente, muitos não apresentam características espermáticas alteradas no espermograma. Independentemente de não demonstrarem sinais de doença, os touros infetados podem excretar intermitentemente esta bactéria através do sémen, o que dificulta um pouco a interpretação de resultados e o diagnóstico destes animais (Kauffold et al., 2007, Teankum et al., 2007, citados por Kauffold, Wehrend & Sigmarsson, 2014).

Os mecanismos responsáveis pelo aborto não são claros, mas acredita-se que é o resultado da associação das lesões epitélio-coriónicas, que levam ao comprometimento da troca de oxigénio e de nutrientes entre mãe e feto, e das alterações patológicas fetais, principalmente necrose focal do fígado e, menos frequentemente, nos pulmões, baço, encéfalo e linfonodos (Buxton, Barlow, Finlayson, Anderson & Mackellar, 1990). Os animais infetados congenitamente que não são abortados nascem geralmente debilitados e, quando sobrevivem, apresentam muitas vezes infeção latente, que se manifesta na primeira gestação (Papp & Shewen, 1996). A transmissão ocorre através da ingestão ou inalação de resíduos fecais, urina ou descargas de secreções contaminadas (nasais, oculares, da vulva, do útero e placenta). Este microrganismo causa endometrites e pode multiplicar-se nos cotilédones. É uma zoonose e pode causar aborto em mulheres (Givens & Marley, 2008). A infeção por *C. abortus* é altamente prevalente na população de bovinos leiteiros em todo o mundo, com seropositividade em vacadas entre 45% a 100%. Isto sugere que as infeções

por este agente são ubiqüitárias em bovinos leiteiros (Godin et al., 2008, citados por Kauffold, Wehrend & Sigmarsson, 2014). DeGraves et al. (2004) demonstraram que novilhas que contactaram com *C. abortus* no útero materno apresentaram um risco 8,5 vezes maior de desenvolver infertilidade quando comparado com as fêmeas que não foram expostas à bactéria. Após a instalação da infecção no rebanho, a percentagem de abortos pode ser superior a 30% no primeiro ano, sendo de 5-10% nos anos seguintes se não forem adotadas medidas de controlo do agente (Longbottom & Coulter, 2003). Com o desenvolvimento de imunidade específica, é pouco provável que um animal infectado aborte duas vezes, no entanto, alguns animais podem desenvolver imunidade incompleta e por vezes abortam novamente, elevando a proporção de abortos no rebanho no segundo ano de infecção (Papp, Shewen & Gartley, 1994). A excreção intermitente de *C. abortus* nestes animais pode ocorrer durante três anos (Kerr, Entrican, McKeever & Longbottom, 2005). A vacinação tem, neste caso, efeitos limitados, provocando quebras na produção devido ao excipiente oleoso (André Preto, Comunicação pessoal, Julho 2015). A família Chlamydiaceae é suscetível a vários antibióticos, sendo as tetraciclina os antibióticos de eleição para o tratamento das infeções provocadas por estes agentes. A oxitetraciclina de longa ação (20 mg/kg intramuscular) é a mais utilizada nas infeções por *C. abortus* nos animais de produção (Longbottom & Coulter, 2003). A administração de antibióticos durante um surto não elimina a infecção do rebanho, mas reduz a replicação do microrganismo, a gravidade dos sinais clínicos e aumenta o número de nascimentos de animais vivos. Para resultados mais satisfatórios, o tratamento deve ser iniciado após o 90º dia de gestação e deve administrar-se uma segunda dose duas semanas após a primeira (Buxton, Barlow, Finlayson, Anderson & Mackellar, 1990; Longbottom & Coulter, 2003).

Campilobacteriose

A subespécie mais associada à infertilidade e morte embrionária precoce é a *Campylobacter fetus venerealis*, enquanto que a subespécie *Campylobacter fetus fetus*, comensal do trato intestinal, causa abortos esporádicos (Cabell, 2007). É uma bactéria Gram-negativa, microaerófila com motilidade (Givens & Marley, 2008).

A bactéria coloniza a vagina e o cérvix, avançando para o útero e ovidutos em 12 a 14 dias (Yaeger & Holler, 2007). Não interfere na fertilização (Parkinson, 2009), mas a infecção uterina muitas vezes causa morte embrionária precoce devido à inflamação que ocorre em resposta à presença do agente (Yaeger & Holler, 2007). Pode ocorrer a infecção da vagina, cérvix, endométrio e placenta (Givens & Marley, 2008). Normalmente a morte embrionária ocorre entre os 15 e 80 dias de gestação, quando há uma rápida multiplicação do agente.

Com menor frequência pode ocorrer uma multiplicação lenta, em que os abortos são mais tardios. Mesmo quando ocorre uma multiplicação rápida, pode haver um atraso no retorno ao estro, uma vez que a morte embrionária ocorre depois do reconhecimento materno da gestação (Yaeger & Holler, 2007). Os abortos podem ser observados, esporadicamente, entre o 4º e o 8º mês de gestação (Givens & Marley, 2008; Cabell, 2007).

A bactéria é gradualmente eliminada do útero e oviduto e os animais retornam aos índices de fertilidade normais. Acontece frequentemente que o agente se mantenha no cérvix e na vagina, pelo que durante esse período a vaca representa uma fonte de infecção para outros animais. As vacas infetadas geralmente desenvolvem imunidade e conseguem eliminar o organismo em 3 a 6 meses, ficando resistentes à reinfeção durante um curto período de tempo (Givens & Marley, 2008). Havendo um animal infetado na vacada, os microrganismos podem ser transmitidos de vaca para vaca através dos touros ou através do equipamento de inseminação artificial e de recolha de sêmen. Os novilhos geralmente eliminam a infecção muito rapidamente, mas reinfectam-se ao cobrir uma vaca infetada. Touros mais velhos (a partir dos 4 ou 5 anos) podem, com mais frequência, ficar cronicamente infetados e não eliminar o agente (Hovingh, 2009). A principal via de transmissão é, portanto, a venérea e pode também haver transmissão entre machos se estes apresentarem atividade de monta entre si (Givens & Marley, 2008).

O diagnóstico de campilobacteriose é baseado no isolamento do agente, na demonstração da sua existência nos tecidos fetais, lavagens prepuciais ou muco vaginal, através de testes de imunofluorescência direta ou PCR. Também podem ser detetados anticorpos no muco vaginal através de análises ELISA ou testes de aglutinação (Yaeger & Holler, 2007).

Brucelose

Brucella abortus é um cocobacilo Gram negativo, zoonótico (Givens & Marley, 2008) que consegue sobreviver e multiplicar-se dentro das células fagocíticas e tecido linfóide, uma vez que impede a fusão dos lisossomas com o fagossoma (Yaeger & Holler, 2007). A *Brucella melitensis* afeta principalmente pequenos ruminantes mas também pode ser transmitida a bovinos (Parkinson, 2009). A principal fonte de disseminação da *B. abortus* são os animais infetados. A infecção ocorre geralmente por ingestão de produtos derivados do aborto, como fetos abortados, placenta, fluidos uterinos ou de material contaminado por estes produtos (Givens & Marley, 2008). Depois da ingestão, a *Brucella* spp. penetra na mucosa nasal ou oral, indo alojar-se nos gânglios linfáticos. De seguida, durante a bacteriemia, infecta o útero gestante e multiplica-se nos trofoblastos corioalantóicos, levando à necrose do trofoblasto e à ulceração da corioalantóide (Yaeger & Holler, 2007).

Em bovinos, os abortos ocorrem geralmente após o 5º mês de gestação, ocorrendo também frequentemente metrites e retenções placentárias após o aborto (Givens & Marley, 2008). Nem todas as infecções resultam em aborto. Quando o aborto se verifica, apenas uma percentagem inferior a 20% de vacas infetadas abortam mais do que uma vez (Yaeger & Holler, 2007). Ocasionalmente ocorre morte fetal, mas esta não é logo seguida de aborto, ficando o feto retido e ocorrendo mumificação ou maceração. Algumas vacas não abortam mas os seus vitelos nascem fracos (Parkinson, 2009).

Nos machos, a brucelose pode causar orquite, epididimite e inflamação de órgãos reprodutivos acessórios. Apesar da transmissão ocorrer através do sêmen, os machos parecem desempenhar um papel pouco significativo na disseminação do agente (Yaeger & Holler, 2007).

O diagnóstico definitivo requer o isolamento de *Brucella* spp. a partir dos tecidos fetais ou fluidos uterinos. O microrganismo pode ser isolado do conteúdo abomasal do feto, pulmões e placenta, no entanto, também pode ser encontrado no colostro, leite e mecónio. Caso as lesões indiquem que se trata de brucelose e o isolamento tenha sido negativo, podem ser realizadas análises imunohistoquímicas (Yaeger & Holler, 2007). Para o diagnóstico laboratorial da infeção por *Brucella* spp é frequente a combinação de vários testes, incluindo o isolamento bacteriano, os resultados sorológicos e os métodos moleculares. De um modo geral, as provas para a identificação de animais brucélicos podem ser divididas em 4 grupos principais: Provas sorológicas – nas quais se destacam o Rosa Bengala, a Fixação do Complemento, os ELISA feitos a partir de soro sanguíneo ou de leite e a prova do Anel do Leite (*Milk Ring Test*); Provas alérgicas – como a prova da Brucelina; Provas bacteriológicas com isolamento do agente; Provas moleculares – que permitem a identificação de sequências genómicas específicas das diversas espécies de *Brucella* spp, com o PCR (OIE, 2008a).

Outras causas de natureza bacteriana

Outros agentes patogénicos bacterianos, que fazem parte da microflora normal ou que estão presentes no ambiente, podem também causar aborto em bovinos. Incluem-se neste grupo *Trueperella pyogenes*, *Bacillus* spp., *Escherichia coli*, *Pasteurella* spp., *Pseudomonas* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Histophilus somni*, *Ureaplasma diversum* e *Mycoplasma* spp, sobre os quais não vamos debruçar o nosso estudo. Importa referir apenas que as bactérias são capazes de penetrar hematologicamente no feto/placenta e causar aborto, geralmente no fim da gestação (Givens & Marley, 2008).

Causas parasitárias

Tricomoniase

Tritrichomonas foetus é um protozoário flagelado causador de doença venérea em bovinos (Givens & Marley, 2008). Geralmente não existem sinais clínicos observáveis no touro nem na vaca após a infecção (BonDurant, 2007). As vacas infetadas podem apresentar mortalidade embrionária precoce, infertilidade e aborto na primeira metade da gestação. Alguns animais desenvolvem piómetra pós-coito. De um modo geral, a infecção é eliminada em 90 dias (Givens & Marley, 2008).

A infecção de novos animais durante o coito é a única forma conhecida de transmissão deste agente (os touros mais velhos aumentam a probabilidade de infecção das vacas através do coito), excetuando o caso raro de inseminações artificiais com sémen contaminado ou o incumprimento das práticas de higiene durante o procedimento de inseminação (Goodger & Skirrow, 1986, citados por BonDurant, 2007).

Estudos recentes têm mostrado que mesmo quando oócitos fertilizados *in vitro* são coincubados com *Tritrichomonas foetus*, há poucos danos registados no embrião durante esta fase. Este agente aloja-se no lúmen uterino no momento em que a mórula atravessa a junção útero-tubal e entra no útero. O embrião entra nesta fase em contacto com o agente infeccioso. Consequentemente o âmnio, que apresenta uma evaginação ventralmente ao feto, irá “aprisionar” o parasita dentro dos anexos fetais em desenvolvimento, e o feto acabará por inalar e/ou engolir os mesmos. Este acontecimento ocorre, presumivelmente, antes do feto ser imunologicamente competente contra *T. foetus*. É por esta razão que podemos observar nos fetos abortados um enorme número de parasitas nos pulmões, no abomaso, ou abaixo da lâmina própria do trato gastrointestinal (BonDurant, 2007).

O controlo pode passar pela identificação e abate de todos os touros infetados. A identificação do agente faz-se preferencialmente através da cultura de smegma de todos os touros (BonDurant, Campero & Anderson, 2003, citados por BonDurant, 2007), embora alguns laboratórios utilizem o PCR para deteção de *T. foetus*. Os testes sorológicos para *T. foetus* não são suficientemente sensíveis nem específicos para serem utilizados como rotina (BonDurant, 2007).

Os princípios ativos mais eficazes no tratamento de tricomoniase eram, nos anos 80, o metronidazol, dimetridazol e ipronidazol, substâncias entretanto com uso proibido em animais para consumo humano. Hoje em dia, usa-se a oxitetraciclina (20 mg/Kg) em injeção

única ou repetida 3 a 5 dias depois (respeitando o intervalo de segurança para leite do produto utilizado); a tilmicosina (10 mg/Kg), injeção única (uso interdito em fêmeas em lactação); injeções múltiplas de ceftiofur (5 mg/Kg durante 5 dias ou 20 mg/Kg durante 3 dias) com intervalo de segurança nulo; duas injeções de amoxicilina (15 mg/kg, duas vezes por dia durante 2 dias), com um intervalo de segurança de 96h (BonDurant, 2007).

Neosporose

O *Neospora caninum* é um protozoário coccídeo do Filo Apicomplexa e da família Sarcocystidae. *Neospora caninum* foi identificado em grande parte do mundo como um importante agente causador de aborto em bovinos (Dubey & Lindsay, 1996). Dentro dos efetivos, a transmissão vertical parece ser a principal forma de infecção, mas a transmissão horizontal também ocorre e pode ser suficiente para a manutenção da infecção endêmica dentro de um rebanho (Sanderson, 2007) (Figura 22).

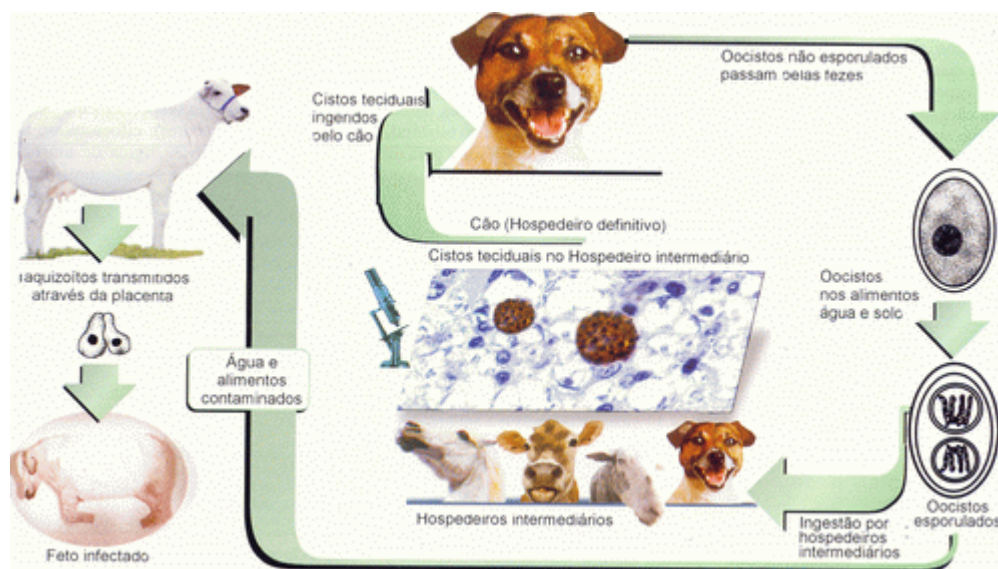


Figura 22 - Representação esquemática do ciclo biológico de *N.caninum* (Giraldi et al., 2001).

O coiote e o cão doméstico são hospedeiros definitivos de *N. caninum* (Sanderson, 2007). Como hospedeiros intermediários identificam-se os cães, os bovinos, os pequenos ruminantes, os cavalos, os veados e os búfalos (Fortunato, Guerreiro & Stilwell, 2010).

Estudos realizados em diferentes locais demonstram que cerca de 12 a 42% dos fetos abortados apresentam infecção por *N. caninum* (Dubey et al., 2007).

Em 2004 foi realizado um estudo em explorações leiteiras, com animais da raça Holstein-Frísia do centro e norte de Portugal. A prevalência em animais escolhidos aleatoriamente

em 49 explorações foi de 28% e em animais existentes em explorações com história prévia de aborto endémico ou epidémico de 46%. O parasita foi encontrado em 36% dos fetos abortados analisados (Canada et al., 2004).

Os abortos acontecem mais comumente entre os cinco e os seis meses de gestação mas os abortos de fim de gestação, o nascimento de vitelos fracos e o nascimento de animais seropositivos sem sinais clínicos também podem ocorrer. Este padrão de abortos predominantemente a meio da gestação é único entre os agentes de aborto bovino. Não há outros sinais clínicos da doença evidentes nos animais adultos (Sanderson, 2007).

O risco de aborto em vacas seropositivas é cerca de duas a sete vezes superior em comparação com as seronegativas. As vacas seropositivas que abortaram anteriormente são cerca de cinco vezes mais propensas a ter um segundo aborto, em comparação com vacas seropositivas que não tiveram um aborto anterior (Sanderson, 2007).

O diagnóstico de neosporose pode basear-se em análises histopatológicas, na demonstração da presença do parasita e também na presença de anticorpos nos animais (Fortunato, Guerreiro, & Stilwell 2010). É importante verificar se a seroprevalência é mais elevada nas vacas que abortaram relativamente às que não abortaram (Fortunato, Guerreiro & Stilwell, 2010).

Embora tanto a transmissão vertical (mãe para cria) como horizontal sejam possíveis, a transmissão vertical parece ser a via predominante e pode ser mantida ao longo de várias gerações numa vacada sem significativa transmissão horizontal. (Sanderson, 2007). A transmissão horizontal ocorre através da ingestão de oocistos (Dubey et al., 2007).

Osoro et al. (2009) utilizaram novilhas seronegativas que foram cobertas com touros infetados experimentalmente mas não houve seroconversão das novilhas nem transmissão vertical para os seus descendentes. Canada et al. (2006) demonstraram que vacas inseminadas com sémen contaminado *in vitro* não foram infetadas, sugerindo que a transmissão através da inseminação artificial é improvável. Por outro lado, Serrano et al. (2006) mostraram que vacas inseminadas com sémen contendo taquizoítos vivos de *N. caninum* seroconverteram e o desenvolvimento embrionário foi afetado.

Causas micóticas

Abortos micóticos podem ser causados por vários bolores e leveduras. *Aspergillus fumigatus* é o agente mais comum, sendo a *Mortierella wolfii* mais vulgar no hemisfério sul. Outros agentes patogénicos incluem outros *Aspergillus* spp., *Absidia* spp., *Rhizomucor pusillus*, *Rhizopus arrhizus*, *Pseudallescheria boydii*, espécies de *Penicillium*, *Candida*, e *Torulopsis*. A doença ocorre esporadicamente, geralmente quando os animais estão alojados no interior de pavilhões ou em pequenos parques e são alimentados com feno. Os fungos podem penetrar no trato respiratório ou gastrointestinal e, em seguida, ter acesso à circulação sistémica e atingir os placentomas. O aborto ocorre geralmente entre 6 e os 8 meses de gestação. Ocorrem frequentemente placentites e retenções placentárias. Geralmente não são visíveis outros sinais clínicos (Givens & Marley, 2008).

Tabela 1 – Principais perdas gestacionais verificadas em bovinos, provocadas por causas de natureza infecciosa.

Doença	Perdas mais comuns	Fonte
BVD	<ul style="list-style-type: none"> - Infecção até aos 45 dias de gestação: taxa de fertilidade diminuída e morte embrionária; - Infecção dos 45 aos 210 dias de gestação: aborto; - Infecção dos 45 aos 125 dias de gestação: animais PI; - Infecção dos 100 aos 150 dias de gestação: ocorrência de anomalias congénitas; - Infecção dos 150 aos 285 dias de gestação: desenvolvimento normal do feto, presença de anticorpos neutralizantes. 	Givens & Marley, 2008; Larson, 2005
IBR	<ul style="list-style-type: none"> - Infecção precoce: morte embrionária; - Aborto entre os 4 a 8 meses de gestação. 	Anderson, 2007
Língua Azul	<ul style="list-style-type: none"> - 0-100 dias de gestação: morte embrionária e fetal; - 75-100 dias de gestação: nados-mortos, vitelos fracos, anomalias cerebrais; - mais de 100 dias de gestação: sem efeitos adversos para o feto. 	Kelling, 2007; Givens & Marley, 2008
Leptospiriose	<ul style="list-style-type: none"> - Serovar <i>pomona</i>: aborto no último trimestre de gestação, nado-morto ou vitelo fraco; - Serovar <i>hardjo</i>: aborto a partir do 4º mês de gestação. 	Givens & Marley, 2008
Salmonelose	<ul style="list-style-type: none"> - Aborto entre os 124 e os 270 dias de gestação. 	Parkinson, 2009
Clamidiose	<ul style="list-style-type: none"> - Aborto entre os 6 a 8 meses de gestação. 	Givens & Marley, 2008
Campilobacteriose	<ul style="list-style-type: none"> - Morte embrionária e fetal entre os 15 a 80 dias de gestação; - Abortos esporádicos entre os 4 e os 8 meses de gestação. 	Yaeger & Holler, 2007; Givens & Marley, 2008; Cabell, 2007
Brucelose	<ul style="list-style-type: none"> Aborto depois dos 5 meses de gestação associado a metrite e retenção placentária. 	Givens & Marley, 2008
Tricomóníase	<ul style="list-style-type: none"> - Mortalidade embrionária precoce; - Aborto na primeira metade da gestação. 	Givens & Marley, 2008
Neosporose	<ul style="list-style-type: none"> - Aborto mais frequente entre os 5 a 6 meses de gestação. 	Sanderson, 2007
Causas micóticas	<ul style="list-style-type: none"> - Aborto entre 6 a 8 meses de gestação. 	Givens & Marley, 2008

As doenças infecciosas merecem a nossa atenção como potenciais causas de aborto, mas as causas de natureza não infecciosa, provavelmente, contribuem mais para as perdas totais de gestação e tendem a ocorrer no primeiro trimestre (BonDurant, 2007).

Causas de natureza não infecciosa

Cabell (2007) refere que as causas de natureza não infecciosa podem classificar-se em físicas, nutricionais, tóxicas e genéticas.

Entre as causas de natureza física destaca-se o trauma, o procedimento de inseminação, hipertermia/*stress* térmico e gestações gemelares (Cabell, 2007).

Nas causas de natureza nutricional, a deficiência em iodo tem sido associada com a ocorrência de nados-mortos e recém-nascidos fracos. Nos casos afetados, a glândula tireóide fetal apresenta-se aumentada. A causa mais comum de deficiência de iodo em animais de produção é a falha deste na dieta. Os micronutrientes não estão geralmente implicados em abortos, mas tal como a deficiência e toxicidade provocadas pelo iodo, a deficiência em selénio e vitamina E tem sido associada com a ocorrência de abortos de bovinos no Reino Unido (Mee, 2004, citado por Cabell, 2007). Este trabalho também refere que tem sido observado um aumento na incidência de abortos em efetivos em que a dieta é deficiente em vitamina A ou no seu precursor, β -caroteno.

Entre as causas de natureza tóxica destacam-se as várias plantas tóxicas, as quais se dividem em plantas com toxinas teratogénicas, que interferem com a função uterina e com o normal desenvolvimento fetal (podem produzir abortos e malformações como as contraturas das extremidades ou a fenda do palato) e as plantas estrogénicas, que afetam a reprodução em animais adultos e em desenvolvimento (Quintas, Cordeiro & Aguiar, 2014a). Os abortos por causas tóxicas são improváveis de ocorrer na ausência de outros sinais de intoxicação. Os alcalóides da cravagem do centeio (*Claviceps purpurea*) podem ter ação abortiva, apesar de serem raros os abortos em animais intoxicados. Os animais abortam frequentemente após intoxicação por nitrato/nitrito, provavelmente devido à meta-hemoglobinémia que leva à hipóxia materna e conseqüente hipóxia fetal. As fontes mais comuns de nitratos e nitritos nas explorações são os fertilizantes e algumas plantas (Cabell, 2007). A lista de plantas potencialmente acumuladoras de nitratos é extensa, destacam-se o sorgo, o trevo-branco e a couve-galega (Quintas, Cordeiro & Aguiar, 2014c). O grupo das plantas teratogénicas é o que mais nos interessa no desenvolvimento deste tema e a sintomatologia apresentada pelos animais depende da toxicidade da planta e da quantidade ingerida. Os abortos podem ocorrer de forma pouco frequente ou acidental após ingestão de plantas dos géneros *Allium* spp. (cebola, alho, cebolinho, alho-francês), *Brassica* spp. (várias couves, rabanete e nabiça), *Lathyrus cicera* (chicharro-branco ou bravo- é uma trepadeira), *Lathyrus clymenum* (chicharão- é uma trepadeira), *Lupinus angustifolius* (tremoceiro-azul ou tremoço-bravo), *Lupinus luteus* (tremoceiro ou tremocilha-amarela) e *Senecio jacobaea* (erva-de-são-tiago

ou tasna) e podem ocorrer de forma ligeira ou moderada após ingestão da planta *Ferula communis* (canafrecha ou canavoura) (Quintas, Cordeiro & Aguiar, 2014b). Ocorrem de forma frequente devido à sintomatologia nervosa provocada por *Conium maculatum* (cicuta) entre os dias 40 a 70 de gestação, que se deve ao efeito depressor dos alcalóides sobre o Sistema Nervoso Central, que inibe o movimento fetal, *Nicotiana* spp. (tabaco e charuteira) e *Astragalus* spp. (saveirinho e alfavaca-de-gancho) (Quintas, Cordeiro & Aguiar, 2014a).

Algumas anomalias genéticas resultam em malformações congénitas e podem causar morte fetal e conseqüente aborto. Um exemplo é a Malformação Vertebral Complexa, que ocorre com mais frequência em bovinos puros *Holstein* e é causada por um gene recessivo, o que implica que os dois progenitores sejam portadores. Os fetos afetados raramente chegam ao termo da gestação. Entre os outros defeitos congénitos que podem resultar no nascimento de vitelos mortos incluem-se a condrodissplasia e as anomalias cromossómicas (Cabell, 2007).

Stress hipertérmico

O *stress* térmico pode ser definido como a soma dos esforços de um animal homeotérmico que luta para alterar a temperatura do corpo a partir do estado de repouso (Yousef, 1984, citado por Hansen & Aréchiga, 1999).

Fatores ambientais tais como a temperatura ambiente, a energia radiante, a humidade relativa, o vento e o calor metabólico associado com os gastos de manutenção e de produção contribuem para a ocorrência de *stress* térmico (West, 1999).

A temperatura ambiente ideal para uma vaca leiteira é entre 5°C e 25°C. Temperaturas acima de 25°C levam os animais a usar energia para arrefecer, perdendo calor através da superfície da pele (transpiração) e do trato respiratório (aumento da frequência respiratória) (Jones & Stallings, 1999). Pode considerar-se que as vacas estão em *stress* térmico quando a frequência respiratória aumenta das 75 respirações por minuto (Robinson, 1998).

As vacas leiteiras são mais susceptíveis ao *stress* térmico durante o verão, uma vez que durante a lactação se observa um aumento da temperatura interna associado ao acréscimo do metabolismo basal (Wilson et al., 1998). A exposição ao calor ambiental, a temperaturas capazes de provocar *stress* é um fator que influencia negativamente o desempenho reprodutivo (Al-Katanani et al., 2002). A infertilidade de fim de verão é caracterizada por um aumento das perdas de gestação entre os 35 e os 41 dias e retorno ao cio. Estas

descobertas indicam que a maior parte destas perdas embrionárias acontecem antes dos 35 dias de gestação (Stott & Williams, 1962).

Algumas das perdas reprodutivas associadas ao *stress* estão relacionadas com a redução da duração e intensidade dos sinais de cio e com a ocorrência de ovulações silenciosas (Wilson et al., 1998).

O *stress* térmico altera a taxa de concepção, a função uterina, o equilíbrio endócrino, o crescimento e desenvolvimento folicular, o mecanismo luteolítico, o desenvolvimento embrionário precoce e o desenvolvimento fetal (Al-Katanani, 2002, Jordan, 2003). Todos estes fatores contribuem para o decréscimo do desempenho reprodutivo e da taxa de gestação e, consecutivamente, para o aumento dos dias em aberto.

Produções leiteiras mais elevadas conduzem a maior suscetibilidade desses animais aos efeitos negativos do *stress* térmico no desempenho reprodutivo (Hansen & Arechiga, 1999, citados por Chebel, Santos, Reynolds, Cerri, Juchem & Overton, 2004).

O artigo de Schuller, Burfeind e Heuwieser (2014) refere que as vacas leiteiras em climas moderados poderão ser mais afetadas pelo *stress* térmico que vacas adaptadas em climas tropicais ou subtropicais, que estão expostas a um esforço de adaptação térmica constante. Assim, as estratégias de redução de calor devem manter baixo e constante o índice de humidade e temperatura, de forma a evitar flutuações de temperatura durante um período de, pelo menos, 3 semanas antes a 3 semanas após o dia da fertilização (Schuller, Burfeind & Heuwieser, 2014). O índice de humidade e temperatura é obtido com base na interpretação de uma tabela de dupla entrada que relaciona as duas variáveis e, consoante os valores de cada uma, atribui um valor de índice de humidade e temperatura.

Além disso, os animais com temperaturas retais de 40°C como resultado da exposição a 32,2°C de temperatura ambiente nas 72 horas após a inseminação apresentaram taxas de concepção de 0% em comparação com uma taxa de 48% quando a temperatura retal foi de 38,5°C em vacas a uma temperatura ambiente de 21,1°C (Ulberg e Burfening, 1967, citados por Jordan, 2003).

Pelo menos *in vitro*, ações de choque térmico no desenvolvimento embrionário envolvem o aumento de produção de radicais livres. Na base desta ideia está o facto de que o choque térmico causa uma redução nas concentrações intracelulares do antioxidante glutatião em mórulas de rato (Arechiga et al., 1995, citado por Hansen & Aréchiga, 1999) e que a adição de vários antioxidantes incluindo a taurina, o glutatião e a vitamina E forneceram alguma

termoproteção ao rato (Malayer et al., 1992; Arechiga et al., 1994, citados por Hansen & Aréchiga, 1999) e a mórulas de vaca. Este assunto é controverso e há estudos que apontam no sentido do uso de antioxidantes e estudos que levam a crer que esta prática não melhorará em nada as taxas de concepção durante os períodos de maior calor (Hansen & Aréchiga, 1999).

Nas vacas de leite os primeiros 4 a 6 dias depois da inseminação são considerados os mais críticos (Wiersma & Stott, 1966). Chebel, Santos, Reynolds, Cerri, Juchem & Overton (2004) afirmam que vacas expostas a este tipo de *stress*, com temperaturas próximas dos 29°C, durante pelo menos um dia antes da inseminação artificial, apresentam menor taxa de concepção do que vacas não expostas a temperaturas tão elevadas.

Schuller, Burfeind e Heuwieser (2014) concluíram que o maior impacto negativo do *stress* térmico sobre a taxa de concepção foi registado 21 a 1 dias antes da fertilização. Quando o índice médio de temperatura e humidade foi de 73 ou mais neste período, a taxa de concepção diminuiu de 31% para 12%.

Howell et al. (1994) estudaram o desenvolvimento e a capacidade funcional do CL durante a Primavera e Verão. Estes autores encontraram picos de progesterona mais baixos em animais expostos a *stress* térmico durante o Verão, associados ao aumento da temperatura e da humidade relativa registados nestes períodos. Concluíram desta forma que a hipertermia pode alterar as características funcionais das células do CL.

Um estudo realizado por Wilson et al. (1998) permitiu concluir que o *stress* térmico inibe o crescimento e a dominância folicular no período pré-ovulatório. Uma função folicular insuficiente está diretamente relacionada com a incompetência dos oócitos. Quando exposto à influência de temperaturas demasiado elevadas, o ovário apresenta uma produção menor de folículos, sendo os folículos ovulatórios pequenos, com dimensões muito próximas às dos folículos subordinados (Wilson et al., 1998). Animais nesta situação apresentam teores circulantes de estradiol relativamente baixos, o que pode contribuir para a menor dimensão do folículo ovulatório e para a existência de mais ondas foliculares por ciclo éstrico. O estradiol desempenha também um papel importante no processo de luteólise da vaca. Nesta fase do ciclo, o estradiol é produzido pelo folículo pré-ovulatório e a sua concentração na corrente sanguínea aumenta com o decorrer do ciclo. O aumento da concentração de estradiol desencadeia a síntese de recetores endometriais para a oxitocina e activa as enzimas associadas à produção de PGF2 α . Quando a oxitocina e o estradiol se ligam aos recetores, inicia-se a libertação pulsátil de PGF2 α , que induz a lise do CL, em consequência da qual se inicia um novo ciclo éstrico. O défice em estradiol atrasa o processo de luteólise,

o que favorece a persistência do CL (Wilson et al., 1998). Conseqüentemente, nos meses quentes de Verão há tendência a observarem-se intervalos interéstricos mais longos (Stott e Williams, 1962).

O *stress* térmico também irá traduzir-se em falhas na detecção de estro ocasionadas pela presença de estro silencioso ou pela redução da duração e da intensidade do cio. A maioria dos estudos relatam que os níveis de hormona luteinizante (LH) diminuem em condições de calor o que implica que, no verão, o folículo dominante se desenvolva num ambiente com uma concentração baixa de LH, o que resulta na secreção reduzida de estradiol a partir do folículo dominante, levando à fraca expressão de estro. No verão a atividade motora e as outras manifestações de estro são reduzidas e a incidência de ovulações silenciosas aumenta. Estes efeitos conduzem a uma redução do número de montas durante o tempo quente, conduzindo ao aumento da não detecção de estros (Rensis & Scaramuzzi, 2003).

Um aumento de 0,5°C na temperatura uterina reduz 12,8% a taxa de concepção e um aumento de 1°C na temperatura retal, até 12 horas após a inseminação, ocasionou uma redução na taxa de gestação de 61 para 45% (Ferreira, 2005, citado por Silva, Leão, Marques, Rodrigues, Silva & Viu, 2014). Morrison (2000), citado por Silva, Leão, Marques, Rodrigues, Silva & Viu (2014) relata que uma vaca leiteira começa a responder fisiologicamente à elevação da temperatura ambiente quando esta atinge mais de 22°C, e o desempenho reprodutivo é afetado quando a temperatura ambiente está acima de 32°C.

A ocorrência de maior *stress* térmico leva a um aumento de calor metabólico e a um maior gasto energético na dissipação de calor, resultando em maior taxa de mortalidade embrionária, principalmente no início da gestação onde o risco de perda do embrião é muito superior. Devido aos efeitos negativos do *stress* térmico, identificados entre 42 dias antes e 40 dias depois da inseminação, devem ser providenciadas medidas de arrefecimento dos animais nos estábulos (Jordan, 2003).

O uso de métodos de arrefecimento dos animais e dos pavilhões melhora a fertilidade das vacas em *stress* térmico (Jordan, 2003). A abordagem mais comum para amenizar o *stress* térmico nos países desenvolvidos passa por alterar o ambiente da vaca através do fornecimento de sombra, ventoinhas, aspersores e assim por diante. No entanto, a variação sazonal na reprodução persiste (Hansen & Aréchiga, 1999). Abordaremos o tema do arrefecimento mais detalhadamente posteriormente.

Este fato levou à necessidade de encontrar estratégias adicionais para reduzir as conseqüências deletérias do *stress* térmico sobre a reprodução. Estas incluem a realização

de protocolos de inseminação artificial a tempo fixo, que podem reduzir perdas reprodutivas causadas por ineficiente detecção de estros, e as transferências embrionárias, que podem aumentar a taxa de concepção por permitir aos embriões escapar o período em que são mais sensíveis a temperaturas elevadas, ou seja, nos primeiros dias após a fertilização. O uso de protocolos de inseminação artificial a tempo fixo pode minorar os problemas de detecção de estro causados pelo *stress* térmico, mas não é uma medida suficiente para restabelecer as taxas de concepção de uma vacada para um nível registado em climas frios, uma vez que não tem implicação nas consequências graves do *stress* térmico para a embriogénese, que continuam a existir (Hansen & Aréchiga, 1999).

O que fazer para minimizar o problema?

Beede e Collier (1986), citados por West (1999) identificaram três estratégias de manejo que minimizam os efeitos indesejáveis do *stress* térmico: modificação física do ambiente; desenvolvimento genético de raças termotolerantes; aplicação de práticas de gestão nutricionais mais adequadas.

1. Alterações na dieta

Torna-se necessário fazer algumas mudanças na dieta durante o tempo quente para manter a capacidade de ingestão, aumentar a densidade nutricional da dieta ou para restabelecer a homeostasia. A formulação para o arração adequado é um desafio uma vez que há que ter em conta a competição entre a densidade de nutrientes e as outras necessidades da vaca, como a densidade energética e quantidade de fibra adequada (West, 1999). Ainda assim, é importante ter em conta que a reformulação da dieta não previne a ocorrência de *stress* térmico (Robinson, 1998).

Entre as modificações alimentares durante o tempo quente destacam-se:

- A redução de quantidade de forragem da dieta: uma vez que existe uma maior produção de calor associada com o metabolismo do acetato quando comparado com o propionato, aconselham-se os arraçamentos com baixo teor de fibra. Alimentando os animais com maior quantidade de concentrados, em detrimento de alimentos fibrosos/forrageiros, aumentamos a densidade de energia da ração, reduzindo a produção de calor associada ao metabolismo. Esta prática é comum durante o tempo quente mas o benefício máximo da alimentação à base de concentrados verifica-se quando estes são aproximadamente 60 a 65% da dieta (Coppock, 1985, citado por West, 1999). A alimentação excessiva com concentrados conduz à acidose e às falhas na produção, na saúde e no metabolismo

associadas. A dieta deve, portanto, ser equilibrada com vista à necessidade de quantidade de fibra adequada para promover a mastigação, salivação, ruminação e consequente pH ruminal apropriado (West, 1999). Quando as vacas começam a sentir o calor (ou seja, a ingestão de matéria seca começa a diminuir), o teor de matéria seca da dieta deve ser reduzido. Geralmente diminui-se o rácio entre forragem e concentrado. É importante alimentar os animais com fibra da melhor qualidade possível (consequentemente com fermentação mais rápida) uma vez que assim se consegue menor calor de fermentação e maior valor energético. A redução de fibra bruta na dieta pode conduzir vacas mais propensas à acidose. Aconselha-se a adição de bicarbonato de sódio à dieta, entre 0,25% a 1% da quantidade de ingestão de matéria seca (Robinson, 1998).

-A utilização de gorduras e concentrados: a adição de gordura à dieta das vacas leiteiras é uma prática comum. A maior densidade de energia e o potencial de redução do incremento de calor de dietas ricas em gordura podem ser particularmente benéficos durante o tempo quente. A adição de 3 a 5% de gordura na ração pode ser conseguida sem efeitos tóxicos para a microflora ruminal (West, 1999). As gorduras animais e vegetais podem reduzir a palatabilidade da ração e/ou interferir com o crescimento da flora microbiana no rúmen. Nenhum destes efeitos é desejável. Assim, a utilização de gorduras deve ser realizada com cuidado nestes animais (Robinson, 1998).

- O aumento da densidade proteica: durante o tempo quente a densidade de proteína na dieta é muitas vezes aumentada para compensar a menor ingestão. Animais alimentados com dietas com 20,8% de proteína bruta apresentaram maior ingestão de matéria seca e produção de leite superior do que aqueles cujas dietas continham 14,3% de proteína bruta (West, 1999). O desafio consiste em fornecer energia suficiente na dieta que permita à vaca manter a produtividade. É particularmente importante, no que diz respeito à proteína, não só conhecer as necessidades da vaca como não as exceder (Robinson, 1998).

- O aumento da quantidade de água à disposição: a água é o nutriente mais importante para as vacas leiteiras e a necessidade de consumo é intensificada nos animais submetidos a condições climáticas quentes. A água deve estar disponível a todos os animais e distribuída pelos pavilhões, em zonas de passagem e de fácil acesso. Tornar as áreas de alimentação o mais confortáveis possível, através de sombreamento e/ou sistemas de arrefecimento aumenta a frequência do abeberamento e, consequentemente, a quantidade de ingestão de água (West, 1999).

- Minerais: em geral, a densidade de minerais na ração deve ser aumentada em relação ao declínio no índice de ingestão. Devido à transpiração, o teor em sódio da dieta deve ser aumentado mais rapidamente do que o declínio do índice de ingestão (Robinson, 1998).

As dietas ricas em fibra resultam na produção de grandes quantidades de acetato no rúmen, que é utilizado com menos eficiência do que o propionato. A eficiência da utilização de energia metabolizável a partir de dietas com alto teor de fibra é menor do que para as dietas ricas em carboidratos fermentescíveis, fornecendo a base teórica para a prática da alimentação com dietas pobres em fibra durante o tempo quente. As dietas com baixo teor em fibra devem ser implementadas com cautela devido à necessidade de fibra suficiente para promover o funcionamento adequado do rúmen e manter a saúde e o bem-estar do animal. As gorduras alimentares não representam um acréscimo muito elevado de calor no organismo uma vez que a vaca as usa muito eficientemente (West, 1999).

As vacas estabuladas em pavilhões de laterais abertas com iluminação natural preferem comer nas horas imediatamente antes e depois do amanhecer, bem como nas horas imediatamente antes do anoitecer. Este padrão torna-se ainda mais evidente durante a estação quente. Assim, para maximizar a ingestão de matéria seca, o autor defende a ideia de que se deve fornecer a alimentação quando os animais querem comer e não só quando é conveniente alimentá-los. Em geral, deve fornecer-se cerca de 65% da ração entre as 18 e 19 horas, aproximadamente (ou seja, 3 a 4 horas antes do anoitecer), sendo o restante fornecido antes das 5 horas (ou seja, próximo da madrugada). Deste modo, pensa-se que a ingestão de matéria seca será maximizada e a maior parte do calor de fermentação irá ser produzida durante as horas mais frescas da manhã e no início da noite (Robinson, 1998).

2. Sistemas de arrefecimento

Devem tomar-se medidas nas vacarias, tornando o ambiente externo mais agradável, no sentido de ajudar os animais a baixar a temperatura corporal e, conseqüentemente, a não baixar a produção. Segundo Jones e Stallings (1999) e resumidamente, algumas dessas medidas são:

- Aumento da quantidade de água a disposição, mantendo-a fresca, à sombra e os tanques limpos;
- Assegurar que os animais têm zonas de sombra suficientes para o tamanho do grupo;
- Utilizar ventoinhas (sempre ligadas) e aspersores (ativos a cada 15 minutos) para reduzir a temperatura ambiente, principalmente nas zonas de manjedoura e na sala de espera para a

ordena (Jones & Stallings, 1999). Uma das estratégias mais utilizadas para aliviar os efeitos do *stress* térmico é a pulverização de água sobre os animais, de forma a molhar-lhes a pele e, de seguida, facilitar a evaporação através de ventilação forçada. Esta abordagem reduz a temperatura corporal e aumenta a produção leiteira. O seu efeito sobre a baixa fertilidade de verão é, no entanto, limitado (Friedman, Roth, Voet, Lavon & Wolfenson, 2012).

- Ter atenção aquando da construção dos pavilhões e providenciar algumas medidas como por exemplo elevar o teto para permitir o fluxo de ar natural e deixar uma faixa no cume do telhado aberta para que o ar quente saia do pavilhão mais facilmente, colocar paredes baixas nas laterais e topos do pavilhão (Jones & Stallings, 1999).

3. *Maneio hormonal*

A redução da fertilidade nas vacas leiteiras durante os períodos de temperatura e humidade elevadas pode estar associada com a baixa concentração de progesterona plasmática. O alívio do *stress* térmico através dos métodos de arrefecimento é um pré-requisito para melhorar a fertilidade recorrendo ao tratamento hormonal (Friedman, Roth, Voet, Lavon & Wolfenson, 2012).

A colocação de um dispositivo intravaginal de progesterona (CIDR) no dia 5 pós-inseminação teve um efeito substancial sobre a fertilidade de subpopulações de vacas, particularmente nos animais com baixo índice de condição corporal, diagnosticados com distúrbios reprodutivos pós-parto ou ambos. Estes dispositivos foram removidos 13 dias após colocação. O resultado mais importante deste estudo foi precisamente a conclusão de que o tratamento com CIDR melhora a fertilidade de verão em vacas com baixo índice de condição corporal determinado no pico da lactação. Os mecanismos fisiológicos subjacentes a esta melhoria ainda não são claros (Friedman, Roth, Voet, Lavon & Wolfenson, 2012).

Outro estudo recente (Friedman et al., 2011, citado por Friedman, Roth, Voet, Lavon & Wolfenson, 2012) indica que a administração de GnRH e PGF2a para induzir sucessivas ondas foliculares é eficaz na melhoria da fertilidade de subpopulações de vacas no verão com alto índice de condição corporal e de vacas primíparas.

A redução da fertilidade durante o verão é um problema multifatorial e há, portanto, a necessidade recorrer a soluções também multifatoriais. A combinação de sucessivas administrações de GnRH e de PGF2a antes da inseminação artificial, seguido da suplementação com progesterona após a inseminação teve um efeito positivo sobre o

desempenho reprodutivo em 3 subgrupos de vacas: as diagnosticadas com doença uterina pós-parto; aquelas com baixos índices de condição corporal no pico de lactação; e as vacas com baixa produção de leite (Friedman, Voet, Reznikov, Wolfenson & Roth, 2014).

Em suma, a gestão reprodutiva durante o verão deve basear-se nos métodos de arrefecimento intensivo combinados com o tratamento hormonal, quando necessário. Uma vez que diferentes subgrupos de vacas beneficiaram diferentemente dos tratamentos, a administração hormonal selectiva e dirigida para o animal em causa, consoante a sua condição física, reprodutiva e de produção, deve ser considerada (Friedman, Voet, Reznikov, Wolfenson & Roth, 2014).

Diagnóstico de gestação

Ter um programa reprodutivo adequado à exploração e fazer diagnósticos de gestação oferece diversas vantagens e auxilia o produtor nas decisões sobre os animais e a exploração, como por exemplo:

- Na decisão de abate de vacas com excesso de dias em aberto ou com patologias reprodutivas/ problemas de produção;
- Na gestão de número de partos e previsão dos mesmos;
- No fornecimento da possibilidade de agrupar as vacas por fases do ciclo de forma a facilitar a logística (diferentes necessidades alimentares nos grupos de pré-parto, pós-parto, acompanhamento mais eficiente dos animais).

Os potenciais benefícios económicos do diagnóstico de gestação incluem abate oportuno, economia de custos pela não manutenção de vacas que não iriam proporcionar retornos económicos, maior produção leiteira e fornecimento de informações de forma a permitir o planeamento das necessidades de substituição (Whittier, 2013).

Métodos de diagnóstico

Na indústria leiteira, para além dos métodos químicos e analíticos, estão disponíveis dois métodos físicos para diagnóstico de gestação: a palpação transretal e a ecografia transretal. O principal objetivo no diagnóstico precoce de gestação, em particular nos bovinos leiteiros, mais do que identificar gestações é identificar as vacas vazias, para que se possa corrigir o seu manejo, seja tratando ou refugando (Oltenacu et al., 1990). O diagnóstico precoce de não gestação permite uma gestão e tomada de decisão também ela precoce, permitindo aos

produtores aumentar a performance reprodutiva e económica das suas explorações (Oltenu et al., 1990). Uma deteção precoce de não gestação permite a recolocação da vaca vazia no grupo das fêmeas a beneficiar ou de entrar num programa de controlo hormonal com inseminação a tempo fixo (*Ovsynch*), o que conseqüentemente permite diminuir os intervalos entre partos aumentando a rentabilidade da exploração (Oltenu et al., 1990).

Palpação transretal

A palpação transretal é um método de diagnóstico que pode ser usado 32 dias após a monta natural, a inseminação artificial ou a transferência embrionária. O primeiro registo que há de um diagnóstico de gestação feito por palpação transretal data do início de 1800 (Cowie, 1948). Atualmente a palpação rectal é o método mais utilizado em vacas para diagnóstico de gestação aos 32 dias após a beneficiação e é uma prática comum nos Médicos-Veterinários que trabalham nesta área. A importância de uma técnica sistemática e não traumática de palpação transretal não deve ser negligenciada, uma vez que a morte embrionária pode ser induzida acidentalmente (Parmigiani et al., 1978). A informação disponível acerca do potencial efeito nefasto da palpação transretal na viabilidade embrionária é contraditória e a experiência/cautela do técnico que a executa é determinante no potencial nefasto associado à técnica. Alguns estudos sugerem a possibilidade da ocorrência de efeitos adversos associados à indução de lesões graves no embrião ou membranas embrionárias que comprometem o seu desenvolvimento subsequente (White et al., 1989; McLeod & Williams, 1991). Outros estudos minimizam os efeitos da palpação transretal nas taxas de concepção (Thompson et al., 1994). A proximidade do trato reprodutivo da vaca com o reto e a sua elasticidade permitem que um operador treinado possa detetar características do aparelho reprodutor que coincidem com um diagnóstico positivo ou negativo de gestação. Foram determinados quatro sinais cardinais de gestação, de forma a que o diagnóstico possa ser fiável: o deslocamento da membrana córion-alantóica quando é aplicada pressão diferencial no corno uterino (chamado de "*membrane slip*"); a palpação da vesícula embrionária, que tem pressão suficiente para ser reconhecida até aos 65 a 70 dias de gestação; a palpação do feto, que pode ser detetado logo que a vesícula embrionária perde a sua turgescência, por volta dos 63 dias de gestação; a palpação dos placentomas (cotilédones e carúnculas associadas) na parede do útero grávido. O diagnóstico negativo de gestação é determinado por um análise aprofundada do útero, geralmente depois de estar retraído no chão da cavidade pélvica e da ausência de sinais cardinais de gestação ter sido cuidadosamente verificada (Whittier, 2013).

Tabela 2 - Tamanho fetal e características mais utilizadas na determinação dos tempos de gestação (adaptado de Whittier, 2013; Carolina Maia, comunicação pessoal, Agosto 2014).

Gestação		Tamanho fetal		Características
Esta dio	Dia s	Peso	Comprime nto	
I	30	0,28 g	1 cm	Um corno uterino ligeiramente aumentado e fino; vesícula embrionária com tamanho de uma pequena ervilha; útero em posição aproximada à do útero não gestante; as membranas fetais podem fazer-se deslizar entre os dedos de 30 a 90 dias. Meio polegar – 35 dias, 1 polegar – 42 dias.
	45	3,54 g - 7,09 g	2,54 cm - 3,18 cm	Corno uterino um pouco aumentado de tamanho, parede mais fina e proeminente; vesícula embrionária com tamanho de pequeno ovo. 2 polegares – 49 dias, 4 polegares – 56 dias.
	60	7,09 g - 14,18 g	6,35 cm	Corno uterino com 6,35 a 8,89 cm de diâmetro, cheio de líquido; feto com tamanho de murganho. 63 dias - sai da vesícula, presença de placentomas aos 70 dias, frêmito na artéria uterina ipsilateral aos 80 dias.
	90	85,05 g - 170,1 g	12,7 cm - 15,24 cm	Ambos os cornos uterinos aumentados de tamanho (10,16 a 12,7 cm de diâmetro); feto com tamanho de rato; artéria uterina com 0,32 a 0,48 cm de diâmetro; placentomas com 1,90 a 2,54 cm à palpação mas muito ténues ao tato.
II	120	453,60 g- 907,2 g	25,4 cm - 30,48 cm	Semelhante a 90 dias mas o feto já não se encontra na cavidade pélvica; feto com tamanho de pequeno gato com a cabeça do tamanho de um limão; artéria uterina com 0,64 cm de diâmetro e 3,81 cm de comprimento, mais palpável; cornos uterinos têm de 12,7 a 17,78 cm de diâmetro. 120 dias – <i>ballotement</i> .
	150	1,81 Kg- 2,72 Kg	30,48 cm - 40,64 cm	Palpação do feto difícil; cornos uterinos estão mais profundos na cavidade abdominal e têm cerca de 15,24 cm de diâmetro; feto com tamanho de gato grande; artéria uterina com 0,64 a 0,95 cm de diâmetro e os placentomas têm 5,08 a 6,35 cm de diâmetro.
III	180	4,54 Kg- 7,26 Kg	50,8 cm - 60,96 cm	Os cornos uterinos e o feto continuam fora de alcance; artéria uterina com 0,95 a 1,27 cm de diâmetro; os placentomas são maiores; do sexto mês em diante o movimento do feto pode ser provocado agarrando membros anteriores, posteriores ou focinho. 200 dias - frêmito bilateral das artérias uterinas (antes se gémeos).
	210	9,07 Kg- 13,6 Kg	60,96 cm - 78,74 cm	Desde os 7 meses até ao parto o feto pode ser palpado; o tempo de gestação é determinado principalmente pelas dimensões fetais; a artéria uterina continua a aumentar de tamanho e aos 210 dias tem 1,27 cm de diâmetro, aos 240 dias tem 1,27 a 1,59 cm de diâmetro e aos 270 dias tem 1,27 a 1,9 cm de diâmetro. 240 dias – presença do reflexo de sucção.
	240	18,14 Kg- 27,22 Kg	71,12 cm - 91,44 cm	
	270	27,22 Kg- 45,36 Kg	71,12 cm - 96,52 cm	

Ecografia transretal

A ecografia transretal é uma ferramenta não invasiva que permite observar o desenvolvimento embrionário e das membranas extra-embrionárias. A análise da textura ou a quantificação da intensidade dos pixels de uma imagem pode ser utilizada para inferir acerca da ultraestrutura dos tecidos (Herzog & Bollwein, 2007).

A sonda ecográfica é constituída por cristais piezoelétricos (geralmente de quartzo, alguns tipos de cerâmica), que quando estimulados com impulsos elétricos dilatam e contraem produzindo ondas ultrassônicas. As sondas podem ser do tipo sectorial ou linear. Uma sonda linear apresenta um grande número de cristais dispostos longitudinalmente o que resulta numa imagem de forma rectangular da região examinada. Estas sondas são preferíveis para ecografia dos órgãos reprodutivos em bovinos por via transretal porque a sua forma permite um maneió mais prático e seguro no interior do reto (Nyland, Mattoon & Wisner, 1995). A capacidade que os tecidos têm para refletir as ondas sonoras determina as suas características ecográficas. Os diferentes tipos de brilho da imagem provêm dos diferentes ecos recebidos. Assim, estruturas anecogénicas (líquido folicular, urina, fluído alantóico e amniótico) aparecem a preto uma vez que não reflectem as ondas sonoras e estruturas hiperecogénicas (osso, gás) aparecem a branco, enquanto as estruturas com ecogenicidade intermédia são representadas em diferentes tons de cinzento (Pierson, Kastelic & Ginther, 1988).

O método mais utilizado no exame ecográfico do trato reprodutivo é a imagem transretal. Como o trato reprodutivo está muito próximo da parede do reto, este método ecográfico permite o uso de sondas de elevada frequência (3.5, 5.0 e 7.5 MHz) que transmitem imagens extremamente detalhadas. A resolução das imagens aumenta com frequências elevadas, mas a penetração em profundidade diminui. A ecografia transretal requer precauções semelhantes às necessárias para a palpação transretal. Técnicos com uma grande prática de palpação tornam-se bons utilizadores da ecografia transretal (Fricke, 2002).

A identificação da distensão das paredes uterinas devido à presença de fluídos fetais por volta dos 18-19 dias de gestação, a observação do embrião por volta do dia 21 e do batimento cardíaco a partir do dia 24, tornam a ecografia o método mais precoce para diagnóstico de gestação (Kastelic, Northey & Ginther, 1991). A ecografia transretal, como método de diagnóstico de gestação, oferece algumas vantagens relativamente à palpação: diagnósticos de gestação mais precoces, determinação da viabilidade do embrião ou do

feto, a redução dos falsos positivos e a redução das potenciais perdas iatrogênicas (Romano & Magee, 2001).

Há duas características que fazem da utilização precoce da ecografia transretal uma boa opção, a segurança e a precisão. Foi já demonstrado em Medicina Veterinária que a ecografia transretal é uma técnica segura, que não afeta a viabilidade do embrião ou do feto (Baxter & Ward, 1997). O uso de novos protocolos de sincronização de cios para inseminação em tempo fixo (Wiltbank, 1998; Stevenson et al., 2000) requer um método precoce e fiável de diagnóstico de não gestação de modo a integrar esses animais num novo ciclo de sincronização. Alguns estudos recomendam o uso da ecografia transretal aos 25 ou 26 dias após a beneficiação (Fricke, 2002). A especificidade de um diagnóstico de gestação precoce deve estar próxima de 100% de forma a evitar a indução precoce do aborto, o refugo ou a venda desnecessária de fêmeas gestantes. Aos dias 25 e 26 pós-inseminação os valores de sensibilidade e especificidade não atingem ainda os 100% (Szenci et al., 1995; Filtean & DesCôteaux, 1998), pelo que existe a possibilidade de diagnosticar incorretamente um animal como não gestante (falso negativo). A estas fêmeas, diagnosticadas incorretamente como não gestantes, poderá ser administrada PGF 2α , causando desnecessariamente um aborto.

Curran, Kastelic e Ginther (1989) indicam que a vesícula embrionária pode ser vista pela primeira vez aos 11,7 dias de gestação, o preenchimento do corno ipsilateral ao CL aos 16 dias, e o contralateral aos 19 dias. O concepto é visualizado aos 20, os batimentos cardíacos aos 21, os membros anteriores aos 29 e os membros posteriores aos 31 dias de gestação. O embrião apresenta-se em forma de "C" entre 22 e 30 dias e de "L" entre 29 e 39 dias de prenhez. A vesícula alantóide é visualizada entre 23 e 27 dias, a fenda nos cascos entre 42 e 49 dias, os movimentos dos membros e da cabeça entre 42 e 50 dias e as costelas entre 51 e 55 dias. Pierson e Ginther (1987) localizaram uma estrutura alongada, anecogénica, no lúmen uterino (córion-alantóide) como indicativo de prenhez, podendo ser confundida com fluidos intraluminais patológicos ou fisiológicos do 17^o ao 18^o dia do ciclo éstrico até o 2^o dia do ciclo éstrico subsequente. Kastelic, Curran, Pierson e Ginther (1988) visualizaram a vesícula embrionária aos 20 dias com o embrião a medir 3 mm e os batimentos cardíacos aos 21 dias com diminuição da frequência aos 26 dias. Aos 23 dias o saco alantóide é visualizado na região ventral do embrião, aos 28 dias os membros anteriores, aos 31 dias o âmnios circundando o embrião com 14 mm e aos 35 dias os placentomas medindo 6x2 mm. Pierson (1989, citado por Barros & Visintin, 2001) descreveu 100% de exatidão no diagnóstico de gestação no 20^o dia após a ovulação, Boyd, Omran e Ayliffe (1990) obtiveram 33% de diagnósticos corretos aos 16 dias e 100% aos 20 dias e

Perry et al. (1990), citados por Barros & Visintin (2001) afirmaram que o tempo mínimo para alcançar eficácia no diagnóstico é 25 dias, pois há dificuldades na diferenciação do fluido fisiológico intraluminal do estro e do pró-estro com o cório-alantóico entre 18 e 21 dias. Totey et al. (1991), citados por Barros & Visintin (2001) visualizaram a vesícula embrionária entre 18 e 20 dias e o concepto aos 19 dias de gestação, e Santos e Neves (1994) observaram exatidão do método a partir do 18º dia da ovulação. Para a sexagem dos fetos, segundo Curran, Kastelic & Ginther (1989), a localização e a diferenciação da genitália externa são necessárias para distinguir o sexo. A estrutura visualizada é denominada tubérculo genital, apresentando-se hiperecótico, com 2 lóbulos alongados e de forma oval. No 48º dia de gestação, o tubérculo genital pode ser identificado à ecografia entre os membros posteriores, mas em posição ainda indefinida para avaliação dos sexos. A partir desta data inicia-se a migração do tubérculo genital em direção ao umbigo nos machos e à cauda nas fêmeas, originando o pênis e o clitóris, respetivamente. O tubérculo genital, para identificação dos sexos dos fetos, é observado pela primeira vez, após a migração, aos 56 dias nos machos e 53 dias nas fêmeas. O período ideal para a sexagem de fetos com máxima exatidão está ao redor dos 60 dias, com possibilidade de diagnóstico entre 55 e 120 dias de gestação (Curran, Kastelic & Ginther, 1989).

Vantagens e desvantagens de métodos de diagnóstico de gestação

De seguida apresenta-se uma tabela com as principais vantagens e desvantagens de 3 métodos de diagnóstico de gestação diferentes.

Tabela 3 – Vantagens e desvantagens dos métodos de diagnóstico de gestação: palpação transretal, ultrassonografia e exame sanguíneo (adaptado de Whittier, 2013).

Método de diagnóstico de gestação	Vantagens	Desvantagens
Palpação transretal	<ul style="list-style-type: none"> - Determinação imediata (em geral): permite fazer a triagem, separação e avaliação dos animais no local; - Sem necessidade de equipamentos para executar a técnica; - Permite fazer o estadiamento da gestação; - Em alguns casos permite a avaliação da viabilidade de determinados animais; - Bom para avaliar a presença/ausência de algumas malformações no feto; - Tem um custo moderado para o produtor. 	<ul style="list-style-type: none"> - É invasiva; - Requer muito tempo de aprendizagem para o operador; - Maior probabilidade de danos potenciais para o feto/vitelo (principalmente durante a fase de aprendizagem); - Depende da disponibilidade do veterinário; - Maior potencial de erro.
Ultrassonografia	<ul style="list-style-type: none"> - Determinação imediata (em geral): permite a triagem, separação e a avaliação dos animais no local; - Permite fazer o estadiamento mais preciso da gestação; - Excelente avaliação da viabilidade do embrião; - Boa avaliação da ausência de malformações no feto; - Determinação do sexo fetal e da gemelaridade; - Avaliação das estruturas ováricas. 	<ul style="list-style-type: none"> - Invasiva; - O equipamento necessário é caro; - Curva de aprendizagem mais íngreme para o operador; - Disponibilidade de veterinário com conhecimentos técnicos para a executar; - Potencial de erro; - Moderado/alto custo para o produtor;
Exame sanguíneo	<ul style="list-style-type: none"> - Muito menos invasivo; - Menos técnica necessária por parte do operador; - Possibilidade de o realizar mesmo quando não há nenhum Médico Veterinário disponível; - Equipamento relativamente barato; - Aprendizagem mais rápida por parte do operador; - Menor potencial de erro em gestações mais curtas. 	<ul style="list-style-type: none"> - Custo moderado/alto; - Não apresenta determinação imediata do estado dos animais; - Não permite o estadiamento da gestação; - Não permite a avaliação de viabilidade do embrião; - Não permite uma avaliação da presença ou ausência de malformações do feto/vitelo; - A pesquisa da glicoproteína de gestação ainda pode estar presente 100 dias após o último parto.

Prevalência de perdas embrio-fetais

A mortalidade embrionária é o fator mais importante na redução da eficiência reprodutiva nas vacas leiteiras (Ayalon, 1978). A importância destas perdas não é meramente técnica mas sobretudo económica (Thurmond & Picanso, 1993). Dados obtidos a partir de registos antigos tentam estimar o custo global anual da perda de gestação em aproximadamente 1,26 biliões de euros nos EUA (Gerritts et al., 1976, citado por Thurmond & Picanso, 1993) e 345 milhões de euros por ano no Reino Unido (Peters & Ball, 1995, citados por Thurmond & Picanso, 1993). Usando um modelo matemático, De Vries et al. (2005) estimaram que o custo por vaca por dia em aberto extra (após os 80 dias pós-parto) nos Estados Unidos da América variava entre 0,73 a 12 euros e ia subindo com o aumento dos dias em aberto. De Vries (2006) concluiu que o custo da perda de uma gestação era de cerca de 500 euros. Estes custos numa exploração com 600 gestações por ano podem rondar os 28108 euros por ano (Thurmond & Picanso, 1990).

Na melhor das hipóteses, quando um touro fértil monta uma vaca fértil, ou quando um técnico de inseminação artificial insemina uma vaca no momento fisiológico apropriado de um ciclo éstrico fértil com sémen de um touro fértil, a probabilidade de obtenção de um bezerro vivo a partir dessa gestação é de 60-70%. Este valor corresponde ao produto entre a percentagem de oócitos fertilizados, a proporção de oócitos fertilizados que sobrevivem ao reconhecimento materno da gestação, a proporção destes que permanecem vivos durante o período de transição entre a fase embrionária e a fase fetal, e a proporção de fetos que sobrevivem até ao parto (BonDurant, 2007).

Tabela 4 – Incidência das perdas de gestação consoante a idade gestacional (adaptado de Diskin & Sreenan, 1980, Inskoop & Dailey, 2005, Santos, Thatcher, Chebel, Cerri & Galvao, 2004, citados por BonDurant, 2007).

Idade gestacional (em dias)	Incidência de perdas (%)
0 (oócito pré-ovulatório)	Desconhecida
1	5-10
8	25-30
14-28	5-10
29-42	5-10
43-termo da gestação	5-12
Total	45-72

Grunert, Birgel, Vale & Junior (2005) apontam, como valores médios, 10% de falhas na fertilização, 22% de mortalidade embrionária precoce, 6% de mortalidade embrionária tardia e 5% de mortalidade fetal e aborto, correspondendo estes valores a um total de perdas de 43% desde a fertilização até ao parto.

Em vacas leiteiras inseminadas artificialmente a taxa de concepção média era, por volta dos anos 50, de cerca de 55%. 50 anos depois aproximava-se dos 30-40%. A taxa de fertilidade no efetivo leiteiro tem vindo a diminuir ao longo dos anos (Lucy, 2001), o que torna cada gestação particularmente valiosa. Nas vacas, considera-se que o período embrionário da gestação é até aos 45 dias (Committee on Bovine Reproductive Nomenclature, 1972) e a grande maioria dos casos de morte embrionária em bovinos ocorre durante este período (Ayalon, 1978). A maioria dos embriões perde-se antes do período crítico de reconhecimento materno da gestação (dia 16), pelo que a duração do ciclo éstrico não é afetada (Humblot, Dalla Porta & Schwartz, 1983). A maior percentagem de perdas ocorre entre os dias 8 e 16 (Diskin & Sreenan, 1980). Em geral, quando o intervalo entre a inseminação e o retorno ao estro excede a duração normal de 18 a 24 dias (Kummerferd et al., 1978), ou quando os níveis de progesterona no leite ou sangue baixam depois do dia 25 pós-inseminação (Humblot, Dalla Porta & Schwartz, 1983) devemos suspeitar da ocorrência de mortalidade embrionária. Não devemos esquecer que este intervalo pode ser afetado pela eficácia do método de deteção de estros utilizado na exploração.

Para animais de alta produção Santos, Thatcher, Chebell e Galvão (2004) indicam os valores de taxa de gestação apresentados na Tabela 5, o que corresponde a cerca de 60% de perdas durante a gestação.

Tabela 5 – Taxa de gestação em vacas leiteiras de alta produção consoante a idade gestacional (adaptado de Santos, Thatcher, Chebell & Galvão, 2004)

Dias de gestação	Taxa de gestação:
2	76%
6	(embriões viáveis: 50%)
28	40%
42	35%
90	32%
180	30%
Termo da gestação	28%

Na maioria dos casos de aborto, o diagnóstico etiológico não é possível e quando este é determinado, a infecção é uma das causas mais frequentes (Miller, 1986), embora nem sempre a presença ou a detecção de microorganismos seja indicação da causa do aborto. Estudos referem que abortos epidêmicos podem ser causados por agentes infecciosos que afetam desde a metade da fase fetal até ao termo, quando mais facilmente se observa a eliminação dos produtos de aborto (feto e placenta). Contudo, a maioria das perdas de gestação (tipo endêmico) ocorre durante os primeiros meses da gestação (Ayalon, 1978) quando a eliminação de um feto não é notada. Nesta fase inicial, o único sinal de perda de gestação é o retorno ao cio, o achado de uma fêmea em aberto ou a ausência de parto, quando era suposto aquela fêmea estar gestante. Smith e Stevenson (1995) referem uma taxa de “mortalidade embrionária tardia” de 12,4% em vacas e novilhas inseminadas após diferentes protocolos de sincronização de cios. Em 2003 Vasconcelos et al. reportaram uma taxa de 10,5% de perda de gestação entre os dias 28 e 42 de gestação em vacas leiteiras.

Erb e Holtz (1958, citados por Ayalon, 1978), consideram que um aumento no intervalo entre o serviço e o retorno ao estro para além do período de 17-25 dias reflete a existência de mortalidade embrionária. Os trabalhos de Tanabe e Casida (1949) realizados com o objetivo de distinguir morte embrionária de ausência de fecundação em vacas *repeat-breeders* (fêmeas anatomicamente normais com um mínimo de 4 serviços inférteis), revelaram que ao dia 3, 60,3% das vacas apresentavam um ovo, mas apenas 21,1% tinham um embrião normal no dia 34. Comparativamente, vacas normais exibem uma incidência de falha na fecundação e uma perda embrionária menores ao dia 35 (16 e 14,5% respetivamente) (Ayalon, 1978). Em estudos mais recentes, Inskeep e Dailey (2005) concluíram que a maioria das perdas de gestação (57%) ocorrem durante o desenvolvimento embrionário precoce, durante o período de um ciclo éstrico após a inseminação. Sreenan e Diskin (1983) sugerem que a perda da gestação ocorre pouco depois da fecundação, ocorrendo com maior frequência entre os dias 15 e 18. O período de desenvolvimento compreendido entre os dias 25 e 60 após a inseminação inclui o período embrionário tardio e o de desenvolvimento fetal precoce (Inskeep, 2004). A perda de gestação durante este período de desenvolvimento constitui uma pequena percentagem do total das perdas. Contudo, o impacto económico é significativamente maior, porque daí resulta uma extensão do intervalo interestro (De Vries, 2006).

Com base em taxas de fertilização de 90%, as taxas de mortalidade embrionária e fetal são de cerca de 40% e 56%, enquanto que as taxas de parto são de aproximadamente 55% e 40%, respetivamente em vacas leiteiras de rendimento médio e alto (Diskin & Morris, 2008). Com base em seis estudos, estima-se que as falhas de fertilização e as perdas embrionárias

precoces são de 20 a 45%, a mortalidade embrionária tardia e fetal variou entre 8 e 17,5%, enquanto que a estimativa de abortos tardios variou entre 1 e 4% (Humblot, 2001).

A prevalência da perda de gestação nestas duas últimas fases é mais fácil de estabelecer do que a de morte embrionária precoce, uma vez que a gestação pode ser diagnosticada por ecografia transretal a partir do dia 25 ou por palpação a partir do dia 32, sendo antes disso difícil de perceber se houve mortalidade ou se não chegou a haver gestação.

García-Ispuerto et al. (2006) indicam que as perdas de gestação registadas quando o segundo controlo, por volta dos 90 dias, foi negativo, apresentaram uma incidência de 7,8% (108/1391) num estudo que relaciona a falta de conforto térmico com as perdas de gestação. Este estudo também conclui que a gestação de gémeos é um fator favorável à perda e a presença de um CL acessório é um fator favorável à manutenção da gestação, sendo estes os fatores principais de manutenção ou perda da gestação até aos 90 dias.

A literatura apresenta dados muito variáveis no que respeita a taxas de mortalidade embrionária, fetal e aborto em vacas leiteiras de diferentes níveis de produção.

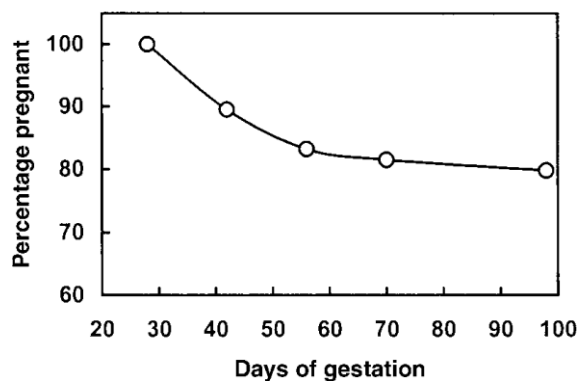


Figura 23 - Correlação entre a percentagem de vacas gestantes e os dias de gestação (de 28 a 98), em vacas de leite em lactação inseminadas com um protocolo a tempo fixo (Vasconcelos et al., 1997).

Objetivos

Objetivo geral

O principal objetivo do presente trabalho é estimular o aluno a pesquisar e a aprofundar conhecimentos sobre um tema específico (neste caso mortalidade embrio-fetal e aborto em vacas leiteiras), desenvolvendo, em simultâneo, as suas capacidades técnicas na área selecionada.

Objetivos específicos

- Conhecer:

- a incidência de mortalidade embrionária tardia e fetal em 3 explorações leiteiras da região do Alentejo;
- as causas mais frequentes de mortalidade embrionária tardia e fetal;
- as formas de diagnóstico de gestação mais utilizadas.

-Compreender qual a influência dos fatores de risco infecciosos e não infecciosos na incidência registada.

-Valorizar:

- os procedimentos médico-veterinários de diagnóstico de gestação;
- as medidas profiláticas para o controlo das causas infecciosas;
- as medidas para a redução de *stress* térmico nas vacarias.

Metodologia

Recolha de dados

A recolha de dados foi realizada durante 6 meses (de Agosto de 2014 a Janeiro de 2015) em 3 explorações de bovinos leiteiros (1, 2 e 3) situadas nos distritos de Portalegre (uma) e Évora (duas). As visitas foram semanais ou quinzenais e foram-se recolhendo dados sobre as perdas reprodutivas registadas em cada exploração, durante o controlo reprodutivo. Os diagnósticos de gestação, realizados pela autora por palpação transretal e por ecografia pela Dra. Carolina Maia e pelo Dr. Bruno Carneiro, foram feitos em primíparas e múltíparas em três controlos. O primeiro entre os 29 e os 36 dias de gestação, o segundo entre os 60 e 67 dias (na exploração 2 aos 80 dias) e um terceiro antes da secagem (220/230 dias de gestação) que apenas se realizou em alguns casos e que, por não ter validade estatística, não foi aqui contabilizado. Antes do primeiro diagnóstico não conseguimos contabilizar as perdas embrionárias e, por esse motivo, a mortalidade embrionária precoce não é foco de estudo. As vacas dadas como prenhes no primeiro controlo e encontradas vazias no segundo foram identificadas e contabilizadas, sendo calculada a incidência de mortalidade embrionária tardia e fetal (mortalidade embrio-fetal).

Foram contabilizadas as perdas entre 4 de Agosto de 2014 e 31 de Janeiro de 2015, nas três explorações, alinhando posteriormente os dados por número de marca auricular e só contabilizando animais com primeiro diagnóstico positivo e segundo positivo ou negativo. Num animal com diagnóstico de gestação positivo, aproximadamente aos 30 dias, e diagnóstico negativo aos, aproximadamente, 60 dias, entende-se que ocorreu uma perda.

As sorologias foram realizadas com base em soros sanguíneos de uma amostra de animais de cada uma das 3 explorações, entre os 9 a 12 meses, não vacinados, para BVD, IBR, *Neospora caninum*, *Clamydophila abortus* e *Leptospira hardjo* em colaboração com a MSD®, através do Dr. André Preto, no laboratório Ovislab®, em Barcelona. Realizaram-se, para cada agente, testes ELISA de deteção de anticorpos. Na exploração 1 testaram-se 10 animais, na 2 e 3 testaram-se 8 animais. Mais à frente, na Tabela 8, serão apresentados os critérios de interpretação das sorologias.

Caracterização das explorações

As 3 explorações mencionadas neste estudo apresentam efetivos bastante grandes para a realidade no nosso País (sempre superiores a 1000 animais) e localizam-se em áreas geográficas com características edafoclimáticas semelhantes. Os valores apresentados na Tabela 5 são valores médios, calculados com base num intervalo de 365 dias para cada uma das explorações.

Tabela 6 – Caracterização das três explorações em estudo.

Exploração	1	2	3
Efetivo	1058 animais 549 vacas 509 novilhas	1017 animais 586 vacas 431 novilhas	2175 animais 1248 vacas 927 novilhas
Nº de animais em ordenha	488	538	1126
Taxa de conceção (média)	36,31%	29,59%	31,97%
Período Voluntário de Espera	60 dias-multíparas 70 dias-primíparas	70 dias	60 dias
Intervalo entre partos (média)	400,1 dias	416,2 dias	412,1 dias
Intervalo parto/1ºserviço (média)	71,76 dias	73,23 dias	73,03 dias
Média de produção leiteira diária	41,27 L	40,56 L	37,42 L
Tipo de exploração	Fechada	Fechada	Fechada
Tipo de vacinas utilizadas	BVD- inativada	BVD- inativada	BVD- inativada
	IBR- viva marcada	IBR- viva marcada	IBR- viva marcada

Resultados

A incidência de perdas calculada foi de 2,70% (8 perdas em 296 gestações) para a exploração 1; 4,57% (18/394) para a exploração 2 e 4,08% (17/417) para a exploração 3 como demonstrado na Tabela 7.

Tabela 7 – Taxas de concepção e perdas registradas nas 3 explorações entre os 30 e 60 dias.

Exploração	N	Taxa de concepção (%)		Perdas (%)
		30 dias	60 dias	
1	296	100%	97,30%	2,70%
2	394	100%	95,43%	4,57%
3	417	100%	95,92%	4,08%
Total	1107	100%	96,12%	3,88%

De seguida apresentam-se os resultados das sorologias efetuadas nas 3 explorações, em colaboração com a MSD®, representada na pessoa do Dr. André Preto. Na exploração 2 não foi possível efetuar sorologias para os 5 agentes (BVD, IBR, *Neospora caninum*, *Clamydophila abortus* e *Leptospira hardjo*) pesquisados nas explorações 1 e 3, apenas 2 agentes foram pesquisados (BVD e IBR). Na exploração 3 fez-se também pesquisa de IBR (gE).

Tabela 8 – Critérios de interpretação das sorologias (MSD®, 2015).

Agente	Técnica	Resultados
BVD (Gp53/P80)	ELISA	Positivo ≥ 50
IBR (gB)	ELISA	Positivo ≥ 35
<i>Neospora caninum</i>	ELISA	Positivo ≥ 6
<i>Clamydophila abortus</i>	ELISA	Positivo ≥ 20
<i>Leptospira hardjo</i>	ELISA	Positivo/Negativo

Tabela 9 – Resultado das sorologias da exploração 1.

Amostra	BVD (Gp53/P80)	IBR (gB)	<i>Neospora caninum</i>	<i>Clamydophila abortus</i>	<i>Leptospira hardjo</i>
1	134	7960	<1	81	Negativo
2	<10	7483	<1	42	Negativo
3	<10	<10	3	101	Negativo
4	<10	288	<1	107	Negativo
5	<10	<10	<1	101	Negativo
6	<10	<10	<1	33	Negativo
7	<10	<10	<1	68	Negativo
8	<10	<10	<1	40	Negativo
9	<10	<10	<1	95	Negativo
10	<10	7524	<1	27	Negativo

Tabela 10 – Resultado das sorologias da exploração 2.

Amostra	BVD (Gp53/P80)	IBR(gB)
1	13	<10
2	<10	<10
3	<10	<10
4	<10	<10
5	<10	<10
6	12	<10
7	<10	<10
8	<10	<10

Tabela 11 – Resultado das sorologias da exploração 3.

Amostra	BVD (Gp53/P80)	IBR (gB)	IBR (gE)	<i>Neospora caninum</i>	<i>Clamydophila abortus</i>	<i>Leptospira hardjo</i>
1	<10	1473	Negativo	<1	108	Negativo
2	<10	3479	Negativo	<1	91	Negativo
3	<10	7283	Negativo	<1	98	Negativo
4	<10	3479	Negativo	<1	81	Negativo
5	<10	1394	Negativo	<1	50	Negativo
6	<10	4997	Negativo	<1	38	Negativo
7	<10	1003	Negativo	<1	32	Negativo
8	<10	1047	Negativo	<1	40	Negativo

-Exploração 1: 1 animal positivo em 10 testados a BVD, 4 animais positivos em 10 testados a IBR, todos os animais testados negativos a *Neospora caninum*, todos os animais testados positivos a *Clamydophila abortus*, todos os animais testados negativos a *Leptospira hardjo*.

-Exploração 2: todos os animais testados negativos a BVD e IBR. Não foi realizada sorologia para *Neospora caninum*, *Clamydophila abortus* e *Leptospira hardjo*.

-Exploração 3: todos os animais testados negativos a BVD, todos os animais testados positivos a IBR glicoproteína B (gB) e negativos a IBR glicoproteína E (gE), todos os animais testados negativos a *Neospora caninum*, todos os animais testados positivos a *Clamydophila abortus*, todos os animais testados negativos a *Leptospira hardjo*.

Discussão

A incidência de perdas, aproximadamente entre os dias 30 e 60 de gestação, na exploração 1 foi de 2,70% (8 perdas em 296 gestações), na exploração 2 foi de 4,57% (18/394) e na exploração 3 foi de 4,08% (17/417) o que segundo BonDurant (2007), Grunert, Birgel e Junior (2005), Vasconcelos et al. (2003), Humblot (2001) e García-Ispuerto et al. (2006), são valores razoáveis para esta fase de gestação. Estes autores apontam valores entre 5 e 17,5% de perdas, no período mencionado, como valores médios e, portanto, valores inferiores a estes como metas a atingir.

As sorologias foram realizadas a animais entre os 9 e os 12 meses, não vacinados. Apesar das mães estarem vacinadas, a partir dos 6 meses considera-se que já não há imunidade maternal e, por esse motivo, as sorologias fizeram-se a partir dessa idade. Animais entre os 6 a 12 meses de idade, não vacinados, podem ser usados como “animais sentinela” (Parkinson, 2009).

A exploração 1 apresenta apenas um animal positivo a BVD entre os 10 testados, podendo ser um acaso de amostragem, sendo, por exemplo, um animal mais velho, cujo soro foi testado entre os das novilhas, e que já contactou anteriormente com o agente. Eventualmente pode ser uma novilha que tenha contactado com um animal mais velho ou com equipamento de um tratador. Também poderia corresponder a um animal comprado se a exploração fosse aberta, o que neste caso não se aplica uma vez que as 3 explorações são fechadas e não compram animais. Este dado indica-nos a ausência de PI's nos jovens da exploração. Poderia sugerir a realização de PCR em leite de tanque para aferir o estado sanitário dos adultos. Em relação a IBR, há 4 animais positivos à gB, o que sugere que este agente possa ser um problema nesta exploração, uma vez que os animais analisados não haviam sido ainda vacinados. Poderemos pensar que os animais positivos contactaram com o vírus de campo ou com antigénio vacinal, podendo haver circulação deste agente na exploração. Seria útil fazer, para os animais positivos, pesquisa de IBR (gE) de forma a saber se se tratam de animais com contacto com o antigénio vacinal ou viral. Também seria útil fazer, passado pouco tempo, novas sorologias, ou seja, análises ao soro destes 4 animais de forma a perceber se os títulos têm tendência a aumentar ou a diminuir. As novilhas testadas são filhas de mães vacinadas para BVD e IBR. Em relação a *Clamydophila abortus*, todos os animais mostraram anticorpos contra este agente. O produtor deve manter-se alerta principalmente aos abortos do último terço de gestação e, caso aconteçam, enviar os fetos para análise e fazer antibioterapia nos animais em risco. A oxitetraciclina de longa ação (20 mg/kg, intramuscular) é a mais utilizada nas infeções por *C.*

abortus nos animais de produção (Longbottom & Coulter, 2003). Pode ser administrada em injeção única ou repetida 3 a 5 dias depois (respeitando o intervalo de segurança para leite do produto utilizado) (BonDurant, 2007). A administração de antibióticos durante um surto não elimina a infecção do rebanho, mas reduz a replicação do microrganismo, a gravidade dos sinais clínicos e aumenta o número de nascimentos de animais vivos. Para resultados mais satisfatórios, o tratamento deve ser iniciado após o 90º dia de gestação e deve administrar-se uma segunda dose duas semanas após a primeira (Buxton, Barlow, Finlayson, Anderson & Mackellar, 1990; Longbottom & Coulter, 2003). A testagem para *Neospora caninum* e *Leptospira hardjo* revelou-se negativa pelo que o produtor pode estar descansado no que respeita à influência destes 2 agentes.

Na exploração 2 verificou-se que, sendo as sorologias negativas tanto para BVD como para IBR, e estando a incidência de perdas embrionárias e fetais entre o primeiro e o segundo controlos reprodutivos, dentro dos valores tidos como razoáveis, não parece existir motivo para preocupação. Por essa razão, não se realizaram sorologias para os restantes agentes, sendo este o procedimento de rotina.

Na exploração 3 os resultados das sorologias foram negativos para BVD, o que é indicativo da ausência do agente em circulação. Já os resultados para IBR não foram tão lineares, estando todos os animais positivos a gB e negativos a gE, o que acabou por se revelar um excelente sinal da ausência do agente na exploração. Sugere-se que a positividade a gB se deva, por exemplo, à presença de animais com menos de 9 meses no lote testado, filhos de mães vacinadas com vacinas marcadas (gE deletada) ou animais já vacinados com vacina marcada. Os títulos para gB revelam-se, apesar de positivos, baixos, uma vez que quando os animais são francamente positivos estes rondam os 7000/8000, apenas se aproximando um dos animais destes valores. Poderia também ter-se feito uma sorologia pareada, passado 2 ou 3 meses, a estes animais para verificar se havia redução ou aumento do título de anticorpos. Poderia sugerir-se a vacinação dos jovens entre os 3 e os 4 meses de idade com uma vacina marcada, intranasal e vacinando, de seguida, semestralmente. Neste caso a monitorização constante da exploração é muito importante, através da realização de sorologias sanguíneas a lotes de animais jovens não vacinados para averiguação da possível circulação do agente na exploração. Relativamente à sorologia de *C. abortus*, mais uma vez esta foi positiva em todos os animais testados, o que indica a presença deste agente na exploração. Seria recomendável a vigilância dos abortos tardios (com recolha de amostras – feto, secreções vaginais, placenta - para análise) e antibioterapia com oxitetraciclina (BonDurant, 2007) nos animais abortados e em risco, tal como recomendado

para a exploração 1. Consideraria em risco os animais próximos do animal abortado, neste caso animais do mesmo pavilhão/grupo, principalmente os gestantes.

Todas as explorações estão localizadas no Alentejo, onde se fazem sentir, durante o Verão temperaturas muito elevadas. As perdas que originaram estas incidências foram detetadas e contabilizadas entre Agosto de 2014 e Janeiro de 2015, mas apesar de sabermos que ocorreram entre o primeiro e segundo diagnósticos de gestação, não é possível saber em que dia ocorreram, pelo que não se podem relacionar diretamente com o *stress* térmico que se faz sentir nestas explorações durante os meses quentes de Verão e que, como sabemos, é causador também de perdas. As temperaturas diárias entre explorações foram semelhantes, pelo que não parece que as diferenças entre as incidências de perdas possam ser causadas primordialmente por *stress* térmico, apesar de saber que este terá o seu peso em explorações localizadas nesta região, uma vez que as temperaturas que se fazem sentir durante o Verão, são sempre bastante elevadas. Surge então a questão de como lidar com o *stress* térmico. Uma vez que as 3 explorações apresentam eficazes sistemas de arrefecimento dos animais (ventoinhas e pulverização com água) recomendaria aos produtores que repensassem o maneio nutricional e hormonal utilizado e, se necessário, que instituíssem novas metodologias junto dos animais.

É importante ter em conta que a reformulação da dieta não previne a ocorrência de *stress* térmico (Robinson, 1998), apenas a atenua. De seguida são apresentadas algumas alterações a propor na dieta destes animais durante o verão.

Redução da quantidade de forragem da dieta: apesar de se aconselhar esta redução a dieta deve ser equilibrada com vista à necessidade de quantidade de fibra adequada para promover a mastigação, salivação, ruminação e conseqüente pH ruminal apropriado. Não é aconselhável levar a redução de forragem ao limite do que é fisiológico para o animal, uma vez que isso poderia provocar acidoses nos animais mais propensos. A alimentação excessiva com concentrados (neste caso provocada pela redução da forragem) conduz à acidose e às falhas na produção, na saúde e no metabolismo associadas (West, 1999). É importante alimentar os animais com fibra da melhor qualidade possível uma vez que assim se consegue menor calor de fermentação e maior valor energético. Aconselha-se a adição de bicarbonato de sódio à dieta, entre 0,25% a 1% da quantidade de ingestão de matéria seca (Robinson, 1998).

Utilização de gorduras e concentrados: a maior densidade de energia e o potencial de redução do incremento de calor de dietas ricas em gordura podem ser particularmente benéficos durante o tempo quente. A adição de 3 a 5% de gordura na ração pode ser

conseguida sem efeitos tóxicos para a microflora ruminal (West, 1999). Há que ter em conta que as gorduras animais e vegetais podem reduzir a palatabilidade da ração e/ou interferir com o crescimento da flora microbiana no rúmen. Assim, a utilização de gorduras deve ser realizada com cuidado nestes animais (Robinson, 1998).

Aumento da densidade proteica: durante o tempo quente a densidade de proteína na dieta é muitas vezes aumentada para compensar a menor ingestão (Robinson, 1998).

Aumento da quantidade de água à disposição: a água é um dos nutrientes mais importantes para as vacas leiteiras e a necessidade de consumo é intensificada nos animais submetidos a condições climatéricas quentes. A água deve estar disponível a todos os animais e distribuída pelos pavilhões, em zonas de passagem e de fácil acesso. Tornar as áreas de alimentação o mais confortáveis possível, através de sombreamento e/ou sistemas de arrefecimento aumenta a frequência do abeberamento e, conseqüentemente, a quantidade de ingestão de água (West, 1999).

Do ponto de vista hormonal poderia considerar-se a suplementação com progesterona e em fazer *Ovsynch* num maior número de animais. Aconselharia a suplementação com progesterona (CIDR) particularmente nos animais com baixo índice de condição corporal, diagnosticados com distúrbios reprodutivos pós-parto ou ambos (Friedman, Roth, Voet, Lavon & Wolfenson, 2012).

Alternativamente, e segundo Friedman, Roth, Voet, Lavon & Wolfenson (2012) seria considerada a administração de GnRH e PGF2a (*Ovsynch*) em animais com alto índice de condição corporal e em vacas primíparas.

No que diz respeito ao arrefecimento dos animais deve dar-se especial atenção ao aumento da quantidade de água à disposição dos animais; à existência de zonas de sombreamento consoante a quantidade de animais por lote; utilizar ventoinhas (sempre ligadas) e aspersores (ativos a cada 15 minutos) (Jones & Stallings, 1999). Deve ter-se atenção aquando da construção dos pavilhões de forma a providenciar algumas medidas como por exemplo: elevar o teto para permitir o fluxo de ar natural; deixar uma faixa no cume do telhado aberta para que o ar quente saia do pavilhão mais facilmente; colocar paredes baixas nas laterais e topos do pavilhão (Jones & Stallings, 1999, Friedman, Roth, Voet, Lavon & Wolfenson, 2012).

A redução da fertilidade durante o verão é um problema multifatorial e há, portanto, a necessidade recorrer a soluções também multifatoriais. Em suma, a gestão reprodutiva

durante o verão deve basear-se nos métodos de arrefecimento intensivo combinados com o tratamento hormonal. A terapêutica hormonal seletiva e dirigida para o animal em causa, consoante a sua condição física, reprodutiva e de produção, deve ser considerada (Friedman, Voet, Reznikov, Wolfenson & Roth, 2014).

Conclusão

A mortalidade embrionária e fetal é uma realidade a ter em conta na sustentabilidade económica das explorações leiteiras.

É um problema multifatorial, podendo as causas ter natureza infecciosa (virais, bacterianas, parasitárias e micóticas), não infecciosa (onde se destaca o *stress* térmico) ou ambas.

Nas três explorações estudadas verificaram-se valores tidos como normais, entre os 30 e os 60 dias de gestação. Os métodos de diagnóstico de gestação mais utilizados na rotina do médico-veterinário, em bovinos, são a palpação e a ecografia transretal. Os dois apresentam vantagens e desvantagens mas, o mais importante, é a destreza e experiência do operador.

É importante saber onde está o limite superior dos valores de perdas tidos como “normais” em cada fase de gestação, de forma a detetar situações-problema. Nesse caso, devem investigar-se as causas de natureza infecciosa, enquadrando caso por caso e recorrendo aos métodos de diagnóstico laboratoriais, e fazer uma avaliação das possíveis causas de natureza não infecciosa presentes. O *stress* térmico tem um peso considerável nas perdas registadas durante a estação quente e a abordagem deste problema deve ser, também, multifatorial. Destacam-se os métodos de arrefecimento, que devem ser utilizados nas explorações onde se fazem sentir, durante o verão, temperaturas superiores a 25°C; o manejo nutricional, de forma a minimizar o calor produzido pela digestão e a motivar a ingestão de alimento por parte dos animais; o manejo hormonal, que passa fundamentalmente pela suplementação com progesterona após a fecundação.

Na clínica de animais de produção, mais importante do que a unidade, é o todo, e portanto, é crucial saber fazer uma abordagem multifatorial de qualquer problema que surja, e perceber que não há “a” solução para o problema mas sim um conjunto de medidas a tomar que, no seu todo, poderão solucionar ou minimizar o que pretendemos.

Bibliografia

- Ackermann, M. & Engels, M. (2006). Pro and contra IBR-eradication. *Veterinary Microbiology*, 113, 293 – 302.
- Al-Katani, F., Paula-Lopes & F., Hansen, P. J. (2002). Effect of season and exposure to heat stress on oocyte competence in Holstein cows. *Journal of Dairy Science*. 85, 390-396.
- Anderson, M.L. (2007). Infectious causes of bovine abortion during mid- to late-gestation. *Theriogenology*, 68, 474-486.
- Ayalon, N. (1978). A review of embryonic mortality in cattle. *Journal of Reproduction Fertility*. 54, 483-493.
- Ball, P. J. H. & Peters, A. R. (2004). The postpartum period. *Reproduction in Cattle*. (3th ed.). Oxford, UK: Blackwell Publisher.
- Barros, B.J.P. & Visintin, J.A. (2001). Controle ultra-sonográfico de gestações, de mortalidades embrionárias e fetais e do sexo de fetos bovinos zebuínos. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 38 (2), 74-79.
- Bartolomé, J.A. (2009). Endocrinología y fisiología de la gestacion y el parto en el bovino. *Sitio Argentino de Producción Animal Web Site*. Acedido Fevereiro 20, 2015, em http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/cria_parto/05-parto_fisio.pdf.
- Baxter, S. J. & Ward, W. R. (1997). Incidence of fetal loss in dairy cattle after pregnancy diagnosis using a ultrasound scanner. *Veterinary Record*, 140, 287-288.
- Bazer, F. W., Geisert, R. D. & Zavy, M. T., (1993). Fertilization, cleavage and implantation. In E.S.E. Hafez (Ed.), *Reproduction in Farm Animals* (188-212). Philadelphia.
- Beer, M., Conraths, F.J. & Van Der Poel, W.H.M. (2012). Schmallenberg virus- a novel orthobunyavirus emerging in Europe. *Epidemiology and Infection*, 141, 1-8. Acedido Novembro, 3, 2015 em <http://journals.cambridge.org/action/displayAbstract?fromPage=online&aid=8776966&fileId=S0950268812002245>.
- Bolin, S.R. (1988). Viral and viral protein specificity of antibodies induced in cows persistently infected with noncytopathic bovine viral diarrhea virus after vaccination with cytopathic bovine viral diarrhea virus. *American journal of veterinary research*, 49 (7), 1040-1044.
- BonDurant, R.H. (2007). Selected diseases and conditions associated with bovine conceptus loss in the first trimester. *Theriogenology*, 68, 461-473.
- Bowen, J. A. & Burghardt, R. C. (2000). Cellular mechanisms of implantation in domestic farm animals. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 11, 93-104.

- Boyd, J.S., Omran, S.N. & Ayliffe, T.R. (1990). Evaluation of real time B-mode ultrasound scanning for detecting early pregnancy in cows. *Veterinary Record*, 127 (14), 350-352.
- Buxton, D., Barlow, R.M., Finlayson, J., Anderson, I.E. & Mackellar, A.(1990). Observations on the pathogenesis of *Chlamydia psittaci* infection of pregnant sheep. *Journal of Comparative Pathology*, 102 (2), 222-237.
- Cabell, E. (2007). Bovine abortion: aetiology and investigations. *In Practice*, 29, 455-463.
- Canada, N., Meireles, C.S., Ferreira, P., Costa, J.M.C. & Rocha, A. (2006). Artificial insemination of cows with semen in vitro contaminated with *Neospora caninum* tachyzoites failed to induce neosporis. *Veterinary Parasitology*, 139, 109-114.
- Canada, N., Carvalheira, J., Meireles, C. S., Costa, J. M. C. & Rocha, A. (2004). Prevalence of *Neospora caninum* infection in dairy cows and its consequences for reproductive management. *Theriogenology*, 62, 1229-1235.
- Canário, R., Simões, J., Monteiro, M.H. & Mira, J.C. (2009). Diarreia Viral Bovina: uma afecção multifacetada. *Veterinaria.com.pt*, 1 (2:e6). Acedido Junho 17, 2015, em http://www.veterinaria.com.pt/media/DIR_27001/VPC-I-2-e6.pdf.
- Chebel, R.C., Santos, J.E.P., Reynolds, J.P., Cerri, R.L.A., Juchem, S.O. & Overton, M. (2004). Factors affecting conception rate after artificial insemination and pregnancy loss in lactating dairy cows. *Animal Reproduction Science*, 84, 239-255.
- Committee on Reproductive Nomenclature (1972). Recommendations for standardizing bovine reproductive terms. *Cornell. Vet.* 62, 216-237.
- Collett, M.S., Anderson, D.K. & Retzel, E. (1988). Comparisons of the pestivirus bovine viral diarrhoea virus with the members of the flaviviridae. *The Journal of General Virology*, 69, 2637-2643.
- Cowie, A. T. (1948). Pregnancy diagnosis tests: A review Commonwealth Agricultural Bureaux. *Joint Publication*, 13, 1-283.
- Crowe, M. A. (2008). Resumption of ovarian cyclicity in post-partum beef and dairy cows. *Reproduction in Domestic Animals*, 43(5), 20-28.
- Curran, S., Kastelic, J.P. & Ginther, O.J. (1989). Determining sex of the bovine fetus by ultrasonic assessment of the relative location of the genital tubercle. *Animal Reproduction Science*, 19 (3-4), 217-227.
- De Vries, A. (2006). Economic value of pregnancy in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 89, 3876-3885.
- De Vries, A., Van Leeuwen, J. & Thatcher, W. W.(2005). Economics of improved reproductive performance in dairy cattle. *Institute of Food and Agricultural Sciences Extension Publication*. University of Florida.
- DeGraves, F.J. et al. (2004). Reinfection with *Chlamydia abortus* by uterine an indirect cohort routes reduces fertility in cattle preexposed to *Chlamydia*. *Infection and Immunity*, 72(5), 2538-2545.

- Demmers, K. J., Derecka, K. & Flint, A. (2001). Trophoblast interferon and pregnancy. *Reproduction* 121, 41-49.
- Diskin, M.G. & Morris, D.G. (2008). Embryonic and early foetal losses in cattle and other ruminants. *Reproduction in Domestic Animals*, 43 (2), 260–267.
- Diskin, M.G. & Sreenan, J. M. (1980). Fertilization and embryonic mortality rates in beef heifers after artificial insemination. *Journal of Reproduction Fertility*. 59, 463-468.
- Dubey, J. P., Schares, G. & Ortega-Mora, L. M. (2007). Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. *Clinical Microbiology Reviews*, 20, 323-367.
- Dubey, J.P. & Lindsay, D.S. (1996). A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Revista de Medicina Veterinária Parasitologia*, 67, 1-59.
- Erb, R. E. & Holtz, E. W. (1958). Factors associated with estimated fertilization and service efficiency of cows. *Journal of Dairy Science*, 41, 1541-1552.
- European Food Safety Authority (EFSA) (2014). Schmallenberg virus: state of art. *EFSA Journal* 2014, 12 (5):3681, 1-11. Acedido Outubro 20, 2015, em http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/scientific_output/files/main_documents/3681.pdf.
- Everett, K.D. (2000). Chlamydia and Chlamydiales: more than meets the eye. *Veterinary Microbiology*, 75(2), 109-126.
- Filteau, V., & Descôteaux, L. (1998). Predictive values of early pregnancy diagnosis by ultrasonography in dairy cattle. *The Bovine Proceedings*, 31, 170-171.
- Forde, N., Beltman, M.E. Lonergan, P., Diskin, M., Roche, J.F. & Crowe, M.A. (2011). Oestrous cycles in *Bos taurus* cattle. *Animal Reproduction Science*, 124, 163-169.
- Fortunato, M., Guerreiro, D.S. & Stilwell, G..(2010). *Neospora caninum* como causa de aborto bovino em explorações leiteiras. *Vaca Leiteira*. XVIII (111).
- Fossum, T.W. et al. (1997). Surgery of the Digestive System/ Part II: Soft Tissue Surgery. In *Small Animal Surgery* (308-309). Missouri: Mosby-Year Book, Inc.
- Freitas, J.G. & Silva, A.R. (2008). Diagnóstico de gestação em cadelas. *Revista brasileira de reprodução animal*, 32 (1), 58-66.
- Fricke, P. M. (2002). Scanning the future-ultrasonography as a reproductive management tool for dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 85, 1918-1926.
- Friedman, E., Roth, Z., Voet, H., Lavon, Y. & Wolfenson, D. (2012). Progesterone supplementation postinsemination improves fertility of cooled dairy cows during the summer. *Journal of Dairy Science*, 95, 3092-3099.
- Friedman, E., Voet, H., Reznikov, D., Wolfenson, D. & Roth, Z. (2014). Hormonal treatment before and after artificial insemination differentially improves fertility in subpopulation of dairy cows during the summer and autumn. *Journal of Dairy Science*, 97, 7465-7475.

- Fuchs, A. (1987). Prostaglandin F_{2α} and oxytocin interactions in ovarian and uterine function. *Journal of Steroid Biochemistry*, 27, 1073-1080.
- García-Ispuerto, I. et al. (2006). Relationship between heat stress during the peri-implantation period and early fetal loss in dairy cattle. *Theriogenology*, 65, 799-807.
- Giraldi, J.H., et al. (2001). Neosporose canina. *Clínica Veterinária*, 34, 50-56.
- Givens, M.D. & Marley, M.S.D. (2008). Infectious causes of embryonic and fetal mortality. *Theriogenology*, 70 (3), 270-285.
- Grunert, E., Birgel, E.H., Vale, W.G. & Junior, H.B. (2005). *Patologia e clínica da reprodução dos animais mamíferos domésticos: Ginecologia*, (468-470). São Paulo: Varela.
- Hansen, P.J. & Aréchiga, C.F. (1999). Strategies for managing reproduction in the heat-stressed dairy cow. *Journal of Animal Science*, 77(2/J), 36-50.
- Herzog, K. & Bollwein, H. (2007). Application of Doppler ultrasonography in cattle reproduction. *Reproduction in domestic animals*, 42(2), 51-58.
- Hovingh, E. (2009). Abortions in dairy cattle- I: Common causes of abortions. *Virginia Cooperative Extension*, (404-288).
- Howell, J. L., Fuquay, J. W. & Smith, A. E. (1994). Corpus luteum growth and function in lactating Holstein cows during spring and summer. *Journal of Dairy Science*, 77, 735-739.
- Humblot, P. (2001). Use of pregnancy specific proteins and progesterone assays to monitor pregnancy and determine the timing, frequencies and sources of embryonic mortality in ruminants. *Theriogenology* 56, 1417–1433.
- Humblot, P., Dalla Porta, M. A. & Schwartz, J. L. (1983). Etude de la mortalité embryonnaire. *Elevage et Insemination* 194, 3-12.
- Inskeep, E. K. & Dailey, R. A. (2005). Embryonic death in cattle. *Veterinary Clinics of North America (Food Animal Practice)*, 21, 437-461.
- Inskeep, E. K. (2004). Preovulatory, postovulatory, and postmaternal recognition effects of concentrations of progesterone on embryonic survival in the cow. *Journal of Animal Science*, 82 (E), 24-39.
- Jones, G.M. & Stallings, C.C. (1999). Reducing heat stress for dairy cattle. *Dairy*, 404-200.
- Jordan, E.R. (2003). Effects of Heat Stress on Reproduction. *Journal of Dairy Science*, 86, E104-114.
- Kastelic, J. P., Curran, S., Pierson, R. A. & Ginther, O. J. (1988). Ultrasonic evaluation of the bovine conceptus. *Theriogenology*, 29 (1), 39-54.
- Kastelic, J. P., Northey, D. L. & Ginther, O. J. (1991). Spontaneous embryonic death on days 20 to 40 in heifers. *Theriogenology* 35, 351-363.

- Kauffold, J., Wehrend, A. & Sigmarsson, H. (2014). Chlamydia and Chlamydophilia in bovine reproduction. *Clinical Theriogenology*, 6 (3), 251-254.
- Kelling, C.L. (2007). Viral diseases of the fetus. In R.S. Youngquist & W.R. Threlfall, *Current therapy in large animal theriogenology 2* (2nd ed.), (399-408), St. Louis: Saunders.
- Kerr, K., Entrican, G., McKeever, D. & Longbottom, D.(2005). Immunopathology of *Chlamydophila abortus* infection in sheep and mice. *Research in Veterinary Science*, 78, 1-7.
- Kummerfeld, H.L., Oltenacu, A.B. & Foote, R. H. (1978). Embryonic mortality in dairy cows estimated by non-returns to service, estrus and cyclic milk progesterone patterns. *Journal of Dairy Science*, 61, 1773-1777.
- Larson, R.L. (2005). Management systems and control programs. In: *Bovine Viral Diarrhea Virus: Diagnosis, Management and Control*. Oxford, UK: Blackwell Publishing, 223-238.
- Li, Y. et al. (2013). Mapping B-cell linear epitopes of NS3 protein of bovine viral diarrhea virus. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 151, 331-336.
- Longbottom, D. & Coulter, L.J. (2003). Review- Animal chlamydioses and zoonotic implications. *Journal of Comparative Pathology*, 128, 217-244.
- Lucy, M. C. (2001). *ADSA Foundation Scholar Award* Reproductive loss in high producing dairy cattle: Where will it end? *Journal of Dairy Science*, 84, 1277- 1293.
- Mcleod, B. J. & Williams, M. E. (1991). Incidence of ovarian dysfunction in post partum dairy cows and the effectiveness of its clinical diagnosis and treatment. *Veterinary Record*, 128, 121-124.
- Montiel, F. & Ahuja, C. (2005). Body condition and suckling as factors influencing the duration of postpartum anestrus in cattle: a review. *Animal Reproduction Science*, 85, 1-26.
- Nyland, T.G., Mattoon J.S. & Wisner E.R. (1995). Physical Principles, Instrumentation, and Safety of Diagnostic Ultrasound, In *Veterinary Diagnostic Ultrasound*, (3-18). W.B. Saunders Company.
- Noakes, D.E., Parkinson, T.J. & England, G.C.W. (2001). *Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics*. (8th ed.). Londres: W.B. Saunders.
- OIE (2008a). Bovine Brucellosis. In *OIE Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals* (6th ed., Vol. 2) (624-659). Paris, França: Office International des Epizooties.
- OIE (2008b). Infectious bovine rhinotracheitis/infectious pustular vulvovaginitis. In *OIE Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals* (6th ed., Vol. 2) (752-767). Paris, França: Office International des Epizooties.
- OIE (2014). Leptospirosis. In *OIE Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals* (1-15). Paris, França: Office International des Epizooties.

- Oltenacu, P. A., Ferguson, J. D. & Lednor, A. J. (1990). Economic evaluation of pregnancy diagnosis in dairy cattle: A decision analysis approach. *Journal of Dairy Science*, 73, 2826-2831.
- Osoro, K., Ortega-Mora, L.M., Martínez, A., Serrano-Martínez, E. & Ferre, I.. (2009). Natural breeding with bulls experimentally infected with *Neospora caninum* failed to induce seroconversion in dams. *Theriogenology*, 71, 639-642.
- Papp, J.R., Shewen, P.E. & Gartley C.J.(1994). Abortion and subsequent excretion of chlamydiae from the reproductive tract of sheep during estrus. *Infectious Immunity*, 62, 3786-3792.
- Papp, J.R. & Shewen, P.E.(1996). Localization of chronic *Chlamydia psittaci* infection in the reproductive tract of sheep. *Journal of Infectious Diseases*, 174, 1296-1302.
- Parkinson, T.J. (2009). Specific infectious diseases causing infertility and subfertility in cattle. In Noakes D.E., Parkinson T.J. & England G.C.W., *Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics* (9th ed.). (pp. 476-516). Londres: W.B. Saunders.
- Parmigiani, E., Ball, L., Lefever, D., Rupp, G. & Seidel, G. (1978). Elective termination of pregnancy in cattle by manual abortion. *Theriogenology*, 10, 283-290.
- Patel, J.R. (2005). Relative efficacy of inactivated bovine herpesvirus-1 (BHV-1) vaccines. *Vaccine*, 23, 4054 – 4061.
- Perdrizet, J.A., Rebhun, W.C., Dubovi, E.J. & Donis, R.O. (1987). Bovine virus diarrhea – clinical syndromes in dairy herds. *The Cornell Veterinarian*, 77(1), 46-74.
- Pierson, R.A. & Ginther, O.J.(1987). Ultrasonographic appearance of the bovine uterus during the estrous cycle. *Journal American Veterinary Medical Association*, 190 (8), 995-1001.
- Pierson R.A., Kastelic J.P. & Ginther O.J. (1988). Basic principles and techniques for transrectal ultrasonography in cattle and horses, *Theriogenology*, 29, 3-20.
- Pineda, M.H. (1999). Female Reproductive System. In McDonald (Ed.), L.E. *Veterinary Endocrinology and Reproduction* (4th ed.), (303-354). Philadelphia: Lea & Feiberg.
- Pituco, E.M. & Del Fava, C. (2003). Causas infecciosas de mortalidade embrionária e fetal em bovinos. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 27, 68-75.
- Preto, A. (2008). Intervet/Schering-Plough: Controlo de IBR em explorações extensivas. I Ciclo de Jornadas Temáticas VetAI, ACBRA, Portalegre, Portugal, 5 Dez. 2008.
- Pryce, J. E., Royal M. D. & Mao, I. L. (2004). Fertility in the high-producing dairy cow. *Livestock Production Science* 86, 125-135.
- Ptaszynska, M. & Molina, J. J. (2007). *Compendio de reproducción animal* (9th Ed.). Uruguai: Intervet.
- Quintas, H., Cordeiro, A. & Aguiar, C. (2014a). Plantas que afetam a reprodução. In *Plantas Tóxicas para Ruminantes* (67-70). Lisboa: Publicações Ciência & Vida.

- Quintas, H., Cordeiro, A. & Aguiar, C. (2014b). Quadro de diagnósticos diferenciais. In *Plantas Tóxicas para Ruminantes (179-183)*. Lisboa: Publicações Ciência & Vida.
- Quintas, H., Cordeiro, A. & Aguiar, C. (2014c). Intoxicações por plantas forrageiras. In *Plantas Tóxicas para Ruminantes (159-168)*. Lisboa: Publicações Ciência & Vida.
- Radostits, O.M., Gay, C.G., Hinchcliff, K.W. & Constable, P.D. (2007a). Special Medicine (Part II) - Diseases associated with viruses and Chlamydia – II. Infectious bovine rhinotracheitis (IBR, Red Nose), Bovine herpesvirus – 1 (BHV – 1) infection. In O.M. Radostits, C.G. Gay, K.W. Hinchcliff & P.D. Constable, *Veterinary medicine: A textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses*. (10th ed.), (1349 – 1360). London: Saunders Elsevier.
- Radostits, O.M., Gay, C.C., Hinchcliff, K.W. & Constable, P.D. (2007b). Special Medicine (Part II) - Diseases associated with bacteria – III. In O.M. Radostits, C.C. Gay, K.W. Hinchcliff & P.D. Constable, *Veterinary medicine: A textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses*. (10th ed.). (847-1006). London: Saunders Elsevier.
- Rebelo, C.S.S. (2008). *Influência do genótipo das receptoras de embriões bovinos (Bos taurus ou Bos indicus) sobre a taxa de gestação*. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade Técnica de Lisboa, Portugal.
- Rensis, F.D. & Scaramuzzi, R.J. (2003). Heat stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow - a review. *Theriogenology*, 60, 1139-1151.
- Robinson, P.H. (1998). Feeding strategies for heat stressed dairy cows during hot dry weather. *Cooperative extension, University of California*.
- Romano, J. E. & Magee, D. (2001). Applications of trans-rectal ultrasonography in cow/heifer reproduction. In *Annual Food Conference. Conception to Parturition: Fertility in Texas Beef Cattle*. College of Veterinary Medicine, Texas, Junho, 2 e 3, 99-104.
- Sanderson, M.W. (2007). A review of *Neospora caninum* in cattle. *Bovine Practitioner*. Logan, U.S.A.
- Santos, I.W. & Neves, J.P. (1994). Diagnóstico de gestação na vaca pela ultrassonografia. *Ciência Rural*, 24(2), 365-369.
- Santos, J.E.P., Thatcher, W.W., Chebel, R.C., Cerri, R.L.A. & Galvão, K.N. (2004). The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. *Animal Reproduction Science*, 82/83, 513-535.
- Schuller, L.K., Burfeind, O. & Heuwieser, W. (2014). Impact of heat stress on conception rate of dairy cows in the moderate climate considering different temperature-humidity index thresholds, periods relative to breeding, and heat load indices. *Theriogenology*, 81, 1050-1057.
- Serrano, E., et al.. (2006). Intrauterine *Neospora caninum* inoculation of heifers. *Veterinary Parasitology*, 135, 197-203.

- Shewen, P.E. (1980). Chlamydial infection in animals: a review. *Canadian Veterinary Journal*, 21 (2-11).
- Silva, F.G., Freitas, J.C. & Muller, E.E. (2006). *Chlamydophila abortus* em animais de produção. *Ciência Rural*, 36 (1), 342-348.
- Silva, N.C., Leão, K.M., Marques, T.H., Rodrigues, M.C., Silva, R.P. & Viu, M.A.O. (2014). Taxa de concepção de vacas leiteiras submetidas à inseminação artificial em tempo fixo em diferentes épocas do ano. *Bioscience Journal*, 30 (4), 1177-1182.
- Smith, M. W., & Stevenson, J. S. (1995). Fate of the dominant follicle, embryonal survival, and pregnancy rates in dairy cattle treated with prostaglandin F_{2α} and progestins in the absence or presence of a functional corpus luteum. *Journal of Dairy Science*, 73, 3743-3751.
- Spencer, T. E., Burghardt, R. C., Johnson, G. A. & Bazer, F. W. (2004). Conceptus signals for establishment and maintenance of pregnancy. *Animal Reproduction Science*, 82–83, 537-550.
- Sreenan, J. M. & Diskin, M. G. (1983). Early embryonic mortality in the cow: its relationship with progesterone concentration. *Veterinary Record*, 112, 517.
- Stevenson J.S. (2007). Clinical reproductive physiology of the cow. In Youngquist R.S. & Threlfall W.R, *Current therapy in large animal theriogenology*. (2nd ed.). (258-270). Missouri: Saunders Elsevier.
- Stevenson, J. S., Thompson, K. E., Forbes, W. L., Lamb, G. C., Grieger, D. M. & Corah, L. R. (2000). Synchronizing estrus and or ovulation in beef cows after combinations of GnRH, norgestomet, and prostaglandin F_{2α} with or without time insemination. *Journal of Animal Science*, 78, 1747-1758.
- Stilwell, G. (2013). Doenças e condições ligadas ao parto. In *Clínica de Bovinos*, (277-296). Lisboa: Publicações Ciência & Vida.
- Stott, G.H. & Williams, R.J. (1962). Causes of low breeding efficiency in dairy cattle associated with seasonal high temperatures. *Journal of Dairy Science*, 45, 1369-1375.
- Szenci, O., Gyulai, G., Nagy, P., Kovacs, L., Varga, J. & Taverne, M. A. M. (1995). Effect of uterus position relative to the pelvi inlet on the accuracy of early bovine pregnancy diagnosis by means of ultrasonography. *The Veterinary Quarterly* 17, 37-39.
- Tanabe, T. Y. & Casida, L. E. (1949). The nature of reproductive failures in cows of low fertility. *Journal of Dairy Science*, 32, 273.
- Thatcher W.W., Meyer M.D. & Danet-Desnoyers G..(1995). Maternal recognition of pregnancy. *Journal of Reproduction and Fertility*. 49, 15-28. Gainesville, USA.
- Thatcher, W. W., Bartol, F. F, Knickerbocker, J. J., Curl, J. S. & Wolfenson, D. (1984). Maternal Recognition of Pregnancy in Cattle I. *Journal of Dairy Science*, 67, 2797-2811.

- Thiry, E. et al. (2006). How biotechnologies can improve bovine vaccinology? In *Proceedings of the XXIV World Buiatrics Congress*, Nice, França. Acedido Outubro 10, 2015, em: <http://www.ivis.org/proceedings/wbc/wbc2006/thiry.pdf>.
- Thompson, J. A., Marsh, W. E., Calvin, J. A., Etherington, W. G., Momont, H. W. & Kinsel, M. L. (1994). Pregnancy attrition associated with pregnancy testing by rectal palpation. *Journal of Dairy Science*. 77, 3382-3387.
- Thurmond, M. C. & Picanso, J. P., (1990). A surveillance system for bovine abortion. *Preventive Veterinary Medicine*. 8: 41-53.
- Thurmond, M. C. & Picanso, J. P. (1993). Fetal loss associated with palpation per rectum to diagnose pregnancy in cows. *JAVMA*. 203, 432-435.
- Thurmond, M. C., Picanso, J. P. & Jameson, C. M. (1990). Considerations for use of descriptive epidemiology to investigate fetal loss in dairy cows. *JAVMA* 197, 1305-1312.
- Vasconcelos, J. L., Sangsritavong, S., Tsai, S. J. & Wiltbank, M. C. (2003). Acute reduction in serum progesterone concentrations after feed intake in dairy cows. *Theriogenology* 60, 795-807.
- Vasconcelos, J.L.M., Silcox, R.W., Lacerda, J.A., Pursley, J.R. & Wiltbank, M.C. (1997). Pregnancy rate, pregnancy loss, and response to heat stress after AI at 2 different times from ovulation in dairy cows. *Biology Reproduction*, 56(1), 140.
- Veling, J., Van Zijderveld, F. G., Van Zijderveld-Van Bommel, A. M., Barkema, H. W. & Schukken, Y. H. (2000). Evaluation of three newly developed enzyme-linked immunosorbent assays and two agglutination tests for detecting *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Dublin infections in dairy cattle. *American Society for Microbiology*, 38(12), 4402-4407.
- Walsh, S.W., Williams, E.J. & Evans, A.C.O. (2011). A review of the causes of poor fertility in high milk producing dairy cows. *Animal Reproduction Science*, 123, 127-138.
- West, J.W. (1999). Nutritional strategies for managing the heat-stressed dairy cow. *Journal of Animal Science*, 77(2/J), 21-35.
- White, M. E., Lafaunce, N. & Mohammed, H. O. (1989). Calving outcomes for cows diagnosed pregnant or nonpregnant by per rectum examination at various intervals after insemination. *Canadian Veterinary Journal* 30, 867-870.
- Whittier, W.D. (2013). *Pregnancy determination in cattle: a review of available alternatives*. Acedido Março 10, 2015, em <http://www.appliedreprostrategies.com/2013/pdf/proceedings/12-dee-whittier.pdf>.
- Wiltbank, M. C. (1998). Update on synchronization of ovulation and estrus. In *Proceedings of the 17th Technical Conference on Artificial Insemination & Reproduction*, Milwaukee, WI. , 65-75.
- Wiersma, F. & Stott, G.H. (1966) Micro-climate modification for hot weather stress relief of dairy cattle. *Transactions of the American Society of Agricultural Engineers*, 9, 309-313.

- Wilson, S. J., Marion, R. S., Spain, J. N., Spiers, D. E., Keisler, D. H. & Lucy, M. C., (1998). Effect of controlled heat stress on ovarian function in dairy cattle: I. Lactating cows. *Journal of Dairy Science*, 1, 2124-2131.
- Wiltbank, M.C., Gümen, A. & Sartori, R. (2002). Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. *Theriogenology*, 57, 21-52.
- Yaeger, M.J. & Holler, L.D. (2007). Bacterial causes of bovine infertility and abortion. In R.S. Youngquist & W.R. Threlfall, *Current therapy in large animal theriogenology 2*.(2nd ed.). (389-399). St. Louis: Saunders.