

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**HIPOCALCEMIA SUBCLÍNICA COMO FATOR DE RISCO PARA OUTROS
TRANSTORNOS DO PÓS-PARTO EM VACAS LEITEIRAS: PREVALÊNCIA E
INCIDÊNCIA**

Eliana Lucia Fiorentin

PORTO ALEGRE

2020

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**HIPOCALCEMIA SUBCLÍNICA COMO FATOR DE RISCO PARA OUTROS
TRANSTORNOS DO PÓS-PARTO EM VACAS LEITEIRAS: PREVALÊNCIA
E INCIDÊNCIA**

Autor: Eliana Lucia Fiorentin

**Tese apresentada como requisito
parcial para obtenção do grau de
Doutor em Ciências Veterinárias na
área de Bioquímica Veterinária**

Orientador: Félix González

PORTO ALEGRE

2020

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001

CIP - Catalogação na Publicação

Fiorentin, Eliana Lucia
HIPOCALCEMIA SUBCLÍNICA COMO FATOR DE RISCO PARA
OUTROS TRANSTORNOS DO PÓS-PARTO EM VACAS LEITEIRAS /
Eliana Lucia Fiorentin. -- 2020.
90 f.
Orientador: Felix Hilario Diaz Gonzalez.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de
Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre,
BR-RS, 2020.

1. Transtornos metabólicos em bovinos leiteiros. I.
Gonzalez, Felix Hilario Diaz, orient. II. Título.

Eliana Lucia Fiorentin

HIPOCALCEMIA SUBCLÍNICA COMO FATOR DE RISCO PARA OUTROS
TRANSTORNOS DO PÓS-PARTO EM VACAS LEITEIRAS: PREVALÊNCIA E
INCIDÊNCIA

Aprovada em 27 de março de 2020

APROVADA POR:

Profº Dr. Félix González

Orientador e Presidente da Comissão

Profº Dr. Carlos Bondan (Universidade de Passo Fundo)

Membro da Comissão

Profª Dr. Marta Leal (Universidade Federal de Santa Maria)

Membro da Comissão

Profº Dr. Sérgio Ceroni da Silva (Universidade Federal do Rio Grande do Sul)

Membro da Comissão

RESUMO

O período de transição é caracterizado por alterações nutricionais, metabólicas, hormonais e imunológicas que têm marcado impacto sobre a ocorrência de doenças metabólicas e infecciosas. Vacas com hipocalcemia clínica durante o período de transição têm maior propensão a desenvolver prolapso uterino, mastite clínica, distocia e retenção de placenta. Do mesmo modo, as vacas com hipocalcemia subclínica apresentam maior risco de desenvolver metrite, deslocamento de abomaso e de descarte. O principal objetivo deste trabalho é determinar se a hipocalcemia constitui um fator de risco para a ocorrência de transtornos do pós-parto (hipocalcemia clínica, cetose clínica, cetose subclínica, lipidose hepática, deslocamento de abomaso, mastite clínica, metrite, endometrite clínica, endometrite subclínica, retenção de placenta e distocia) e para diminuição da taxa de concepção ao primeiro serviço em vacas leiteiras. Foram avaliadas 259 vacas da raça Holandesa, provenientes de 9 fazendas comerciais em sistema de produção do tipo semi-confinamento, localizadas na região da Serra Gaúcha, no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Foram realizadas avaliações clínicas, reprodutivas e metabólicas semanalmente da 1ª até a 6ª semana. A avaliação clínica consistiu na determinação do escore de condição corporal, temperatura retal e registro de transtornos do pós-parto. A avaliação reprodutiva consistiu: (1) no exame do conteúdo vaginal dos animais, feito através do dispositivo Metrichack a fim de diagnosticar metrite (1ª, 2ª e 3ª semana) e endometrite clínicas (4ª, 5ª e 6ª semana), (2) na citologia uterina mediante o uso da Cytobrush com o intuito de diagnosticar endometrite subclínica nos animais que não apresentaram endometrite clínica e (3) na confirmação de gestação por ultrassonografia 30 dias após início da IATF. A avaliação metabólica foi realizada através das análises bioquímicas de beta-hidroxibutirato (BHB), colesterol e aspartato aminotransaminase (AST) por espectrofotometria automatizada e determinação de cálcio iônico pela técnica de eletrodo seletivo. O teste Qui-quadrado de Pearson ou teste exato de Fischer foram utilizados para as comparações de ocorrência dos transtornos do pós-parto avaliado com a calcemia, assim como avaliar as razões de prevalência do desenvolvimento de transtornos pós-parto em animais hipocalcêmicos para variáveis categóricas. Para determinar um ponto de corte próprio deste estudo para os dois grupos, foram realizadas análises ROC (Receiver Operator Characteristic). A prevalência de hipocalcemia subclínica e metrite foram maiores em nosso estudo do que em estudos citados na literatura. A associação de alguns transtornos do pós-parto e alterações de

dados clínicos, produtivos e laboratoriais em vacas hipocalcêmicas aumentaram o risco de ocorrência do transtorno em questão. O ponto de corte de cálcio iônico na 1ª semana pós-parto para cetose subclínica em nosso estudo foi de 2,5 mg/dL. Os pontos de corte de cálcio iônico para lipidose hepática e mastite na 1ª semana pós-parto são 2,44 e 2,65 mg/dL, respectivamente, e foram considerados precisos e apresentaram tendência à significância estatística. Os pontos de corte para retenção de placenta, deslocamento de abomaso, metrite e distocia não tiveram significado estatístico, sugerindo que a hipocalcemia não aparenta ser o fator de risco mais importante para determinar a ocorrência destes transtornos. Porém, a chance de animais hipocalcêmicos desenvolverem metrite é maior em vacas com distocia e em vacas primíparas.

Palavras-chave: Transtornos metabólicos, período de transição, vacas leiteiras.

ABSTRACT

The transition period is characterized by nutritional, metabolic, hormonal and immunological changes that have marked impact on the incidence of metabolic and infectious diseases. Cows with clinical hypocalcemia during the transitional period are more likely to develop uterine prolapse, clinical mastitis, dystocia and retained placenta. Likewise, cows with subclinical hypocalcemia are at increased risk of developing metritis, abomasal displacement and discard. The main objective of this work is to determine if hypocalcemia constitute a risk factor for the occurrence of postpartum disorders (clinical hypocalcaemia, clinical ketosis, subclinical ketosis, liver lipidosis, abomasal displacement, clinical mastitis, metritis, clinical endometritis, subclinical endometritis, placenta retention and dystocia) and to decrease the conception rate at the first service in dairy cows. 259 Holstein cows were evaluated, from 9 commercial farms in a semi-confinement production system, located in the Serra Gaúcha region, in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. Clinical, reproductive and metabolic assessments will be carried out weekly from the 1st to the 6th week. The clinical evaluation consisted of determining the body condition score, rectal temperature and recording postpartum disorders. The reproductive evaluation consisted of (1) the examination of the vaginal content were done through the Metricheck device in order to diagnose metritis (1st, 2nd and 3rd week) and clinical endometritis (4th, 5th and 6th week); (2) in cytology uterine using the Cytobrush in order to diagnose subclinical endometritis in animals that did not present clinical endometritis; and (3) to confirm pregnancy by ultrasound 30 days after IATF initiation. The metabolic evaluation was carried out through biochemical analyzes of beta-hydroxybutyrate (BHB), cholesterol and aspartate aminotransaminase (AST) by automated spectrophotometry and determination of ionic calcium by the selective electrode technique. Pearson's Chi-square test or Fischer's exact test were used to compare the occurrence of postpartum disorders assessed with calcemia, as well as to assess the proportion ratios of the development of postpartum disorders in hypocalcemic animals to categorical variables. To determine a cutoff point of this study for both groups, ROC (Receiver Operator Characteristic) analyzes were performed. The prevalence of subclinical hypocalcemia and metritis was higher in our study than in studies cited in the literature. The prevalence of postpartum disorders between the 1st and 6th postpartum weeks of hypocalcemic and normocalcemic dairy cows did not show statistical difference. However, the association of some postpartum disorders and changes in clinical,

productive and laboratory data in hypocalcemic cows increased the risk of occurrence of the disorder in question. The cut-off point for ionic calcium in the 1st postpartum week for subclinical ketosis in our study was 2.5 mg/dL. The cut-off points for ionic calcium for hepatic lipidosis and mastitis in the first postpartum week are 2.44 and 2.65 mg/dL, respectively, and were considered accurate and showed a tendency to statistical significance. The cutoff points for retained placenta, displacement of the abomasum, metritis and dystocia had no statistical significance, suggesting that hypocalcemia does not appear to be the most important risk factor for determining the occurrence of these disorders. However, the chance of hypocalcemic animals developing metritis is greater in cows with dystocia and in primiparous cows.

Keywords: Metabolic diseases, transition period, dairy cows.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Consequências da hipocalcemia sobre a função muscular e imunológica de bovinos leiteiros (adaptado de Mulligan et al., 2006).....	23
Figura 2 - Curva ROC que determina o ponto de corte crítico de cálcio iônico como preditor de cetose subclínica na 1ª semana pós-parto de vacas leiteiras.....	47
Figura 3 - Curva ROC que determina o ponto de corte crítico de cálcio iônico como preditor de lipidose hepática na 1ª semana pós-parto de vacas leiteiras	48
Figura 4 - Curva ROC que determina o ponto de corte crítico de cálcio iônico como preditor de deslocamento de abomaso na 1ª semana pós-parto de vacas leiteiras	48
Figura 5 - Curva ROC que determina o ponto de corte crítico de cálcio iônico como preditor de mastite na 1ª semana pós-parto de vacas leiteiras	49
Figura 6 - Curva ROC que determina o ponto de corte crítico de cálcio iônico como preditor de metrite na 1ª semana pós-parto de vacas leiteiras.....	50
Figura 7 - Curva ROC que determina o ponto de corte crítico de cálcio iônico como preditor de retenção de placenta na 1ª semana pós-parto de vacas leiteiras	50
Figura 8 - Curva ROC que determina o ponto de corte crítico de cálcio iônico como preditor de distocia na 1ª semana pós-parto de vacas leiteiras.....	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Prevalência de hipocalcemia clínica e subclínica em bovinos leiteiros em diferentes países	20
Tabela 2 - Definições de alguns transtornos do pós-parto	28
Tabela 3 - Definições dos transtornos do pós-parto e respectivos pontos de corte.....	30
Tabela 4 – Prevalência de transtornos no pós-parto em vacas leiteiras alojadas em fazendas da serra do Rio Grande do Sul, Brasil; e associação com a semana pós-parto	33
Tabela 5 - Razões de prevalências de transtornos do pós-parto e de dados clínicos, produtivos e laboratoriais de vacas leiteiras alojadas em fazendas da serra do Rio Grande do Sul, Brasil.....	36
Tabela 6 - Determinação dos pontos de corte de cálcio iônico através da análise ROC como preditor de transtornos na 1ª semana do pós-parto em vacas leiteiras	47

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Prevalência de transtornos, entre a 1ª e 6ª semana pós-parto de vacas leiteiras alojadas em fazendas da serra do Rio Grande do Sul, Brasil.....	33
Gráfico 2 - Ocorrência de cetose subclínica e sua associação com ECC ao parto >3,5 em vacas leiteiras alojadas em fazendas da serra do Rio Grande do Sul, Brasil	35
Gráfico 3 - Ocorrência de cetose subclínica e sua associação com a paridade (primíparas e múltíparas) em vacas leiteiras alojadas em fazendas da serra do Rio Grande do Sul, Brasil	37
Gráfico 4 - Ocorrência de cetose subclínica e sua associação com o tipo de sistema de produção em vacas leiteiras alojadas em fazendas da serra do Rio Grande do Sul, Brasil	37
Gráfico 5 - Ocorrência de balanço energético negativo em vacas leiteiras alojadas em fazendas da serra do Rio Grande do Sul, Brasil, por semana pós-parto	38
Gráfico 6 - Ocorrência de balanço energético negativo e sua associação com o ECC ao parto < 3 em vacas leiteiras alojadas em fazendas da serra do Rio Grande do Sul, Brasil	39
Gráfico 7 - Ocorrência de balanço energético negativo e sua associação com distocia em vacas leiteiras alojadas em fazendas da serra do Rio Grande do Sul, Brasil	39
Gráfico 8 - Ocorrência de lipidose hepática e sua associação com o ECC ao parto >3,5 em vacas leiteiras alojadas em fazendas da serra do Rio Grande do Sul, Brasil	40
Gráfico 9 - Ocorrência de mastite clínica e sua associação com o ECC ao parto >3,5 em vacas leiteiras alojadas em fazendas da serra do Rio Grande do Sul, Brasil	41
Gráfico 10 - Ocorrência de mastite clínica e sua associação com a distocia em vacas leiteiras alojadas em fazendas da serra do Rio Grande do Sul, Brasil	42
Gráfico 11 - Ocorrência de metrite e sua associação com distocia em vacas leiteiras alojadas em fazendas da serra do Rio Grande do Sul, Brasil.....	42
Gráfico 12 - Ocorrência de metrite e sua associação com a paridade (primíparas e múltíparas) em vacas leiteiras alojadas em fazendas da serra do Rio Grande do Sul, Brasil	43
Gráfico 13 - Ocorrência de endometrite clínica e sua associação com distocia em vacas leiteiras alojadas em fazendas da serra do Rio Grande do Sul, Brasil	44

Gráfico 14 - Ocorrência de endometrite clínica e sua associação com a paridade (primíparas e multíparas) em vacas leiteiras alojadas em fazendas da serra do Rio Grande do Sul, Brasil.....	44
Gráfico 15 - Ocorrência de retenção de placenta e sua associação com temperatura retal > 39,4°C em vacas leiteiras alojadas em fazendas da serra do Rio Grande do Sul, Brasil	45

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AST	Aspartato aminotransferase
AUC	Área sob a curva
BEN	Balanço energético negativo
BHB	Beta-hidroxibutirato
FR	Fator de risco
IATF	Inseminação artificial em tempo fixo
NEFA	Non-esterified fatty acids (ácidos graxos não esterificados)
PMN	Polimorfonucleares
PTH	Hormônio da paratireoide
ROC	Receiver operator characteristic

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
1.1	Objetivos	16
1.1.1	Objetivo geral	16
1.1.2	Objetivos específicos.....	16
2	Revisão de literatura	17
2.1	Homeostase do cálcio e período de transição.....	17
2.2	Hipocalcemia.....	18
2.2.1	Etiologia	19
2.2.2	Epidemiologia	20
2.2.3	Pontos de corte	20
2.2.4	Fatores pré-disponentes para hipocalcemia.....	21
2.2.4.1	<i>Alcalose metabólica</i>	21
2.2.4.2	<i>Hipomagnesemia</i>	21
2.2.4.3	<i>Hiperfosfatemia</i>	22
2.2.4.4	<i>Idade</i>	22
2.2.4.5	<i>Raça</i>	22
2.2.5	Associação entre hipocalcemia e outros transtornos metabólicos	23
2.2.6	Sinais clínicos.....	25
3	Materiais e métodos	27
3.1	Animais.....	27
3.2	Avaliação clínica e reprodutiva.....	28
3.3	Avaliação metabólica	30
3.4	Análise estatística	31
4	RESULTADOS.....	33
4.1	Prevalência de transtornos do pós-parto	33
4.2	Transtornos do pós-parto: Fatores de risco e associações com calcemia e dados clínicos, produtivos e laboratoriais.....	34
4.2.1	Hipocalcemia clínica	34
4.2.2	Cetose clínica	35
4.2.3	Cetose subclínica.....	35
4.2.4	Escore de condição corporal.....	ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.
4.2.5	Lipidose hepática.....	40

4.2.6	Deslocamento de abomaso	41
4.2.7	Mastite clínica	41
4.2.8	Metrite	42
4.2.9	Endometrite clínica	44
4.2.10	Endometrite subclínica	45
4.2.11	Retenção de placenta	45
4.2.12	Distocia.....	46
4.3	Ponto de corte para cálcio iônico como preditor de transtornos do pós-parto	46
5	DISCUSSÃO	53
5.1	Transtornos do pós-parto: prevalência, associações e fatores de risco	53
5.1.1	Hipocalcemia clínica	53
5.1.2	Cetose clínica	54
5.1.3	Cetose subclínica.....	54
5.1.4	Balço energético negativo	56
5.1.5	Lipidose hepática.....	57
5.1.6	Deslocamento de abomaso	58
5.1.7	Mastite.....	58
5.1.8	Metrite	59
5.1.9	Endometrite clínica	60
5.1.10	Endometrite subclínica	61
5.1.11	Retenção de placenta	61
5.1.12	Distocia.....	62
5.2	Ponto de corte para cálcio iônico como preditor de transtornos do pós-parto	62
6	CONCLUSÃO	63
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	66
	ANEXO 1	79
	ANEXO 2	80
	ANEXO 3	82
	ANEXO 4	84
	ANEXO 5	86
	ANEXO 6	88

1 INTRODUÇÃO

O período de transição em vacas leiteiras é definido como as três últimas semanas e as três primeiras semanas com relação ao parto (GRUMMER, 1995; DRACKLEY, 1999; PICKETT; PIPENBRINK; OVERTON, 2003; TEDESCO et al., 2004; SMITH; RISCO, 2005; SEIFI et al., 2007). Este período é caracterizado por alterações nutricionais, metabólicas, hormonais e imunológicas que têm marcado impacto sobre a ocorrência de doenças metabólicas e infecciosas (LOISELLE et al., 2009).

O principal desafio enfrentado pelas vacas é o aumento expressivo na demanda de energia e minerais para produção de leite associado ao baixo consumo de matéria seca e, portanto, insuficiente aporte de nutrientes (DEGARIS; LEAN, 2008; RABELO; CAMPOS, 2009). Com isso, a mobilização de reservas corporais passa a ser a fonte das exigências energéticas e proteicas que não são supridas pela ingestão de matéria seca. Esta situação é chamada de balanço energético negativo (BEN), o qual é observado, frequentemente, durante as últimas três semanas de gestação e nas primeiras semanas de lactação (FARIA, 2009).

Embora as adaptações homeorréticas ocorram em um esforço para manter um equilíbrio mineral fisiológico a fim de suportar os requisitos de manutenção e o estado fisiológico da lactação, as vacas correm maior risco de desenvolver doenças no início do período pós-parto (LEBLANC; LESLIE; DUFFIELD, 2005).

A hipocalcemia clínica acomete entre 5 e 10% das vacas adultas (OETZEL, 1988; MCLAREN et al., 2006), enquanto que a incidência da forma subclínica é muito maior, podendo afetar em torno de 50% das vacas que entram em segunda lactação ou mais (CURTIS et al., 1984; GOFF, 2008; SANTOS, 2011; CORRÊA; GONZÁLEZ; SILVA, 2010).

Em termos econômicos, vacas com hipocalcemia clínica ao parto têm maior propensão a desenvolver prolapso uterino, mastite clínica, distocia e retenção de placenta (CORBELLINI, 1998; DUFFIELD, 2000). Do mesmo modo, as vacas com hipocalcemia subclínica apresentam maior risco de desenvolver metrite (MARTINEZ et al., 2012), deslocamento de abomaso (CHAPINAL et al., 2011) e de descarte (ROBERTS et al., 2012).

Estudos que avaliem a hipocalcemia subclínica como fator de risco para ocorrência de transtornos metabólicos, bem como, estudos que determinem um ponto de

corte de cálcio iônico sérico para o diagnóstico de transtornos metabólicos no pós-parto de vacas leiteiras na região sul do Brasil são escassos.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo geral

Determinar se a hipocalcemia constitui um fator de risco para a ocorrência de transtornos do pós-parto (hipocalcemia clínica, cetose clínica, cetose subclínica, lipidose hepática, deslocamento de abomaso, mastite clínica, metrite, endometrite clínica, endometrite subclínica, retenção de placenta e distocia) e para diagnóstico gestacional negativo ao primeiro serviço em vacas leiteiras.

1.1.2 Objetivos específicos

Definir a prevalência de transtornos do pós-parto (hipocalcemia clínica, cetose clínica, cetose subclínica, lipidose hepática, deslocamento de abomaso, mastite clínica, metrite, endometrite clínica, endometrite subclínica, retenção de placenta e distocia) em vacas leiteiras.

Determinar o ponto de corte da concentração sérica de cálcio iônico para prever a ocorrência de transtornos do pós-parto em vacas leiteiras.

Associar a ocorrência de transtornos do pós-parto em vacas hipocalcêmicas com dados clínicos, produtivos e laboratoriais (escore de condição corporal ao parto, diagnóstico gestacional negativo ao primeiro serviço, distocia, paridade, temperatura retal, tipo de sistema de produção, colesterol).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Homeostase do cálcio e período de transição

O cálcio (Ca) é o mineral mais abundante no organismo animal (1 a 2%), com 99% de sua ocorrência nos ossos e dentes, principalmente sob a forma de cristais de hidroxiapatita $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$ e fosfato de cálcio $[Ca_3(PO_4)_2]$. O restante do cálcio corporal é encontrado nos fluidos extracelular e intracelular e nos tecidos moles (MCDOWELL, 2003).

No plasma, se encontram duas frações principais deste mineral: o cálcio ligado às proteínas, principalmente à albumina e o cálcio livre ou iônico (40–50%), necessário para as funções celulares como: permeabilidade de membrana, coagulação sanguínea, excitabilidade neuromuscular, contração muscular, cofator enzimático e mensageiro hormonal (BARROS, 2015). Em ruminantes, as concentrações séricas de cálcio total e cálcio iônico estão entre 8,5 a 11,5 mg/dL, e 4,5 a 5,5 mg/dL respectivamente (SANTOS, 2011; JAWOR et al., 2012; GOFF; HORST, 1997).

Vacas leiteiras de alta produção enfrentam um período desafiador na transição do final da gravidez para o início da lactação. A demanda de energia aumenta em 2,5 vezes (REYNOLDS et al., 2003) e os requisitos minerais, especialmente cálcio, aumentam em mais de 65% para apoiar a lactogênese no início da lactação (DEGARIS; LEAN, 2008).

Apesar das adaptações em busca de ajustes às demandas crescentes, as vacas leiteiras frequentemente sofrem uma diminuição nas concentrações de cálcio no pós-parto precoce (CAIXETA et al, 2015).

A homeostase do cálcio é controlada de forma muito precisa, sendo que neste equilíbrio intervêm três hormônios: o hormônio da paratireoide (PTH), secretado pelas glândulas paratireoides, a calcitonina secretada pelas células C da glândula tireóide e a 1,25-dihidroxitamina D, secretada pelos rins, originada a partir da vitamina D, em resposta ao aumento sanguíneo do PTH (OTERO et al., 2013).

O PTH é o principal hormônio envolvido na regulação do cálcio. A ação biológica hipercalcêmica dele ocorre pela influência direta nas células alvo dos ossos (osteoclastos e osteócitos) e dos rins (túbulos distais e proximais) e pela ação direta no duodeno (GOFF, 2000).

Tipicamente, o PTH sérico aumenta quando se aproxima o parto, ativando a resorção óssea e a reabsorção tubular renal para aumentar o cálcio sérico (GOFF, 2000).

Assim que a concentração de cálcio diminui, a concentração de PTH aumenta. Altas concentrações de PTH promovem a produção de 1α -hidroxilase nos rins, a enzima que converte a 25-dihidroxitamina D a 1,25-dihidroxitamina D, a qual tem como função estimular a absorção de Ca e fósforo (P) no intestino, ou seja, o PTH aumenta indiretamente a absorção de íons de cálcio no duodeno (HORST et al., 1997). Além disso, nas células dos túbulos renais, o PTH previne a reabsorção de fosfato pelos túbulos proximais e permite a reabsorção de cálcio nos túbulos distais (GOFF, 2000). Quando a concentração de cálcio está dentro da normalidade, a secreção de PTH diminui e a 1,25-dihidroxitamina D é catabolizada (HORST et al., 1997).

Nos ossos, o PTH provoca a resorção através da mobilização de cálcio do centro para a superfície dos ossos e, ao formar um ambiente ácido no fluido extra-celular adjacente, ajuda a solubilizar o mineral (GOFF, 2000). Para que o transporte de cálcio intestinal incrementalmente, são necessárias, desde o momento do parto, ao menos 24 horas de estimulação de 1,25-dihidroxitamina D, enquanto que, para que ocorra a ativação da mobilização do cálcio a nível ósseo são necessárias 48 horas de estimulação do PTH (MARTÍN-TERESO; MARTENS, 2014).

O aumento na concentração de cálcio no sangue induz a inibição da síntese de PTH e estimula a síntese e liberação de calcitonina pelas células parafoliculares da tireóide. Esta, por sua vez, inibe diretamente a ação dos osteoclastos na resorção óssea e aumenta a excreção renal de cálcio, restabelecendo as concentrações sanguíneas deste mineral e evitando hipercalcemia (SANTOS, 2011; OTERO et al., 2013). O balanço deste mineral deve estar equilibrado entre a absorção intestinal (em torno de 68%), eliminação endógena pela remodelação óssea e as necessidades para gestação e lactação com o cálcio da dieta (MCDOWELL, 2003).

2.2 Hipocalcemia

A hipocalcemia é uma das enfermidades metabólicas mais comuns no gado leiteiro, sendo a desordem macromineral mais importante que afeta as vacas no período de transição (MULLIGAN et al., 2006) que resulta da falha dos mecanismos de homeostase em manter as concentrações normais de cálcio no sangue (GOFF; HORST, 1997a).

A forma clínica deste transtorno também é conhecida como hipocalcemia puerperal, febre do leite ou paresia puerperal e pode causar progressiva disfunção

neuromuscular com paralisia flácida, colapso circulatório e depressão de consciência (CORRÊA; GONZÁLEZ; SILVA, 2010).

2.2.1 Etiologia

A hipocalcemia acontece devido ao desequilíbrio na homeostase do cálcio, sendo que o defeito parece residir na sensibilidade dos tecidos ósseos e renais à estimulação do PTH. Evidências sugerem que o status ácido-base da vaca dita a sensibilidade dos tecidos à estimulação do PTH, e que a alcalose metabólica é responsável pela diminuição da responsividade ao PTH nos tecidos (GOFF; HORST, 2003).

O excesso de potássio dietético é muito comum e é o fator mais importante causando alcalose metabólica em vacas leiteiras. Em vacas alimentadas com uma dieta de alto teor de cátions, o pH sanguíneo pode se tornar mais alcalino, alterando a estrutura conformacional do receptor de PTH de modo que, este hormônio e seu receptor não interajam tão eficientemente (BUSHINSKY, 2001).

Vacas gestantes alimentadas com dietas pré-parto com teores elevados de cálcio aumentam a secreção do hormônio calcitonina durante o parto. O efeito hipocalcêmico da calcitonina predomina e faz com que os níveis de cálcio no sangue caiam para menos de 50% da concentração normal (ABD-ALLAH; BAKR, 2015).

Sob essas condições, a resorção óssea nesse período é relativamente baixa, existindo apenas uma quantidade pequena de osteoclastos ativos capazes de responder rapidamente ao PTH. Portanto, quando a secreção de PTH aumenta devido à hipocalcemia abrupta no pós-parto, o aumento da atividade dos poucos osteoclastos ativos presentes nas superfícies ósseas é insuficiente para levar à normocalcemia (THOMAS; CHARLES, 1997).

Além disso, a elevada demanda de cálcio para produção de colostro, entre as 24 e 48 horas pós-parto, pode superar a capacidade homeostática do animal (OTERO et al., 2013). O fator desencadeante está na concentração de cálcio no colostro, a qual é quase duas vezes superior à concentração no leite. Exemplificando, uma vaca pesando 650 kg, no primeiro dia de lactação, necessita de 2,0 a 2,3 g de cálcio para sintetizar 10 kg de colostro, o que é equivalente a 7 a 10 vezes a quantidade de cálcio presente no sangue (SANTOS, 2011).

Essa súbita demanda por cálcio faz com que, praticamente, toda vaca leiteira passe por períodos de hipocalcemia subclínica pós-parto (SANTOS, 2011) e, muitas vezes, resulte na hipocalcemia clínica.

2.2.2 Epidemiologia

Aproximadamente, 5% das vacas adultas são afetadas pela forma clínica da doença, enquanto a prevalência da forma subclínica é muito maior, podendo afetar entre 30 e 70% delas (REINHARDT et al., 2011). Mais dados de prevalência de hipocalcemia clínica e subclínica em bovinos leiteiros em diferentes países são mostrados na Tabela 1.

Tabela 1 - Prevalência de hipocalcemia clínica e subclínica em bovinos leiteiros em diferentes países

Autor (Ano)	Hipocalcemia clínica (%)	Hipocalcemia subclínica (%)	Local
Ortolani (1995)	0,5 a 5,0	-*	Brasil
Corbellini (1998)	6,3	-*	Argentina
Moore et al. (2000)	8,0	73,0	EUA
Roche (2003)	5,0	33,0	Nova Zelândia
DeGaris e Lean (2008)	3,5 a 7,0	-*	Austrália
Reinhardt et al. (2011)	-*	54,0	EUA
Chamberlin et al. (2013)	-*	51,0	EUA
Ribeiro et al. (2013)	-*	43,3	EUA
Kock (2013)	-*	45,5	Portugal
Fiorentin et al. (2018)	-*	17,1	Brasil
Venjakob, Borchardt, Heuwieser (2017)	7,2	40,2	Alemanha

*-: Valor não determinado no estudo

Hipocalcemia subclínica é definida como uma baixa concentração de cálcio sérico sem o desenvolvimento de sinais clínicos (CAIXETA et al., 2017).

2.2.3 Pontos de corte

Diversos pontos de corte vêm sendo utilizados para a classificação da hipocalcemia clínica e subclínica. Para considerar uma vaca com hipocalcemia clínica, Goff e Horst (1997b) e Santos (2011), consideram que o cálcio total deve estar abaixo de 5,5 g/L (1,37 mmol/L). Nogueira (2010), Roche e Berry (2006) e Degaris e Lean (2006) afirmam que se considera hipocalcemia clínica quando a concentração de cálcio total é inferior a 5,6 g/L (1,4 mmol/L) somado a sinais clínicos associados.

No caso da hipocalcemia subclínica, há discordância entre diversos autores: para Otero et al. (2013), Goff e Horst (1998) e Jawor et al. (2012), se considera como positivo o animal que apresenta concentração sérica de cálcio total menor que 7,5 g/L (1,8 mmol/L) ou cálcio iônico menor que 4,0 g/L (1,0 mmol/L). Hansen et al. (2003), Roche e Berry (2006) consideraram que o ponto de corte para a hipocalcemia subclínica deve ser 8,0 g/L (2 mmol/L) de cálcio total. Estudos de Chapinal et al. (2011) e Chapinal et al. (2012) sugerem que o ponto de corte para declarar a hipocalcemia subclínica deve ser abaixo de 8,4 mg/dL (2,1 mmol/L) de cálcio total sérico.

2.2.4 Fatores pré-disponentes para hipocalcemia

2.2.4.1 *Alcalose metabólica*

Dietas consideradas alcalinas, ricas em sódio (Na), potássio (K), cálcio (Ca) e magnésio (Mg) promovem alcalose metabólica por conter altas concentrações de cátions e, conseqüentemente, comprometem os mecanismos de homeostase do cálcio durante os primeiros dias de lactação, favorecendo o aparecimento da hipocalcemia subclínica (CORRÊA; GONZÁLEZ; SILVA, 2010; SANTOS, 2011).

Isso ocorre porque a alcalose metabólica bloqueia a resposta do organismo ao PTH, já que a conformação do receptor deste hormônio é alterada nessas condições. No tecido ósseo há menor ressorção óssea osteoclástica, enquanto que nos rins há menor reabsorção renal de cálcio a partir do filtrado glomerular e, além disso, não ativam a 25-hidroxivitamina D em 1,25-dihidroxivitamina D, o que compromete a absorção intestinal de cálcio (GOFF, 2004; KOCK, 2013).

Para Goff (2009), a grande oferta do cátion K^+ nas dietas, é a principal causa da alcalose metabólica. O teor de potássio nas forragens é afetado, principalmente, pela maturidade das plantas, sendo que os cortes precoces das pastagens contêm maior teor desse mineral (MCDOWELL, 2003). O uso de fertilizantes químicos e de adubação com dejetos animais também influencia nas concentrações de K^+ nas forragens (MARTIN et al., 2011).

2.2.4.2 *Hipomagnesemia*

Dietas deficientes em magnésio causam inibição da mobilização do cálcio por efeito direto sobre o metabolismo dos ossos, interferindo com a absorção intestinal de cálcio e estimulando a secreção de calcitonina (CORRÊA; GONZÁLEZ, SILVA, 2010).

A hipomagnesemia também é capaz de interferir com a capacidade da PTH para atuar em seus tecidos alvo. Quando o PTH liga o seu receptor aos tecidos ósseos ou renais, inicia a ativação da enzima adenilato ciclase, resultando na produção do segundo mensageiro, AMP cíclico. Em alguns tecidos, as interações PTH-receptor também devem causar a ativação da fosfolipase C, resultando na produção dos segundos mensageiros diacilglicerol e inositol 1,4,5-trifosfato, os quais possuem um local de ligação com o Mg^{++} , que deve ser ocupado para suas atividades completas (RUDE, 1998).

2.2.4.3 *Hiperfosfatemia*

Dietas ricas em fósforo (> 80 g/dia) inibem a produção de 1α -hidroxilase a nível renal, diminuindo a produção de 1,25-dihidroxitamina D e, portanto, a absorção de cálcio intestinal (CORRÊA; GONZÁLEZ; SILVA, 2010).

2.2.4.4 *Idade*

À medida que as vacas envelhecem, apresentam maior risco de desenvolverem hipocalcemia, sendo que vacas primíparas raramente são acometidas. Animais mais velhos são mais propensos a desenvolver a condição, provavelmente pela menor presença de receptores de vitamina D nos enterócitos (SANTOS, 2011). Horst et al. (1997), demonstraram que a enzima 24-hidroxilase, uma enzima que inativa a 1,25-dihidroxitamina D, aumenta drasticamente na vaca mais velha. Além disso, vacas mais velhas têm maior produção leiteira e, conseqüentemente, maior demanda de cálcio (CORRÊA; GONZÁLEZ; SILVA, 2010).

2.2.4.5 *Raça*

Vacas da raça Jersey são mais suscetíveis que vacas da raça Holandesa, provavelmente pela menor concentração de receptores para 1,25-dihidroxitamina D nas células epiteliais do intestino (CORRÊA; GONZÁLEZ; SILVA, 2010). Outro fator que

contribui para esta condição é a maior concentração de cálcio no leite e colostro em vacas desta raça (KOCK, 2013).

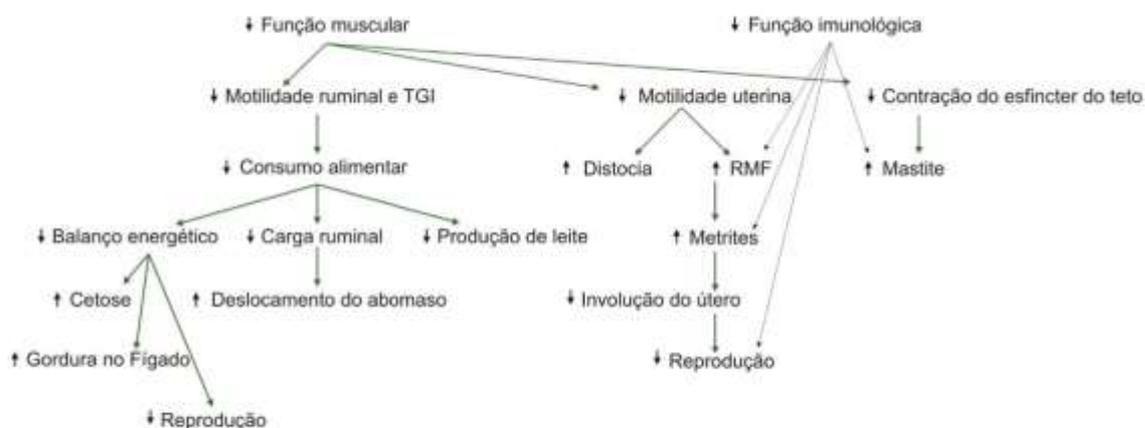
2.2.5 Associação entre hipocalcemia e outros transtornos metabólicos

A hipocalcemia clínica tem sido associada a múltiplos transtornos do pós-parto tais como distocia, prolapso uterino, membranas fetais retidas, metrite, baixa fertilidade, mastite e motilidade ruminal e abomasal reduzida (CURTIS et al., 1983, GOFF, 2004).

Corbellini (1998), em estudos epidemiológicos realizados pela Universidade de Cornell (EUA), demonstrou que as vacas com hipocalcemia clínica ao parto têm 3,1 vezes mais chances de apresentar prolapso uterino, 5,4 vezes mais mastite clínica, 7,2 vezes mais distocia e 5,7 vezes mais chances de desenvolver retenção de placenta que os animais normais. Duffield (2000), concluiu que o surgimento desta enfermidade pode aumentar o fator de risco (FR) da retenção de membranas fetais (FR=4,33), da mastite (FR= 5,4), do deslocamento do abomaso (FR= 6,0) e da cetose (FR= 23,4).

A hipocalcemia subclínica pode aumentar o risco de doenças secundárias, as quais estão relacionadas à diminuição da contração muscular (GOFF, 2008) e da função imune das vacas leiteiras (KIMURA; REINHARDT; GOFF, 2006). Kimura, Reinhardt e Goff (2006) demonstraram que a hipocalcemia está associada à redução nos estoques intracelulares de cálcio nas células mononucleares do sangue periférico, o que exacerba a imunossupressão periparturiente (Figura 1). Também foi demonstrado que vacas com hipocalcemia clínica ou subclínica sofrem maior aumento no nível de cortisol em resposta ao parto (MULLIGAN et al., 2006), o que também acredita-se ser um importante componente da supressão da imunidade (MARTINEZ et al., 2012).

Figura 1 - Consequências da hipocalcemia sobre a função muscular e imunológica de bovinos leiteiros (adaptado de Mulligan et al., 2006)



Diversos estudos associam a ocorrência de hipocalcemia subclínica com transtornos do pós-parto: vacas com hipocalcemia subclínica apresentam maior risco de desenvolver metrite (MARTINEZ et al., 2012), cetose (KARA, 2013), retenção de placenta, deslocamento de abomaso (CHAPINAL et al., 2011) e de descarte (ROBERTS et al., 2012) e apresentam um metabolismo lipídico hepático comprometido (CHAMBERLIN et al., 2013).

Além das alterações causadas pela queda no cálcio sérico, o metabolismo energético de vacas leiteiras está prejudicado devido à capacidade de mobilizar energia para equilibrar o déficit resultante da produção de leite e a menor ingestão de matéria seca (OSPINA et al., 2010). Os depósitos lipídicos são mobilizados na forma de ácidos graxos não esterificados (NEFA) e são utilizados para energia tanto na glândula mamária quanto nos tecidos não mamários (ALLEN; PIANTONI, 2013). Os NEFA também são oxidados pelo fígado em corpos cetônicos, incluindo o beta-hidroxibutirato (BHB), que também pode ser usado como fonte de energia (GORDON; LEBLANC; DUFFIELD, 2013). A produção de NEFA e BHB acima de vários limiares está fortemente associada a efeitos prejudiciais à saúde e à produção (OSPINA et al., 2010; CHAPINAL et al., 2012).

A hipocalcemia foi associada ao comprometimento do desempenho reprodutivo ao retardar a retomada da ciclicidade ovariana (JONSSON et al., 1999) e à resposta prejudicada aos protocolos de sincronização do estro (MCNALLY et al., 2014). O primeiro mecanismo de regulação metabólica que prejudica o desempenho reprodutivo é a redução da disponibilidade de cálcio para as células imunes (KIMURA, REINHARDT, GOFF, 2006), diminuindo a função dos neutrófilos e levando ao aumento do risco de

doenças infecciosas uterinas (MARTINEZ et al., 2012), as quais são agravadas pela incapacidade do útero em expelir o conteúdo uterino devido à diminuição da capacidade de contração uterina causada pela deficiência de cálcio (HANSEN et al., 2003).

Em segundo lugar, a hipocalcemia subclínica exacerba o balanço energético negativo (RIBEIRO et al., 2013) e prejudica o metabolismo lipídico (CHAMBERLIN et al., 2013). A menor disponibilidade de energia intensifica ainda mais a disfunção das células imunes e, conseqüentemente, aumenta a ocorrência de doenças uterinas (GALVÃO et al., 2010). As doenças clínicas e subclínicas estão associadas a taxas reduzidas de gravidez por inseminação artificial e atraso no retorno à ciclicidade (RIBEIRO et al., 2013).

Vacas normocalcêmicas têm maiores chances de emprenhar no primeiro serviço (CHAPINAL et al., 2012; MARTINEZ et al., 2012) e menores chances de desenvolver distúrbios reprodutivos (CHAPINAL et al., 2012; RIBEIRO et al., 2013) quando comparadas às vacas hipocalcêmicas.

2.2.6 Sinais clínicos

Quando os valores de cálcio sérico estão reduzidos, inicialmente, observa-se excitação do sistema nervoso, com contrações musculares verificadas durante o primeiro estágio da hipocalcemia. Com a evolução do quadro, há diminuição da liberação de acetilcolina, devido à baixa concentração de cálcio na junção neuromuscular, o que resultará em paralisia. A interação entre a actina e a miosina, responsável pela contração muscular, também estará prejudicada pelo déficit de cálcio (BARROS, 2015).

Os sinais clínicos da hipocalcemia são divididos em três estágios. No primeiro estágio, o animal está em estação, apresentando tremores musculares, hipersensibilidade e tem dificuldade em comer. No segundo estágio, a vaca fica em decúbito esternal prolongado, prostrada, com temperatura subnormal e pulso fraco. No terceiro estágio, o animal fica em decúbito lateral, comatosa e com os membros estendidos. Se não receber tratamento, a paralisia muscular causada pelo desequilíbrio no potencial elétrico das células evolui até a morte do paciente (CORRÊA; GONZÁLEZ; SILVA, 2010).

Quando se trata de hipocalcemia subclínica, não existem sinais clínicos claros e, portanto, não se pode estabelecer uma relação evidente entre sinais clínicos e o transtorno. Porém, pode ser acompanhado do aumento da ocorrência de patologias pós-parto (CHAPINAL et al., 2012; MARTINEZ et al., 2012; OTERO et al., 2013).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Todos os procedimentos envolvendo animais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Rio Grande do Sul sob o protocolo nº 29966 do projeto “Doenças uterinas em vacas leiteiras: ocorrência e característica metabólicas e reprodutivas” (Anexo 1) e autorizados pelos responsáveis dos rebanhos (Anexos 2, 3, 4, 5, 6 e 7). Dados e amostras de soro do citado projeto foram utilizados para análises sanguínea e estatística.

Conforme a resolução 03/2000 da Câmara de Pesquisa da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, essa pesquisa não envolve resíduos prejudiciais ao ambiente de trabalho, ao meio ambiente e à saúde humana. Os soros bovinos foram armazenados em *eppendorfs* identificados com o número do animal e data da coleta, em temperatura de -20°C. Após a análise bioquímica, o material foi descartado conforme normas do Hospital de Clínicas do Veterinárias da UFRGS no Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias.

3.1 Animais

Foram avaliadas 259 vacas da raça Holandesa (78 primíparas e 181 múltíparas), provenientes de nove fazendas comerciais, localizadas na região da Serra Gaúcha nas cidades de Veranópolis, Carlos Barbosa, Cotiporã, Fagundes Varela e Vila Flores, no estado do Rio Grande do Sul, Brasil, entre setembro de 2016 e novembro de 2017.

Com base em dados do IBGE (2017), nessas cidades foram ordenhas um total de 11.062 vacas. Para o cálculo amostral, foi utilizado esse número de animais como tamanho da população estudada, com uma margem de erro de 5%, nível de confiança de 95% e heterogeneidade de 20%, totalizando uma amostra animal de 241 animais.

As fazendas continham, em média, 45 vacas em lactação, as quais eram ordenhadas duas vezes por dia. Pelos registros das propriedades, a produção média em 305 dias de lactação foi de 9.760 kg de leite.

Em cinco das nove fazendas em estudo, os animais estavam mantidos em sistema de produção de confinamento com acesso ao pasto (n= 143), onde tinham acesso à pastagem rotativa à base de aveia e azevém (no período entre maio a novembro) e tifton 85, capim Sudão e milho (no período de dezembro a abril), em torno de seis horas por dia, com disponibilidade de água *ad libitum*. Nas 18 horas restantes as vacas eram alojadas no *free stall* com disponibilidade de alimento (ração totalmente misturada) e

água ou estavam sendo ordenhadas. Nas demais fazendas, os animais estavam alocados em sistema de produção de confinamento (n=116), onde não tinham acesso à pastagem, permanecendo no *free stall* com disponibilidade de alimento (ração totalmente misturada) e água *ad libitum*, de onde saíam apenas para ser ordenhadas. A dieta total fornecida para as vacas no pós-parto foi formulada para atender os requisitos de vacas leiteiras de acordo com as diretrizes estabelecidas pelo NRC (2001). Além disso, os animais recebiam formulações comerciais de dietas aniônicas no período pré-parto.

Um total de quatro médicos veterinários estiveram envolvidos neste estudo. Para padronizar a comunicação de procedimentos clínicos e achados, todos os veterinários participantes receberam instruções padrão, material e documentação no início do estudo. Várias validações de procedimentos e classificação de resultados foram realizadas ao longo do estudo. Todos os rebanhos participantes estavam dentro de um raio de 60 km e compartilhavam condições climáticas semelhantes.

3.2 Avaliação clínica e reprodutiva

Todas as vacas foram classificadas para escore de condição corporal ao parto através do método subjetivo por observação e palpação na escala de 1 a 5, onde 1 são vacas muito magras e 5 são vacas muito gordas, considerando-se os valores ideais para vacas recém paridas entre 3 e 3,5 (EDMONSON et al., 1989).

Foram realizadas as avaliações detalhadas abaixo em todos os animais semanalmente, entre a 1ª e 6ª semana após o parto:

Temperatura retal (TR) foi avaliada semanalmente. Temperaturas superiores a 39,4°C foram consideradas estresse térmico durante o verão (outubro a março) e, associadas com um quadro febril durante o inverno (abril a setembro).

Também semanalmente, foi registrada na propriedade a ocorrência de transtornos do pós-parto (distocia, retenção de placenta, mastite clínica, cetose clínica, hipocalcemia clínica e deslocamento de abomaso). O diagnóstico de alguns transtornos se deu de acordo com as definições descritas na Tabela 2.

Tabela 2 - Definições de alguns transtornos do pós-parto

Diagnóstico	Definição	Referência
Distocia	Assistência ao parto feita pelos produtores ou por médicos veterinários	Radostitis et al. (2006).

Retenção de placenta	Falha na expulsão placentária dentro de 24 horas após o parto	Kelton et al. (1998)
Hipocalcemia clínica	Anorexia, atonia ruminal, fraqueza muscular, hipotermia, taquicardia e resposta à administração intravenosa de cálcio imediatamente antes ou após o parto	Berge e Verten (2014); Radostitis et al. (2006).
Cetose clínica	Diminuição da produção leiteira e da ingestão de matéria seca, perda de condição corporal, constipação e/ou BHB > 3,0 mmol/L	Ospinal et al. (2010); Berge e Verten (2014).
Deslocamento de abomaso	Movimento do abomaso para a direita ou para a esquerda, detectados pela ausculta do som “ping” com a percussão auscultatória.	Ospinal et al. (2010); Berge e Verten (2014).
Mastite clínica	Inflamação da glândula mamária, que apresenta diversos sinais clínicos: edema, aumento de temperatura, endurecimento, dor, e/ou aparecimento de grumos, pus ou qualquer alteração das características do leite.	Correa, Erb e Scarlett et al. (1993); Bradley (2002).

O exame do conteúdo vaginal dos animais foi feito através do dispositivo Metricheck (Simcrotech, Hamilton, Nova Zelândia) sendo este classificado em escore 0, 1, 2 e 3 (0: nenhum material de secreção ou muco claro, 1: manchas de material purulento dentro de muco claro, 2: menos de 50% de material purulento no corrimento vaginal, 3: mais de 50% de material purulento com ou sem descarga fétida) (SHELDON et al., 2006). O diagnóstico de metrite foi considerado quando houve conteúdo vaginal na 1^a, 2^a e 3^a semanas pós-parto em vacas com escore ≥ 1 . O diagnóstico de endometrite clínica foi considerado quando houve conteúdo vaginal na 4^a, 5^a e a 6^a semanas pós-parto em vacas com escore ≥ 1 .

As vacas que apresentaram metrite puerperal aguda foram tratadas de acordo com protocolo estabelecido na propriedade. As vacas com metrite clínica e endometrite de qualquer grau não foram tratadas.

Na 4^a e na 6^a semana pós-parto, naqueles animais que não apresentaram endometrite clínica, foi realizada a citologia uterina mediante o uso da Cytobrush, uma haste de metal ou plástica de aproximadamente 40 cm com cerdas de nylon na extremidade. Lâminas citológicas foram preparadas rolando a Cytobrush e fixadas para posterior análise. Após isso, foram levadas para o laboratório, onde foram coradas com a coloração Wright-Giemsa e analisadas através da contagem de 100 células em microscópio óptico (400x) para determinar a porcentagem de polimorfonucleares (PMN).

O diagnóstico de endometrite subclínica foi considerado quando a porcentagem de PMN era maior que 18% na 4ª semana pós-parto e, maior de 10% na 6ª semana pós-parto.

Aos 49 dias pós-parto, todos os animais iniciaram protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF), como descrito a seguir: Dia 0: implante de progesterona (1,0 g) intra vaginal + 2 mg de benzoato de estradiol intramuscular (IM) + 25 µg de lecorelina IM; Dia 7: 0,482 mg de cloprostenol sódico IM; Dia 9: retirada do implante de progesterona + 0,482 mg de cloprostenol sódico IM; Dia 11: 25 µg de lecorelina IM e 12 horas depois IATF. A gestação foi verificada por ultrassonografia 30 dias após início da IATF para calcular a taxa de concepção ao primeiro serviço.

Foram excluídos do estudo animais que tiveram duração de gestação menor que 265 dias e que foi realizada cesariana ou qualquer outro procedimento cirúrgico no momento do parto.

3.3 Avaliação laboratorial

Amostras de sangue foram coletadas semanalmente (1ª a 6ª semana pós-parto) por punção venosa ou arterial coccígea através do sistema vacutainer, em tubos sem anticoagulante e enviadas ao laboratório, sob refrigeração.

Para as análises bioquímicas, as amostras sem anticoagulante foram centrifugadas para obtenção de soro, o qual foi fracionado em alíquotas, armazenado em tubos do tipo *ependorf* e conservados a -20°C. As determinações bioquímicas de beta-hidroxibutirato (BHB), colesterol e aspartato aminotransferase (AST) foram realizadas utilizando espectrofotômetro automático (Autoanalyser CM 200, Wiener Lab) utilizando kits comerciais (Labtest, Brasil e Randox, Irlanda). Cálcio iônico foi mensurado por técnica de eletrodo seletivo utilizando hemogasômetro (Cobas b 121 – Roche).

O diagnóstico de alguns transtornos metabólicos do pós-parto se deu de acordo com as definições descritas na Tabela 3.

Tabela 3 - Pontos de corte para diagnóstico de alguns transtornos metabólicos

Diagnóstico	Ponto de corte	Referências
Cetose clínica	BHB >3,0 mmol/L	Oetzel (2004); Vanholder et al. (2015)
Cetose subclínica	BHB >1,4 mmol/L	Duffield (2004); Oetzel (2004); Duffield et al. (2008); Raboisson; Mounié; Maigné (2014)

Hipocalcemia subclínica	Cálcio iônico < 4,0 mg/dL	Oetzel (2004); Martinez et al. (2014)
Balanço energético negativo (BEN)	Colesterol < 80 mg/dL	Kaneko (2006)
Lipidose hepática	AST >132 U/L + Nenhuma alteração clínica do sistema músculo-esquelético	Kaneko (2006)

3.4 Análise estatística

Todos os dados foram anotados em uma planilha de campo, após lançados no programa Excel e posteriormente um banco de dados foi criado e esses dados exportados para o programa estatístico SPSS versão 20.0.

Os dados foram digitados no programa Excel (Microsoft), onde se calcularam as taxas de prevalência de hipocalcemia clínica, cetose clínica, cetose subclínica, lipidose hepática, deslocamento de abomaso, mastite clínica, metrite, endometrite clínica, endometrite subclínica, retenção de placenta e distocia através da seguinte fórmula:

$$P = \frac{Nc}{Nar}$$

onde P é a prevalência, Nc é número de casos do transtorno ocorridos em uma população em determinado período e Nar é número de animais sob risco de desenvolver o transtorno durante o mesmo período.

Posteriormente, criou-se um banco de dados o qual foi exportado para o programa estatístico SPSS versão 20.0 e onde se realizou as demais análises. A vaca foi considerada a unidade experimental e a normalidade dos dados foi verificada por meio do teste de Shapiro-Wilk.

O teste Qui-quadrado de Pearson ou teste exato de Fischer foram utilizados para as comparações de ocorrência dos transtornos do pós-parto avaliados com a calcemia, assim como avaliar as razões de prevalência do desenvolvimento de transtornos pós-parto em animais hipocalcêmicos para variáveis categóricas. Valores de $p \leq 0,05$ serão considerados como diferenças significativas entre os dados encontrados. Além disso, valores de $p \leq 0,1$ serão considerados como tendências.

Para determinar o ponto de corte de cálcio iônico sérico que prevê a ocorrência de transtornos metabólicos foram realizadas análises ROC (Receiver Operator Characteristic), as quais analisam o cálcio iônico sérico com a maior sensibilidade

(animais positivos para um transtorno com cálcio iônico sérico $<4,0$ mg/dL) combinada com a maior especificidade (animais negativos para um transtorno com valor de cálcio iônico sérico $\geq 4,0$ mg/dL).

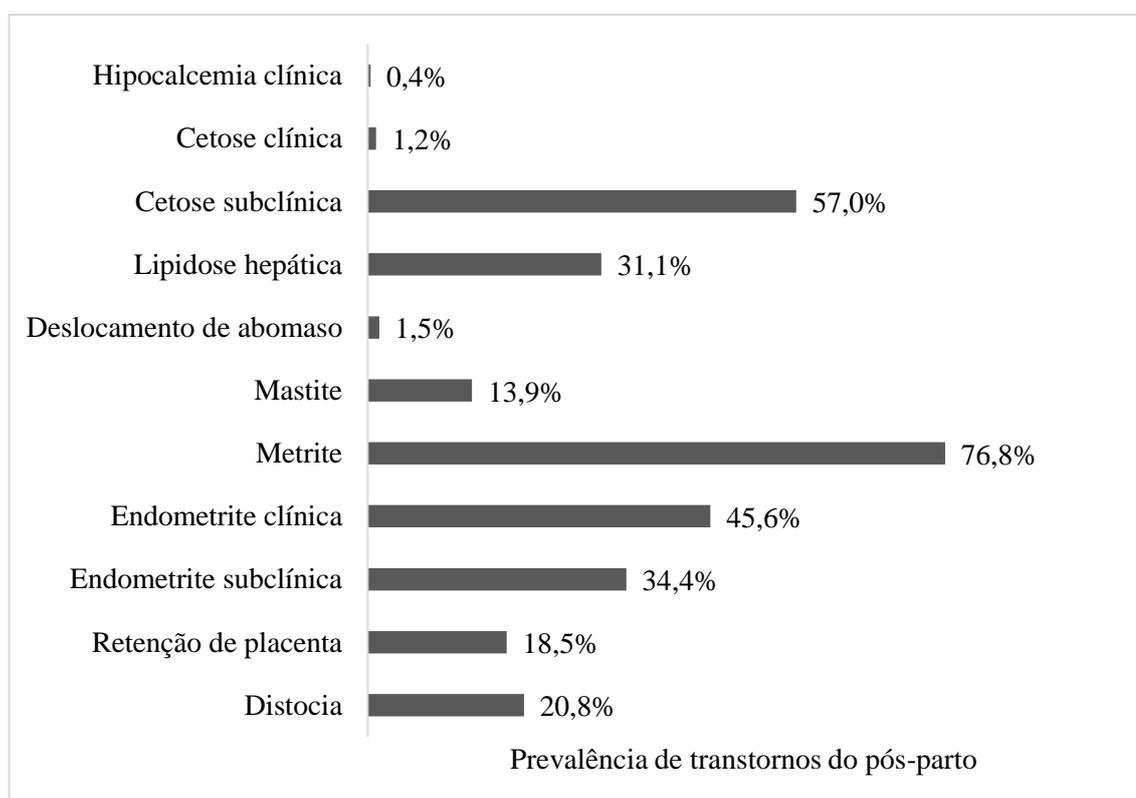
A interpretação desse ponto de corte foi baseada na área sob a curva (AUC – *area under the curve*). Se a $AUC \leq 0,5$, foi considerada não informativa; se $0,5 < AUC \leq 0,7$, era precisa; se $0,7 < AUC \leq 0,9$, era muito precisa; se $0,9 < AUC < 1$, era altamente precisa; e se $AUC = 1$, era considerado perfeita (SWETS, 1988).

4 RESULTADOS

4.1 Prevalência de transtornos do pós-parto

A prevalência de transtornos do pós-parto do presente estudo foi de 0,4% para hipocalcemia clínica, 1,2% para cetose clínica, 57% para cetose subclínica, 31,1% para lipidose hepática, 1,5% para deslocamento de abomaso, 13,9% para mastite clínica, 76,8% para metrite, 45,6% para endometrite clínica, 34,4% para endometrite subclínica, 18,5% para retenção de placenta e 20,8% para distocia, conforme demonstra o Gráfico 1.

Gráfico 1 – Prevalência de transtornos, entre a 1ª e 6ª semana pós-parto de vacas leiteiras alojadas em fazendas da serra do Rio Grande do Sul, Brasil



A prevalência de transtornos do pós-parto entre a 1ª e a 6ª semana pós-parto de vacas leiteiras alojadas em fazendas da serra do Rio Grande do Sul é descrita na Tabela 4. Cetose subclínica, lipidose hepática, mastite clínica, metrite e endometrite clínica apresentaram maior prevalência na 2ª, 1ª, 1ª, 2ª e 3ª semana, respectivamente ($p < 0,05$).

Tabela 4 – Prevalência de transtornos no pós-parto em vacas leiteiras alojadas em fazendas da serra do Rio Grande do Sul, Brasil; e associação com a semana pós-parto

Transtorno do pós-parto		Semana pós-parto						p
		1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	
Hipocalcemia clínica	n	1	-	-	-	-	-	-
	%	0,4	-	-	-	-	-	
Cetose clínica	n	0	1	1	1	0	0	0,700
	%	0,0	0,4	0,4	0,4	0,0	0,0	
Cetose subclínica	n	6	16	4	15	6	11	0,016
	%	2,3	6,2	1,5	5,8	2,3	4,2	
Lipidose hepática	n	10	6	8	6	0	3	0,038
	%	3,9	2,3	3,1	2,3	0,0	1,2	
Deslocamento de abomaso	n	2	1	1	0	0	0	0,369
	%	0,8	0,4	0,4	0,0	0,0	0,0	
Mastite clínica	n	15	2	5	5	5	4	0,000
	%	5,8	0,8	1,9	1,9	1,9	1,5	
Metrite	n	131	181	123	-	-	-	0,000
	%	50,6	69,9	48,2	-	-	-	
Endometrite clínica	n	-	-	-	98	64	43	0,000
	%	-	-	-	37,8	24,7	16,6	
Endometrite subclínica	n	-	-	-	52	-	59	0,420
	%	-	-	-	34,0	-	29,8	
Retenção de placenta	n	48	-	-	-	-	-	-
	%	18,5	-	-	-	-	-	
Distocia	n	54	-	-	-	-	-	-
	%	21	-	-	-	-	-	

4.2 Transtornos do pós-parto: Fatores de risco e associações com calcemia e dados clínicos, produtivos e laboratoriais

4.2.1 Hipocalcemia clínica

Quando analisadas por semana pós-parto (1^a a 6^a), a ocorrência de hipocalcemia clínica em animais com ECC ao parto < 3 não apresentou diferença significativa em

relação aos animais que apresentaram hipocalcemia, somente. O mesmo aconteceu para os animais com ECC ao parto $> 3,5$, com diagnóstico gestacional negativo ao primeiro serviço, com distocia, primíparos ou múltiparos, com temperatura acima de $39,4^{\circ}\text{C}$ no inverno e naqueles confinados em *free stall* ou confinados com acesso ao pasto.

4.2.2 Cetose clínica

A ocorrência de cetose clínica por semana pós-parto não apresentou diferença significativa em animais com ECC ao parto < 3 , com ECC ao parto $> 3,5$, com diagnóstico gestacional negativo ao primeiro serviço, com distocia, primíparos ou múltiparos, com temperatura acima de $39,4^{\circ}\text{C}$ no inverno e naqueles confinados em *free stall* ou confinados com acesso ao pasto quando comparados a animais que apresentaram cetose clínica, apenas.

4.2.3 Cetose subclínica

A ocorrência de cetose subclínica foi 2,91 vezes maior em vacas hipocalcêmicas que possuíam ECC ao parto $> 3,5$ na 2ª semana pós-parto em relação às vacas com cetose subclínica, apenas (Gráfico 2 e Tabela 5). A mesma situação ocorreu na 3ª semana, porém, a razão de proporções não pode ser calculada.

Gráfico 2 - Ocorrência de cetose subclínica e sua associação com ECC ao parto $> 3,5$ em vacas leiteiras alojadas em fazendas da serra do Rio Grande do Sul, Brasil

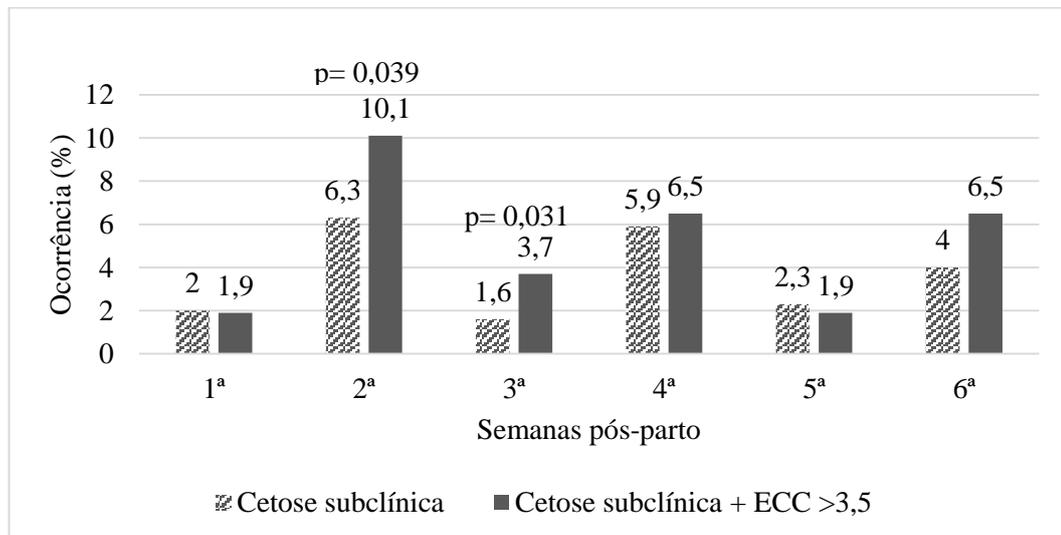


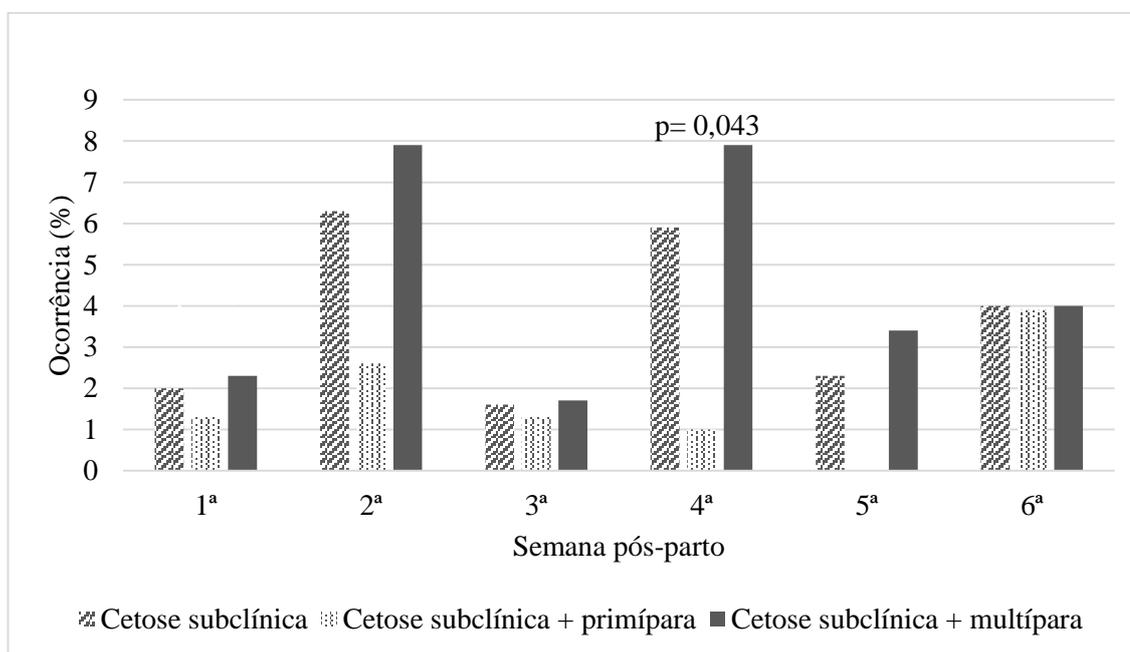
Tabela 5 - Razões de prevalências de transtornos do pós-parto e de dados clínicos, produtivos e laboratoriais de vacas leiteiras alojadas em fazendas da serra do Rio Grande do Sul, Brasil

	Semana	Razões de prevalência (RP)	Intervalo de confiança (95%)	P
Cetose subclínica X Cetose subclínica + ECC ao parto >3,5	2	2,91	1,04 - 8,12	0,042
	3	-	-	-
Cetose subclínica X Cetose subclínica + primíparas ou multíparas	4	6,17	0,826 - 46,1	0,076
	2	-	-	-
Cetose subclínica X Cetose subclínica + <i>Free Stall</i> ou pasto	5	-	-	-
	6	7,08	0,911 - 55,08	0,061
	3	4,073	0,838 - 19,79	0,082
Lipidose hepática X Lipidose hepática + ECC ao parto > 3,5	3	4,073	0,838 - 19,79	0,082
BEN X BEN + ECC ao parto <3	6	1,6	1,217 - 2,114	0,001
BEN X BEN + ECC ao parto >3,5	4	1,38	1,119 - 1709	0,003
BEN X BEN + Distocia	2	1,19	1,050 - 1,347	0,006
BEN X BEN + <i>Free Stall</i> ou pasto	2	1,145	0,097 - 1,315	0,055
Mastite X Mastite + ECC ao parto >3,5	3	-	-	-
	1	2,73	0,963 - 7,77	0,059
Mastite X Mastite + Distocia	1	3,16	1,200 - 8,323	0,02
Mastite X Mastite + <i>Free Stall</i> ou pasto	1	4,909	1,131 - 21,299	0,034
	1	1,582	1,263 - 1,983	0
Metrite X Metrite + Distocia	2	1,316	1,140 - 1,518	0
	1	1,41	1,118 - 1,779	0,004
Metrite X Metrite + primíparas ou multíparas	3	1,48	1,164 - 1,901	0,002
	2	1,18	1,018 - 1,387	0,029
	5	1,615	1,034 - 2,524	0,035
Endometrite clínica X Endometrite clínica + Distocia	5	1,615	1,034 - 2,524	0,035
Endometrite clínica X Endometrite clínica + primíparas ou multíparas	6	1,877	1,088 - 3,239	0,024
	1	3,309	2,020 - 5,421	0
Retenção de placenta X	1	3,309	2,020 - 5,421	0

Retenção de placenta +	2	1,991	1,132 - 3,503	0,017
temperatura retal >39,4°C	3	2,04	1,144 - 3,644	0,016

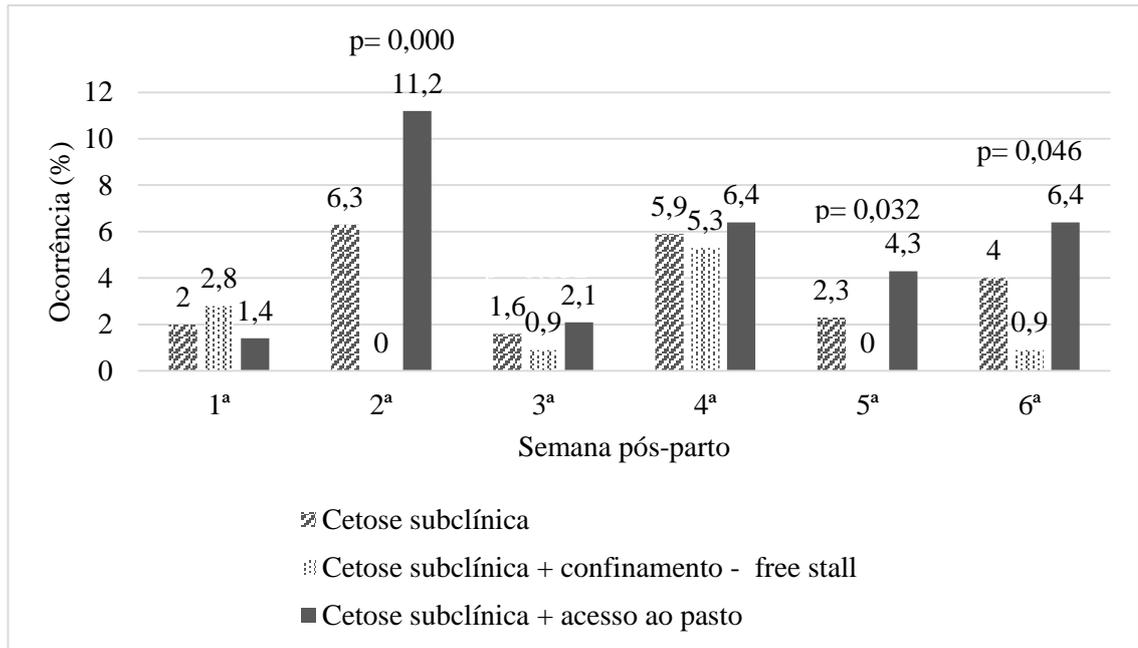
A ocorrência de cetose subclínica em animais hipocalcêmicos multíparas foi 6,17 vezes maior do que em animais primíparas na 4ª semana pós-parto (Gráfico 3 e Tabela 5).

Gráfico 3 - Ocorrência de cetose subclínica e sua associação com a paridade (primíparas e multíparas) em vacas leiteiras alojadas em fazendas da serra do Rio Grande do Sul, Brasil



A ocorrência de cetose subclínica em animais hipocalcêmicos alojados em fazendas com sistema de confinamento com acesso ao pasto foi maior do que em animais hipocalcêmicos alojados em fazendas com sistema de confinamento do tipo *free stall*, na 2ª, 5ª e 6ª semana pós-parto (Gráfico 4). Na 6ª semana pós-parto, a chance foi 7,08 vezes maior e, nas demais semanas, as razões de prevalência não puderam ser calculadas (Tabela 5).

Gráfico 4 - Ocorrência de cetose subclínica e sua associação com o tipo de sistema de produção em vacas leiteiras alojadas em fazendas da serra do Rio Grande do Sul, Brasil

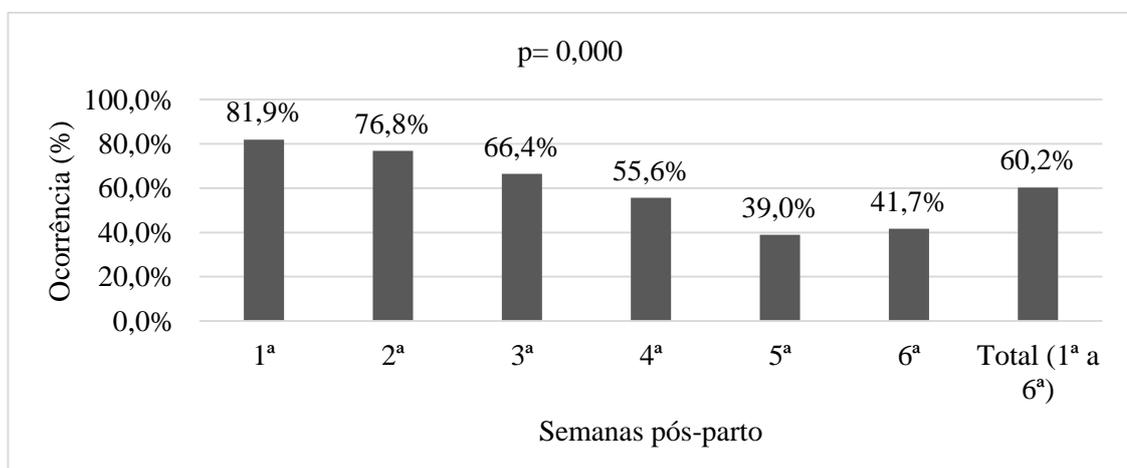


As ocorrências de cetose subclínica em animais hipocalcêmicos com ECC ao parto <3, com diagnóstico gestacional negativo ao primeiro serviço, com distocia ou com temperatura retal acima de 39,4° C no inverno não apresentaram diferença significativa quando comparadas a animais que apresentaram cetose subclínica, apenas.

4.2.4 Balanço energético negativo

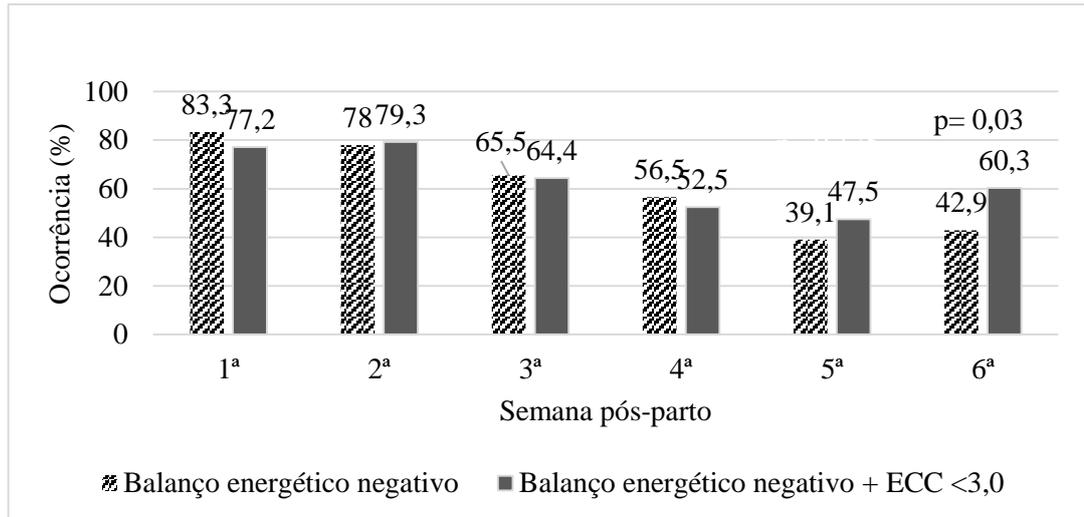
A ocorrência de balanço energético negativo foi maior na 1ª, 2ª, 3ª e 4ª semana, consecutivamente, conforme demonstra o Gráfico 5.

Gráfico 5 - Ocorrência de balanço energético negativo em vacas leiteiras alojadas em fazendas da serra do Rio Grande do Sul, Brasil, por semana pós-parto



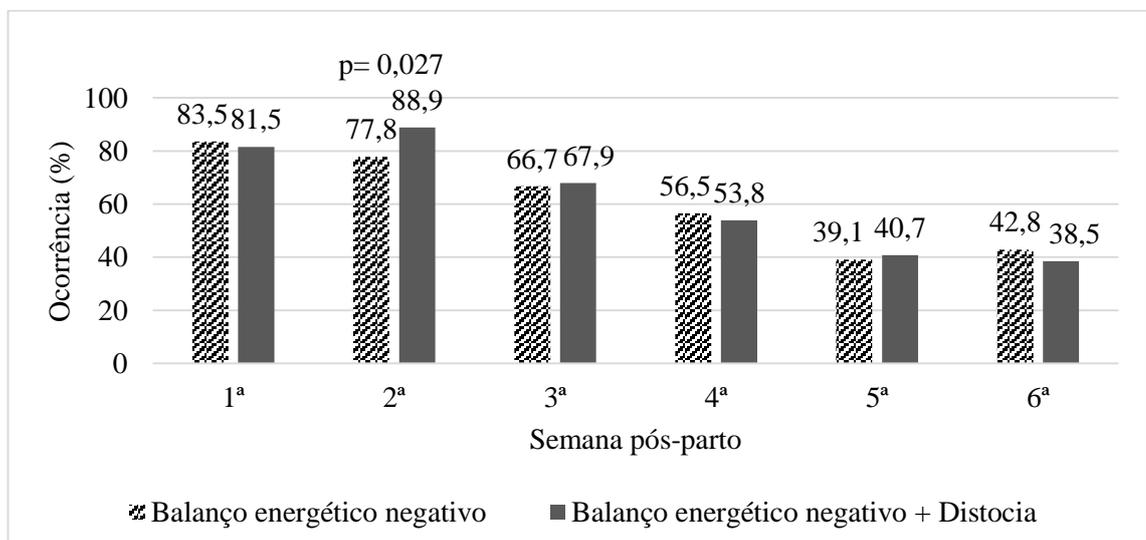
A ocorrência de balanço energético negativo, na 6^a semana pós-parto, em vacas hipocalcêmicas com ECC ao parto <3 foi 1,6 vezes maior do que em vacas com balanço energético negativo, apenas (Gráfico 6).

Gráfico 6 - Ocorrência de balanço energético negativo e sua associação com o ECC ao parto < 3 em vacas leiteiras alojadas em fazendas da serra do Rio Grande do Sul, Brasil



A ocorrência de balanço energético negativo, na 2^a semana pós-parto, em vacas com distocia foi 1,19 vezes maior do que em vacas com balanço energético negativo, apenas (Gráfico 7).

Gráfico 7 - Ocorrência de balanço energético negativo e sua associação com distocia em vacas leiteiras alojadas em fazendas da serra do Rio Grande do Sul, Brasil

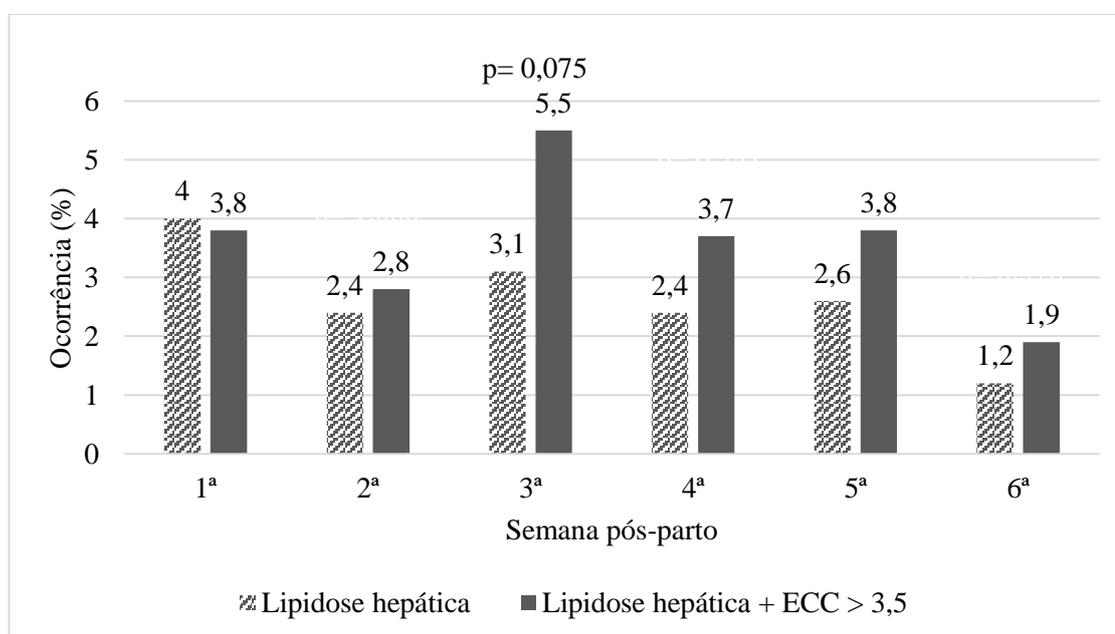


A ocorrência de balanço energético negativo em animais hipocalcêmicos com ECC ao parto $>3,5$, diagnóstico gestacional negativo ao primeiro serviço, com distocia, primíparas ou múltiparas e com temperatura retal acima de $39,4^{\circ}\text{C}$ no inverno e naqueles confinados em *free stall* ou confinados com acesso ao pasto não apresentaram diferença significativa quando comparadas a animais que apresentaram balanço energético negativo, apenas.

4.2.5 Lipidose hepática

A ocorrência de lipidose hepática em vacas teve tendência a ser maior em animais com ECC ao parto $>3,5$, na 3ª semana pós-parto, sendo que estes animais tiveram 4,07 vezes mais de desenvolver o transtorno do que as vacas que apresentaram lipidose hepática, somente (Gráfico 8 e Tabela 5).

Gráfico 8 - Ocorrência de lipidose hepática e sua associação com o ECC ao parto $>3,5$ em vacas leiteiras alojadas em fazendas da serra do Rio Grande do Sul, Brasil



As ocorrências de lipidose hepática em animais hipocalcêmicos com ECC ao parto $<3,0$, com diagnóstico gestacional negativo ao primeiro serviço, com distocia, primíparas ou múltiparas ou com temperatura retal acima de $39,4^{\circ}\text{C}$ no inverno não apresentaram

diferença significativa quando comparada a animais que apresentaram lipidose hepática, apenas.

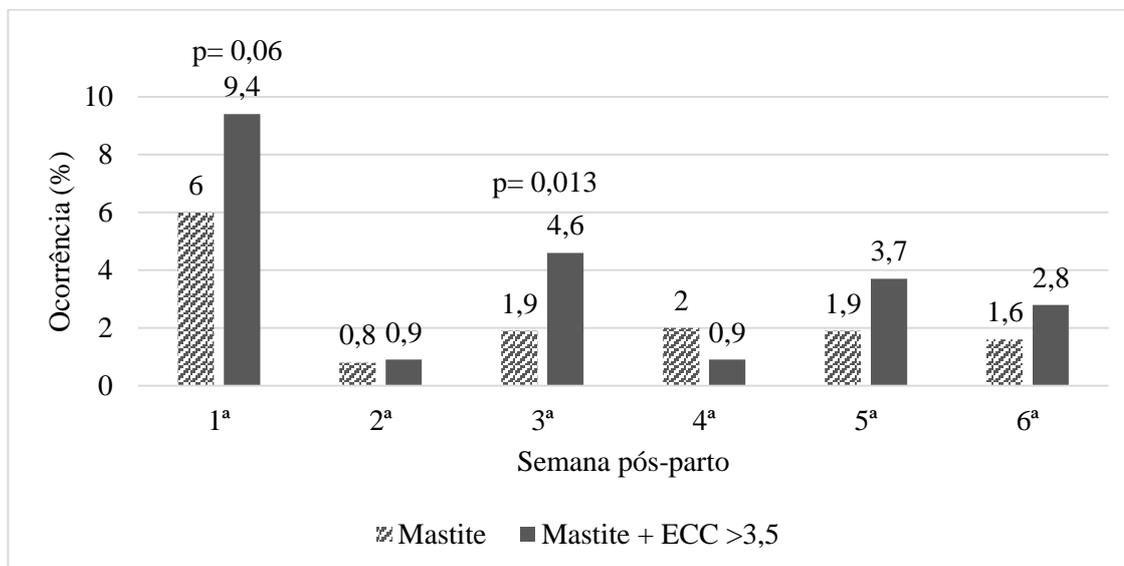
4.2.6 Deslocamento de abomaso

As ocorrências de deslocamento de abomaso em animais com ECC ao parto <3 não apresentaram diferença significativa em relação aos animais que apresentaram deslocamento de abomaso, somente. O mesmo aconteceu para os animais com ECC ao parto >3,5, com diagnóstico gestacional negativo ao primeiro serviço, com distocia, primíparas ou múltíparas, com temperatura acima de 39,4°C no inverno e aqueles confinados em *free stall* ou confinados com acesso ao pasto, em nenhuma semana pós-parto.

4.2.7 Mastite clínica

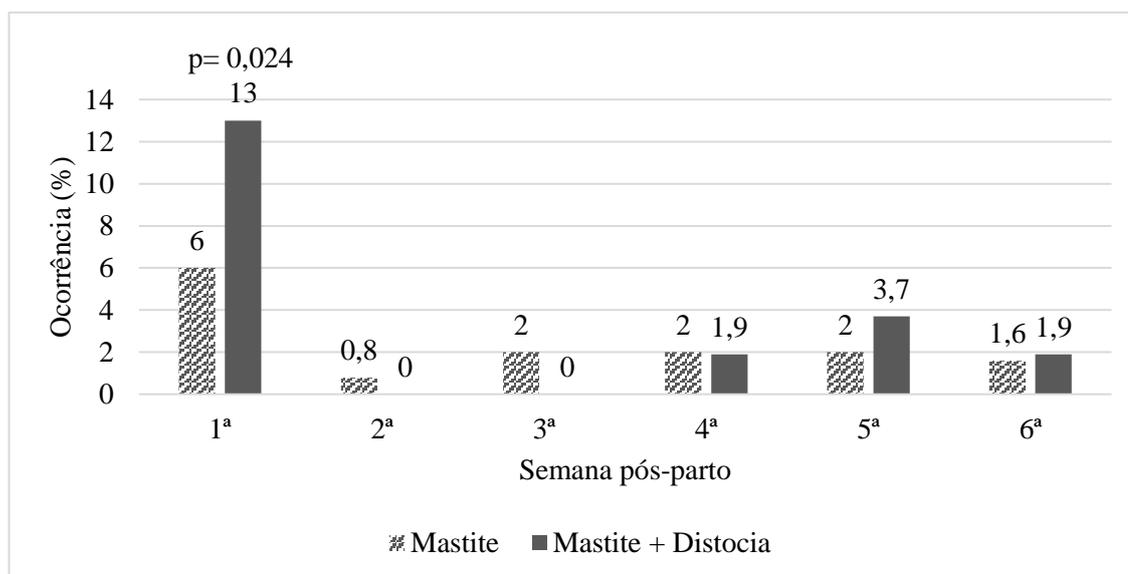
A ocorrência de mastite clínica, na 3ª semana pós-parto, em vacas com ECC ao parto >3,5 foi maior do que em vacas com mastite clínica, apenas. Além disso, na 1ª semana pós-parto, a ocorrência de mastite clínica em vacas com ECC ao parto > 3,5 apresentou tendência de ser maior (RP=2,73) do que em vacas com mastite clínica, apenas (Gráfico 9 e Tabela 5).

Gráfico 9 - Ocorrência de mastite clínica e sua associação com o ECC ao parto >3,5 em vacas leiteiras alojadas em fazendas da serra do Rio Grande do Sul, Brasil



A ocorrência de mastite clínica, na 1ª semana pós-parto, em vacas com distocia foi 3,16 vezes maior do que em vacas com mastite clínica, apenas (Gráfico 10 e Tabela 5).

Gráfico 10 - Ocorrência de mastite clínica e sua associação com a distocia em vacas leiteiras alojadas em fazendas da serra do Rio Grande do Sul, Brasil

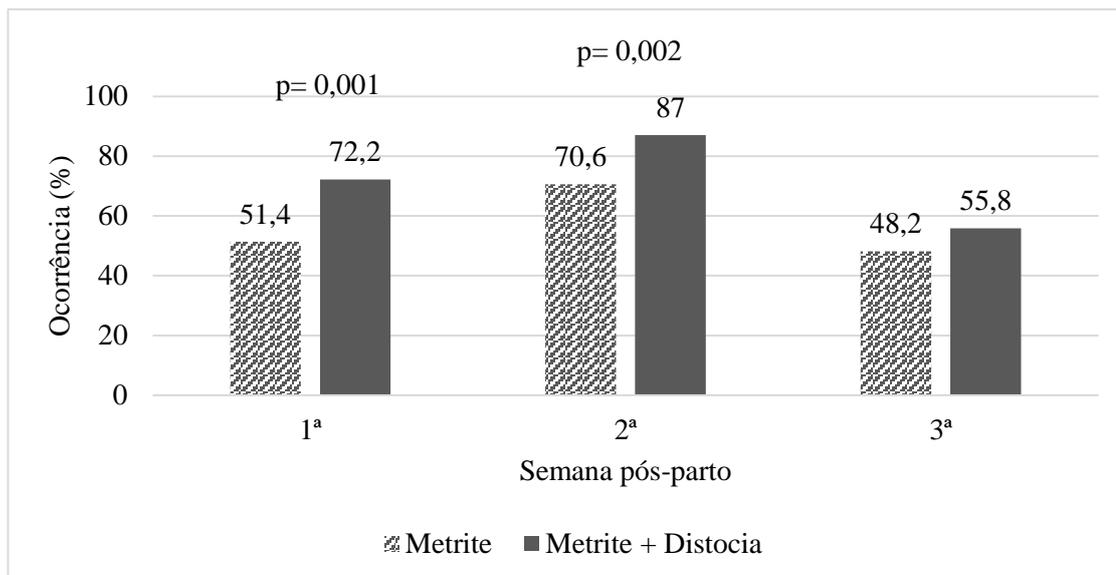


As ocorrências de mastite clínica em animais hipocalcêmicos com ECC ao parto <3, com diagnóstico gestacional positivo ao primeiro serviço, primíparas ou multíparas, com temperatura retal acima de 39,4° C no inverno e naqueles confinados em free stall ou confinados com acesso ao pasto não apresentaram diferença significativa quando comparadas a animais que apresentaram mastite clínica, apenas.

4.2.8 Metrite

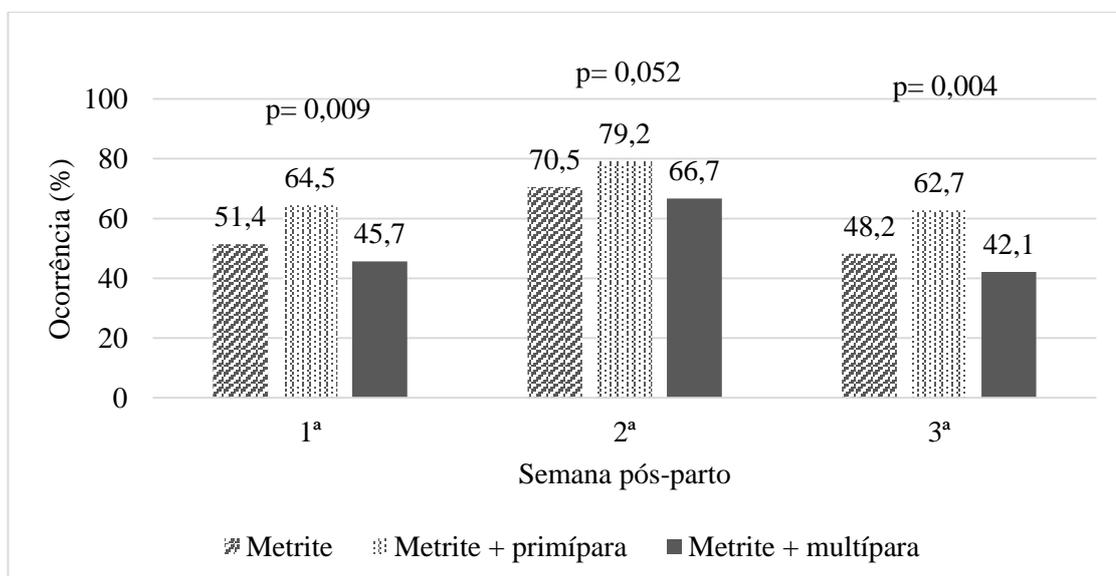
A ocorrência de metrite em vacas com distocia foi 1,58 e 1,31 vezes maior do que em vacas com metrite, apenas na 1ª e 2ª semana pós-parto, respectivamente (Gráfico 11 e Tabela 5).

Gráfico 11 - Ocorrência de metrite e sua associação com distocia em vacas leiteiras alojadas em fazendas da serra do Rio Grande do Sul, Brasil



A ocorrência de metrite em animais hipocalcêmicos primíparas foi 1,31 e 1,48 vezes maior do que em animais múltiparas, na 1ª e 3ª semana pós-parto, respectivamente. Na 2ª semana, a ocorrência de metrite apresentou tendência de ser maior em animais primíparas do que em múltiparas (RP= 1,18) (Gráfico 12 e Tabela 5).

Gráfico 12 - Ocorrência de metrite e sua associação com a paridade (primíparas e múltiparas) em vacas leiteiras alojadas em fazendas da serra do Rio Grande do Sul, Brasil



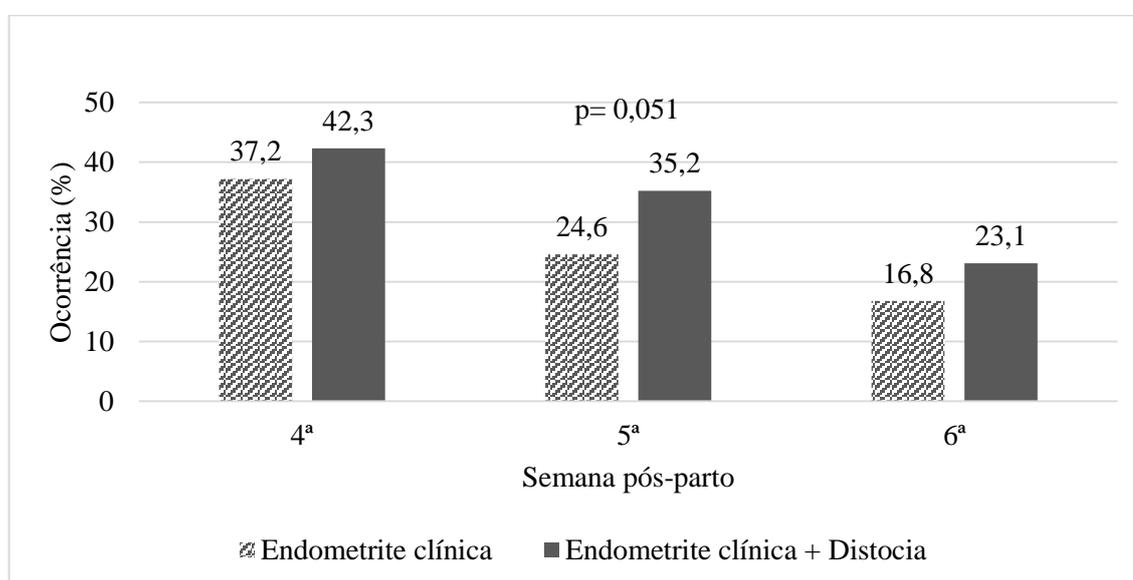
As ocorrências de metrite em animais hipocalcêmicos com ECC ao parto <3, com ECC ao parto >3,5, diagnóstico gestacional negativo ao primeiro serviço e com ECC ao parto >3,5,

temperatura retal acima de 39,4° C no inverno não apresentaram diferença significativa quando comparadas a animais que apresentaram metrite, apenas.

4.2.9 Endometrite clínica

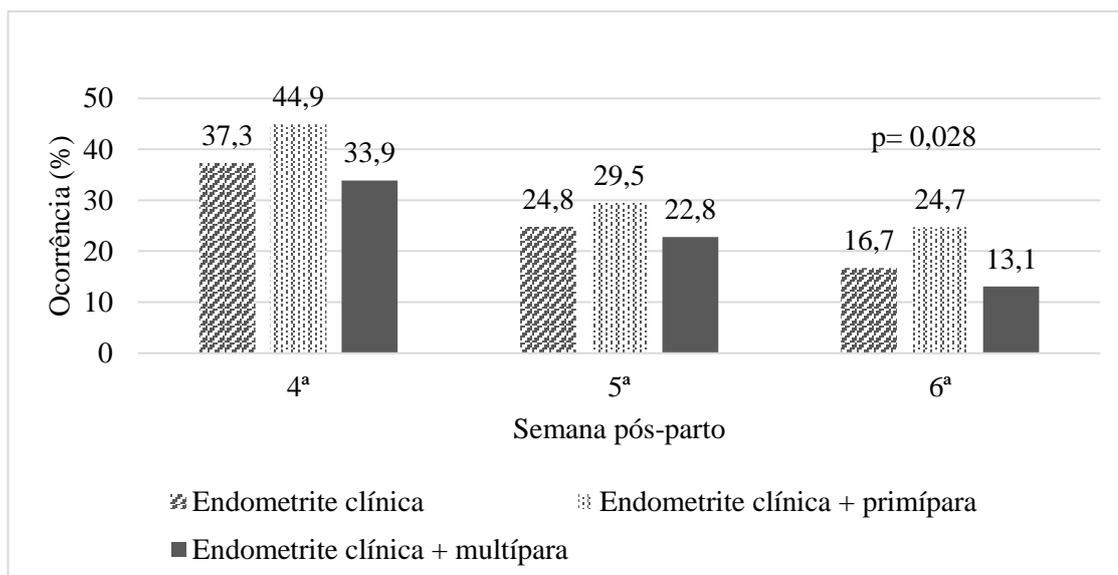
A ocorrência de endometrite clínica, na 5ª semana pós-parto, em vacas com distocia apresentou tendência de ser maior do que em vacas com endometrite clínica, apenas (RP= 1,61) (Gráfico 13 e Tabela 5).

Gráfico 13 - Ocorrência de endometrite clínica e sua associação com distocia em vacas leiteiras alojadas em fazendas da serra do Rio Grande do Sul, Brasil



A ocorrência de endometrite clínica em vacas primíparas foi 1,87 vezes maior do que em vacas múltíparas na 6ª semana pós-parto (Gráfico 14).

Gráfico 14 - Ocorrência de endometrite clínica e sua associação com a paridade (primíparas e múltíparas) em vacas leiteiras alojadas em fazendas da serra do Rio Grande do Sul, Brasil



As ocorrências de endometrite clínica em animais hipocalcêmicos com ECC ao parto <3, com ECC ao parto >3,5, diagnóstico gestacional negativo ao primeiro serviço e com temperatura retal acima de 39,4° C no inverno não apresentaram diferença significativa quando comparada a animais que apresentaram endometrite clínica, apenas.

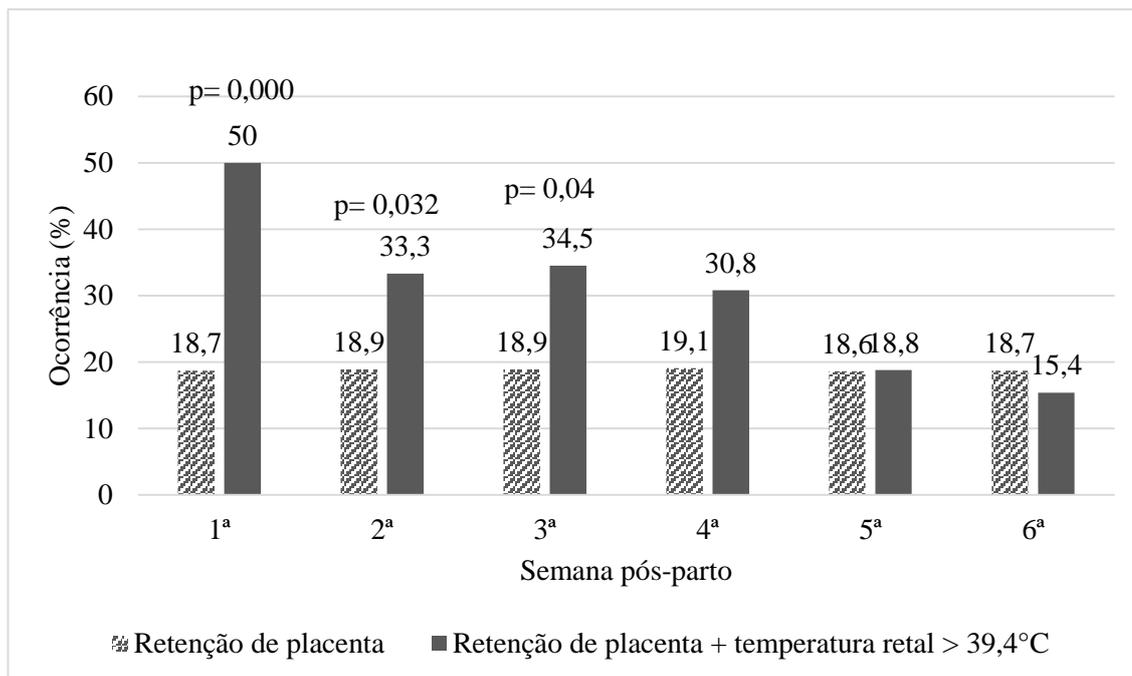
4.2.10 Endometrite subclínica

A ocorrência de endometrite subclínica por semana pós-parto não apresentou diferença significativa em animais com ECC ao parto <3, com ECC ao parto >3,5, com diagnóstico gestacional negativo ao primeiro serviço, com distocia, primíparas ou múltiparas, com temperatura acima de 39,4°C no inverno e naqueles confinados em *free stall* ou confinados com acesso ao pasto quando comparados a animais que apresentaram endometrite subclínica, apenas.

4.2.11 Retenção de placenta

A ocorrência de retenção de placenta em vacas com temperatura retal > 39,4°C no inverno foi 3,30, 1,99 e 2,04 vezes maior do que em vacas com retenção de placenta, apenas, na 1ª, 2ª e 3ª semana pós-parto (Gráfico 15 e Tabela 5).

Gráfico 15 - Ocorrência de retenção de placenta e sua associação com temperatura retal > 39,4°C em vacas leiteiras alojadas em fazendas da serra do Rio Grande do Sul, Brasil



As ocorrências de retenção de placenta em animais hipocalcêmicos com ECC ao parto <3, com ECC ao parto >3,5, diagnóstico gestacional negativo ao primeiro serviço, com distocia e primíparas ou múltíparas não apresentaram diferença significativa quando comparada a animais que apresentaram retenção de placenta, apenas.

4.2.12 Distocia

As ocorrências de distocia em animais hipocalcêmicos com ECC ao parto <3, com ECC ao parto >3,5, diagnóstico gestacional negativo ao primeiro serviço, com distocia, primíparas ou múltíparas e com temperatura retal acima de 39,4° C no inverno não apresentaram diferença significativa quando comparada a animais que apresentaram distocia, apenas.

4.3 Ponto de corte para cálcio iônico sérico como preditor de transtornos do pós-parto

Os pontos de corte de cálcio iônico sérico como preditor de transtornos do pós-parto, sensibilidade, especificidade e área sob a curva (AUC) determinados a partir da análise ROC são mostrados na Tabela 6. As curvas ROC são representadas entre as

figuras 2 e 14. Transtornos com nenhuma ocorrência na 1ª semana pós-parto não foram incluídos na análise.

Tabela 6 - Determinação dos pontos de corte de cálcio iônico através da análise ROC como preditor de transtornos metabólicos na 1ª semana do pós-parto em vacas leiteiras

Transtorno do pós-parto	n	Ponte de corte de cálcio iônico (mg/dL)	Sensibilidade (%)	Especificidade (%)	AUC	Intervalo de confiança de 95%		p
Cetose subclínica	6	2,50	66,7	69,2	0,753	0,58	0,92	0,03
Lipidose hepática	10	2,44	80,0	67,5	0,671	0,51	0,83	0,07
Deslocamento de abomaso	2	3,08	50,0	86,4	0,451	0	1	0,29
Mastite	15	2,65	40,0	71,7	0,503	0,35	0,65	0,08
Metrite	131	2,23	47,3	53,9	0,477	0,40	0,54	0,52
Retenção de placenta	48	2,03	66,7	47,9	0,543	0,46	0,63	0,35
Distocia	54	2,03	59,3	46,8	0,496	0,41	0,58	0,93

Figura 2 - Curva ROC que determina o ponto de corte crítico de cálcio iônico sérico como preditor de cetose subclínica na 1ª semana pós-parto de vacas leiteiras

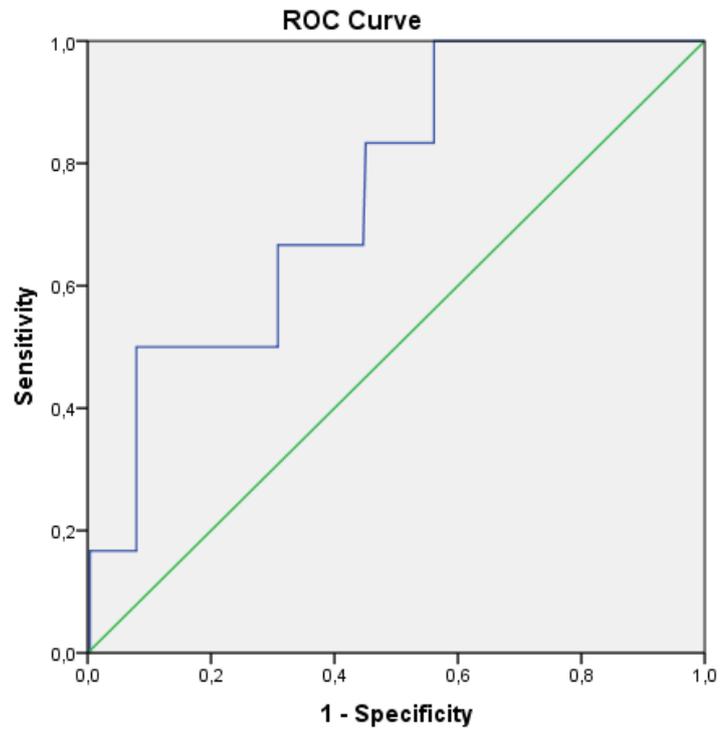


Figura 3 - Curva ROC que determina o ponto de corte crítico de cálcio iônico sérico como preditor de lipidose hepática na 1ª semana pós-parto de vacas leiteiras

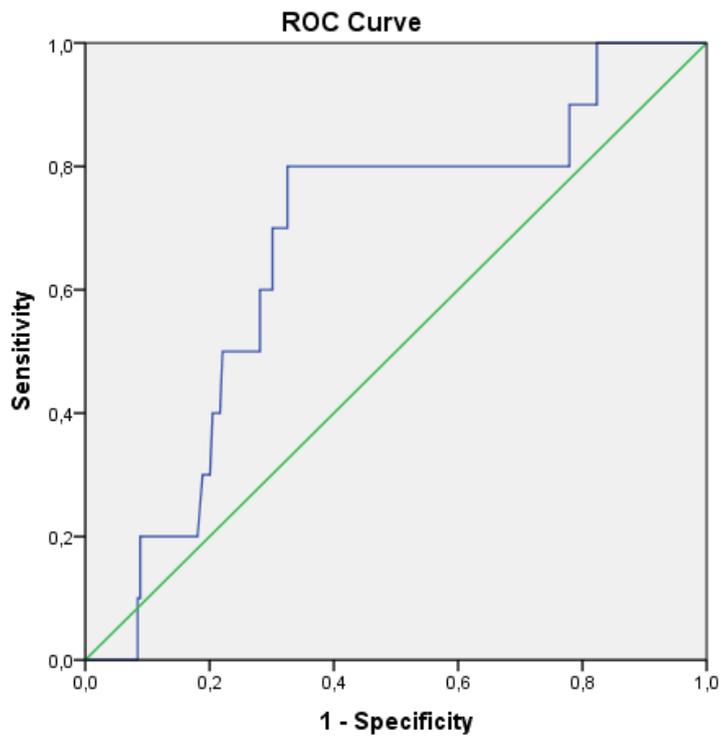


Figura 4 - Curva ROC que determina o ponto de corte crítico de cálcio iônico como preditor de deslocamento de abomaso na 1ª semana pós-parto de vacas leiteiras

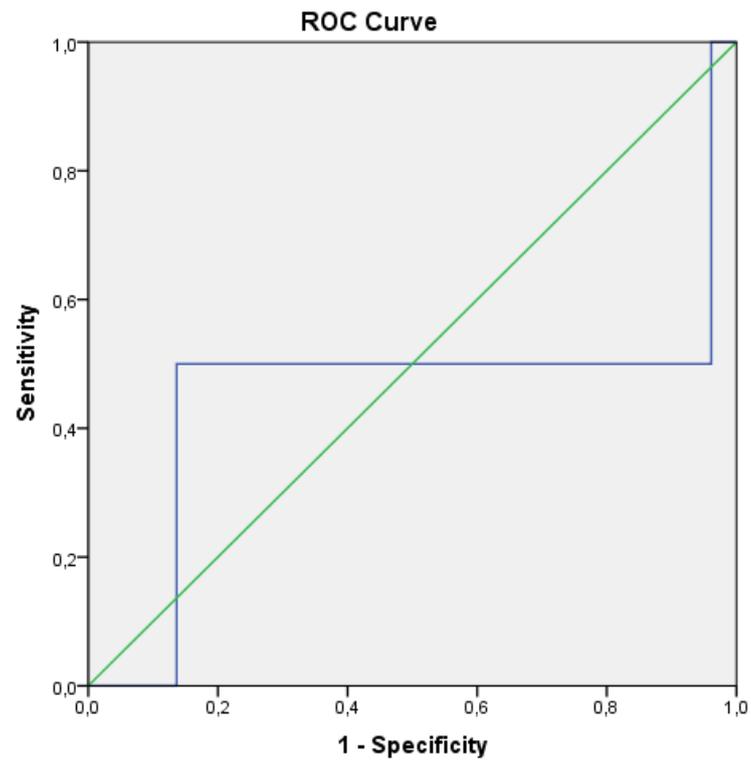


Figura 5 - Curva ROC que determina o ponto de corte crítico de cálcio iônico como preditor de mastite na 1ª semana pós-parto de vacas leiteiras

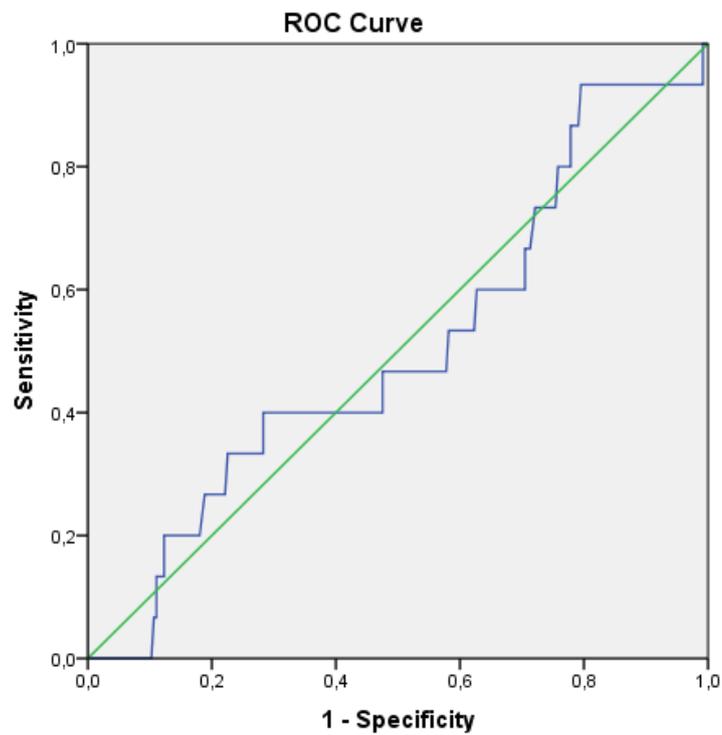


Figura 6 - Curva ROC que determina o ponto de corte crítico de cálcio iônico como preditor de metrite na 1ª semana pós-parto de vacas leiteiras

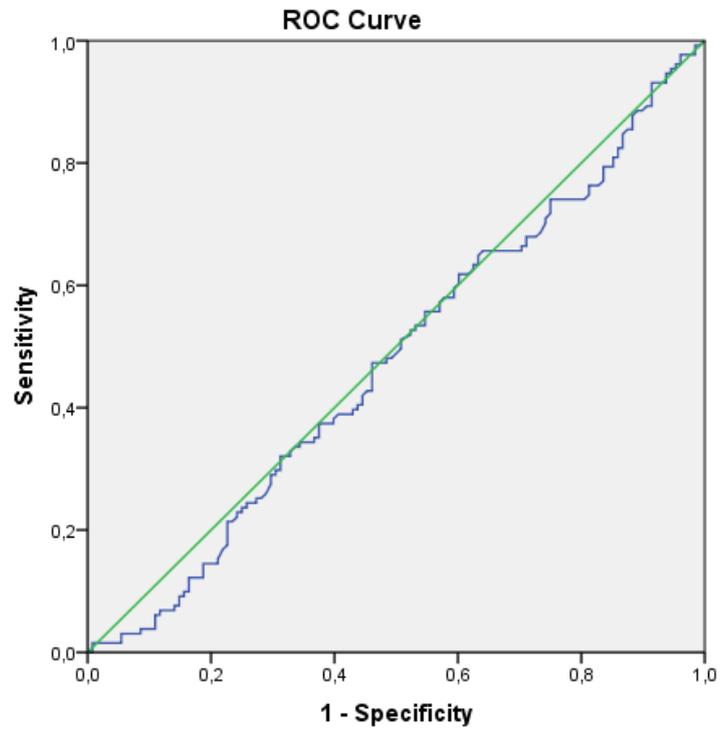


Figura 7 - Curva ROC que determina o ponto de corte crítico de cálcio iônico como preditor de retenção de placenta na 1ª semana pós-parto de vacas leiteiras

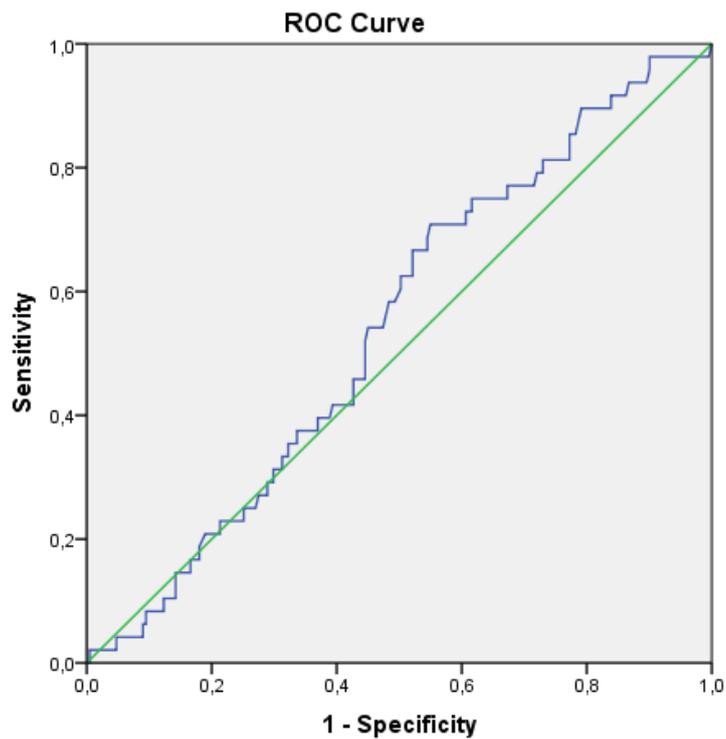
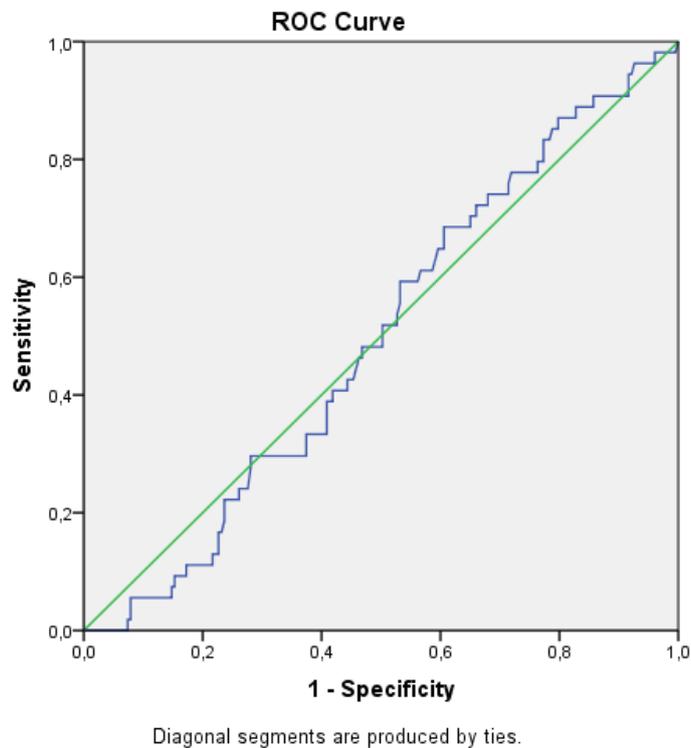


Figura 8 - Curva ROC que determina o ponto de corte crítico de cálcio iônico como preditor de distocia na 1ª semana pós-parto de vacas leiteiras



Segundo a classificação da medida AUC dada por Sweets (1988), considera-se esta medida precisa quando $0,5 < AUC \leq 0,7$; se $0,7 < AUC \leq 0,9$, considera-se muito precisa; se $0,9 < AUC < 1$, considera-se altamente precisa; e se $AUC = 1$, considera-se perfeita. Em nosso estudo, o valor de AUC da curva ROC que determinou o ponto de corte para cálcio iônico sérico para **cetose subclínica foi considerado muito preciso (AUC = 0,753)**. Além disso, esta medida apresentou diferença estatística significativa ($p = 0,03$), o que valida o ponto de corte de cálcio iônico na 1ª semana pós-parto em 2,5 mg/dl.

Em outras palavras, utilizando 2,5 mg/dL como ponto de corte de cálcio iônico, seria possível prever 66,7% das vacas que desenvolveram cetose subclínica na 1ª semana pós-parto (sensibilidade) e 69,2% das vacas que não desenvolveram cetose subclínica na 1ª semana pós-parto (especificidade).

Os valores de AUC das curvas ROC que determinaram o ponto de corte para cálcio iônico sérico para **lipidose hepática e mastite na 1ª semana pós-parto foram considerados precisos e apresentaram tendência à significância estatística**. Os pontos de corte de cálcio iônico sérico na 1ª semana pós-parto para prever lipidose hepática e mastite são 2,44 e 2,65 mg/dL, respectivamente.

Os valores de AUC das curvas ROC que determinaram o ponto de corte para cálcio iônico sérico para prever retenção de placenta na 1ª semana pós-parto também foi considerado preciso. Entretanto, não houve diferença significativa ($p > 0,05$), invalidando o ponto de corte de cálcio iônico sérico demonstrado na Tabela 6. Os valores de AUC das curvas ROC que determinaram os pontos de corte de cálcio iônico sérico como preditores de deslocamento de abomaso, metrite e distocia foram considerados não-informativos e não apresentaram diferença estatística.

5 DISCUSSÃO

No presente estudo, 96,1% das vacas (n= 251) foram classificadas como hipocalcêmicas e, 3,1% (n= 8) das vacas foram classificadas como normocalcêmicas. Cabe destacar que, a falta de proporção entre o número de animais em cada grupo inviabilizou qualquer comparação estatística entre os mesmos.

Portanto, utilizando como ponto de corte para hipocalcemia subclínica o valor de 4,0 mg/dL de cálcio iônico sérico, a prevalência de hipocalcemia subclínica da 1ª a 6ª semana pós-parto foi de 96,1%.

Em estudos anteriores, a ocorrência de hipocalcemia subclínica variou. De acordo com levantamento feito por Reinhardt et al. (2011), a hipocalcemia subclínica apresentou incidência entre 25 e 54% em rebanhos americanos, entre a 1ª e 6ª semana pós-parto. Fiorentin et al. (2018) encontraram incidência de 17,1% de hipocalcemia subclínica em rebanhos de vacas Holandesas no oeste de Santa Catarina, Brasil, nos primeiros 30 dias após o parto. Sedó et al. (2018), avaliando vacas em pastejo, percebeu que 27,3% delas apresentaram hipocalcemia subclínica no dia do parto e, 39,3%, sete dias após o parto. Caixeta et al. (2017) avaliou dois rebanhos americanos mantidos em confinamentos do tipo *free stall* e encontrou uma incidência de 78% nos três primeiros dias de lactação. Rodríguez, Aris e Bach (2017) também encontraram 78% de incidência de hipocalcemia subclínica nos dois primeiros dias de lactação em rebanhos mantidos em confinamentos do tipo *free stall*, na Espanha.

São possíveis fontes de variação para a ocorrência de hipocalcemia subclínica: momento do diagnóstico, metabólito dosado (cálcio iônico *versus* cálcio total), ponto de corte, paridade, ECC ao parto, manejo de vacas (sistema de produção, nutrição, produção de leite, etc.). A influência de alguns desses fatores será discutida mais adiante.

5.1 Transtornos do pós-parto: prevalência, associações e fatores de risco

5.1.1 Hipocalcemia clínica

A prevalência de hipocalcemia clínica encontrada neste estudo foi de 0,4%. Esses valores são semelhantes àqueles encontrados na literatura, a exemplo de Caixeta et al. (2015) que encontrou prevalência de 1% para hipocalcemia clínica em rebanhos americanos alojados em *free stall* até 30 dias após o parto. De Garis e Lean (2008) citaram

taxas típicas de incidência entre 3,5 e 7,5% com base em estudos norte-americanos, europeus e australianos.

A hipocalcemia clínica tem sido associada ao aumento do risco de desenvolver várias outras doenças comuns no pós-parto, como mastite, retenção de placenta, metrite e abomaso deslocado (CURTIS et al., 1983; GOFF; HORST 1997b; MULLIGAN et al., 2006; GOFF, 2008), porém essas associações não foram avaliadas em nossa pesquisa. Nosso intuito foi avaliar a associação entre a ocorrência de hipocalcemia clínica em animais hipocalcêmicos entre a 1ª e 6ª semana pós-parto, chegando à conclusão de que não houve associação entre essas variáveis.

5.1.2 Cetose clínica

A prevalência de cetose clínica encontrada neste estudo foi de 1,2%. Vanholder et al. (2015) em estudo realizado nos Países Baixos com vacas alojadas em confinamentos do tipo *free stall*, durante a 2ª semana pós-parto, encontrou uma prevalência de 11,6% de cetose clínica. Entretanto, McArt, Nydam e Oetzel (2013) obtiveram prevalência de cetose clínica entre 0,6 e 3,2%, entre três e 16 dias pós-parto, em rebanhos norte-americanos; e Suthar et al. (2013), em rebanhos europeus, alcançaram a prevalência de 3,7% para o mesmo transtorno. A diferença entre as prevalências encontradas entre a literatura e o presente estudo podem ser explicadas pelo momento do diagnóstico, ponto de corte, paridade, ECC ao parto, manejo de vacas (sistema de produção, nutrição, produção de leite, etc.).

5.1.3 Cetose subclínica

A prevalência de cetose subclínica foi de 57% nos rebanhos estudados. Asl et al. (2011) encontraram prevalência de 63, 68 e 59% na 2ª, 4ª e 6ª semana pós-parto, respectivamente, em rebanhos iranianos. Entretanto, Suthar et al. (2013) encontrou uma prevalência de 21,8% em rebanhos europeus. No estudo de McArt, Nydam e Oetzel (2012), entre três e 16 dias pós-parto, a prevalência de cetose subclínica variou entre 10,5 e 29%. Fiorentin et al. (2018), obteve como incidência de cetose subclínica 9%, sendo 5% em rebanhos com acesso à pasto e, 4% em rebanhos confinados em *free stall*, nos primeiros 30 dias pós-parto. As variações nas prevalências e incidências podem ter ocorrido devido a diferenças nos pontos de corte, nos momentos do diagnóstico, paridade,

ECC ao parto, manejo dos animais (sistema de produção, nutrição, produção de leite, etc.).

Vanholder et al. (2015) analisou 23 rebanhos de bovinos leiteiros na Holanda, totalizando 1715 animais, entre 7 e 14 dias pós-parto, ou seja, na 2ª semana de lactação, e obteve 47,2% de prevalência de cetose subclínica. Assim como em nosso estudo, onde observou-se maior prevalência de cetose subclínica na 2ª semana pós-parto, a alta prevalência de cetose subclínica provavelmente tenha relação com o aumento da produção leiteira junto à baixa capacidade de ingestão observada nesse período (HERDT, 2000), a qual é agravada pela hipocalcemia devido à diminuição da função muscular e consequente queda da motilidade ruminal e do trato gastrintestinal (MULLIGAN et al., 2006).

O fato de a cetose subclínica ocorrer com mais frequência em animais com ECC ao parto $>3,5$ na 2º e 3º semana pós-parto, bem como, de a ocorrência de ECC ao parto $>3,5$ ter tendência de ser maior em vacas na 2ª semana pós-parto, pode ser explicada pela maior chance de vacas leiteiras de alta produção com alto ECC ao parto desenvolverem este transtorno devido à lipomobilização (MARTINEZ et al., 2012) junto à concentração hepatocelular de cálcio, a qual está relacionada com a calcemia. O cálcio é um segundo mensageiro importante no metabolismo energético e sua alteração plasmática pode influenciar as concentrações hepatocelulares de cálcio e, portanto, a piruvato desidrogenase, enzima que converte o piruvato em acetil CoA para entrada no Ciclo de Krebs, pode não ser ativada com a mesma eficiência devido à insuficiência de cálcio intracelular. Como resultado, o metabolismo de glicídeos pelo ciclo de Krebs seria diminuído, resultando em cetose (CHAMBERLIN et al., 2013).

Em nosso estudo, a ocorrência de cetose subclínica em animais hipocalcêmicos múltiparos foi 6,17 vezes maior do que em animais primíparos na 4ª semana pós-parto. Resultado semelhante foi encontrado por Vanholder et al. (2015), onde observaram que vacas em paridade 2 e ≥ 3 tinham mais chances de desenvolver cetose subclínica do que vacas de paridade 1 (Odds ratio= 2,1 e 2,8, respectivamente; $p < 0,001$). Suthar et al. (2011) e Berge e Vertenten (2014) também encontraram resultados semelhantes a Vanholder et al. (2014) e nos levam a concluir que vacas com paridade mais alta tem risco aumentado de desenvolver um desequilíbrio metabólico mais grave. Entretanto, a calcemia não foi avaliada nesses estudos, revelando em nosso estudo mais um possível fator de risco para ocorrência de cetose subclínica em animais de mais alta paridade.

Berge e Vertenten (2014) em um estudo na Europa categorizaram bovinos leiteiros em “estabuladas o ano todo”, “verão no pasto” ou “alternativamente ao ar livre”. A prevalência de cetose subclínica foi de 35, 46 e 44%, respectivamente. Embora neste estudo não tenha sido avaliada a associação da calcemia dos animais com a ocorrência de cetose subclínica, sugeriu-se que menos concentrados podem ter aumentado o risco de cetose nos grupos supracitados. Essa hipótese pode ser extrapolada para nossos resultados, onde se observou que a ocorrência de cetose subclínica em animais hipocalcêmicos alojados em fazendas com sistema de confinamento com acesso ao pasto foi maior do que em animais hipocalcêmicos alojados em fazendas com sistema de confinamento do tipo *free stall*, na 2^a, 5^a e 6^a semana pós-parto, adicionando o efeito negativo da calcemia sobre a motilidade do trato gastrintestinal e capacidade de ingestão (MULLIGAN et al., 2006).

5.1.4 Balanço energético negativo

Houve diferença significativa na ocorrência de balanço energético negativo em relação à semana pós-parto, sendo que a maior ocorrência de BEN aconteceu na 1^a, 2^a, 3^a e 4^a semana, consecutivamente. Conforme Souza e Birgel Júnior (2009), há um aumento gradativo dos níveis séricos de colesterol com a evolução do puerpério, os quais retornam aos valores observados na fase inicial da gestação, após 45 dias pós-parto. Além disso, o aumento gradativo da produção leiteira junto à baixa capacidade de ingestão observadas nas primeiras semanas pós-parto justificam este dado (OVERTON; WALDRON, 2004).

Outra associação encontrada em nosso trabalho foi entre a ocorrência de balanço energético negativo, na 6^a semana pós-parto, em vacas com ECC ao parto <3,0. No experimento de Souza e Birgel Júnior (2009), o colesterol teve aumento gradativo após o parto, chegando a valores médios de 180,22 mg/dL aos 45 dias pós-parto, os quais representam os valores observados na fase inicial da gestação. Comparando esses resultados com o nosso trabalho, podemos explicar a associação na 6^a semana pós-parto entre vacas em BEN e com ECC ao parto <3. Supõe-se que, neste período, estes animais já retornaram ao valor de colesterol que tinham no início da gestação, o qual, por sua vez, apresentava-se baixo devido à condição corporal do animal.

A hipocalcemia anterior ao parto pode resultar na inércia uterina predispondo à ocorrência de distocia (RADOSTITS et al., 2007). Também é um efeito da hipocalcemia a diminuição do consumo alimentar devido à queda da motilidade ruminal e do trato

gastrointestinal, resultando no BEN e explicando sua maior ocorrência na 2ª semana pós-parto em vacas com distocia (OVERTON; WALDRON, 2004). Proudfoot, Huzzey e Von Keyserlingk (2009) obtiveram resultados semelhantes quando observaram que animais com distocia consumiam 12% menos de matéria seca durante os dois últimos dias pré-parto em relação a vacas com eutocia. Entretanto, esse trabalho não correlacionou estes achados à calcemia.

5.1.5 Lipidose hepática

A prevalência de 31,1% de lipidose hepática encontrada no presente estudo pode ser comparada com a prevalência encontrada por Bobe, Young e Beitz (2004). Estes, revisaram dados de rebanhos leiteiros europeus entre os anos de 1980 e 2001, e demonstraram que a incidência de lipidose hepática moderada está entre 20 e 65%, enquanto que a incidência de lipidose severa está entre 5 e 24%, utilizando como método diagnóstico a biópsia.

Corroborando com o método diagnóstico utilizado em nosso estudo (dosagem de AST sérica), Kalaitzakis et al., (2007) observaram boa correlação entre a atividade sérica de AST e acúmulo de gordura no fígado de bovinos, haja visto que, as alterações microscópicas causadas pela lipidose hepática afetam a integridade celular e função dos hepatócitos, resultando em necrose e extravasamento de conteúdo celular, o que é demonstrado pelas concentrações aumentadas de enzimas hepáticas no plasma. Menor prevalência de lipidose hepática (11,4%) foi entrada por Fiorentin et al. (2018) em rebanhos do oeste catarinense utilizando o mesmo método diagnóstico utilizado neste estudo.

Em nosso estudo, encontramos associação entre os animais hipocalcêmicos que apresentaram lipidose hepática e ECC ao parto $>3,5$. Chamberlin et al. (2013) demonstraram que vacas hipocalcêmicas apresentaram maior porcentagem de lipídios hepáticos nos dias 7 e 35 do que as vacas normocalcêmicas. Assim como em nosso trabalho, este grupo de pesquisadores também avaliou os níveis séricos de AST, os quais tiveram correlação positiva com a porcentagem de lipídeos no fígado e com a concentração plasmática de NEFA. Desta forma, podemos correlacionar este achado de Chambelin et al. (2013) como a maior tendência de vacas hipocalcêmicas com ECC ao parto $>3,5$, na 3ª semana pós-parto, desenvolverem lipidose hepática, já que é sabido que

vacas com ECC alto ao parto têm elevada lipomobilização no pós-parto e maior chance de desenvolver lipidose hepática.

A maior prevalência de lipidose hepática na 1ª semana pós-parto também pode ser justificada pela pesquisa de Chamberlin (2013), onde se observou maior porcentagem de lipídeos hepáticos nos dias 7 e 35 em vacas hipocalcêmicas.

5.1.6 Deslocamento de abomaso

Para deslocamento de abomaso, a prevalência de 1,5% foi encontrada neste estudo. McArt, Nydam e Oetzel (2012) encontraram prevalência semelhante (2%) em rebanhos norte-americanos do tipo *free stall* avaliando os primeiros 30 dias pós-parto. Ospina et al. (2010) e Caixeta et al. (2015) encontraram maior prevalência da doença também em rebanhos norte-americanos do tipo *free stall* até 30 dias pós-parto: 3 e 5%, respectivamente. As variações nas prevalências provavelmente têm origem nos diferentes manejos dos animais.

5.1.7 Mastite

A prevalência de mastite encontrada neste estudo foi de 13,9%. Contudo, Zinicola et al. (2018) encontraram prevalência de 4,3% em fazendas norte-americanas utilizando animais instalados em confinamentos do tipo *free stall* nos 30 primeiros dias pós-parto, condições semelhantes às do presente estudo. Também em uma fazenda com vacas confinadas em *free stall*, Barletta et al. (2017) encontraram uma prevalência de 23% de mastite em 250 dias após o parto. Em Minas Gerais, Oliveira et al. (2015) obtiveram uma prevalência de 27% de mastite ao ano. Acredita-se que as variações entre as prevalências se dê devido às diferenças no manejo dos animais, bem como, o período de observação e momento dos diagnósticos.

No estudo de Suriyasathaporn et al. (2000) observou-se que vacas com balanço energético negativo mostram comprometimento dos mecanismos de defesa do úbere ao causar diminuição da capacidade fagocítica e quimiotática dos neutrófilos. O mesmo grupo de pesquisadores, em 1999, usando um ensaio de quimiotaxia *in vitro*, verificaram que a migração de polimorfonucleados era mais rápida para células de vacas com baixos níveis séricos de BHB do que para células de vacas com altos níveis de BHB no sangue. Sem uma boa resposta quimiotática, os neutrófilos podem ser menos capazes de alcançar

a glândula mamária para combater infecções, predispondo as vacas à mastite clínica. No presente estudo, observamos que a ocorrência de mastite clínica foi maior em vacas com ECC ao parto $>3,5$ na 3ª semana pós-parto, e apresentou tendência de ser maior no mesmo grupo de vacas, na 1ª semana pós-parto, corroborando com os achados dos estudos de Suriyasathaporn et al. (2000), uma vez que animais com alto ECC ao parto apresentam hipercetonemia durante o balanço energético negativo. Em nossa pesquisa, a hipocalcemia aumentou a razão de prevalência desse transtorno, provavelmente por diminuir a função muscular, levando à menor contração do esfíncter do teto (GOFF, 2008), bem como, por agravar a queda da função imunológica (MARTINEZ et al., 2012).

No presente estudo, a ocorrência de mastite clínica foi maior em vacas com distocia durante a 1ª semana pós-parto. Juozaitiene et al. (2017) encontraram resultados semelhantes aos nossos, onde a distocia apresentou um efeito negativo sobre a contagem de células somáticas de vacas leiteiras entre 4 e 8 semanas de lactação, já que estas representam uma consequência da passagem de células polimorfonucleares dos vasos sanguíneos para a glândula mamária em resposta à liberação de mediadores inflamatórios secundários à inflamação da glândula. Sugere-se que, por o parto ser um processo estressante para a vaca (SATHYA et al., 2007), a distocia contribui com a diminuição da resposta imune por ação do cortisol. Ademais, em nosso trabalho, a hipocalcemia aumentou a ocorrência, provavelmente, também por diminuição da função do sistema imune, bem como, da queda da função muscular e consequente queda no poder de contração do esfíncter do teto (MULLIGAN et al., 2006, MARTINEZ et al., 2012).

5.1.8 Metrite

Há grande variação na prevalência de metrite em estudos anteriores. Enquanto a prevalência encontrada nesse estudo foi de 76,8% na 1ª, 2ª e 3ª semana pós-parto, em outros estudos a prevalência foi de 69% (URTON, KEYSERLINGK, WEARY, 2005), 47,3% (MARTINEZ et al., 2012), 21,8% (BARLETTA et al., 2017), 20,4% (SEDÓ et al., 2018) e 5,3% (RIBEIRO et al., 2013). Essas diferenças podem ser explicadas pelo período de observação, método de diagnóstico e manejo dos rebanhos. Por exemplo, Sedó et al. (2018), Martinez et al. (2012), Ribeiro et al. (2013) e Barletta et al. (2017) avaliaram a metrite até 7, 12 ou 14 dias após o parto, enquanto neste trabalho a avaliação se deu até 21 dias pós-parto. O método de diagnóstico utilizado neste estudo utilizou o sistema

Metricheck para a avaliação de metrite, enquanto Urton, Keyserlingk e Wearye (2005) e Barletta et al. (2017) avaliavam a descarga vaginal secretada por palpação retal.

A associação entre a maior ocorrência de metrite em vacas com distocia provavelmente esteja associada com a contaminação uterina no pós-parto (MARTINEZ et al., 2012), a qual é aumentada devido à distocia.

Outro resultado de nosso estudo foi a ocorrência de metrite em animais hipocalcêmicos primíparas, a qual foi maior do que em animais hipocalcêmicos múltiparos. Entretanto, para Neves et al. (2012) e Martinez et al. (2012), a paridade não influenciou no risco de desenvolvimento de metrite em vacas hipo ou normocalcêmicas. Uma possível causa para esta diferença pode ser o momento de avaliação de calcemia, já que estes autores analisaram o cálcio sérico 12 horas e 3 dias pós-parto, respectivamente, diferente de nossa pesquisa, onde avaliamos o cálcio iônico nas 6 semanas pós-parto.

5.1.9 Endometrite clínica

No caso da endometrite clínica, a prevalência encontrada foi de 45,6% na 4^a, 5^a e 6^a semana pós-parto. Pleticha et al. (2009) encontraram prevalência semelhante em um estudo realizado na Alemanha, onde, utilizando o mesmo método diagnóstico, a prevalência foi de 47,5%. Cabe ressaltar que neste mesmo trabalho comparou-se três métodos de diagnóstico para endometrite clínica, sendo que, quando se fez uso do espécuro, a prevalência foi de 36,9% e, quando se fez uso do método da mão enluvada, a prevalência foi de 36,8%. Tais diferenças encontradas por estes autores justificam as variações entre as prevalências citadas em demais pesquisas, a exemplo de Leblanc et al. (2002) que, ao avaliar a descarga vaginal de vacas de 27 rebanhos canadenses entre 27 e 33 dias pós-parto através de inspeção externa, encontraram a prevalência de 4,6%, enquanto que, quando diagnosticaram endometrite clínica por vaginoscopia, a prevalência encontrada foi de 17,1%.

Menor prevalência de endometrite clínica de foi determinada por Ribeiro et al. (2013) e Zinicola et al. (2018) em rebanhos norte-americanos: 15 e 12,8%, respectivamente. Ambos utilizaram o metricheck como método diagnóstico, porém, Ribeiro et al. (2013) avaliaram apenas aos 28 dias pós-parto e consideraram positiva aquelas com escore >2, enquanto Zinicola et al. (2018) avaliaram as vacas aos 35 dias pós-parto, apenas. Entretanto, Martinez et al. (2012) encontraram valor superior aos 31 dias pós-parto em relação ao nosso estudo: incidência de 77,6% de endometrite clínica.

Neste trabalho, a ocorrência de endometrite clínica foi maior, na 5ª semana pós-parto, em vacas com distocia. Da mesma forma, a ocorrência de endometrite clínica em vacas primíparas foi maior do que em vacas múltíparas na 6ª semana pós-parto. Fatores de risco para endometrite reportados na literatura incluem distocia, paridade e hipocalcemia (LEBLANC et al., 2002; GIULIODORI et al., 2017; WHITEFORD; SHELDON, 2005). Propõe-se que a hipocalcemia subclínica está negativamente associada ao desempenho reprodutivo indiretamente, retardando a involução uterina (MURRAY et al., 2008) e prejudicando a imunidade (KIMURA; REINHARDT; GOFF, 2006), ambos levando ao aumento do risco de doenças uterinas (MARTINEZ et al., 2012). Além disso, a hipocalcemia pode reduzir a ingestão de matéria seca no pós-parto (JAWOR et al., 2012; MARTINEZ et al., 2014), comprometendo os balanços de nutrientes, incluindo a piora do balanço energético negativo (MARTINEZ et al., 2012; CHAMBERLIN et al., 2013) que, por sua vez, está associado à pior função imunológica e fertilidade.

5.1.10 Endometrite subclínica

Prevalência de 34,4% para endometrite subclínica foi determinada neste estudo. Valor semelhante a este foi encontrado por Martinez et al. (2012) aos 38 dias pós-parto de vacas estabuladas em *Free stalls* da Florida. Estudos sobre a prevalência de endometrite subclínica determinada por citologia foram realizados em países como o Estados Unidos, Canadá, Iran, Áustria e Argentina. O trabalho de Kasimanickam et al. (2004), o qual utilizou o mesmo ponto de corte que o nosso, relatou 45,1% na 4ª semana e 41,2% na 6ª semana pós-parto.

Contudo, Vanschyndel et al. (2018), Madoz et al. (2013), Ribeiro et al. (2013) e Ahmadi et al. (2016) relataram prevalências de endometrite subclínica menores daquelas encontradas em nosso estudo: 25,6%, 17%, 13,4% e 10,6%, respectivamente. Esses resultados são difíceis de comparar com os encontrados em nosso estudo devido aos diferentes pontos de corte, tempos de amostragem que foram usadas para determinar o número de vacas doentes, bem como o manejo dos animais (tipo de propriedade, nutrição, etc.).

5.1.11 Retenção de placenta

A prevalência encontrada para retenção de placenta foi de 18,5%. Ingvartsen, Dewhurst e Friggens (2003) revisaram dados de rebanhos leiteiros norte-americanos e europeus em estudos publicados entre 1984 e 1993 e demonstraram que a incidência variou entre 3,1 a 13% para retenção de placenta. Kelton, Lissemore e Martin (1998), em um estudo semelhante, reportaram valores de incidência entre 1,3 a 39,2% para retenção de placenta. Estudos mais atuais como Martinez et al. (2012), Chamberlin et al. (2013), Neves et al. (2018), Rodrigues et al. (2017) demonstram valores de prevalência de retenção de placenta entre 7 e 30,9%.

Como a retenção de placenta tem sido associada a uma resposta imune prejudicada, seja pela redução de neutrófilos com atividade fagocítica (MURRAY et al, 2008) ou pela concentração reduzida de cálcio iônico em células mononucleares (KIMURA; REINHARDT; GOFF, 2006) a manutenção do equilíbrio ideal de cálcio nos primeiros dias após o parto pode ser fundamental. A falha desse mecanismo em vacas hipocalcêmicas leva à retenção de placenta, uma patologia que cursa com processo inflamatório e, conseqüentemente, febre, o que justifica a maior ocorrência do referido transtorno em animais com temperatura retal $> 39,4^{\circ}\text{C}$ no inverno.

5.1.12 Distocia

No caso da distocia, a prevalência encontrada foi de 20,8%. Chamberlim et al. (2013) encontrou uma prevalência de 26% de distocia, a qual não foi maior para animais hipocalcêmicos em relação aos normocalcêmicos, como afirma outros estudos (GOFF; HORST, 1997b).

5.2 Ponto de corte para cálcio iônico como preditor de transtornos do pós-parto

São raros os estudos que utilizam a curva ROC para determinação de pontos de corte críticos de cálcio como preditor de transtornos do pós-parto em vacas leiteiras. Martinez et al. (2012) utilizaram este teste para determinar o ponto de corte de cálcio total e assim, categorizar as vacas de seu estudo em normocalcêmicas e hipocalcêmicas. A menor dosagem de cálcio total dos 3 primeiros dias de lactação (dosagem diária) foi avaliada na curva ROC e, o valor de cálcio total que melhor previu metrite foi de 8,59 mg/dL, tendo 88,5% de sensibilidade e 55,2% de especificidade ($\text{AUC} = 0,77$, $p < 0,001$).

Em um estudo semelhante, Rodríguez, Aires e Bach (2017) avaliaram pontos de corte de cálcio total como preditor de cetose, retenção de placenta, metrite, deslocamento de abomaso e mastite através da curva ROC. A análise sugeriu um ponto de corte sérico de cálcio total ≤ 8 mg/dL como preditor de cetose (com especificidade de 58,0% e sensibilidade de 67,4%). Para retenção de placenta, a análise ROC produziu um ponto de corte de cálcio total $\leq 8,2$ mg/dL (com uma especificidade de 39,9% e uma sensibilidade de 90,7%) e para metrite, o ponto de corte de cálcio total foi $\leq 8,2$ mg/dL (com uma especificidade de 41,8% e uma sensibilidade de 85,3%). Para deslocamento de abomaso, o ponto de corte da concentração de cálcio total foi $\leq 8,4$ mg/dL (com uma especificidade de 54,9% e uma sensibilidade de 62,9%). Entretanto, para o risco de mastite, nenhum ponto de corte sérico significativo de cálcio total pode ser identificado ($p = 0,24$). Os autores sugerem que a baixa prevalência de mastite, a falta de efeito do cálcio total sérico na saúde do úbere ou o método inadequado utilizado para classificar a mastite (observação clínica ou contagem de células somáticas $> 300 \times 10^3$ células/mL) são possíveis fontes para este efeito.

Apenas o ponto de corte de cálcio iônico (2,5 mg/dl) para prever cetose subclínica foi considerado muito preciso (AUC =0,753) e apresentou diferença estatística significativa ($P = 0,03$). Os pontos de corte de cálcio iônico como preditores de lipidose hepática e mastite na 1ª semana pós-parto foram considerados precisos e apresentaram tendência à significância estatística. Entretanto, o ponto de corte de cálcio iônico como preditor de retenção de placenta na 1ª semana pós-parto foi considerado preciso mas não apresentou diferença significativa ($P > 0,05$). Os pontos de corte de cálcio iônico como preditores de deslocamento de abomaso, metrite, distocia foram considerados não-informativos (AUC $< 0,5$) e não apresentaram diferença estatística ($P > 0,05$).

Desta forma, podemos sugerir que este metabólito pode não ter efeito sobre alguns transtornos, que o número de desfechos (prevalência de transtornos) é baixo ou ainda, que foram utilizados métodos inadequados para classificar os transtornos, sendo essas as possíveis fontes para as falhas na determinação de pontos de corte críticos para cada transtorno.

5.3 CONCLUSÃO

A prevalência de hipocalcemia subclínica e metrite foram maiores em nosso estudo do que em estudos citados na literatura. Fatores como momento e método de diagnóstico, metabólito dosado (cálcio iônico *versus* cálcio total), ponto de corte, paridade, ECC ao parto, manejo dos rebanhos (sistema de produção, nutrição, produção de leite, etc.) e período de observação podem representar a fonte de diferença entre nossos dados e a literatura.

A associação de alguns transtornos do pós-parto e alterações de dados clínicos, produtivos e laboratoriais em vacas hipocalcêmicas aumentaram o risco de ocorrência do transtorno em questão:

- A ocorrência de balanço energético negativo foi maior em vacas com ECC ao parto
- A ocorrência de cetose foi maior em vacas com as seguintes alterações clínicas: ECC ao parto $>3,5$ (2ª semana pós-parto), múltiparas (4ª semana pós-parto), alojados em fazendas com sistema free stall (2ª, 5ª e 6ª semana pós-parto).
- A ocorrência de lipidose hepática teve tendência a ser maior em vacas com ECC ao parto $> 3,5$ (3ª semana pós-parto).
- A ocorrência de mastite clínica foi maior em vacas com ECC ao parto $>3,5$ (3ª semana pós-parto), foi maior do que em vacas com mastite clínica, apenas.
- A ocorrência de metrite foi maior em vacas com distocia (1ª e 2ª semana pós-parto).
- A ocorrência de metrite em animais primíparas foi maior do que em animais múltiparas (1ª e 3ª semana pós-parto).
- A ocorrência de endometrite clínica foi maior em vacas com distocia (5ª semana pós-parto) e primíparas (6ª semana pós-parto).
- A ocorrência de retenção de placenta foi maior em vacas com temperatura retal $> 39,4^{\circ}\text{C}$ no (1ª, 2ª e 3ª semana pós-parto).

A hipocalcemia também foi fator de risco a ocorrência de balanço energético negativo, o qual foi maior em vacas hipocalcêmicas na 1ª, 2ª, 4ª e 6ª semana pós-parto.

O ponto de corte de cálcio iônico na 1ª semana pós-parto para diagnóstico de cetose subclínica em nosso estudo foi de 2,5 mg/dL. Os pontos de corte de cálcio iônico para diagnóstico de lipidose hepática e de mastite na 1ª semana pós-parto são 2,44 e 2,65 mg/dL, respectivamente, e foram considerados precisos e apresentaram tendência à significância estatística. Os pontos de corte para diagnóstico de retenção de placenta,

deslocamento de abomaso, metrite e distocia não tiveram significado estatístico, sugerindo que a hipocalcemia não aparenta ser o fator de risco mais importante para determinar a ocorrência destes transtornos. Porém, a chance de animais hipocalcêmicos desenvolverem metrite é maior em vacas com distocia e em vacas primíparas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABD-ALLAH, S. M.; BAKR, H. A. Serum parathyroid hormone levels and mineral profiles in high producing dairy cattle around calving period. **British Journal of Dairy Sciences**, v. 4, p. 1-4, 2015.

ALLEN MS, PIANTONI P. Metabolic control of feed intake implications for metabolic disease of fresh cows. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 29, p. 279-297, 2013.

ASL, N. A.; NAZIFI, S.; GHASRODASHTI, A. R.; OLYAEE, A. Prevalence of subclinical ketosis in dairy cattle in the Southwestern Iran and detection of cutoff point for NEFA and glucose concentrations for diagnosis of subclinical ketosis. **Preventive Veterinary Medicine**. v. 100, p. 38-43, 2011.

BARLETTA, R. V.; MATURANA FILHO, M.; CARVALHO, P. D.; DEL VALLE, T. A.; NETTO, A. S.; RENNÓ, F. P.; MINGOTI, R. D.; GANDRA, J. R.; MOURÃO, G. B.; FRICKE, P. M.; SARTORI, R. MADUREIRA, E. H.; WILTBANK, M. C. Association of changes among body condition score during the transition period with NEFA and BHBA concentrations, milk production, fertility, and health of Holstein cows. **Theriogenology**, 104, 30–36, 2017.

BARROS, L. Hipocalcemia e hipomagnesemia em vacas lecheras: diagnostico y control. In: 2° SIMPÓSIO NACIONAL DA VACA LEITEIRA, 2015, Porto Alegre, **Anais...** Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2015. p. 219-252.

BERGE, A. C., VERTENTEN, G. A field study to determine the prevalence, dairy herd management systems, and fresh cow clinical conditions associated with ketosis in western European dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v. 97, p. 2145-2154, 2014.

BOBE, G.; YOUNG, J. W.; BEITZ, D. C. Invited review: Pathology, Etiology, Prevention, and treatment of Fatty Liver in Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 3105-3124, 2004.

BRADLEY, A. J., Bovine mastitis: an evolving disease. **Veterinary Journal**, v. 164, p. 116-128, 2002.

BUSHINSKY, D. A. Dysregulation of the calcium, phosphorus, parathyroid hormone, and vitamin D axis: what are the causes and risks? **American Journal of Kidney Disease**. v. 37, p. 1310-1312, 2001.

CAIXETA, L. S.; OSPINA, P. A.; CAPEL, M. B.; NYDAM, D. V. The association of subclinical hypocalcemia, negative energy balance and disease with bodyweight change during the first 30 days post-partum in dairy cows milked with automatic milking systems. **The Veterinary Journal**. v. 204, p. 150-156, 2015.

CAIXETA, L. S.; OSPINA, P. A.; CAPEL, M. B.; NYDAM, D. V. Association between subclinical hypocalcemia in the first 3 days of lactation and reproductive performance of dairy cows. **Theriogenology**. v. 94, p. 1-7, 2017.

CHAMBERLIN, W. G.; MIDDLETON, J. R.; SPAIN, J. N.; JOHNSON, G. C.; ELLERSIECK, M. R.; PITHUA, P. Subclinical hypocalcemia, plasma biochemical parameters, lipid metabolism, postpartum disease, and fertility in postparturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v. 96, p. 1-13, 2013.

CHAPINAL, N.; CARSON, M. E.; DUFFIELD, T. F.; CAPEL, M.; GODDEN, S.; OVERTON, M. W.; SANTOS, J. E. P.; LEBLANC, S. J. The association of serum metabolites with clinical disease during the transition period. **Journal of Dairy Science**. v. 94, p. 4897 – 4903, 2011.

CHAPINAL, N.; LEBLANC, S. J.; CARSON, M. E.; LESLIE, K. E.; GODDEN, S.; CAPEL, M.; SANTOS, J. E. P.; OVERTON, M. W.; DUFFIELD, T. F. Herd-level association of serum metabolites in the transition period with disease, milk production, and early lactation reproductive performance. **Journal of Dairy Science**, v. 95, p. 5676 - 5682, 2012.

CORBELLINI, C. N. Etiopatogenia e controle da hipocalcemia e hipomagnesemia em vacas leiteiras. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL SOBRE DEFICIÊNCIAS

MINERAIS EM RUMINANTES, 1998. Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: Editora da UFRGS, 1998, p. 1-11.

CORRÊA, M. N.; GONZÁLEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. (Org.). **Transtornos metabólicos nos animais domésticos**. Pelotas: Editora Universitária PREC/UFPEL, 2010, 520 p.

CORREA, M. T., ERB, H., SCARLETT, J. Path analysis for seves postpartum disorders of Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 1305-1312, 1993.

CURTIS, C. R. Epidemiology of parturiente paresis: predisposing factors with emphasis on dry cow feeding and management. **Journal of Dairy Science**. v. 67, p. 817 - 825, 1984.

CURTIS, C. R. et al. Association of parturient hypocalcemia with eight periparturient disorders in Holstein cows. **Journal of American Veterinary Medical Association**. v. 183, p. 559 – 561, 1983.

DEGARIS, P. J.; LEAN, I. J. Milk fever in dairy cows: A review of pathophysiology and control principles. **The Veterinary Journal**, v. 176, p. 58-69, 2009.

DOLL, K., SICKINGER, M., SEEGER, T. New aspects in the pathogenesis of abomasal displacement. **Veterinary Journal**. v. 181, p.90–96, 2009.

DRACKLEY, J. K. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? **Journal of Dairy Science**, v. 82, p. 2259-2273, 1999.

DUFFIELD, T. F. et al. Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. **Journal of Dairy Science**, [S.l.], v. 92, n. 2, p. 571-580, set. 2008.

DUFFIELD, T. F. Monitoring strategies for metabolic disease in transition dairy cows. **23rd World Buiatrics Congress**, Quebec - Canada, p. 1-6, jul. 2004.

DUFFIELD, T. F. Subclinical ketosis in lactating dairy cattle. **Veterinary clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 16, p. 231-253, 2000.

EDMONSON, A. J.; LEAN, I. J.; WEAVER, L. D.; FARVER, T.; WEBSTER, G. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v. 72, p. 68-78, 1989.

FARIA, B. N. Dietas para vacas em período de transição. In: GONÇALVES, L. C.; BORGES, I.; FERREIRA, P. D. S. (Org.) **Alimentação de gado de leite**. Belo Horizonte: FEPMVZ, 2009. cap. 7, p. 179-211.

FIorentin, E. L. et al. Occurrence of subclinical metabolic disorders in dairy cows from western Santa Catarina state, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 38, n. 4, p. 629-634, 2018.

GALVÃO, K. N.; FRAJBLAT, M.; BUTLER, W. R.; BRITTIN, S. B.; GUARD, C. L.; GILBERT, R. O. **Reproduction in domestic animals**. v. 45, p. 207-211, 2010.

GIULIODORI, M. J.; MAGNASCO, M.; MAGNASCO, R. P.; LACAU-MENGIDO, I. M.; DE LA SOTA, R. L. Purulent vaginal discharge in grazing dairy cows: Risk factors, reproductive performance, and prostaglandin F₂ α treatment. **Journal of Dairy Science**. v. 100, p. 3805-3815, 2017.

GOFF, J. P. Pathophysiology of calcium and phosphorus disorders: Metabolic disorders of ruminants. **Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice**. v. 16, p. 319-337, 2000.

GOFF, J. P.; HORST, R. L. Effects of the addition of potassium or sodium, but not calcium, to prepartum rations on milk fever in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 176-186, 1997a.

GOFF, J. P.; HORST, R. L. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 1260-1268, 1997b.

GOFF, J. P.; HORST, R.L. Role of acid-base physiology on the pathogenesis of parturient hypocalcemia (Milk Fever) – the DCAD theory in principal and practice. **Acta Veterinaria Scandinavica**, suplement. 97, p. 51-56, 2003.

GOFF, J.P.; HORST, R.L. Use of hydrochloric acid as a source of anions for prevention of milk fever. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 11, p. 2874-2880, 1998.

GOFF, J. P. Macromineral disorders of the transition cow. **Veterinary clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 20, p. 471-494, 2004.

GOFF, J. P. Phosphorous deficiency. In: ANDERSON, D. E.; RINGS, D. M. **Current veterinary therapy: Food veterinary therapy**. Saint Louis: Saunders Elsevier, v. 5, cap. 34, p. 135-136, 2009.

GOFF, J. P. The monitoring, preventing, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. **Veterinary Journal**. v. 76, p. 50-57. 2008.

GORDON, J. L.; LEBLANC, S. J.; DUFFIELD, T. F. Ketosis treatment in lactating dairy cattle. **The Veterinary clinics of North America. Food animal practice**. v. 29, p. 433-445, 2013.

GREEN, H. B.; HORST, R. L.; BEITZ, D. C. Vitamina D metabolites in plasma of cow fed a prepartum low-calcium diet for prevention of parturient hypocalcemia. **Journal of Dairy Science**. v. 64, p. 217, 1981.

GRUMMER, R. R. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. **Journal Animal Science**, v. 73, p. 2820-2833, 1995.

HANSEN, S. S.; BLOM, J. Y.; ERSBOLL, A.; JORGENSEN, R. J. Milk fever control in Danish dairy herds. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 97, p. 137-139, 2003.

HERDT, T. H. Ruminant adaptation to negative energy balance. Influences on the etiology of ketosis and fatty liver. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**. v.16, p.215–230, 2000.

HORST, R. L. et al. Strategies for preventing milk fever in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 1269-1280, 1997.

JAWOR, P. E.; HUZZEY, J. M.; LEBLAN, S. J.; VON KEYSERLINGK, M. A. G. Associations of subclinical hypocalcemia at calving with milk yield, and feeding, drinking, and standing behaviors around parturition in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 95, p. 1240–1248, 2012.

JUOZAITIENE, V. et al. Relationship between dystocia and the lactation number, stillbirth and mastitis prevalence in dairy cows. **Acta Veterinaria Brno**. v. 86, p. 345-352, 2017.

KALAITZAIKIS, E.; ROUBIES, N.; PANOUSIS, N.; POURLIOTIS, K.; KALDRYMIDOU, E.; KARATZIAS, H. Clinicopathologic evaluation of hepatic lipidosis in periparturient dairy cattle. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. v. 21, p. 835-845, 2007.

KANEKO, J. J. Appendix VIII: blood analyte reference values in large animals. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, John W.; BRUSS, M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6. ed. San Diego: Academic Press, 2006. p. 882-888. KIMURA, K., REINHARDT, T. A., GOFF, J. P. Parturition and hypocalcemia blunts calcium signals in immune cells of dairy cattle. **Journal of Dairy Science**. v. 89, p. 2588 – 2595, 2006.

KARA, Ç. Physiological and metabolic changes during the transition period and the use of calcium propionate for prevention or treatment of hypocalcemia and ketosis in periparturient cows. **Journal of Biological and Environmental Sciences**. v. 7, p. 9–17, 2013.

KELTON, D. F.; LISSEMORE, K. D.; MARTIN, R. E. Recommendations for recording and calculating the incidence of selected clinical diseases of dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v. 81, n. 9, p. 2502-2509, Sept. 1998.

KIMURA, K.; REINHART, T. A.; GOFF, J. P. Parturition and hypocalcemia blunts calcium signals in immune cells of dairy cattle. **Journal of Dairy Science**. v. 89, p. 2588–2595, 2006.

KOCK, G. M. S. **Dissertação de Mestrado**. Incidência e consequências da hipocalcemia subclínica no pós-parto de vacas leiteiras. Lisboa: Universidade de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária, 2013. 69 p.

LEBLANC, S. J. et al. Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v. 85. p. 2223-2236, 2002.

LEBLANC, S. J.; LESLIE, K. E.; DUFFIELD, T. F. Metabolic predictors of displacement abomasum in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p. 159–170, 2005.

LOISELLE, M. C. et al. Impact of postpartum milking frequency on the immune system and the blood metabolite concentration of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 92, p. 1900-1912, 2009.

MARTIN, T. N. et al. Fluxo de Nutrientes em Ecossistemas de Produção de Forragens Conservadas. In: Anais do IV SIMPÓSIO: Produção e Utilização de Forragens Conservadas, 2011, Maringá. **Anais...** Paraná, 2011, p.173-219.

MARTINEZ, N.; SINEDINO, L. D. P; BISONOTTO, R.S.; RIBEIRO, E. S.; GOMES, G. C.; LIMA, F. S.; GRECO, L. F.; RISCO, C. A.; GALVÃO, K. N.; TAYLOR-RODRIGUEZ, D.; DRIVER, J. P.; THATCHER, W. W.; SANTOS, J. E. P. Effect of induced subclinical hypocalcemia on physiological responses and neutrophil function in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 97, p. 874-887, 2014.

MARTINEZ, N.; RISCO, C. A.; LIMA, F. S.; BISINOTTO, R. S.; GRECO, L. F.; RIBEIRO, E. S.; MAUNSELL, F.; GALVÃO, K.; SANTOS, J. E. P. Evaluation of peripartal calcium status, energetic profile, and neutrophil function in dairy cows at low

or high risk of developing uterine disease. **Journal of Dairy Science**. v. 95, p. 7158 – 7172, 2012.

MARTÍN-TERESO, J., MARTENS, H. Calcium and magnesium physiology and nutrition in relation to the prevention of milk fever and tetany (dietary management of macrominerals in preventing disease). **Veterinary Clinics Food Animal Practice**. v. 30, p. 643-670, 2014.

MCART, J. A., NYDAM, D. V., OETZEL, G. R. Epidemiology of subclinical ketosis in early lactation dairy cattle. **Journal of dairy science**. v. 95, p. 5056-5066, 2012.

MCDOWELL, L. R. **Minerals in animal and human nutrition**. Amsterdam: Elsevier Science. v. 2, 2003, 644 p.

MCLAREN, C. J. et al. The relationship between herd level disease incidence and a return over feed index in Ontario dairy herds. **Canadian Veterinary Journal**. v. 47, p. 767–773, 2006.

MOORE, S. J. et al. Effects of altering dietary cation-anion difference on calcium and energy metabolism in peripartum cows. **Journal of Dairy Science**. v.83, p. 2095-2104, 2000.

MULLIGAN, F. J.; O'GRADY, L.; RICE, D.; DOHERTY, M. Production diseases of the transition cow: Milk fever and subclinical hypocalcemia. **Irish Veterinary Journal**. v. 58, p. 697-702, 2006.

MURRAY, R. D. et al. Historical and current perspectives on the treatment, control and pathogenesis of milk fever in dairy cattle. **Veterinary Records**. v. 163, p. 561–565, 2008.

NEVES, R. C.; LENO, B. M.; BACH, K. D.; MCART, J. A. A. Epidemiology of subclinical hypocalcemia in early-lactation Holstein dairy cows: The temporal associations of plasma calcium concentration in the first 4 days in milk with disease and milk production. **Journal of Dairy Science**. v. 101, n. 10, p. 9321-9331, 2018.

NOGUEIRA, P. Milk fever and low blood calcium in dairy cows. **Kenpal Dairy Briefs**. v. 3, n. 1, p. 1-7, 2010.

NRC. **Nutrient requirements of domestic animals**. Washington: National Academy Press, 381, 2001.

OETZEL, G. R. An update on hypocalcemia on dairy farms. 2015. Wisconsin. p. 80 -86.

OETZEL, G. R. et al. Ammonium chloride and ammoniumsulfate for prevention of parturient paresis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v. 71, p. 3302–3309, 1988.

OETZEL, G. R. Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease, **Veterinary Clinics Food Animal Practice**. v. 20, p. 651-674, 2004.

OLIVEIRA, C. S. F. et al. Abortion and other risk factors for mastitis in Iranian dairy herds. **Preventive Veterinary Medicine**. v. 121, p. 297-305, 2015.

OSPINA, P. A., NYDAM, D. V., STOKOL, T., OVERTON, T. R. Evaluation of nonesterified fatty acids and B-hydroxybutyrate in transition dairy cattle in the northeastern United States: critical thresholds for prediction of clinical diseases. **Journal of Dairy Science**. v. 93, p. 546-554, 2010.

ORTOLANI, E. L. Aspectos clínicos, epidemiológicos e terapêuticos da hipocalcemia de vacas leiteiras. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.47, n.6, p. 799-808, 1995.

ORTOLANI, E. L. Diagnóstico de doenças nutricionais e metabólicas por meio de exame de urina em ruminantes. In: GONZÁLEZ, F. H. D. et al. **Avaliação metabólico-nutricional de vacas leiteiras por meio de fluídos corporais**. Porto Alegre. p. 18 - 26. 2002.

OTERO, R. M. et al. **Desórdenes metabólicos em la vaca lechera de alta producción (VLAP)**. Lugo: AVEBU, 2011, 152 p.

OVERTON, T. R.; WALDRON, M. R. Nutritional management of transition dairy cows: strategies to optimize metabolic health. **Journal of Dairy Science**, 2004. v. 87, p. E105–E119.

PICKETT, M. M.; PIPENBRINK, M. S.; OVERTON, T. R. Effects of propylene glycol or fat drench on plasma metabolites, liver composition, and production of dairy cows during the periparturient period. **Journal of Dairy Science**. v. 86, p. 2113-2121, 2003.

PLETICHA, S.; DRILLICH, M.; HEUWIESER, W. Evaluation of the Metrichick device and the gloved hand for the diagnosis of clinical endometritis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v. 92, n. 11, p. 5429-5435, 2009.

PROUDFOOT, K. L., HUZZEY, J. M.; VON KEYSERLINGK, M. A. G. The effect of dystocia on the dry matter intake and behavior of Holstein cows. **Journal of Dairy Science**. v. 92, n. 11, p. 4937–4944, 2009.

RABELO, E.; CAMPOS, B. G. Fisiologia do período de transição. In: VIII CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA, 2009, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 2009, p. 1-13.

RABOISSON, D.; MOUNIÉ, M.; MAIGNÉ, E. Diseases, reproductive performance, and changes in milk production associated with subclinical ketosis in dairy cows: A meta-analysis and review. **Journal of Dairy Science**. v. 97, n. 12, p. 7547-7563, ago. 2014.

RADOSTITS, O. M. et al. **Veterinary Medicine: a textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats**. 10. ed., Edinburg: Saunders Elsevier, 2006, 2156 p.

REINHARDT, T. A. LIPOLLIS, J. D.; MCCLUSKEY, B. J.; GOFF, J. P.; HORST, R. L. Prevalence of subclinical hypocalcemia in dairy herds. **Veterinary journal**. v. 188, p. 122-124, 2011.

RIBEIRO, E. S.; LIMA, F. S.; GRECO, L. F.; BISINOTTO, R. S.; MONTEIRO, A. P. A.; FAVORETO, M.; AYRES, H.; MARSOLA, R. S.; MARTINEZ, N.; THATCHER,

W. W.; SANTOS, J. E. P. Prevalence of periparturient diseases and effect on fertility of seasonally calving grazing dairy cows supplemented with concentrates. **Journal of Dairy Science**. v. 91. p. 1-16, 2013.

ROBERTS, T. et al. Metabolic parameters in transition cows as indicators for early-lactation culling risk. **Journal of Dairy Science**. v. 95, p. 3057 – 3063, 2012.

ROCHE, J. R. The incidence and control of hypocalcaemia in pasture-based systems. **Acta Veterinaria Scandinavica**. v. 97, p. 141-144. 2003.

ROCHE, J. R.; BERRY, D. P. Periparturient climatic, animal, and management factors influencing the incidence of milk fever in grazing systems. **Journal of Dairy science**. n. 89, p. 2775-2783, 2006.

RODRÍGUEZ, E. M.; ARÍS, A.; BACH, A. Associations between subclinical hypocalcemia and postparturient diseases in dairy cows. **Journal of Dairy Science**. n. 100, p. 7427-7434, 2017.

RUDE, R. K. Magnesium deficiency: a cause of heterogeneous disease in humans. **Journal of Bone and Mineral Research**. v. 13, n. 4, p. 749–758, 1998.

SANTOS, J.E.P. Distúrbios Metabólicos. In: BERCHIELLI, T.T; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: Funep, 2. ed. p. 439 – 520. 2011.

SATHYA, A et al. Vitamin E and selenium supplementation reduces plasma cortisol and oxidative stress in dystocia-affected buffaloes. **Veterinary Research Communications**. v. 31, p. 809-818, 2007.

SEDÓ, S. U.; ROSA, D.; MATTIOLI, G.; LUZBEL DE LA SOTA, R.; GIULIODORI, M. J. Associations of subclinical hypocalcemia with fertility in a herd of grazing dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v. 101, p. 10469-10477, 2018.

SEIFI, H. A. et al. Variations of energy-related biochemical metabolites during transition period in dairy cows. **Comparative Clinical Pathology**. v. 16, p. 253-258, 2007.

SEIFI, H. A. LEBLANC, S. J.; LESLIE, K. E.; DUFFIELD, T. E. Metabolic predictors of post-partum disease and culling risk in dairy cattle. **Veterinary Journal**, v. 188, 216–220, 2011.

SHELDON, I. M., LEWIS, S., LEBLANC, S., GILBERT, R. O. Defining postpartum uterine disease in cattle. **Theriogenology**. v. 65, p. 1516-1530, 2006.

SMITH, B. I.; RISCO, C. A. Management of periparturient disorders in dairy cattle, **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**. v. 21, p. 503-521, 2005.

SOUZA, R. M.; BIRGEL JUNIOR, E. H. Influência do puerpério e da fase pós-puerperal no lipidograma de vacas da raça holandesa criadas no estado de São Paulo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v. 46, n. 1, p. 5-10, 2009.

SURIYASATHAPORN, W. et al. β -Hydroxybutyrate levels in peripheral blood and ketone bodies supplemented in culture media affect the in vitro chemotaxis of bovine leukocytes. **Veterinary Immunology and Immunopathology**. v. 68, p. 177–186, 1999.

SURIYASATHAPORN, W. et al. Hyperketonemia and the impairment of udder defense: A review. **Veterinary Research**. v. 31, p. 397–412, 2000.

SUTHAR, V. S; CANELAS-RAPOSO, J.; DENIZ, A.; HEUWIESER, W. Prevalence of subclinical ketosis and relationships with postpartum diseases in European dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v. 96, p. 2925-2938, 2013.

SWETS, J. A. Measuring the accuracy of diagnostic systems. **Science**. v. 240, p. 1285–1293, 1988.

TEDESCO, D. et al. Effects of silymarin, a natural hepatoprotector, in periparturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v. 87, p. 2239-2247, 2004.

THOMAS, J. R., CHARLES, C. C. Calcium Regulating Hormones and Diseases of Abnormal Mineral Metabolism. In: Kaneko, J. J.; Harvey, W. J.; Bruss, L. M. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 5 ed., ed. San Diego: Academic Press. p. 619-702, 199.

URTON, G., KEYSERLINGK, M. A. G. V., WEARY, D. M. Feeding Behavior Identifies Dairy Cows at Risk for Metritis. **Journal of Dairy Science**. v. 88, p. 2843-2849, 2005.

VANHOLDER, T.; PAPEN, J.; BEMERS, R.; VERTENTEN, G.; BERGE, A. C. B. Risk factors for subclinical and clinical ketosis and association with production parameters in dairy cows in the Netherlands. **Journal of Dairy Science**. v. 98, n. 2, p. 1-9, 2015.

ZINICOLA, M.; KORZEC, H.; TEIXEIRA, A. G. V.; GANDA, E. K.; BRINGHENTI, L.; TOMAZI, A. C. C.; GILBERT, R. O.; BICALHO, R. C. Effects of pegbovigrastim administration on periparturient diseases, milk production, and reproductive performance of Holstein cows. **Journal of Dairy Science**. v. 101, p. 11199-11217, 2018.

ANEXO 1



U F R G S
UNIVERSIDADE FEDERAL
DO RIO GRANDE DO SUL

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA

Comissão De Ética No Uso De Animais



CARTA DE APROVAÇÃO

Comissão De Ética No Uso De Animais analisou o projeto:

Número: 29966

Título: Doenças uterinas em vacas leiteiras: ocorrência e características metabólicas e reprodutivas

Vigência: 13/03/2016 à 12/12/2018

Pesquisadores:

Equipe UFRGS:

FELIX HILARIO DIAZ GONZALEZ - coordenador desde 13/03/2016

Rodrigo Schallenger Gonçalves - Aluno de Doutorado desde 13/03/2016

Comissão De Ética No Uso De Animais aprovou o mesmo em seus aspectos éticos e metodológicos, para a utilização de 100 vacas da raça Holandês preto e branco, provenientes de rebanhos comerciais no estado do RS, de acordo com os preceitos das Diretrizes e Normas Nacionais e Internacionais, especialmente a Lei 11.794 de 08 de novembro de 2008, o Decreto 6899 de 15 de julho de 2009, e as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), que disciplinam a produção, manutenção e/ou utilização de animais do filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem) em atividade de ensino ou pesquisa.

Porto Alegre, Segunda-Feira, 25 de Abril de 2016

MARCELO MELLER ALIEVI
Coordenador da comissão de ética

17 ANEXO 1

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Título da Pesquisa/Aula: Ocorrência de doenças uterinas e sua relação com o status metabólico em vacas leiteiras.

Nome do(a) Pesquisador(a) Responsável/Professor(a) Responsável: Rodrigo Schallenger Gonçalves / Félix Hilário Díaz González.

1. **Natureza da pesquisa/aula:** O Sr(Sra.) está sendo convidado(a) a autorizar a participação de seu(s) animal(is) nesta pesquisa/aula que tem como finalidade diagnosticar metrites e endometrites, fazer o tratamento e correlacionar com o status metabólico.
2. **Identificação do(s) animal(is):** Espécie bovina, fêmeas, raça Holandesa, 1.000 animais.
3. **Envolvimento na pesquisa/aula:** ao participar deste estudo o Sr. (Sra.) permitirá que o (a) pesquisador(a)/professor(a) faça o diagnóstico de metrite e endometrite, faça a coleta de sangue e aplique os medicamentos necessários. O Sr. (Sra.) tem liberdade de se recusar a participar e ainda se recusar a continuar participando em qualquer fase da pesquisa/aula, sem qualquer prejuízo para o seu animal. Sempre que quiser poderá pedir mais informações sobre a pesquisa/aula através do telefone do(a) pesquisador(a)/professor(a). Se necessário, poderá entrar em contato com Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA).
4. **Sobre os dados necessários:** Idade, condição corporal, temperatura, último parto, última inseminação artificial.
5. **Riscos e desconforto:** a participação nesta pesquisa/aula não traz complicações legais. Não existem riscos para os animais, pois as coletas serão realizadas conforme protocolo da propriedade. Os procedimentos adotados nesta pesquisa/aula obedecem aos princípios éticos no uso de animais, elaborados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), sobre a utilização de animais em atividades educacionais e em experimentos que envolvam espécies definidas na Lei 11.794/2008.
6. **Confidencialidade:** todas as informações coletadas neste estudo são estritamente confidenciais. Somente os pesquisadores/professor(a)(s) terão conhecimento dos dados.

Rodrigo Schallenger Gonçalves

7. **Benefícios:** esperamos que este estudo traga informações importantes sobre incidência de doenças uterinas e tratamentos, de forma que o conhecimento que será construído a partir desta pesquisa/aula possa melhorar a saúde, produção e reprodução de vacas leiteiras, o pesquisador/professor(a) se compromete a divulgar os resultados obtidos.

8. **Pagamento:** o Sr.(Sra.) não terá custo com os materiais da pesquisa, sendo de responsabilidade do proprietário apenas os custos da rotina da fazenda.

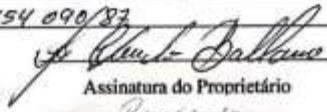
Após estes esclarecimentos, solicitamos o seu consentimento de forma livre para a participação de seu(s) animal(is) nesta pesquisa/aula. Preencher, por favor, os itens que se seguem:

Consentimento Livre e Esclarecido

Tendo em vista os itens acima apresentados, eu, de forma livre e esclarecida, manifesto meu consentimento em participar da pesquisa/aula.

Nome do Proprietário: Sr. CLAUDIO BALDASSO

CPF/RG: 232 454 090/87



Assinatura do Proprietário

Assinatura do Pesquisador

Data: / /

TELEFONES

Pesquisador: 054 99116315

Orientador: 051 91124587

CEUA/UFRGS: 051 33083738

ANEXO 3

17 ANEXO I

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Título da Pesquisa/Aula: Ocorrência de doenças uterinas e sua relação com o status metabólico em vacas leiteiras.

Nome do(a) Pesquisador(a) Responsável/Professor(a) Responsável: Rodrigo Schallenger Gonçalves / Félix Hilário Díaz González.

1. **Natureza da pesquisa/aula:** O Sr.(Sra.) está sendo convidado(a) a autorizar a participação de seu(s) animal(is) nesta pesquisa/aula que tem como finalidade diagnosticar metrites e endometrites, fazer o tratamento e correlacionar com o status metabólico.
2. **Identificação do(s) animal(is):** Espécie bovina, fêmeas, raça Holandesa, 1.000 animais.
3. **Envolvimento na pesquisa/aula:** ao participar deste estudo o Sr. (Sra.) permitirá que o (a) pesquisador(a)/professor(a) faça o diagnóstico de metrite e endometrite, faça a coleta de sangue e aplique os medicamentos necessários. O Sr. (Sra.) tem liberdade de se recusar a participar e ainda se recusar a continuar participando em qualquer fase da pesquisa/aula, sem qualquer prejuízo para o seu animal. Sempre que quiser poderá pedir mais informações sobre a pesquisa/aula através do telefone do(a) pesquisador(a)/professor(a). Se necessário, poderá entrar em contato com Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA).
4. **Sobre os dados necessários:** Idade, condição corporal, temperatura, último parto, última inseminação artificial.
5. **Riscos e desconforto:** a participação nesta pesquisa/aula não traz complicações legais. Não existem riscos para os animais, pois as coletas serão realizadas conforme protocolo da propriedade. Os procedimentos adotados nesta pesquisa/aula obedecem aos princípios éticos no uso de animais, elaborados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), sobre a utilização de animais em atividades educacionais e em experimentos que envolvam espécies definidas na Lei 11.794/2008.
6. **Confidencialidade:** todas as informações coletadas neste estudo são estritamente confidenciais. Somente os pesquisadores/professor(a)(s) terão conhecimento dos dados.

7. **Benefícios:** esperamos que este estudo traga informações importantes sobre incidência de doenças uterinas e tratamentos, de forma que o conhecimento que será construído a partir desta pesquisa/aula possa melhorar a saúde, produção e reprodução de vacas leiteiras, o pesquisador/professor(a) se compromete a divulgar os resultados obtidos.

8. **Pagamento:** o Sr.(Sra.) não terá custo com os materiais da pesquisa, sendo de responsabilidade do proprietário apenas os custos da rotina da fazenda.

Após estes esclarecimentos, solicitamos o seu consentimento de forma livre para a participação de seu(s) animal(is) nesta pesquisa/aula. Preencher, por favor, os itens que se seguem:

Consentimento Livre e Esclarecido

Tendo em vista os itens acima apresentados, eu, de forma livre e esclarecida, manifesto meu consentimento em participar da pesquisa/aula.

Nome do Proprietário: Tiago Rital Fagion

CPF/RG: 01693367009 - 4089083055

[Assinatura]

Assinatura do Proprietário

[Assinatura]

Assinatura do Pesquisador

Data: / /

TELEFONES

Pesquisador: 054 99116315

Orientador: 051 91124587

CEUA/UFRGS: 051 33083738

ANEXO 4

17 ANEXO 1

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Título da Pesquisa/Aula: Ocorrência de doenças uterinas e sua relação com o status metabólico em vacas leiteiras.

Nome do(a) Pesquisador(a) Responsável/Professor(a) Responsável: Rodrigo Schallenberger Gonçalves / Félix Hilário Díaz González.

1. **Natureza da pesquisa/aula:** O Sr(Sra.) está sendo convidado(a) a autorizar a participação de seu(s) animal(is) nesta pesquisa/aula que tem como finalidade diagnosticar metrites e endometrites, fazer o tratamento e correlacionar com o status metabólico.
2. **Identificação do(s) animal(is):** Espécie bovina, fêmeas, raça Holandesa, 1.000 animais.
3. **Envolvimento na pesquisa/aula:** ao participar deste estudo o Sr. (Sra.) permitirá que o (a) pesquisador(a)/professor(a) faça o diagnóstico de metrite e endometrite, faça a coleta de sangue e aplique os medicamentos necessários. O Sr. (Sra.) tem liberdade de se recusar a participar e ainda se recusar a continuar participando em qualquer fase da pesquisa/aula, sem qualquer prejuízo para o seu animal. Sempre que quiser poderá pedir mais informações sobre a pesquisa/aula através do telefone do(a) pesquisador(a)/professor(a). Se necessário, poderá entrar em contato com Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA).
4. **Sobre os dados necessários:** Idade, condição corporal, temperatura, último parto, última inseminação artificial.
5. **Riscos e desconforto:** a participação nesta pesquisa/aula não traz complicações legais. Não existem riscos para os animais, pois as coletas serão realizadas conforme protocolo da propriedade. Os procedimentos adotados nesta pesquisa/aula obedecem aos princípios éticos no uso de animais, elaborados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), sobre a utilização de animais em atividades educacionais e em experimentos que envolvam espécies definidas na Lei 11.794/2008.
6. **Confidencialidade:** todas as informações coletadas neste estudo são estritamente confidenciais. Somente os pesquisadores/professor(a)(s) terão conhecimento dos dados.

Lodp E

7. **Benefícios:** esperamos que este estudo traga informações importantes sobre incidência de doenças uterinas e tratamentos, de forma que o conhecimento que será construído a partir desta pesquisa/aula possa melhorar a saúde, produção e reprodução de vacas leiteiras, o pesquisador/professor(a) se compromete a divulgar os resultados obtidos.
8. **Pagamento:** o Sr.(Sra.) não terá custo com os materiais da pesquisa, sendo de responsabilidade do proprietário apenas os custos da rotina da fazenda.

Após estes esclarecimentos, solicitamos o seu consentimento de forma livre para a participação de seu(s) animal(is) nesta pesquisa/aula. Preencher, por favor, os itens que se seguem:

Consentimento Livre e Esclarecido

Tendo em vista os itens acima apresentados, eu, de forma livre e esclarecida, manifesto meu consentimento em participar da pesquisa/aula.

Nome do Proprietário: Leandra Augusta Dal Pozzo

CPF/RG: 108666422 / 020344220-23

Leandra Dal Pozzo

Assinatura do Proprietário

Roberto S. Gonçalves

Assinatura do Pesquisador

Data: / /

TELEFONES

Pesquisador: 054 99116315

Orientador: 051 91124587

CEUA/FRGS: 051 33083738

ANEXO 5

17 ANEXO 1

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Título da Pesquisa/Aula: Ocorrência de doenças uterinas e sua relação com o status metabólico em vacas leiteiras.

Nome do(a) Pesquisador(a) Responsável/Professor(a) Responsável: Rodrigo Schallenger Gonçalves / Félix Hilário Díaz González.

1. **Natureza da pesquisa/aula:** O Sr.(Sra.) está sendo convidado(a) a autorizar a participação de seu(s) animal(is) nesta pesquisa/aula que tem como finalidade diagnosticar metrites e endometrites, fazer o tratamento e correlacionar com o status metabólico.
2. **Identificação do(s) animal(is):** Espécie bovina, fêmeas, raça Holandesa, 1.000 animais.
3. **Envolvimento na pesquisa/aula:** ao participar deste estudo o Sr. (Sra.) permitirá que o (a) pesquisador(a)/professor(a) faça o diagnóstico de metrite e endometrite, faça a coleta de sangue e aplique os medicamentos necessários. O Sr. (Sra.) tem liberdade de se recusar a participar e ainda se recusar a continuar participando em qualquer fase da pesquisa/aula, sem qualquer prejuízo para o seu animal. Sempre que quiser poderá pedir mais informações sobre a pesquisa/aula através do telefone do(a) pesquisador(a)/professor(a). Se necessário, poderá entrar em contato com Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA).
4. **Sobre os dados necessários:** Idade, condição corporal, temperatura, último parto, última inseminação artificial.
5. **Riscos e desconforto:** a participação nesta pesquisa/aula não traz complicações legais. Não existem riscos para os animais, pois as coletas serão realizadas conforme protocolo da propriedade. Os procedimentos adotados nesta pesquisa/aula obedecem aos princípios éticos no uso de animais, elaborados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), sobre a utilização de animais em atividades educacionais e em experimentos que envolvam espécies definidas na Lei 11.794/2008.
6. **Confidencialidade:** todas as informações coletadas neste estudo são estritamente confidenciais. Somente os pesquisadores/professor(a)(s) terão conhecimento dos dados.

Rodrigo Dalla Libera

7. **Benefícios:** esperamos que este estudo traga informações importantes sobre incidência de doenças uterinas e tratamentos, de forma que o conhecimento que será construído a partir desta pesquisa/aula possa melhorar a saúde, produção e reprodução de vacas leiteiras, o pesquisador/professor(a) se compromete a divulgar os resultados obtidos.

8. **Pagamento:** o Sr.(Sra.) não terá custo com os materiais da pesquisa, sendo de responsabilidade do proprietário apenas os custos da rotina da fazenda.

Após estes esclarecimentos, solicitamos o seu consentimento de forma livre para a participação de seu(s) animal(is) nesta pesquisa/aula. Preencher, por favor, os itens que se seguem:

Consentimento Livre e Esclarecido

Tendo em vista os itens acima apresentados, eu, de forma livre e esclarecida, manifesto meu consentimento em participar da pesquisa/aula.

Nome do Proprietário: Amilvo Dalla Libera

CPF/RG: 31464971072 - 1016623533

Amilvo Dalla Libera

Assinatura do Proprietário

Rodrig S. Santos

Assinatura do Pesquisador

Data: / /

TELEFONES

Pesquisador: 054 99116315

Orientador: 051 91124587

CEUA/UFRGS: 051 33083738

ANEXO 6

17 ANEXO 1

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Título da Pesquisa/Aula: Ocorrência de doenças uterinas e sua relação com o status metabólico em vacas leiteiras.

Nome do(a) Pesquisador(a) Responsável/Professor(a) Responsável: Rodrigo Schallenberger Gonçalves / Félix Hilário Diaz González.

1. **Natureza da pesquisa/aula:** O Sr(Sra.) está sendo convidado(a) a autorizar a participação de seu(s) animal(is) nesta pesquisa/aula que tem como finalidade diagnosticar metrites e endometrites, fazer o tratamento e correlacionar com o status metabólico.
2. **Identificação do(s) animal(is):** Espécie bovina, fêmeas, raça Holandesa, 1.000 animais.
3. **Envolvimento na pesquisa/aula:** ao participar deste estudo o Sr. (Sra.) permitirá que o (a) pesquisador(a)/professor(a) faça o diagnóstico de metrite e endometrite, faça a coleta de sangue e aplique os medicamentos necessários. O Sr. (Sra.) tem liberdade de se recusar a participar e ainda se recusar a continuar participando em qualquer fase da pesquisa/aula, sem qualquer prejuízo para o seu animal. Sempre que quiser poderá pedir mais informações sobre a pesquisa/aula através do telefone do(a) pesquisador(a)/professor(a). Se necessário, poderá entrar em contato com Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA).
4. **Sobre os dados necessários:** Idade, condição corporal, temperatura, último parto, última inseminação artificial.
5. **Riscos e desconforto:** a participação nesta pesquisa/aula não traz complicações legais. Não existem riscos para os animais, pois as coletas serão realizadas conforme protocolo da propriedade. Os procedimentos adotados nesta pesquisa/aula obedecem aos princípios éticos no uso de animais, elaborados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), sobre a utilização de animais em atividades educacionais e em experimentos que envolvam espécies definidas na Lei 11.794/2008.
6. **Confidencialidade:** todas as informações coletadas neste estudo são estritamente confidenciais. Somente os pesquisadores/professor(a)(s) terão conhecimento dos dados.



7. **Benefícios:** esperamos que este estudo traga informações importantes sobre incidência de doenças uterinas e tratamentos, de forma que o conhecimento que será construído a partir desta pesquisa/aula possa melhorar a saúde, produção e reprodução de vacas leiteiras, o pesquisador/professor(a) se compromete a divulgar os resultados obtidos.
8. **Pagamento:** o Sr.(Sra.) não terá custo com os materiais da pesquisa, sendo de responsabilidade do proprietário apenas os custos da rotina da fazenda.

Após estes esclarecimentos, solicitamos o seu consentimento de forma livre para a participação de seu(s) animal(is) nesta pesquisa/aula. Preencher, por favor, os itens que se seguem:

Consentimento Livre e Esclarecido

Tendo em vista os itens acima apresentados, eu, de forma livre e esclarecida, manifesto meu consentimento em participar da pesquisa/aula.

Nome do Proprietário: Juliana Bastos da Silva

CPF/RG: 054.79.600.25 - 100988605

Juliana Bastos da Silva

Assinatura do Proprietário

Lucy S. J. Santos

Assinatura do Pesquisador

Data: / /

TELEFONES

Pesquisador: 054 99116315

Orientador: 051 91124587

CEUA/UFRGS: 051 33083738