



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**Estudo do Perfil Bioquímico, Complemento
Histopatológico e Imunológico de Vacas
Leiteiras com Retenção de Placenta e Mastite.**

DICEZAR GONÇALVES

**Tese apresentada à Universidade Federal
do Paraná para obtenção do Título de
Mestre em Ciências Veterinárias.**

**CURITIBA
1993**

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE POS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a tese:

ESTUDO DO PERFIL BIOQUÍMICO, COMPLEMENTO
HISTOPATOLÓGICO E IMUNOLÓGICO DE VACAS
LEITEIRAS COM RETENÇÃO DE PLACENTA E MASTITE.

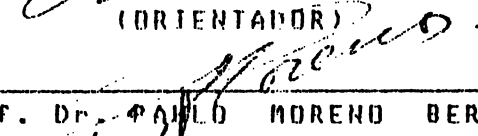
Elaborada por

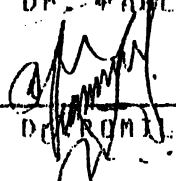
DICEZAR GONCALVES

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO
DE MESTRE EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS.

COMISSÃO EXAMINADORA:


Prof. Dr. LUIZ ERNANDES KOZICKI
(ORIENTADOR)


Prof. Dr. PAULO MORENO BERGOC


Prof. Dr. ROMILDO ROMUALDO WEISS

Curitiba, 16 de julho de 1993.

À minha Mãe.
Aos meus Filhos, com carinho.
À minha Esposa, pelo incentivo,
dedicação e por saber enriquecer-se
com a felicidade daqueles que ama.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Luiz Ernandes Kozicki, orientador decidido e seguro ao longo desses últimos três anos, possibilitando a conclusão da presente tese.

Ao Professor Metri Bacila pelo exemplo de dignidade, auxiliador, preciso e incansável em todas as dificuldades.

Ao Professor Paulo Moreno Bergoc e à Dra. Marluce sua esposa, pelo exemplo de caráter, pela orientação segura nas etapas finais do presente trabalho, e pela concessão de seu Laboratório de Análises Clínicas, onde foi possível a realização de parte dos experimentos.

Ao Dr. Renato Ramos que colocou à disposição o Laboratório de Medicina Nuclear do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, e por sua orientação na área de endocrinologia.

Aos Srs. Dr. José Maria Munhoz da Rocha Filho, Dr. Caetano Munhoz da Rocha, Dr. Nélcio Ribas Centa, Dr. Luiz Fernando Braga, Harry Dockhorn, Adão Rubens Cordeiro, Hilário Pissaia, Edgar Berleze, Antonio Valaski e a Sra. Maria de Lurdes Melo que cederam gentilmente suas Fazendas para realização de parte desta pesquisa.

Aos funcionários destas Fazendas pela valiosa colaboração prestada na fase de campo do experimento.

À Cooperativa de Laticínios de Curitiba que possibilitou o acesso às Fazendas pesquisadas e pela concessão de seu Laboratório de Análises do Leite, para realização de parte das pesquisas.

À FUNPAR, pela importação de materiais necessários à execução do projeto e de modo especial ao Presidente, professor Marcos e a Srta. Sandra.

À EMATER-Pr, pelo interesse demonstrado ao aperfeiçoamento técnico de seu pessoal e pela liberação para frequentar o curso.

À todos os professores que colaboraram para minha formação científica.

À Liliana Luisa Pizzolato, bibliotecária do Setor de Ciências Agrárias - UFPr, pelo auxílio prestado ao redigir a presente tese.

Aos funcionários da Universidade Federal do Paraná, pela colaboração prestada durante a execução da pesquisa.

Às funcionárias da CLAC, Maria Rita e Júlia que muito auxiliaram nas culturas e antibiogramas das amostras de leite.

Aos funcionários do Laboratório de Patologia do Hospital Veterinário da Universidade Federal do Paraná que muito auxiliaram na realização dos leucogramas.

À amiga Charlota, pela sua incansável colaboração para que este trabalho chegasse ao final.

Aos colegas Pedrinho, Paulino e Terezinha, sem os quais o trabalho a campo não teria sido possível.

À Coordenação do Aperfeiçoamento do Pessoal de Ensino Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de mestrado.

À todos aqueles que involuntariamente não mencionei e que tenham colaborado para a realização deste trabalho.

CONTEUDO

LISTA DE TABELAS.....	viii
LISTA DE ILUSTRAÇÕES.....	x
RESUMO.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
1 <u>INTRODUÇÃO</u>	xv
2 <u>REVISÃO DE LITERATURA</u>	1
2.1 INCIDÊNCIA DE RETENÇÃO DE PLACENTA EM VACAS LEITEIRAS.....	1
2.2 DOENÇAS POSTPARTUM, PRODUÇÃO DE LEITE E RETENÇÃO DE PLACENTA.....	3
2.3 HORMÔNIOS IMPLICADOS NO PARTO E RETENÇÃO DE PLACENTA.....	3
2.3.1 CORTISOL.....	3
2.3.2 ESTROGENOS.....	4
2.3.3 OCITOCINA.....	5
2.3.4 PROGESTERONA.....	5
2.3.5 PROSTAGLANDINAS.....	6
2.4 MINERAIS E SUAS RELAÇÕES COM A RP.....	9
2.4.1 CALCIO.....	9
2.4.2 FOSFORD.....	10
2.4.3 SELÊNIO.....	11
2.5 DOSAGEM DE ENZIMAS NO PERIODO PERIPARTAL.....	11
2.5.1 ASPARTATOAMINOTRANSFERASE.....	11
2.5.2 DESIDROGENASE LÁCTICA.....	12
2.5.3 FOSFATASE ACIDA.....	12
2.5.4 FOSFATASE ALCALINA.....	13
2.6 DOSAGEM DE COLESTEROL TOTAL NO SANGUE.....	13

2.7	DOSAGEM DE URÉIA NO SORO BOVINO.....	14
2.8	DOSAGEM DE PRO'-VITAMINAS E VITAMINAS.....	15
2.8.1	B- CAROTENO.....	15
2.8.2	VITAMINA A.....	16
2.8.3.	VITAMINA D.....	16
2.9	DOSAGEM DE PROTEINAS NO SORO SANGUINEO.....	17
2.9.1	PROTEINAS TOTAIS.....	17
2.9.2	ALBUMINA.....	17
2.9.3	GLOBULINAS.....	18
2.10	AVALIAÇÃO DO ESTADO IMUNOLÓGICO.....	18
2.10.1	LEUCOCITOS.....	18
2.10.2	ATIVIDADE QUIMIOTÁTICA.....	20
2.10.3.	IMUNOGLOBULINA A.....	20
2.10.4	IMUNOGLOBULINA M.....	20
2.10.5	IMUNOGLOBULINA G.....	21
2.11	ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS NA PLACENTA BOVINA RETIDA...	21
2.11.1	CRÍPTAS E VILOSIDADES.....	21
2.11.2	CÉLULAS GIGANTES.....	22
2.11.3	ANORMALIDADES TECIDUAIS E CELULARES.....	23
2.12	COMPLICAÇÕES DA RETENÇÃO DE PLACENTA.....	23
2.12.1	INTERVALO PARTO-CONCEPÇÃO E FERTILIDADE.....	23
2.12.2	MASTITE.....	24
3	<u>MATERIAL E MÉTODOS</u>	26
3.1	ANIMAIS PESQUISADOS, PROPRIEDADES E SISTEMA DE MANEJO....	26
3.2	PESQUISA CLÍNICA E ANOTAÇÃO DE DADOS.....	28
3.2.1	CARACTERÍSTICAS DO PARTO E ALTERAÇÕES ENCONTRADAS.....	28
3.2.2	ESTADO NUTRICIONAL.....	29

3.3	ANÁLISES BIOQUÍMICAS DO SANGUE.....	30
3.3.1	COLHEITA E CONSERVAÇÃO DE AMOSTRAS.....	30
3.3.2	LABORATÓRIO E EQUIPAMENTOS.....	31
3.3.3	COMPONENTES SÉRICOS ANALISADOS.....	31
3.3.3.1	Dosagem do Cálcio.....	31
3.3.3.2	Dosagem do Fósforo.....	32
3.3.3.3	Dosagem de Proteínas Totais.....	33
3.3.3.4	Dosagem de Albumina.....	34
3.3.3.5	Dosagem de Colesterol.....	34
3.3.3.6	Dosagem de Uréia.....	35
3.3.3.7	Dosagem da Fosfatase Alcalina.....	36
3.3.3.8	Dosagem da Fosfatase Ácida.....	37
3.3.3.9	Dosagem da Desidrogenase Láctica.....	38
3.3.3.10	Dosagem da Aspartatoaminotransferase.....	39
3.4	ELETROFORESE DAS PROTEÍNAS PLASMÁTICAS NO SORO BOVINO....	41
4.4.1	ESCOLHA DE AMOSTRAS.....	41
3.4.2	LABORATÓRIO E EQUIPAMENTOS.....	41
3.4.3	TÉCNICA.....	42
3.4.4	LEITURA DOS RESULTADOS.....	42
3.5	ANÁLISE DO CONTEÚDO DE IMUNOGLOBULINAS NO SORO SANGUÍNEO, COLOSTRO E LEITE.....	43
3.5.1	COLHEITA E CONSERVAÇÃO DE AMOSTRAS.....	43
3.5.1.1	Soro.....	43
3.5.1.2	Colostro.....	43
3.5.1.3	Leite.....	43
3.5.2	DOSAGEM DE IMUNOGLOBULINAS.....	43
3.5.3	TÉCNICA DE DOSAGEM DE IMUNOGLOBULINAS.....	44

3.5.4	DOSAGEM NO SORO.....	45
3.5.5	DOSAGEM NO COLOSTRO.....	45
3.5.6	DOSAGEM NO LEITE.....	46
3.6	LEUCOGRAMA DE VACAS LEITEIRAS NO DIA DA PARTURIÇÃO.....	46
3.6.1	AMOSTRAS UTILIZADAS.....	46
3.6.2	LEUCOGRAMAS: MATERIAL E TÉCNICA.....	46
3.7	ALTERAÇÕES PATOLÓGICA DO COTILÉDONE EM CASOS DE RETENÇÃO DE PLACENTA BOVINA.....	47
3.7.1	COLHEITA E CONSERVAÇÃO DE AMOSTRAS.....	47
3.7.2	EXAME HISTOPATOLÓGICO.....	47
3.7.3	COLORAÇÃO E MATERIAL UTILIZADO.....	47
3.8	UTILIZAÇÃO DO "CALIFORNIA MASTITIS TEST" E CULTURAS REAGENTES DE AMOSTRAS DE LEITE.....	48
3.8.1	COLHEITA DAS AMOSTRAS DE LEITE.....	48
3.8.2	TÉCNICA DO CMT.....	48
3.8.3	CULTURA E ANTIBIOGRAMAS DAS AMOSTRAS DE LEITE.....	49
3.9	CÁLCULOS ESTATÍSTICOS.....	50
4	RESULTADOS	51
4.1	RESULTADOS DOS PARÂMETROS REPRODUTIVOS.....	51
4.1.1	INTERVALO PARTO-CONCEPÇÃO E DURAÇÃO DA GESTAÇÃO.....	51
4.1.2	PARTURIÇÃO DAS VACAS LEITEIRAS.....	52
4.1.3	COMPARAÇÃO DE DADOS OBTIDOS ENTRE ANIMAIS SOMENTE OBSERVADOS E ANIMAIS ACOMPANHADOS.....	53
4.1.4	DADOS QUANTO AO SEXO DOS BEZERROS.....	54
4.2	ANÁLISES BIOQUÍMICAS DO SANGUE.....	56
4.2.1	CÁLCIO.....	57
4.2.2	FÓSFORO.....	58

4.2.3	PROTEINAS TOTAIS.....	59
4.2.4	ALBUMINA.....	60
4.2.5	COLESTEROL.....	61
4.2.6.	URÉIA.....	62
4.2.7	FOSFATASE ALCALINA.....	64
4.2.8	FOSFATASE ACIDA.....	65
4.2.9	DESIDROGENASE LACTICA.....	66
4.2.10	ASPARTATOAMINOTRANSFERASE.....	67
4.3	ELETROFORESE DAS PROTEINAS PLASMÁTICAS NO SORO BOVINO....	68
4.3.1	RELAÇÃO ALBUMINA/GLOBULINA.....	68
4.3.2	GLOBULINAS.....	71
4.4	ANÁLISE DO CONTEUDO DE IMUNOGLOBULINAS NO SORO SANGUÍNEO, COLOSTRO E LEITE.....	73
4.4.1	SORO SANGUÍNEO.....	77
4.4.1.1	Imunoglobulina M.....	77
4.4.1.2	Imunoglobulina G.....	78
4.4.1.3	Imunoglobulina A.....	80
4.4.2	COLOSTRO.....	81
4.4.3	LEITE.....	83
4.5	LEUCOGRAMA DE VACAS LEITEIRAS NO DIA DA PARTURIÇÃO.....	84
4.5.1	GRANULÓCITOS.....	84
4.5.2	MONÓCITOS.....	84
4.5.3	LINFÓCITOS.....	85
4.6	ALTERAÇÕES PATOLÓGICAS ENCONTRADAS NA RETENÇÃO DE PLACENTA BOVINA.....	86
4.6.1	COTILÉDONES.....	86
4.6.2	ÚTERO.....	86

4.7	UTILIZAÇÃO DO "CALIFORNIA MASTITIS TEST" E CULTURAS REAGENTES DAS AMOSTRAS DE LEITE.....	87
5	<u>DISCUSSÃO</u>	88
5.1.	PARÂMETROS REPRODUTIVOS.....	88
5.1.1	INTERVALO PARTO-CONCEPÇÃO E DURAÇÃO DA GESTAÇÃO.....	88
5.1.2	PARTURIÇÃO DAS VACAS LEITEIRAS.....	88
5.1.3	SEXO DOS BEZERROS, MÊS DE NASCIMENTO E NUTRIÇÃO.....	90
5.2	ANÁLISES BIOQUÍMICAS DO SANGUE.....	90
5.2.1	CÁLCIO.....	91
5.2.2	FÓSFORO.....	92
5.2.3	PROTEÍNAS TOTAIS.....	93
5.2.4	ALBUMINA.....	94
5.2.5	COLESTEROL.....	94
5.2.6	URÉIA.....	95
5.2.7	FOSFATASE ALCALINA.....	95
5.2.8	FOSFATASE ACIDA.....	97
5.2.9	DESIDROGENASE LACTICA.....	98
5.2.10	ASPARTATOAMINOTRANSFERASE.....	98
5.3	ELETROFORESE DAS PROTEÍNAS PLASMÁTICAS NO SORO BOVINO....	99
5.3.1	RELAÇÃO ALBUMINA/GLOBULINA.....	99
5.3.2	GLOBULINAS.....	100
5.4	ANÁLISE DO CONTEÚDO DE IMUNOGLOBULINAS NO SORO SANGUÍNEO, COLOSTRO E LEITE.....	101
5.4.1	SORO SANGUÍNEO.....	101
5.4.1.1	Imunoglobulina M.....	101
5.4.1.2	Imunoglobulina G.....	102
5.4.1.3	Imunoglobulina A.....	103

5.4.2	COLOSTRO.....	104
5.4.3	LEITE.....	105
5.5	LEUCOGRAMA DAS VACAS LEITEIRAS NO DIA DA PARTURIÇÃO.....	106
5.5.1	GRANULÓCITOS.....	107
5.5.2	MONÓCITOS.....	108
5.5.3	LINFÓCITOS.....	109
5.6	ALTERAÇÕES PATOLÓGICAS EM CASOS DE RETENÇÃO DE PLACENTA.....	110
5.6.1	COTILÉDONES.....	110
5.6.2	UTERO.....	112
5.7	UTILIZAÇÃO DO "CALIFORNIA MASTITIS TEST" E CULTURA DAS AMOSTRAS REAGENTES.....	112
6	<u>CONCLUSÕES</u>	115
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	118
	ANEXOS.....	131

LISTA DE TABELAS

TAB.

1	IMUNOGLOBULINAS "M", "G" E "A" NO SORO DE BOVINOS COM E SEM RETENÇÃO DE PLACENTA, NO DIA DO PARTO.....	21
2	NUMERO DE ANIMAIS ACOMPANHADOS E OBSERVADOS POR PROPRIEDADE NA REGIÃO METROPOLITANA DE CURITIBA.....	28
3	VALORES FISIOLÓGICOS DE ALGUNS COMPONENTES NO SORO DE BOVINOS LEITEIROS.....	41
4	VALORES NORMAIS DE IMUNOGLOBULINAS DOS TIPOS M, G E A, NO SORO SANGUÍNEO, COLOSTRO E LEITE DE VACAS LEITEIRAS.....	45
5.	PADRÕES CONSIDERADOS PARA INTERPRETAÇÃO DO TESTE CMT EM VACAS LEITEIRAS.....	49
6	INTERVALO PARTO-CONCEPÇÃO, DISTRIBUIÇÃO PORCENTUAL DE PREENHEZ POR INTERVALO, IDADE E DURAÇÃO DA GESTAÇÃO EM BOVINOS LEITEIROS.....	51
7	DADOS DE TIPO DE PARTO, EXPULSÃO DA PLACENTA, DO PARTO, SEXO DOS BEZERROS E TEMPO DE RETENÇÃO PLACENTÁRIA EM BOVINOS LEITEIROS.....	52
8	DADOS PERCENTUAIS OBTIDOS DE 202 VACAS OBSERVADAS EM RELAÇÃO AS 39 TRABALHADAS, RELATIVOS AO NUMERO DE PARTOS, ÍNDICE DE RP E ÍNDICE DE MASTITE.....	53
9	SEXO DE BEZERROS NASCIDOS DE FEVEREIRO A NOVEMBRO DE 1992..	55
10	PERFIL BIOQUÍMICO DE VACAS LEITEIRAS COM E SEM RETENÇÃO DE PLACENTA NOS ÚLTIMOS 15 DIAS DE GESTAÇÃO, NO DIA DO PARTO E NO 3º E 5º DIA PÓS-PARTO.....	56

11	PERFIL DE IMUNOGLOBULINAS NO SORO SANGUÍNEO, COLOSTRO E LEITE DE VACAS LEITEIRAS COM E SEM RETENÇÃO DE PLACENTA NOS ÚLTIMOS 15 DIAS DE GESTAÇÃO, NO DIA DO PARTO E NO 3º E 5º DIA POS-PARTO.....	76
12	PATOLOGIA DO ÚTERO CONSEQUENTE DO NÃO A RETENÇÃO DE PLACENTA OBSERVADA EM BOVINOS LEITEIROS.....	86
13	PARÂMETROS DE VACAS LEITEIRAS COM RETENÇÃO DE PLACENTA EM RELAÇÃO À MASTITE, NA REGIÃO DE CURITIBA.....	87

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

ILUST.

1	Perfil dos teores de cálcio em vacas leiteiras SR e CR, antes durante e após o parto.....	57
2	Perfil dos teores de fósforo em vacas leiteiras SR e CR no período peripartal.....	58
3	Relação cálcio/fósforo de vacas leiteiras SR e CR, no período peripartal.....	59
4	Perfil de proteínas totais no soro de vacas leiteiras SR e CR no período peripartal.....	60
5	Perfil dos teores de albumina no período peripartal de vacas leiteiras SR e CR.....	61
6	Perfil do colesterol no soro de vacas leiteiras nos últimos 15 dias de gestação, no dia do parto e nos 5 dias após a parturição. Vacas SR e CR.	62
7	Perfil de uréia no soro de vacas leiteiras SR e CR, nos 15 dias finais de gestação, no dia do parto e nos 5 dias que se sucederam à parturição.....	63
8	Perfil da fosfatase alcalina, em vacas SR e CR, no período peripartal.....	64
9	Atividade da fosfatase ácida no período peripartal de vacas leiteiras SR e CR.....	65
10	Perfil da atividade da desidrogenase láctica, no período peripartal de vacas leiteiras com e sem retenção de placenta	66

11	Atividade da aspartatoaminotransferase no período peripartal de vacas leiteiras SR e CR.....	67
12	Relação albumina/globulina no soro de vacas leiteiras SR e CR, nos 15 e 5 dias que antecederam ao parto, no dia do parto, e no 3º e 5º dia após a parturição.....	69
13	Relação A/G da vaca número 33, do grupo SR, durante o período peripartal, demonstrando a elevação dos teores de globulina.....	70
14	Perfil da relação A/G, na vaca de número 39 do grupo CR no período peripartal.....	71
15	Comportamento das frações de globulinas no soro da vaca número 33, (Grupo SR) durante o período peripartal, expondo a elevação ocorrida da gama-globulina.....	72
16	Variações das frações de globulinas séricas na vaca número 39, (Grupo CR), durante o período peripartal, demonstrando o incremento dos três tipos a partir do 3º dia após o parto... ..	73
17	Perfis eletroforéticos da vaca número 33 do grupo SR.....	74
18	Perfis eletroforéticos da vaca número 39 do grupo CR.....	75
19	Perfil da IgM no soro sanguíneo de vacas SR e CR no período peripartal.....	77
20	Taxas de IgG no soro sanguíneo de vacas SR e CR nos 15 dias finais de gestação, no dia do parto e no 3º e 5º após a a parturição.....	78
21	Regressão linear simples aplicada nos teores de IgG no soro sanguíneo de vacas leiteiras SR e CR, no período peripartal	79

22	Perfil da IgA no soro sanguíneo de vacas SR e CR, durante o período peripartal.....	80
23	Concentração de IgM no colostro e leite de vacas leiteiras SR e CR, no dia do parto e no 3º dia após a part.	81
24	Teores de IgG no colostro e leite de vacas leiteiras SR e CR, no dia do parto e no 3º dia pós-parto.....	82
25	Concentração de IgA no colostro e leite de vacas leiteiras Sr. e CR no dia do parto e no 3º dia após a parturicção.....	83
26	Número de Leucócitos circulantes em vacas SR e CR, 2 a 3 horas após o parto.....	85

ANEXOS

27	Cotilédone infiltrado por leucócitos em partos sem RP
28	Não colabamento de vaso sanguíneo comum nos casos de retenção de placenta
29	Colabamento de vaso sanguíneo comum em partos normais
30	Cotilédone com hemorragia, comum em casos de RP
31	Células gigantes infiltradas no cotilédone em vacas sem retenção de placenta
32	Cotilédone com menor infiltração de células gigantes comum em vacas com RP
33	Cotilédone colorido pela coloração de Van Gieson, demonstrando edema das vilosidades coriônicas
34	Necrose, picnose e cariólise mais intensa em cotilédones de vacas SR, que em vacas CR

RESUMO

Parâmetros reprodutivos, bioquímicos, imunológicos e histopatológicos foram estudados no período peripartal de vacas holandesas. Foram comparados animais com partos sem retenção de placenta (SR) (n=23) e com retenção dos anexos fetais (CR) (n=16), de um total de 241 parturições. Os animais eram alimentados com pastagens de gramíneas e leguminosas de inverno e verão, e recebiam como volumosos silagem de milho, fenos (alfafa e papuã), resíduos de cevada e algodão e eram suplementados com ração contendo 18,0 % de proteína bruta e 70,0 % de N.D.T. Vacas com retenção de placenta (CR) apresentaram menor duração da gestação (278 dias), do que os animais sem retenção (SR) (282 dias). O intervalo parto /concepção foi de 106 dias em 58,5 %, (141/241) dos animais enquanto que 41,5 % (100/241) ultrapassaram em muito este período. Setenta e três por cento dos partos foram diurnos, e os difíceis acarretaram maior índice de retenção de placenta (RP), ($P < 0,01$). Noventa e dois por cento das vacas (20/23) expeliram a placenta entre 1 e 6 horas após a parturição e o índice geral de RP foi de 19,0 % (46/241), entre os meses de fevereiro e novembro, com maior incidência no mes de julho quando nasceram mais bezerros machos. Dosagem de componentes plasmáticos, revelaram maiores concentrações de colesterol, fósforo ($P < 0,01$), fosfatase alcalina, desidrogenase láctica ($P < 0,05$), aspartato-aminotransferase, uréia, fosfatase ácida e menores níveis de cálcio, em vacas com retenção de placenta. As proteínas totais apresentaram-se normais em ambos os grupos. Dosagem de imunoglobulinas demonstraram incapacidade das vacas com retenção placentária de produzir IgM, IgG circulantes ($P < 0,001$) e IgA no colostro e leite, ($P < 0,01$) quando comparadas com as vacas sem retenção. As vacas SR apresentaram taxas de neutrófilos (14.500/ml contra 5.100/ml), eosinófilos, (1.400/ml contra 830/ml), monócitos (660/ml contra 500/ml) e linfócitos, (12.500/ml contra 8.650/ml), mais elevadas, ($P < 0,05$) que as CR, revelando imunodepressão periférica nos animais com placenta retida. Achados histopatológicos nos cotilédones, demonstraram menor infiltração de leucócitos, não colabamento de vasos, menor infiltração de células gigantes, hemorragia, menor necrose, picnose e cariólise em vacas com retenção de placenta. Complicações da RP pesquisadas, revelaram 87,0 % (14/16) de endometrite e 62,5 % (10/16), de mastite aguda em vacas que retiveram as secundinas, demonstrando que estes animais são mais susceptíveis à doenças, ($P < 0,05$). Os resultados sugerem a existência de estreita relação entre retenção de placenta, inflamação do útero e glândula mamária e deficiência imune. Baixos títulos de imunoglobulinas estão condicionados a valores reduzidos da população de linfócitos. Há necessidade de ser esclarecido em trabalhos futuros, o que é causa e o que é consequência.

ABSTRACT

This research project was designed to evaluate the relationship existing among some reproductive, biochemical, immunological and histopathological parameters in determining a post parturition disorder in Holstein cows. The animals were kept grazing under natural field conditions, and the grass was winter and summer, gramineous and leguminous plants. As fiber source, they received corn silage, alfafa and brachiaria hay and cotton and barley straw. They were still fed which a ration containing 18 % of crude protein and 70 % of NDT. Data from cows that had suffered from retained placenta (RP), n=16 are compared with those from normal ones (W/O-RP), n=23. Determination of some plasma components in cows with RP, reveled a significant increase in cholesterol and phosphorus ($P < 0.01$), alkaline phosphatase and lactic dehydrogenase ($P < 0.05$) concentrations. Changes in aspartate aminotransferase, urea, acidic phosphatase and calcium levels were not noticeable. The total protein concentration was some in both groups. Serum immunoglobulins G and M, as well as, colostrum IgA were extremelly reduced ($P < 0.001$). Leucocytes countages were distributed as follow, in W/O-RP and RP cows: neutrophyls (14.500 x 5.100/ml), eosinophyls (1.400 x 830/ml), monocytes (660 x 500/ml) and lymphocytes (12.500 x 8.650/ml), what put in evidende a marked reduction ($P < 0.05$) in disease animals values. Histopathology done from cotyledonary area samples showed a reduced leucocyte and giant cells infiltration, less codeerd vessels and hemorrhage. Tissue necrose, cell picnotic and kariolise were also abnormal in RP cows. Ninely two percent of cows with normal delivery expeled the placenta 1 to 6 hours after to give birth. From a total of 241 parturitions, it was possible to realize a shorter gestational period, 278 days, in cows suffering from RP (41.5 %), when compared with those without post parturition complication (58.5 %), which was 282 days. The parturition-conception interval was longer in the former group than in the later, 106 days. RP happened in a higher proportion in cows with laborious delivery ($P < 0.01$). The general rate of retained placenta was 19 %, which a higher incidence during the july month, when higher number of male fetuses were born, in a parturition seasons which started in february and ended up on november. Endometritis and mastitis were present in RP cows at a rate of 87 % and 62.5 %, respectively. The results suggest a tight association among retained placenta, uterus and mammary gland inflamation and immunodeficiency. Serum and colostrum immunoglobulins low levels may be explained by the low blood lymphocytes populations. But, a further research, is plain to the senses, in order to make clear the interations RP - lymphopenia, as well as, RP - local (uterus - udder) immunodeficiency.

1 INTRODUÇÃO

A raça leiteira holandesa preta e branca predomina na região metropolitana de Curitiba, com um rebanho de 17.132 cabeças.

O interesse pela bovinocultura leiteira nessa região é grande, devido à importância socio-econômica do produto e pela comercialização segura oferecida por cooperativas de laticínios.

O clima temperado é favorável à criação de raças de origem européia, e os solos favoráveis ao cultivo de pastagens anuais e perenes de inverno e verão, com boa disponibilidade de forragens verdes, capineiras e volumosos, principalmente silagem de milho, resíduos industriais e boa disponibilidade de concentrados no mercado.

Na maioria dos Municípios da região metropolitana de Curitiba, a bovinocultura leiteira é muito representativa economicamente, participando com elevados percentuais nos valores brutos da produção agropecuária, empregando considerável mão-de-obra contratada e familiar. A baixa produção de muitas propriedades caracteriza a chamada produção de subsistência sendo a venda do leite realizada através de cooperativas ou diretamente do produtor ao consumidor.

Assim, para as explorações comerciais a reprodução reveste-se de grande importância, pois busca-se com muita ênfase o aprimoramento racial, para que se obtenha maximização na exploração do produto em propriedades cada vez menores. Nos Municípios onde desenvolveu-se a pesquisa o rebanho atual é de

7.100 cabeças, das quais 4.260 são vacas, de acordo com dados fornecidos pela EMATER-Pr. em 1993.

A fertilidade é variável nestes Municípios, mas de modo geral apresenta-se entre 70,0 e 80,0%. Objetiva-se a obtenção de parturições anuais, com retorno ao estro até 45 dias após o parto e nova concepção entre 60-90 dias, com lactações entre 9.000 e 10.000 litros. Porém estas metas são dificilmente alcançadas, pois desequilíbrios nutricionais e a ocorrência de problemas reprodutivos diversos, interferem significativamente para atingir estes objetivos (KOZICKI e GONÇALVES 1992).

Na bovinocultura leiteira onde intenta-se minimizar custos, buscando maximizar a eficiência produtiva, não bastassem estes problemas, poucos percebem a gravidade da síndrome retenção de placenta (RP), cuja etiologia não foi ainda suficientemente esclarecida BENDIXEN et al. (1987), JOOSTEN et al. (1989), WAGNER (1989). Estes pesquisadores relatam a ocorrência mundial de RP em percentuais variando entre 7,0 e 12,0 %, advindo posteriormente complicações endometriais e mastite.

A retenção das membranas fetais poderia ser imputada como sério problema da pecuária leiteira, pois conduz a resultados negativos tais como: maior intervalo parto-concepção, ciclos estrais com duração irregular, abortamentos, infertilidade, queda na produção de leite e perda de tetos produtivos, descarte de animais dentre outros, aumentando custos de produção e mão-de-obra. Os prejuízos atingem cerca de U\$ 200.00 dólares por vaca/ ano. Somente nos Municípios onde realizou-se a pesquisa,

supõe-se que ocorra 810 casos de retenção de placenta por ano com prejuízos de U\$ 162.000,00 dólares.

Assim, o presente trabalho objetivou contribuir para o conhecimento da retenção de placenta através de estudos bioquímicos, imunológicos e de patologia da reprodução, traçando os perfis deste rebanho, com o intuito final de prever a retenção de placenta no período pré-partal.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 INCIDÊNCIA DE RETENÇÃO DE PLACENTA EM VACAS LEITEIRAS

GEOFFREY (1979 a), define retenção das membranas fetais (RP) como ausência de deiscência e falha na expulsão das secundinas durante o terceiro estágio do trabalho de parto fisiológico, devido à lesão placentária que afeta a união entre as vilosidades fetais e criptas maternas. WAGNER (1989) considera retida a placenta que não for expelida até 12 horas após o parto.

WERVEN et al. (1992) sugerem que deve-se considerar retenção de placenta 6 horas após o parto. GEOFFREY (1979 b), HAFEZ (1982), GRUNERT et al. (1989) relatam que vacas com placenta retida, apresentam queda na produção de leite e maior incidência de metrites.

KUMPF (1985), estudando vacas que expeliram a placenta no período fisiológico, verificou que o estro retornou após 43 dias e que a média do intervalo parto-concepção foi de 75 dias.

Por sua vez KOZICKI (1983) realizou experimento em vacas com e sem retenção de placenta com acompanhamento clínico semanal de palpação retal e vaginoscopia até o 42º dia post partum, obtendo resultados de intervalo de parto/1ª inseminação artificial de 89,9 e 84,0 dias respectivamente e intervalo parto/ concepção de 107, e 97,5 dias com taxa de prenhez de 76% e 96% respectivamente.

AGARWAL et al. (1985), observaram vacas que retiveram a placenta, constatando aumento desse período para 155,5 dias,

perfazendo 73.4 dias a mais que aquelas com expulsão normal. Nesse trabalho o intervalo parto-concepção foi de 176,1 dias para o grupo de vacas com retenção de placenta contra 116,3 dias do grupo sem retenção.

BENDIXEN et al.(1987), relataram que a incidência de retenção de placenta é maior com a idade do animal, em presença de distocias, nos partos gemelares, em parturientes com paresias, no nascimento de fetos machos e em vacas estabeuladas durante o inverno.

WILTBANK et al.(1987), verificaram que o uso de corticóides, como a dexametasona, 5 dias antes do parto, sincronizam os nascimentos provocando porém retenção de secundinas. Por outro lado GROSS (1987), BO et al.(1992), induziram o parto com dexametasona, 5 dias antes da data prevista, dividindo animais em dois grupos diferentes, administrando salina e prostaglandina F₂ alfa, 1 hora após terminado o 2º estágio. Obtiveram 95% de retenção de placenta no grupo com salina, contra 8,8 % no grupo com prostaglandina.

Revisando o assunto WAGNER (1989), relata que a incidência mundial de retenção de placenta é de 7 a 12 %. Em vacas com brucelose e outras doenças, a incidência é de 30 a 50%. Relata igualmente que os índices elevam-se para 20 a 50% em partos gemelares, partos prematuros e distocias. O uso de glicocorticóides para indução ao parto, eleva a índices, semelhantes aos estudados por GROSS (1987).

2.2 DOENÇAS POSTPARTUM, PRODUÇÃO DE LEITE E RETENÇÃO DE PLACENTA

STOYANOV et al. (1988), observaram que vacas estabuladas apresentavam índice de 31,5 % de placenta retida com complicações posteriores, contra 15,6 % em vacas onde fora adotado o sistema de pastoreio.

BLEIZEFFE (1980), MARTIN (1986), DISTL et al. (1989) concluíram que a cetose, febre do leite e outras doenças metabólicas aumentavam com o incremento da produção de leite, assim como a retenção de placenta, está muito relacionada com o manejo e com a nutrição.

KOZICKI e TAHIRA (1987), PARGADNKAR e BARSHI (1987), HOLT (1989), WAGNER (1989), CAMP (1991), CAMP (1992), KOZICKI e GONÇALVES (1992) relatam alta incidência de metrites após casos de retenção placentária. Apesar de MURRAY et al. (1990), haverem comparado tratamentos para estas metrites utilizando alfaprostenol, antibióticoterapia e um grupo testemunha, concluíram que não houve significância entre os tratamentos. Outros relatos como as de HEINONEN e HEINONEN (1991), recomendam tratá-las com antibióticos, reduzindo assim o intervalo parto-concepção.

2.3 HORMÔNIOS IMPLICADOS NO PARTO E RETENÇÃO DE PLACENTA

2.3.1 CORTISOL

MATTON et al. (1979) e LOTTHAMMER (1984), verificaram que animais com placenta retida, apresentavam níveis de cortisol menores no soro quando comparados aos animais sem retenção. Essas diferenças não foram verificadas por KACMARIC et

al.(1986), que encontraram valores próximos de cortisol entre o grupo de vacas sem retenção de placenta e com placenta retida, respectivamente 36 ± 4 ng/ml contra 48 ± 7 ng/ml.

PETER e BOSU (1987), relataram diferenças pequenas para animais com placenta retida, sendo que o cortisol dosado no plasma, revelou que seus níveis começaram a aumentar no 6º dia que antecedeu ao parto, apresentando porém picos muito evidentes 3 dias após a parturição.

TAVERNE et al. (1988), utilizando o método de radioimunoensaio (RIA), em amostras de fluido amniótico, concluíram estar o cortisol aumentado entre 9 e 7 dias antecedentes à parturição, ou seja na última semana de gestação.

2.3.2 ESTROGENOS

MATTON et al.(1979), verificaram que os estrógenos atingem maiores níveis séricos em partos gemelares, com pico elevado no dia da parturição. De modo geral, as vacas com placenta retida apresentavam níveis séricos pouco menores que aquelas que tiveram parto normal. Como retenção de placenta é uma constante em caso de gestação gemelar, a média da secreção de estrógenos é praticamente igual, para ambos os grupos. Estes achados, não coincidiram com os de LOTTHAMMER (1984), que revelaram níveis mais baixos em animais com placenta retida.

A síntese do hormônio através da placenta foi bem demonstrada por PIMENTEL et al.(1987), REYNOLDS (1987), medindo as concentrações plasmáticas de estrógenos em amostras provenientes da artéria e da veia uterina, tendo encontrado níveis mais elevados nesta última.

Outros pesquisadores se aprofundaram no estudo desse hormônio SANERVEIN (1989) e assim GRUNERT et al.(1989), induziram a parturição em dois grupos de animais. Nos que expulsaram a placenta fetal o estrógeno no soro aumentou 5 dias antes da parturição, declinando marcadamente no 1º dia pós-parto. Já nos que retiveram a membrana fetal, os níveis encontrados foram bastante baixos, em todos os 6 dias antecedentes ao parto. No 1º dia pós-parto os níveis de estrógeno em ambos os grupos eram semelhantes.

2.3.3. OCITOCINA

Esse hormônio é tido como fundamental para assegurar o bom andamento do parto (BUTT, 1974). Pesquisadores como HIRST e al. (1990), MUSSAH et al.(1990) utilizaram-se de culturas de células lúteas adicionadas de ocitocina e os resultados obtidos não foram significativos, concluindo que o hormônio não atuava sobre elas e com isso não poderia reduzir os níveis de progesterona. MILLER e LODGE (1984), injetaram ocitocina 6 horas após o nascimento de bezerros, e conseguiram reduzir os índices de retenção placentária de 12% ocorrido no grupo testemunha, para 8 % no grupo tratado.

2.3.4. PROGESTERONA

A progesterona é um hormônio que em casos de retenção placentária apresenta-se com seus níveis séricos mais elevados, conforme observaram MATTON et al.(1979). Relataram igualmente que em partos gemelares esses níveis são ainda mais elevados. Acreditaram os autores que concentrações séricas de cortisol e estrógenos, baixas, associadas à concentrações elevadas de

progesterona, levam a retenção das membranas fetais. Estes achados foram posteriormente comprovados por LOTTHAMMER (1984), que também encontrou concentrações mais elevadas de progesterona em animais com retenção de placenta.

Mais recentemente PETER e BOSU (1987), dosaram progesterona plasmática não encontrando diferenças significativas entre os grupos sem e com retenção de secundinas.

KOZICKI (1982), ETHERINGTON et al.(1991), pesquisaram a incidência de problemas reprodutivos no período do pós-parto, conseguindo demonstrar que há correlação entre dosagens de progesterona feitas no leite, no decurso do puerpério, com o anestro.

2.3.5. PROSTAGLANDINAS.

Dos hormônios que atuam durante o parto, seguramente as prostaglandinas são de grande importância MARTIN et al. (1982), tendo em vista que seus produtos metabólicos estão profundamente ligados à eliminação da placenta, (ZOLLERS et al.1991). Quando há problemas de parto, isso ocorre pela sua inibição, por falhas na sua mobilização, ou pela transformação de prostaglandina E em prostaglandina F₂ alfa, e assim por diante, HEDGE (1988), ZDUNCZIK e JANOWSKI (1989).

VALENZUELA e BODKHE (1980), publicaram que a angiotensina plasmática está elevada durante a gestação de animais de laboratório e com isso a PGF₂ alfa não é mobilizada adequadamente, principalmente nos hipertensos.

A partir de então, vários pesquisadores puseram-se a melhor estudar seu papel. MUSSAH et al.(1990), realizaram experimento "in vitro", estudando culturas de células lúteas nos diferentes estágios da gestação. Ao adicionarem prostaglandina F₂ alfa obtiveram luteólise. Era muito importante realizar dosagens de prostaglandinas. Assim HARVEY et al.(1984), concluíram que dosar 11-ceto-tetranor-PGF₂ (metabólito da PGF₂ alfa), na urina, era um bom método e que facilitava estudos.

Outra forma de dosagem desenvolvida foi da 15- hidroxí-PG-desidrogenase feita por ERWICH et al.(1988), que permitiu através de seu catabolismo conhecer suas atividades na placenta fetal e maternal, em vacas que não tiveram retenção. Concluíram que os bovinos apresentavam um catabolismo menos intenso que dos ovinos e cobaias. O catabolismo era maior no cotilédone, evidenciando que não há inibição da enzima na parte fetal do placentoma. Outros métodos como é o caso das dosagens através de radioimunoensaio (RIA), facilitaram a outros pesquisadores conhecer concentrações de prostaglandinas séricas, como em tecidos placentários, através de técnicas montadas especificamente para cada trabalho, (BOSU et al.1988).

Foram CHASSAGNE e BROCHART, (1986), que encontraram concentrações elevadas de prostaglandina na semana que antecedia ao parto, precedidas de baixos níveis durante a parturição em vacas que apresentavam placenta retida. Os autores associaram o fato ao ácido linolênico, acreditando ser o mesmo inibidor da prostaglandina. Não obstante, PETER e BOSU (1987), verificaram resultados diferentes daqueles autores, ou seja secreção mais

elevada de PGF_2 alfa, em torno do parto, nos casos de retenção de placenta. Outro achado muito importante foi o de MEYER et al.(1988), que encontraram o trofoblasto inibindo a síntese de PGF_2 alfa pela placenta, e acreditaram que desta forma se mantinha a função lútea. Muitos autores como PAISLEY et al.(1986), GROSS et al.(1989), BO et al. (1992) utilizaram prostaglandinas para tratar patologias indesejáveis no puerpério de vacas que retiveram as membranas fetais. Descrevem que o uso da PGF_2 alfa, no pós-parto é benéfica devido à indução à luteólise, decréscimo dos níveis de progesterona, produção de estrógenos, estímulo às contrações do miométrio, expulsão dos lóquios uterinos e estímulo à fagocitose por parte dos leucócitos presentes no útero.

Na mesma linha de trabalho, TANTURIER e JAIED (1989), usando 15 mg de luprostiól aplicados na primeira hora pós-parto, obtiveram redução do índice de retenção de placenta (14%) em vacas com parto induzido, contra 61% do grupo não tratado. ARCHBALD et al.(1990), discordaram inteiramente, ao tratar vacas com problemas reprodutivos, resultantes de distocias ou de retenções de placenta com PGF_2 alfa. KINDHAL et al.(1989), utilizando preparações de endométrio, observaram que ao se tentar inibir a ação da PGF_2 alfa, inibia-se igualmente o metabolismo do ácido aracdônico, agindo sobre a cicloxigenase.

WAGNER (1989) por outro lado, relata que o aumento nas concentrações de estrógeno influenciam a produção de metabólitos do ácido aracdônico, especialmente via cicloxigenase em células binucleadas e mononucleadas dos tecidos placentários. As células

principais (mononucleadas) produzem PGE_2 e as binucleadas regulam a conversão dessa em PGF_2 alfa, ou não. Relata também que animais que retém placenta, produzem bastante PGE_2 , mas não sintetizam a PGF_2 alfa. Conclui finalmente que a PGF_2 alfa, as tromboxanas, derivados do ácido hidroxí-eicosatetraenóico e os leucotrienos, estão envolvidos nos mecanismos de parturição bovina.

Importante pesquisa de CHASSAGNE e BARNDUIN (1992), comparou partos normais com anormais devido à retenção das membranas fetais. Neste trabalho confrontou-se duração da gestação, peso da parturiente, número de partos, produção leiteira, componentes plasmáticos (PGF_2 alfa, glicose, 3-hidroxi-butirato, ácidos graxos não esterificados, colesterol, uréia, proteínas e albumina), com dados de nutrição dos animais. Os resultados mostraram que a síntese de PGF_2 alfa, é necessária à homeostase entre proteínas e glicose, observando-se dieta pré-parto que leve em conta o balanceamento de ácidos graxos poli-insaturados, bem como o conteúdo de energia (EDMONDSON 1992).

2.4 MINERAIS E SUAS RELAÇÕES COM A RP

2.4.1 CALCIO (Ca)

Desde muito tempo o cálcio foi tido como mineral importante no evento do parto (SHALEM, 1988). FAIEZ et al. (1982), relatam que a cimetidina na dose de 120 mg/kg, atua sobre o transporte de cálcio na placenta. Isso é importante pois o cálcio participa na contração muscular, exercendo efeito moderador na excitação vagal, atua na permeabilidade da membrana

celular e capilares, além de influenciar indiretamente sobre o metabolismo dos carboidratos, entrando na composição do leite (BACILA, 1980, KRUSE e KRACHT, 1981). A principal fonte de cálcio são os ossos e seus níveis séricos são regulados pelo paratormônio e tireocalcitonina (BACILA, 1980).

São causas de hipercalcemia o hiperparatireoidismo, o uso de vitaminas A e D. Ela decorre de hipoparatireoidismo, desordens no metabolismo de vitamina D e deficiência de magnésio. Foram CAPAUL e LUCA (1984), que relataram estar a retenção de placenta relacionada com a deficiência de cálcio, recomendando a suplementação desse mineral, dados coincidentes com os de KUMPF (1985), que encontrou concentrações mais elevadas em vacas com partos normais.

Outros pesquisadores como VER et al. (1989), concluíram que a ocitocina regula o metabolismo do Ca^{2+} no miométrio, via metabolismo fosfoinositídico.

2.4.2 FÓSFORO (P)

Nos bovinos esse mineral é absorvido sobremaneiramente pelo rúmen e poucas quantidades pelos intestinos. Na presença de elevadas quantidades de cálcio e de magnésio sua absorção é diminuída, sendo excretado pelas fezes (BACILA, 1980).

Vários pesquisadores como KUMPF (1985), VUKOVIC et al. (1987), KAMIYA e DAIGO (1988), relatam que o fósforo é importante no metabolismo celular da placenta, por estar ligado ao metabolismo energético. Resulta em ligações fosfato de alta energia associadas ao metabolismo glicídico, interferindo no

metabolismo da placenta durante o parto, desde que em níveis inferiores ao normal, (SILVEIRA, 1988 a,b).

KUMPF (1985), encontrou maiores níveis de P em vacas com placenta retida. Em vacas sem RP, VUKOVIC et al. (1987), verificaram que o fósforo era de 29,1%.

2.4.3 SELÊNIO (SE)

Microelemento mineral importante na 3ª fase do parto, devido a participação de 4 átomos de selênio da molécula da enzima glutation-peroxidase (GSH-Px), (ROSA et al. 1985). Pela sua estreita relação com a vitamina E, que atua como antioxidante de ácidos graxos poli-insaturados, muitos pesquisadores tem desenvolvido estudos conjuntamente.

GWASDAUSKAS (1979) e ISHAK et al. (1983) citados por ROSA et al. (1985), são unânimes em afirmar que o selênio não tem se apresentado como preventivo da retenção dos anexos fetais. ROSA et al. (1985), concluem não ser o microelemento eficaz, quando associado à vitamina E, na prevenção de retenção de placenta.

2.5 DOSAGEM DE ENZIMAS NO PERIODO PERIPARTAL

2.5.1 ASPARTATOAMINOTRANSFERASE (AST)

Enzima de elevado peso molecular, localizada no hialoplasma das células e nas mitocôndrias, está relacionada com o tempo de transudação da célula ao plasma, podendo interferir na terceira fase do parto.

KUMPF (1985), dosou níveis da enzima em dois grupos de animais, um dos quais com parto normal e outro com placenta retida, encontrando níveis menores em animais do primeiro grupo.

2.5.2 DESIDROGENASE LACTICA (LDH)

Devido encontrar-se no hialoplasma das células da placenta, das adrenais e de leucócitos, suas variações poderão ser indicativas de lesões e destruição celular, causando o não descolamento dos placentomas (SILVEIRA,1988 a). Trabalho de DUTTA e DUGWEKAR (1982), comenta que o aumento dos níveis de LDH significam hepatite e cirrose hepática. Na área reprodutiva ela é detectada em níveis elevados na fase estral e em torno da parturição. No experimento de DUTTA e DUGWEKAR (1982) os animais também exibiram aumentos de LDH, porém em vacas com placenta retida, esse aumento era mais marcante (435 U/l), devido à ocorrência de endometrite. Os autores concluem que a elevação de LDH pode indicar endometrite, mesmo antes do aparecimento dos sinais específicos da doença, e com isso pode-se evitar essa complicação. Estes estudos foram posteriormente completados pelos de BADALIAN et al. (1989), ao verificarem que aumentos na concentração de desidrogenase láctica, indicam aumento de lactato e piruvato, e conseqüentemente níveis menores de glicose e de energia.

2.5.3 FOSFATASE ACIDA (ACP)

As fosfatases catalizam a hidrólise do ácido fosfórico. De acordo com a faixa de pH com que obtém sua atividade ótima, distingue-se a fosfatase ácida da alcalina. Relaciona-se com a integridade das células ósseas, das hepáticas, da placenta e dos leucócitos. (SILVEIRA,1988 a).

KUMMER et al. (1985), estudando os placentomas de 25 vacas, extirpavam os mesmos logo após o parto, observando a

atividade da fosfatase ácida aumentada, quando os partos eram normais.

2.5.4 FOSFATASE ALCALINA (ALP)

Segundo SILVEIRA (1988 a), ABBAS et al. (1990), a fosfatase alcalina é produzida por diversos tecidos, particularmente os ósseos, fígado, intestino e pela placenta, sendo excretada pela bile. Alterações do nível sérico da fosfatase alcalina durante a prenhez na égua Puro Sangue Inglês, segundo BACILA (1980), podem relacionar-se com o metabolismo do tecido ósseo, porquanto seus níveis estão mais elevados.

Na desnutrição os níveis de fosfatase alcalina estão diminuídos LABTEST (1988), DUTTA e DUGWEKAR (1982), SALA (1988), ao verificarem que aumentos nos níveis da enzima ocorrem em situações patológicas variadas, do fígado, dos ossos e intestinos, bem como da placenta. Nestes casos o aumento está associado à necrose do epitélio dos vilos coriônicos e das criptas e com o grau de placentite, variando segundo a quantidade de necrose presente, seja nos vilos, cotilédones ou carúnculas. Nos casos de retenção de placenta estudados no trabalho de DUTTA e DUGWEKAR (1982) os seus níveis estavam aumentados até 5 dias pós-parto. Quando dosada por KUMMER et al. (1985), no epitélio maternal, foram encontrados níveis mais elevados nos partos acompanhados da não expulsão das secundinas.

2.6 DOSAGEM DE COLESTEROL TOTAL NO SANGUE

Os hormônios esteróides são sintetizados também a partir do colesterol, numa proporção menor que 1,0%, segundo WAGNER (1989). Esta afirmação coincide com as de outros pesquisadores

como SHALEM (1988), o qual comunicou ser a esteroidogênese modulada por enzimas especiais presentes nas células secretoras da placenta, conferindo ao hormônio as características necessárias para atuar sobre as células alvo. CHASSAGNE e BARNOUIN (1992), através de ensaios colorimétricos, ao estudarem 564 animais, dos quais 134 haviam retido a placenta fetal (23,9%), verificaram que o grupo sem complicações partais apresentou dados mais elevados de colesterol, não obtendo contudo significância estatística. Conforme OLIVEIRA et al. (1985), deverão ser dosados valores aumentados de colesterol na nefrose, hipotireoidismo, doenças colestáticas do fígado e nas hiperproteinemias. Níveis diminuídos estão ligados ao hipertireoidismo e a desnutrição crônica.

2.7 DOSAGEM DE URÉIA NO SORO BOVINO

O significado clínico da dosagem de uréia no soro é dado por OLIVEIRA et al. (1985), SILVEIRA (1988 a), e por outros autores. Segundo estes autores fisiologicamente observa-se acréscimo dos níveis de uréia com a idade do animal e em dietas hiperprotéicas. Ela diminui durante a gestação normal, bem como em dietas alimentares com elevado teor glicídico e baixos valores proteicos. Sua elevação pode ocorrer devido à dietas ricas em proteínas, em estados febris, septicemias, pelo catabolismo elevado ou no caso de hemorragias internas.

Em caso de retenção das membranas fetais seus valores estarão aumentados devido à processos degenerativos da placenta, como foi observado por LOTTHAMMER (1984), em trabalho realizado em dois grupos de animais, com e sem retenção de placenta. Mais

recentemente CHASSAGNE e BARNOUIN (1992), dosaram uréia e encontraram níveis de 31,3 mg/100 ml, para vacas com RP, contra 29,2 mg/ 100 ml, para vacas sem retenção.

2.8 DOSAGEM DE PRO-VITAMINAS E VITAMINAS

2.8.1 B- CAROTENO

Os lipídios isoprenóides são derivados do isopreno ativo, resultando em esteróides e esteróis, como o colesterol, vitamina D, hormônios sexuais masculinos e femininos, carotenóides e vitamina A, através de polimerização (BACILA,1980).Algumas destas substâncias supra citadas estão relacionadas no evento do parto. Diversos pesquisadores dedicaram-se aos seus estudos, como BOITOR et al.(1980) e SPINDLER (1981), os quais observaram que animais com elevados níveis de B-caroteno circulante, apresentavam menor índice de retenção de placenta. SPINDLER (1981),ainda observou que animais paridos entre os meses de novembro e janeiro apresentavam concentrações mais elevadas de B-caroteno do que aqueles que pariram entre fevereiro e maio.

Outros autores como VUKOVIC et al.(1987),demonstraram que os níveis normais de B-caroteno em gado simental, sem retenção de placenta é de 22,9%, e em vacas com placenta retida esses níveis são inferiores. Mais recentemente PIVNIAK et al.(1989), administraram B-caroteno sintético e bacteriano (200 mg/dia) a dois grupos de animais, durante 90 dias após o parto. Obtiveram respectivamente resultados de 33,1 e 22,0 % de retenção de placenta, demonstrando que o B-caroteno microbiano é mais eficaz. Diferenças marcantes também foram observadas no

intervalo parto-concepção que foi respectivamente de 118,8 e 89,0 dias.

2.8.2 VITAMINA A

Trabalho realizado por BOITOR et al.(1980),evidenciou diferenças significativas entre os grupos de animais com e sem retenção de placenta. A vitamina A origina-se do B-caroteno, que é armazenado no fígado, pelo caráter hidrofóbico. Com isso a dieta de B-caroteno e vitamina A são importantes no evento do parto (BOITOR et al. 1980).

WILTBANK et al.(1987), realizaram estudos administrando vitamina A a dois grupos de animais tratados com corticóides e com prostaglandinas, para indução ao parto, mantendo outro como testemunha e observaram redução do índice de retenção de placenta.

2.8.3 VITAMINA D

Esta vitamina possui dois precursores, um vegetal (ergosterol) e outro existente na epiderme (7-dihidrocolesterol). Por ação de raios ultravioletas transformam-se em vitamina D, sendo armazenada no fígado. Uma das formas de vitamina D, o hidroxicolecalciferol atua mais como hormônio do que como vitamina. Está assim relacionado com a síntese de proteína ligante do cálcio e por isso, é fundamental ao metabolismo desse mineral (BACILA, 1980).

WILTBANK et al.(1987), suplementaram 225 UI de vitamina D, a dois grupos de animais tratados com corticóides e prostaglandina, para indução ao parto, mantendo um grupo

testemunha. Concluíram que a vitamina D reduziu os índices de retenção de placenta.

2.9 DOSAGEM DE PROTEÍNAS NO SORO SANGUÍNEO

2.9.1 PROTEÍNAS TOTAIS (PT)

As proteínas totais quando dosadas no soro isoladamente tem pouco valor, porque a alteração em uma de suas frações pode imediatamente ser compensada por outra. Devido as proteínas transportarem hormônios, lipídios e minerais suas frações estão alteradas nos processos inflamatórios, parasitários e metabólicos (SILVEIRA 1988a). Estão diminuídas na hiperhidratação, desnutrição, deficiência de cálcio e vitamina D, e quando há má absorção. Recentemente em estudo da retenção placentária bovina, CHASSAGNE e BARNOUIN (1992), dosaram as PT no plasma, correlacionando com outros componentes plasmáticos, em grupos de animais com dietas alimentares diferenciadas, tendo encontrado valores aumentados nas vacas que não haviam expelido a placenta fetal em relação aos partos normais.

2.9.2 ALBUMINA (A)

É a mais abundante das proteínas séricas. Monomérica com cerca de 600 resíduos de aminoácidos, mostra afinidade por ânions, e por isso é importante nas retenções placentárias. Transporta ácidos graxos, liga-se ao cálcio, transporta magnésio, zinco, cobre, bilirrubina, ácido úrico, hormônios sexuais, vitaminas A e C, bem como drogas. (BACILA, 1980). Apesar disso poucos pesquisadores preocuparam-se em dosar a albumina em seus trabalhos.

Recentemente CHASSAGNE e BARNOUIN (1992), que anteriormente haviam dosado proteínas totais, estudaram os níveis de albumina sérica, através de ensaio colorimétrico, obtendo curiosamente resultados pouco mais elevados para o grupo de animais sem retenção de placenta, 3,36 g/dl., contra 3,27 g/dl. no grupo com placenta retida. Essas diferenças nos dois grupos foram menores quando os animais eram alimentados com silagem de milho e silagem de outras gramíneas.

2.9.2 GLOBULINAS (G)

Uma das frações protéicas plasmáticas, pode ser estudada por eletroforese, onde se evidenciam a alfa, a beta e gama globulinas. São escassos os estudos sobre globulinas em caso de retenção placentária. Seus níveis são correlacionados com a albumina e o aumento de uma delas geralmente diminui a outra, a não ser em casos especiais.

Outro fato pouco estudado é a relação albumina/globulina, (A/G), quando ocorre retenção placentária. BACILA (1980), cita que os valores normais para essa relação são de 0,82 para fêmeas bovinas e 0,83 para machos, mas em geral a relação é menor que 1,0. Pastagens altamente fertilizadas provocam inversão da relação A/G.

2.10 AVALIAÇÃO DO ESTADO IMUNOLÓGICO

2.10.1 LEUCOCITOS

O estudo de leucócitos tem preocupado os pesquisadores sobre a retenção de placenta. BEÇAK e VAN RELL (1970), SCHALM (1975), estudou as variações de leucócitos em torno do parto, no casos de membranas fetais retidas.

Outros autores como EHLERT (1985), GUNNINK (1985), HEUWIESER e GRUNERT (1987), relatam baixa infiltração de leucócitos nos cotilédones, em vacas com retenção de placenta, e maior atividade leucocitária nos partos normais.

Abrangente revisão sôbre o assunto foi feita por WAGNER (1989), citando o trabalho de GUNNINK (1985), ao comunicar redução de polimorfonucleares nos casos de placenta retida. Relata por outro lado, a existência de elevadas concentrações de neutrófilos nos tecidos uterinos de vacas com parto normal. Estudos paralelos de GRAEN (1985), esclarecem que vacas com partos sem retenção de placenta possuem número mais elevado de leucócitos circulantes, bem como fagócitos (polimorfonucleares, eosinófilos e monócitos), durante a parturição, decrescendo esses números nas primeiras 24 horas, fato igualmente verificado em vacas com placenta retida.

Novos fatos foram levantados por SCHUKKEN et al. (1989), SCHUKKEN (1989) ao se comprovar a existência de relações entre retenção de placenta e mastite nos bovinos.

Recentemente CULLOR et al. (1990), em experimento onde utilizaram um fator estimulante de colônias de granulócitos, o Hr-GCSF, na dosagem de 3,0 ug por quilo de peso, em vacas com retenção de placenta, observaram aumento de neutrófilos circulantes por 5 dias, sendo esta uma tentativa de reduzir o índice de mastite, subsequente à retenção placentária.

2.10.2 ATIVIDADE QUIMIOTÁTICA

Os trabalhos de EHLERT (1985), GUNNINK (1985), HEUWIESER e GRUNERT (1987), ABRAHAM e FREITAS (1989) e DUDLEY et al.

(1990) são unânimes ao afirmar a diminuição da atividade quimiotática dos leucócitos nos casos de retenção placentária. Essa quimiotaxia seria inclusive negativa a partir de índices de RP maiores que 36%. Normalmente ela é negativa no soro já antes do parto, sendo que os leucócitos não são responsivos aos estímulos quimiotáticos usuais. Trabalho de OFFENEY (1987), com placentomas removidos imediatamente e após 3 horas do transcurso do parto, mostrou que a quimiotaxia no grupo normal é 79,3% e somente 33,9% no grupo com RP. Transcorridas 3 horas eram respectivamente 138,4% e 32%, revelando acréscimo no grupo normal e decréscimo no grupo com RP.

2.10.3 IMUNOGLOBULINA A (IgA)

Produzida por linfócitos, ela é ao lado de neutrófilos e fagócitos, elemento fundamental na defesa de epitélios e mucosas, como é o caso da placenta, útero e úbere, onde também atuam serotoninas e lacteninas, (TIZARD 1987). Poucos autores preocuparam-se em estudá-la no parto com retenção de placenta, mas ela provavelmente estaria envolvida pelo fato de aparecerem comumente casos de mastite após a RP.

2.10.4 IMUNOGLOBULINA M (IgM)

Em literatura mais recente ROITT e BROSTOFF (1989), Klein (1990) e ROITT (1991) relatam ser o estudo da imunoglobulina M no soro, colostro e leite de vacas com RP, dado de fundamental importância. Provas imunológicas revelando suas concentrações, elucidariam o exato momento do aparecimento de mastite.

2.10.5 IMUNOGLOBULINA G (IgG)

Pesquisadores tem-se preocupado com a transferência de IgG via colostro para bezerros, e com o estudo de doenças como a mastite. Assim FIELD et al.(1989), estudando animais que tiveram o parto induzido por dexametasona ou por prostaglandina, mostraram que estas drogas diminuem os níveis de IgG que são transferidas aos bezerros via colostro, concluindo que níveis abaixo de 1.500 mg/dl ocasionam falência da transferência de imunidade.

Os parâmetros fisiológicos de alguns componentes séricos no bovino leiteiro, foram divulgados por GONÇALVES e KOZICKI (1993) e sumarizados na tabela abaixo citada.

TABELA 1- IMUNOGLOBULINAS "M", "G" E "A" NO SORO DE BOVINOS COM E SEM RETENÇÃO DE PLACENTA, NO DIA DO PARTO (n= 16)

Imunoglobulinas (mg/dl)	Com retenção	Sem retenção
IgA	24,3 ^a	39,0 ^b
IgM	221 ^c	362 ^d
IgG	2090 ^e	2430 ^f

a : b = (P < 0,001) e : f = (P < 0,001)
c : d = (P < 0,001)

2.11 ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS NA PLACENTA BOVINA-RETIDA

2.11.1 CRIPTAS E VILOSIDADES

A proliferação celular nas criptas carunculares foi estudada por DZUVIC et al. (1982) GRUNERT (1986), HEUWIESER et al. (1986) e KING e ATKINSON (1987) ao encontrarem aumento da camada epitelial das criptas em vacas com RP, ao contrário daquelas com parto sem retenção de placenta. Foi possível medir

a maturação dos placentomas através das células das criptas, cujo número decresce próximo à parturição. A proliferação encontrada na RP está relacionada com a hipoxia dos bezerros. Quanto aos vilos coriônicos podem ocorrer anormalidades como apresentarem-se edemaciados e "incrustados" no interior das criptas nos casos de RP.

2.11.2 CÉLULAS GIGANTES

Na placenta bovina encontra-se células mono e binucleadas (DELLMAN 1986). Autores como KUMMER et al.(1985) e MANASYAN et al.(1985), investigaram estas células na RP, verificando serem importantes na separação do epitélio materno, do fetal. Nos partos normais 3 a 4 horas após, há lise das fibrilas coriônicas e do epitélio das criptas. Na RP, 5 a 6 horas após observa-se necrose e exudato infiltrado nas criptas.

Estudo mais detalhado foi o de WILLIAMS et al.(1987), que verificaram haver maiores infiltrações dessas células em partos normais, as quais desaparecem 1 hora pós-parto. Na RP o desaparecimento se dá em 12 horas, concluindo-se que células gigantes estão relacionadas com a expulsão da placenta.

Quanto a produção de substâncias por parte destas células, LEIDL et al. (1981) e GROSS (1987), comunicaram que as células binucleadas sintetizam esteróides, e as mononucleadas produzem prostaglandinas (PGF₂ alfa e PGE). Os achados de seus trabalhos, sugerem que as binucleadas modulam a produção de prostaglandinas através das mononucleadas. A produção de lactogênio placentário foi investigada por RUSIA (1988), KESSLER (1989) e CHAN et al. (1990), através de anticorpos monoclonais,

e da técnica da imunoperoxidase. Demonstrou-se que o lactogênio está nas células mononucleadas e não nas binucleadas e trofoblastos.

2.11.3 ANORMALIDADES TECIDUAIS E CELULARES

KUMMER et al.(1985) e WILLIAMS et al.(1987) comunicaram que a picnose está presente em vacas com e sem RP. Quando porém, os partos são induzidos ela é encontrada em maiores quantidades. Quando em placenta retida, ao observarem a conexão entre os epitélios fetal e maternal, verificaram hemorragias e hemosiderina. A picnose, a cariólise e a necrose podem ser encontradas no pré e pós-parto no caso de RP, mas são mais freqüentes de 4 a 8 horas pós-parto.

2.12 COMPLICAÇÕES DA RETENÇÃO DE PLACENTA

2.12.1 INTERVALO PARTO-CONCEPÇÃO E FERTILIDADE

Muitos pesquisadores têm se preocupado com as complicações após retenção de placenta. HALPERN et al.(1985), JOOSTEN et al.(1989), HEINÖNEN e HEINONEN (1991), KOZICKI (1992. a,b) relatam que novilhas que apresentaram RP, aumentam muito o intervalo parto-concepção,(IPC). Esse aumento é marcante em pluríparas, onde o primeiro serviço aumenta em torno 18 dias e a concepção em mais de 57 dias. O tratamento da retenção de placenta e da mastite corrigem os aumentos de IPC para aproximadamente 96 dias, além de melhorar os índices de fertilidade. Essa somatória de fatores, mais produção de leite afetada causaram prejuízos elevados em 30% das fazendas pesquisadas.

2.12.2 MASTITE

A ocorrência dessa afecção no puerpério precoce de vacas acometidas com RP tem sido uma constante e preocupado pesquisadores e técnicos. SCHUKKEN et al.(1989), observaram que animais hospitalizados para tratamentos de RP, apresentavam mastite com frequência de 10 a 15 %. Estudando o problema demonstraram estarem estes índices na dependência do sistema imune do animal. A mediação por leucócitos periféricos, é regulada pela oxidação do ácido aracdônico, pelas prostaglandinas, leucotrienos e vitamina E. Fator de grande importância é o diagnóstico precoce da mastite, para o qual existem vários métodos utilizados. Recentemente LILIUS e PESONEN (1991), compararam o método "California Mastitis Test", SCHALM (1971) com o da quimioluminescência, bastante eficaz na contagem de células. HEINONEN e HEINONEN (1991),verificaram índice de mastite 3 a 4 vezes maiores nas vacas acometidas com RP. No surgimento da mastite o fator nutrição é limitante. KDLK et al. (1991) detectaram 75% de edema do úbere em animais com dietas ricas em potássio, apresentando maior produção de cortisol, que se manteve no plasma por 175 dias pós-parto.Os trabalhos, mais consistentes e esclarecedores quanto a importância da mastite para a reprodução, foram citados por CULLOR (1991), em revisão sobre o assunto. Revela que a doença pode alterar o período interestro, com ciclos mais curtos (18 dias) ou ciclos mais longos (24 dias), principalmente naquelas causadas por coliformes. Porém o agente causador mais encontrado é o Staphylococcus aureus. O número de lactações não está associado ao aparecimento das infecções. A possibilidade da secreção de

prostaglandinas (PG's) nestes casos pode agir sobre a performance reprodutiva. Localmente geram histamina, serotonina, leucotrieno B₄ e PGF₂ alfa, além de outros eicosanóicos que estão envolvidos na mastite aguda. Acredita-se também que a produção de PG's, decresce a progesterona podendo causar abortamentos no 1º trimestre da gestação. Os índices de detecção de estro nestes casos, variaram entre 70 e 85 %. Conclui citando que estes problemas podem ser portanto minimizados com higiene e manejo da ordenha.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 ANIMAIS PESQUISADOS, PROPRIEDADES E SISTEMA DE MANEJO

O trabalho de pesquisa foi realizado com 241 vacas da raça holandesa preta e branca, (92,5%) e vermelha e branca, (7,4%), em propriedades situadas na região metropolitana de Curitiba (São José dos Pinhais (4), Piraquara (4), Araucária (2)).

Do total de animais, 39 foram detalhadamente acompanhados, conforme metodologia descrita mais adiante e os demais 202, apenas observados quanto ao intervalo parto - concepção (IPC), duração da gestação, tipos de partos, existência ou não de retenção de placenta (RP), ocorrência de mastite no puerpério precoce, alimentação e sistemas de manejo.

Dos animais acompanhados, 25,6% eram primíparos, 23,0% secundíparos e 51,2% pluríparos, livres de doenças como brucelose e tuberculose, submetidas à secagem láctea 2 meses antes da data prevista do parto, afastados os problemas de infecção do úbere e com escore corporal julgado bom para o evento da parição, segundo critérios adotados por EDMONDSON (1992).

Todos animais utilizados no experimento eram mantidos em condições de pastagens cultivadas e capineiras de inverno e verão, predominando Lolium perene (azevém), Avena sativa (aveia), Vicia sativa (ervilhaca), Setaria kanzungula, Brachiaria plantaginea (papuã), Brachiaria ruziziensis, Cynodon dactylon (estrela africana), Hemarthra altissima. Os volumosos eram servidos diariamente (cerca de 20 kg/animal) e consistiam de silagem de milho (Zea mays), resíduos de cevada

(Hordeum vulgare) resíduos de algodão (gen. Gossypium), feno de alfafa (Medicago sativa), papuã (Brachiaria platynea) e azevém (Lolium perene). O concentrado continha 18,0 % de proteínas e 70,0 % de NDT. (Nutrientes Digestíveis Totais), fornecidos na proporção de 1 kg para cada 3 litros de leite produzidos, para animais em lactação. A suplementação de minerais utilizava fórmulas comerciais tais como (Bovigold TQ. (1), Rumiphós (2) e Lactophós (3), na quantidade de 50 g/dia/animal. Os animais eram ordenhados 2 vezes ao dia e os bezerros eram mantidos em bezerril, alimentados desde o colostro, em balde ou mamadeira. A cada 6 meses eram vermifugados e vacinados contra febre aftosa, brucelose (bezerras), carbúnculo sintomático e semestralmente submetidos a provas diagnósticas de brucelose e tuberculose.

- (1) Bovigold TQ. - Tortuga Companhia Zootécnica Agrária
- (2) Rumiphós - Laboratórios Pfizer Ltda.
- (3) Lactophós - Cooperativa de Laticínios de Curitiba

As instalações eram em alvenaria ou madeira, adequadas ao tipo de exploração leiteira, com oferta abundante de água. A higiene das instalações e da ordenha era feita com detergentes e desinfetantes a base de cloro e iodo.

O manejo da reprodução levava em conta o período de lactação, além de outros fatores, visando a obtenção de cotas de comercialização de leite. A fertilização das vacas era feita através de inseminação artificial.

TABELA 2 - NÚMERO DE ANIMAIS ACOMPANHADOS E OBSERVADOS POR PROPRIEDADE NA REGIÃO METROPOLITANA DE CURITIBA.

Muni - cípio	Nº de acompanhados	Nº de observados	Total
Piraquara	16	104	120
Araucária	-	59	59
S.J.d os Pinhais	23	39	62
Total	39	202	241

3.2 PESQUISA CLÍNICA E ANOTAÇÃO DE DADOS

3.2.1 CARACTERÍSTICAS DO PARTO E ALTERAÇÕES ENCONTRADAS

Todos os animais eram protocolados individualmente, onde anotava-se a data de nascimento, o transcorrer dos partos anteriores, retenção de placenta anterior, tratamentos efetuados, data da inseminação artificial, para se fixar a data prevista do parto, bem como alterações quanto à insinuação dos produtos, vigor das contrações, estado do úbere, colostro, fatores estressantes e anormalidades climáticas. Outros dados levados em conta no parto anterior, foram: a observação do 1º

estros, o IPC (intervalo parto - concepção) de cada animal e o número de serviços/concepção.

Os animais eram examinados clinicamente no 15º e 5º dia antes da parturição. Quanto ao parto foi considerado o tipo (eutócico ou distócico), data (dia e hora), sexo do bezerro (macho ou fêmea), estado do bezerro (vivo ou morto e anormalidades ocorridas), tamanho do feto (pequeno, médio ou grande) e o peso.

Como objetivo principal do trabalho, verificou-se a possível existência de RP, utilizando-se parâmetros fixados por WAGNER (1989), considerando RP o período de tempo de 12 horas após o parto sem expulsão. Este parâmetro norteou a confecção dos grupos de animais sem retenção (SR) ou CR.

Considerou-se igualmente os dados de possíveis patologias do aparelho genital e do úbere no período da pesquisa.

3.2.2 ESTADO NUTRICIONAL

Os dados relativos ao estado geral dos animais pesquisados, por ocasião do primeiro exame, aos 15 dias antecedentes ao parto, revelaram que 49,3% dos animais apresentavam-se em bom estado, com Escore da Condição Corporal (E.C.C.) equivalente a 3,5 e 4,0, com forragens de alta qualidade e adequado teor protéico. 32,7% apresentavam bom estado, com E.C.C. equivalente a 3,0 e 3,5, com elevados níveis de energia na dieta e valor protéico limitado. Observou-se 17,8% de estado regular, com E.C.C. de 4,0 a 4,25, não desejável.

3.3 ANÁLISES BÍOQUÍMICAS DO SANGUE

3.3.1. COLHEITA E CONSERVAÇÃO DE AMOSTRAS

Colheram-se amostras de sangue de 39 animais, dos quais 16 retiveram a placenta fetal (grupo CR) e 23 apresentaram delivramento normal (grupo SR). As amostras foram colhidas em 7 propriedades constantes da TABELA 2, sendo 5 de cada animal, com a seguinte distribuição:

a) Amostras 1 e 2, 15 e 5 dias que respectivamente antecediam ao parto;

b) Amostra 3, dia do parto;

c) Amostras 4 e 5, 3 e 5 dias respectivamente após o parto

A colheita era feita por venipunção de uma das jugulares, com assepsia adequada através do "Sistema Vacutainer" (Becton Dickinson), com agulhas de tamanho 25 x 9-20G1, para colheita simples, suporte plástico e tubos com capacidade para 10 ml de sangue, sem anticoagulante e tubos contendo heparina sódica ou etilenodiaminotetracetato dissódico (EDTA), no dia da parturição, para realização de leucogramas.

Cerca de 2 horas após colhido o material, o mesmo era centrifugado a 1.500 rpm. por 20 minutos, separados os soros por pipetagem, alicotados e acondicionados em frascos plásticos apropriados; após este procedimento eram feitas as dosagens dos componentes séricos "in vitro" citados neste capítulo. Outras porções de soro eram armazenadas imediatamente a temperatura de -20°C. para utilização em provas a serem desenvolvidas no decorrer do experimento.

3.3.2. LABORATORIO E EQUIPAMENTOS

As análises bioquímicas dos componentes séricos foram realizadas no laboratório do Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Paraná, com metodologia específica de cada um, utilizando-se os seguintes equipamentos:

- a) centrífuga Janetzki T23;
- b) controlador de temperatura (BM), Fanem - Unitemp, regulado para 37 ° C;
- c) espectrofotômetro Incibrás - MF - 190;
- d) vidrarias ajustadas para as provas realizadas;
- e) "kits" das marcas Labtest e Merck (dosagens de AST e ACP);

3.3.3 COMPONENTES SÉRICOS ANALISADOS

3.3.3.1 Dosagem do Cálcio

Baseando-se na reação do cálcio com a púrpura de ftaleína em meio alcalino, e resultando em complexo de cor violeta, com absorção máxima em 570 nm., o teste teve a finalidade de determinar as concentrações.

Conteúdo do "KIT":

- a) tampão;
- b) reagente de cor;
- c) padrão (10 mg/dl);

Técnica de dosagem:

A técnica para a dosagem de cálcio no soro sanguíneo, seguiu método desenvolvido por CONNERTY e BRIGGS (1966).

- a) 2 cubetas do aparelho, rotuladas teste (T) e padrão

(P);

- b) 2,0 ml do tampão em ambas cubetas;
- c) 2,0 ml do reagente de cor em ambas cubetas;
- d) Agita-se e zera-se o aparelho;
- e) 0,02 ml da amostra e do padrão nas respectivas cubetas;

absorbância do teste (AT)

f) cálculo: $\text{mg/dl} = \frac{\text{absorbância do teste (AT)}}{\text{absorbância do padrão (AP)}} \times 10$

absorbância do padrão (AP)

3.3.3.2 Dosagem do Fósforo

Baseou-se no princípio de que os íons fosfato reagem com o molibdênio em meio ácido, sendo formado um complexo amarelo que em presença de tampão alcalino se reduz à azul de molibdênio.

Conteúdo do "Kit":

- a) catalizador;
- b) reagente molibdato;
- c) tampão;
- d) padrão (5,0 mg/dl);

Técnica de dosagem:

A técnica para dosagem do fósforo seguiu método de FISKE e SUBARROW (1925), modificada por GOMORI (1942).

- a) 3 tubos de ensaio rotulados branco (B), T e P;
- b) 5,0 ml de água de destilada em cada um;
- c) 0,2 ml da amostra no tubo T;
- d) 0,2 ml do padrão no tubo P;

- e) 2 gotas de catalizador em cada tubo;
- f) 2 gotas de reagente molibdato em cada tubo;
- g) Agita-se e banho de água fria por 2 minutos;
- h) 4 gotas de tampão em cada tubo;
- i) Agita-se e banho de água fria por 5 minutos;
- j) leitura em 650 nm, após acertar o zero com o tubo B;
- k) cálculo: $\text{mg/dl} = \frac{\text{AT}}{\text{AP}} \times 5$;

3.3.3.3 Dosagem de Proteínas Totais

Baseou-se no princípio da reação das proteínas com o biureto, GORNALL et al. (1949) e WEICHELBAUM (1949), com produção de cor roxa, tanto mais intensa quanto maior a concentração protéica da amostra.

Conteúdo do "kit":

- a) biureto (estoque);
- b) padrão (4,0 g/dl);

Técnica de dosagem:

- a) 3 tubos de ensaio rotulados B, T e P;
- b) 0,1 ml da amostra no tubo T;
- c) 0,1 ml do padrão no tubo P;
- d) 0,1 ml de água destilada no tubo B;
- e) 5,0 ml de biureto em cada tubo;
- f) espera-se 15 minutos, acerta-se o zero com B;
- g) determina-se a absorvância em 545 nm;
- h) cálculo: $\text{g/dl} = \frac{\text{AT}}{\text{AP}} \times 4$;

3.3.3.4 Dosagem de Albumina

Fundamenta-se no princípio da reação da albumina com o verde de bromo-cresol tamponado, (devido a erro proteínico dos indicadores) resultando em coloração verde, proporcional a concentração de albumina na amostra. Técnica de DOUMAS et al. (1971).

Conteúdo do "kit":

- a) reagente de cor (técnica do verde de bromo-cresol);
- b) Padrão (3,8 g/dl);

Técnica de dosagem:

- a) 3 tubos de ensaio rotulados B, T e P;
- b) 5,0 ml de reagente de cor em cada tubo;
- c) 0,02 ml da amostra no tubo T;
- d) 0,02 ml do padrão no tubo P;
- e) mistura-se e aguarda 5 minutos;
- f) zerar o aparelho com B.e leitura em 630 nm;

$$g) \text{ cálculo: } g/dl = \frac{AT}{AP} \times 3,8;$$

3.3.3.5 Dosagem de Colesterol

Baseou-se no princípio da reação do colesterol com o reagente estável de Liebermann Burchard, (NESS et al. 1964), composto de anidrido acético, ácido acético e ácido sulfúrico. A reação se dá na dupla ligação entre os carbonos C5 e C6 do anel B com produção de cor verde.

Conteúdo do "kit":

- a) reagente de cor;

b) padrão (200 mg/dl);

c) solvente;

Técnica de dosagem:

a) 2 tubos de ensaio rotulados T e P;

b) 0,1 ml da amostra no tubo T;

c) 0,1 ml do padrão no tubo P;

d) 5,0 ml do reagente de cor em ambos tubos;

e) BM a 37 ° C por 10 minutos;

f) zerar o aparelho com água destilada. Leitura em 625;

nanômetros; AT

g) cálculo: $\text{mg/dl} = \frac{\text{---}}{\text{AP}} \times 200$;

3.3.3.6 Dosagem da Uréia

Baseando-se no princípio da reação direta entre uréia e o diacetil, a qual é intensificada pela tiosemicarbasida, não necessita de meios fortemente ácidos (WYBENGA et al. 1971). O produto final é muito estável e confere coloração rósea à reação, tanto mais intensa quanto maior for a quantidade de uréia presente na amostra.

Conteúdo do "kit":

a) reagente de cor;

b) reagente ácido;

c) catalizador;

d) padrão (70 mg/dl);

Técnica de dosagem:

A técnica utilizada é a do diacetil modificado por HIGASHI et al. (1973).

- a) 3 tubos de ensaio rotulados B, T e P;
- b) 2,5 ml de reagente de cor em todos os tubos;
- c) 0,02 ml da amostra no tubo T;
- d) 0,02 ml de água destilada no tubo B;
- e) 0,02 ml do padrão no tubo P;
- f) 2,5 ml de reagente ácido em todos os tubos;
- g) mistura-se. Banho de água fervente por 10 minutos;
- h) Banho de água fria por 3 minutos;
- i) Acerta-se o zero com B e lê-se em 520 nm;

$$j) \text{ cálculo: } \text{mg/dl} = \frac{\text{AT}}{\text{AP}} \times 70;$$

3.3.3.7 Dosagem de Fosfatase Alcalina (ALP)

Seguiu o princípio de que a enzima do soro hidrolisa a timolftaleína que possui cor azul em meio alcalino (ROY 1970). A cor formada é proporcional a atividade da enzima. A coloração final da reação constitui mistura de cor azul com a cor do substrato.

Conteúdo do "Kit":

- a) substrato;
- b) tampão;
- c) reagente de cor;
- d) padrão (45. U/l);

Técnica de dosagem:

- 3 tubos de ensaio rotulados B, T e P;
- 0,1 ml de substrato em todos os tubos;
- 1,0 ml de tampão em todos os tubos;

- a) 0,1 ml do padrão no tubo P;
- b) BM a 37° C por 2 minutos;
- c) 0,1 ml da amostra no tubo T;
- d) mistura-se. BM a 37° C por 10 minutos;
- e) 4,0 ml de reagente de cor em todos os tubos;
- f) Zera-se o aparelho com B;
- g) mistura-se e lê-se em 590 nm;

$$h) \text{ cálculo: } U/l = \frac{AT}{AP} \times 45;$$

3.3.3.8 Dosagem da Fosfatase Acida (ACP)

O sistema foi montado para determinar concentrações de ACP (ROY et al. 1971). As fosfatases catalizam a hidrólise do ácido fosfórico e no caso da ACP, em meio ácido, utiliza-se como substrato o p-nitrofenilfosfato, que pela ação da ACP se decompõe em p-nitrofenol e ácido fosfórico. A adição de hidróxido de sódio interrompe a reação e o p-nitrofenol liberado transforma-se em ânion de cor amarela, proporcional a atividade da enzima.

Conteúdo do "kit":

- a) tampão;
- b) substrato;
- c) tartarato de sódio;
- d) hidróxido de sódio;
- e) padrão (concentrado);

Técnica de dosagem:

- a) 2 tubos de ensaio rotulados B e T;

- b) necessário um B para cada amostra;
- c) 0,5 ml da solução pré-misturada de substrato e tampão em cada tubo;
- d) BM a 37° C por 5 minutos;
- e) 0,1 ml da amostra no tubo T;
- f) BM a 37° C por 30 minutos;
- g) 5,0 ml de NaOH 0,02 N em ambos tubos;
- h) 0,1 ml da amostra no tubo B;
- i) mistura-se e mede-se a extinção de T contra B; em 400 nm;
- j) cálculo: ACP- atividade por volume = $E_{\lambda} \times 101 \text{ U/l}$;
 E_{λ} = extinção das amostra

3.3.3.9 Dosagem da Desidrogenase Láctica (LDH)

Baseando-se no princípio de que a enzima catalisa a reação lactato-piruvato (reversível), em presença de NAD(nicotinamida adenina dinucleotídeo) que é reduzido a NADH. (WITAKER 1969). Este último é medido ao reduzir estequiometricamente o INT a um "formazan" de cor vermelha.

Conteúdo do "kit":

- a) tampão;
- b) substrato;
- c) padrão (150 U/l);
- d) reagente de cor;
- e) estabilizador;

Técnica de dosagem:

- a) 3 tubos de ensaio rotulados C(controle), T e P;
- b) 1,0 ml de tampão nos tubos C e P;

- c) 1,0 ml de substrato no tubo T;
- d) 0,05 ml da amostra nos tubos C e T;
- e) 0,05 ml do padrão no tubo P;
- f) BM a 37° C por 2 minutos;
- g) 0,2 ml de reagente de cor nos tubos C e T;
- h) mistura-se. BM a 37° C por 5 minutos;
- i) 4,0 ml de estabilizador de uso em cada tubo;
- j) mistura-se e deixa-se a temperatura ambiente por 5 minutos;
- k) acerta-se o zero com água destilada e determina-se a absorbância em 500 nm;

$$1) \text{ cálculo: } U/l = \frac{AT - AC}{AP} \times 150;$$

3.3.3.10 Dosagem da Aspartatoaminotransferase (AST)

Baseou-se no método de REITMAN e FRANKEL (1957). A amostra atua sobre a solução tamponada de alfa-cetoglutarato e aspartato, formando o oxalacetato que é medido na forma de 2,4-dinitrofenilhidrazona em solução alcalina.

O alfa-cetoglutarato produzido pela reação forma uma hidrazona mensurável no intervalo entre 500 e 560 nm.

O método mede em concentração sub-ótima, evitando valores muito elevados para o branco.

Conteúdo do "kit":

- a) solução tamponada de substrato (tampão de fosfato 100 mmol/l a pH 7,4; L-aspartato 100 mmol/l; a-cetoglutarato 2 mmol/l) 1 x 100 ml;

- b) reagente de cor (2,4 dinitrofenilhidrazina 1,5 mmol/l) 1 x 100 ml;
- c) padrão (piruvato de sódio 2 mmol/l) 1 x 12 ml;
- d) hidróxido de sódio 4.4 N - 1 x 100 ml;

Técnica de dosagem:

- a) 2 tubos de ensaio rotulados T e B;
- b) prepara-se um B para cada T;
- c) 0.5 ml de solução tamponada do substrato;
- d) BM a 37° C por 5 minutos;
- e) 0.2 ml da amostra no tubo T;
- f) mistura-se. BM. a 37° C por 30 minutos;
- g) 0.5 ml de reagente de cor em ambos tubos;
- h) 0.2 ml da amostra no tubo B;
- i) mistura-se e deixa-se repousar por 20 minutos;
- j) leitura em 546 nm após 5 a 30 minutos;

A obtenção de Unidades por volume para medidas em 546 nm é feita através de tabela do método, dando o resultado em U/l.

TABELA 3 - VALORES FISIOLÓGICOS DE ALGUNS COMPONENTES
NO SORO DE BOVINOS LEITEIROS.

Componentes pesquisados	Valores normais
Cálcio	10,0-11,0 mg/dl
Fósforo	5,0-7,0 mg/dl
Proteínas totais	6,0-7,5 g/dl
Albumina	3,5-4,5 g/dl
Colesterol	80- 120,0 mg/dl
Uréia	10,0-20,0 mg/dl
Fosfatase alcalina	0-30,0 U/l
Fosfatase ácida	1,0- 5,0 U/l
Desidrogenase láctica	até 1500,0 U/l
Aspartatoaminotranferase	10,0-50,0 U/l

Fonte: Tiermedizinische Labor Untersuchungen (1989).

3.4 ELETROFORESE DAS PROTEÍNAS PLASMÁTICAS NO SORO BOVINO

3.4.1 ESCOLHA DE AMOSTRAS

Foram utilizadas as amostras alicotadas e conservadas a -20° C, fazendo-se a escolha ao acaso: 04 animais do grupo CR e 04 do grupo SR, totalizando 8 animais e 40 amostras pesquisadas, com uma repetição cada.

3.4.2 LABORATORIO E EQUIPAMENTOS

A eletroforese foi realizada no Laboratório do Centro de Produção e Pesquisas Imunológicas (CPPI), da Secretaria de Estado da Saúde, do Estado do Paraná. Os equipamentos e materiais utilizados foram:

- a) cuba de eletroforese;

- b) fitas de acetato de celulose (Celogel);
- c) densitômetro e papel apropriado;

3.4.3 TÉCNICA

A técnica utilizada para a eletroforese das proteínas plasmáticas baseou-se em técnica de KOHN (1976).

- a) abertura do recipiente Celogel, seccionando um dos extremos do envoltório de papel aluminizado;
- b) tampão por 10 a 15 minutos. O restante do tampão não foi usado na migração.;
- c) secagem das fitas entre papel filtro;
- d) corrente elétrica na cuba de 200 W fixos independente do número de amostras, ou ainda 2.5 mA por fita.;
- e) aplicação da amostra (1,5 ul) foi a 2 cm da banda catódica, no sistema semi-micro;
- f) migração (corrida) por 30 a 35 minutos;
- g) Ponceau por 5 minutos;
- h) 3 a 4 banhos em ácido acético a 5 %;
- i) metanol no mínimo de 30 minutos;
- j) solução transparentizadora por 1 minuto;
- k) estufa a 60°C até secagem completa ;
- l) esfriar por 20 minutos;

3.4.4 LEITURA DOS RESULTADOS

A leitura foi realizada em densitômetro, com papel apropriado no sentido inverso ao da migração pela facilidade de melhor elaboração dos gráficos.

Os resultados foram calculados a partir dos gráficos e utilizados para verificar as concentrações de cada fração das proteínas plasmáticas, da albumina e alfa, beta e gama-globulinas, bem como suas variações nas amostras pesquisadas.

3.5 ANÁLISE DO CONTEÚDO DE IMUNOGLOBULINAS NO SORO

SANGUÍNEO, COLOSTRO E LEITE

3.5.1 COLHEITA E CONSERVAÇÃO DE AMOSTRAS

3.5.1.1 Soro

Foram utilizadas as amostras congeladas citadas anteriormente.

3.5.1.2 Colostro

O colostro foi colhido de cada uma das 39 vacas acompanhadas, em frascos plásticos apropriados (10ml), identificados e conservados a temperatura de -20° C, sem conservantes. A colheita foi realizada no período intrapartal.

3.5.1.3 Leite

O procedimento de colheita e armazenagem das amostras de leite foi idêntico ao relatado para o colostro. As amostras eram colhidas no 3º dia pós-parto, quando o leite já apresentava-se característico ou caso contrário, no 5º dia após a parturição.

3.5.2 DOSAGEM DE IMUNOGLOBULINAS

Dosou-se as imunoglobulinas M (IgM), G (IgG) e A (IgA), no soro sanguíneo leite e colostro. Os bovinos possuem duas frações de IgG: a IgG₁ e a IgG₂, mas somente foi dosada a IgG total.

Segundo TIZARD (1987), a IgA é a mais importante de ser dosada no colostro e leite, pelo fato de ser secretada a nível de mucosas e epitélios, como é o caso do útero, placenta e úbere.

3.5.3 TÉCNICA DE DOSAGEM DE IMUNOGLOBULINAS

A técnica de dosagem é a da imunodifusão radial, segundo CROWLE (1961) e FAHEY et al. (1965):

a) produção de anticorpos (Ac) anti-IgM, anti-IgG ou anti - IgA bovinas em coelhos previamente sensibilizados (ANTISORO);

b) uso de agarose gel distribuída em placas retangulares apropriadas, com orifícios para aplicação das amostras (ANTIGEND). Na agarose gel está difundido o antisoro;

c) colocação da amostra nos orifícios e através da reação de precipitação, forma-se uma linha radial proporcional à concentração de imunoglobulina no antígeno;

d) a leitura é feita comparando-se o diâmetro das reacões, com reacões de controles. Estas reacões são lineares;

Conteúdo do "kit"(1):

- a) 4 soluções de controles, para cada "kit";
- b) 5 placas de agarose gel com 6 ou 12 orifícios;
- c) micropipetas para 3 microlitros;
- d) papel para construir a curva padrão;

(1) VMRD., Inc. (Veterinary Medical Research and Development Incorporation) - Pulmann - USA.

3.5.4 DOSAGEM NO SORO

Para realização das dosagens foram selecionados ao acaso 8 animais do grupo CR e 8 do grupo SR, totalizando 16 animais e 80 amostras a serem pesquisadas.

Foram dosadas as três imunoglobulinas e o procedimento para montagem das curvas padrão, foram os seguintes:

Para IgM de acordo com a (TABELA.4) apenas utilizou-se os controles com 75 mg, 150 mg, 300 mg e 600 mg para construir a curva padrão.

TABELA 4 - VALORES NORMAIS DE IMUNOGLOBULINAS DOS TIPOS M, G e A, NO SORO SANGUÍNEO, COLOSTRO E LEITE DE VACAS LEITEIRAS (mg/dl) NOS DIAS -15 E -5 ANTES DO PARTO, NO DIA DO PARTO E NO 3º E 5º DIA APOS A PARTURIÇÃO, RESPECTIVAMENTE.

IMUNOGLOBULINA	SORO	COLOSTRO	LEITE
IgM	250-400	490	10-20
IgG	1700-2700	-	50-750
IgA	10-50	490	-

Fonte: VMRD. (1992).

Para IgG foram os controles 412 mg, 825 mg, 1650 mg e 3300 mg, e, para a IgA, 50 mg, 100 mg, 200 mg e 400 mg. A leitura foi realizada em 24 horas quando estavam formados os anéis de precipitação.

3.5.5 DOSAGEM NO COLOSTRO

Foram dosadas as 3 imunoglobulinas. Para dosagem no colostro selecionou-se as mesmas vacas, as quais haviam sido submetidas às dosagens no soro, visando conclusão quanto à

passagem de Ig's. do soro para o colostro. Dadas as concentrações esperadas do colostro (TABELA 4), as amostras foram diluídas 1:2 e os resultados corrigidos.

3.5.6 DOSAGEM NO LEITE

Igualmente foram dosadas as três imunoglobulinas, e utilizadas as mesmas vacas para estabelecer-se as relações entre as concentrações do leite e do colostro.

Dado as concentrações esperadas serem menores que a amplitude do teste, diluiu-se os controles da seguinte forma: IgM (75mg) em 1:2 e 1:4; IgG (412 mg) em 1:2; IgA (50mg) em 1:2 e 1:4, ampliando a curva padrão.

3.6 LEUCOGRAMA DE VACAS LEITEIRAS NO DIA DA PARTURIÇÃO

3.6.1 AMOSTRAS UTILIZADAS

Foram colhidas amostras, de sangue no período intrapartal de 16 animais do grupo CR e 23 do SR, para realização de leucogramas, adicionando-se heparina sódica ou EDTA., e processadas em seguida.

3.6.2 LEUCOGRAMAS. MATERIAL E TÉCNICA

Os leucogramas foram realizados no Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário, Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, com os seguintes materiais:

- a) câmara de Neubauer;
- b) sangue total (com anticoagulante);
- c) pipeta para glóbulos brancos;
- d) líquido de Turk;

sendo utilizada a técnica de rotina do laboratório supracitado, descrita por SCHALM (1975).

3.7 ALTERAÇÕES PATOLÓGICAS DO COTILÉDONE EM CASOS DE RETENÇÃO DE PLACENTA BOVINA

3.7.1 COLHEITA E CONSERVAÇÃO DE AMOSTRAS

As amostras de cotilédones foram colhidas imediatamente após o término da 2ª fase do parto, acondicionadas em frascos plásticos imersos em formol a 10% pelo período de 24 horas, possibilitando deste modo fixação do material. Ao todo foram colhidas 14 amostras de cotilédones, sendo 07 de animais do grupo CR e 07 do grupo SR, com o objetivo de comparar histologicamente os grupos.

3.7.2 EXAME HISTOPATOLÓGICO

As amostras foram processadas inicialmente no Laboratório de Anatomia Patológica do Hospital Veterinário, Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, onde processou-se a inclusão dos materiais em parafina e fez-se os respectivos cortes histológicos. Na sequência fez-se a desparafinização, coloração, diferenciação, desidratação, clarificação e montagem das lâminas, com posterior fotografia do material.

3.7.3 COLORAÇÃO E MATERIAL UTILIZADO

Foram utilizadas colorações de Hematoxilina-eosina, Tricrômica de Van Gieson, segundo BECAK e VAN RELL (1970).

Além dos corantes, álcool, xilol, para realização das técnicas, foram usados adicionalmente aparelho histotécnico e microscópio binocular.

3.8 UTILIZAÇÃO DO "CALIFORNIA MASTITIS TEST" E CULTURAS REAGENTES DE AMOSTRAS DE LEITE

3.8.1 COLHEITA DE AMOSTRAS DE LEITE

Foram colhidas amostras de leite em frascos plásticos de 10 ml, no 3º dia pós parto, desde que estivessem isentas de colostro, caso contrário no 5º dia.

Paralelamente a essa colheita era realizado o "California Mastitis Test" (CMT), no 3º e 5º dia pós-parturição. As amostras reagentes positivas para mastite eram colhidas em tubos de ensaio de vidro, estéreis, para posteriormente serem procedidas com cultura e antibiograma, visando o tratamento dos animais positivos a infecção (SCHALM 1971).

O teste CMT foi realizado em 39 animais acompanhados e os não reagentes eram somente observados, repetindo-se o teste no 5º dia pós-parto..

3.8.2 TÉCNICA DO CMT

Foi escolhido o CMT, objetivando medir a quantidade de DNA (ácido desoxirribonucléico) existente no conteúdo celular da amostra de leite. Desta forma eliminou-se a possibilidade de que parte do citoplasma de células apócrinas e epiteliais descamadas, frequentes no início da lactação, fossem confundidas com leucócitos, alterando os resultados.

A interpretação do teste CMT, baseou-se na Tabela 5.

TABELA 5 - PADRÕES CONSIDERADOS PARA INTERPRETAÇÃO DO TESTE CMT EM VACAS LEITEIRAS

Tipo de reação	nº de leucócitos/ ml de leite
ausência	de 0 a 68.000
traços	acima de 268.000
reação 1	800.000
reação 2	2.560.000
reação 3	maior que 10.000.000

SCHALM, D.W. (1975)- Veterinary Hematology

Os materiais utilizados foram:

- a) bandeja específica para o teste, com 4 recipientes (um para cada teto);
- b) reagente para o teste;
- c) tubos de vidro estéreis para colheita das amostras reagentes de leite.;

Os procedimentos para o teste foram os de assepsia prévia da mama, de rejeição dos 3 primeiros jatos de leite e quantidades iguais de leite e de reagente;

3.8.3 CULTURAS E ANTIBIOGRAMAS DAS AMOSTRAS DE LEITE

REAGENTES AO CMT

As amostras de leite que apresentaram traços, reações 1, 2 e 3, foram levadas ao Laboratório de Análise de Leite da Cooperativa de Laticínios de Curitiba (CLAC) para cultura e antibiograma, imediatamente após a colheita.

Foram 14 amostras colhidas, 4 do grupo de animais SR e 10 do grupo CR.

3.8.3.1. Cultura. _

Feitas em ágar-sangue (sangue de carneiro), lançou-se mão da coloração de Gram, das provas da catalase e coagulase e do reconhecimento do formato de colônias.

3.8.3.2 Antibiograma

Foram realizados em todas amostras positivadas na cultura, verificando-se a sensibilidade aos antibióticos, cefalosporina, gentamicina, tetraciclina, novobiocina, ampicilina, cloranfenicol, estreptomina, penicilina, lincomicina e Kanamicina, utilizando-se critérios como: sensível, intermediário e resistente, dependendo do resultado da prova.

3.9 CALCULOS ESTATISTICOS

Para verificar as significâncias dos resultados da pesquisa, adotaram-se os seguintes procedimentos estatísticos :

- a) cálculo da média ;
- b) análise de variância e teste "t" de Student;
- c) cálculo do teste do χ^2 ;
- d) análise de regressão entre as concentrações de IgG no soro sanguíneo;

4 RESULTADOS.

4.1 RESULTADOS DOS PARÂMETROS REPRODUTIVOS

4.1.1 INTERVALO PARTO-CONCEPCÃO (IPC) E DURAÇÃO DA GESTAÇÃO

A tabela 6 mostra dados referentes ao intervalo parto-concepção (IPC) e duração da gestação, de 241 animais pesquisados durante o experimento.

TABELA 6 - INTERVALO PARTO-CONCEPCÃO (IPC), DISTRIBUIÇÃO PORCENTUAL DE PREENHEZ POR INTERVALO, IDADE E DURAÇÃO DA GESTAÇÃO EM BOVINOS LEITEIROS, (n=241).

GRUPOS	IPC (dias)	(%) de animais prenhes	Idade (meses)	Variacão do período de gestação (dias)
1	novilhas	6	25-31	257 - 285
2	-63	15	49-99	272 - 285
3	64-106	40	50-105	274 - 288
4	107-149	15	40-90	277 - 284
5	150-192	6	80-150	277 - 285
6	193-235	6	59-145	274 - 281
7	> 235	12	64-76	280 - 288

Curitiba, 7/1993.

Para a elaboração da tabela 6, dividiu-se os animais pesquisados em 7 grupos, independente de pertencer aos grupos CR ou SR. A divisão dos grupos constituiu-se de intervalo de 42 dias correspondentes a dois ciclos estrais, com exceção do grupo "2", que somou três ciclos, porque o primeiro estro pós-parto foi desprezado.

As novilhas são classificadas como primíparas não apresentando portanto IPC. De acordo com o manejo da reprodução adotado nas propriedades leiteiras da região de Curitiba, o ideal seria que a vaca retornasse ao estro visível até o 45º dia após parto, e concebesse até o 64º dia.

Observando os dados da tabela 6, verifica-se que 58,5 % dos animais pesquisados apresentam IPC aceitável, (grupos 2 e 3) enquanto que 41,5 % intervalos longos demais, (grupos 4,5,6,e 7).

4.1.2 PARTURIÇÃO DAS VACAS LEITEIRAS

A tabela 7 mostra dados referentes à parturição de 38 animais pesquisados.

TABELA 7 - DADOS DE TIPO DE PARTO, EXPULSÃO DA PLACENTA, PERÍODO DO PARTO, SEXO DOS BEZERROS E TEMPO DE RETENÇÃO PLACENTARIA EM BOVINOS LEITEIROS. (n=38)

Tipo de parto	Placenta (%)		Parto (%)		Bezerro (%)		Expulsão (horas)	
	Retida	Não Retida	Diur -no	Notur -no	M	F	Não Retida (x+s)	Retida (x+s)
	(a)							
Eutó-cico	23,0	77,0	69,0	31,0	38,0	62,0	4,4+- 2,99	153+- 99,0
	6/26	20/26	18/26	9/26	9/26	17/26	20/38	6/38
	(b)							
Distó-cico	50,0	50,0	77,0	23,0	33,0	67,0	6,5+- 3,1	156+- 90,0
	6/12	6/12	10/12	2/12	5/15	10/15	5/38	7/38

a : b = (P < 0,01)

Curitiba, 7/1993.

Observando-se a tabela 7, a ocorrência de partos difíceis acarretaram significativamente ($P < 0,01$) percentuais elevados de retenção dos envoltórios fetais. A parturição ocorreu diurnamente em elevado percentual, favorecendo em muito o pronto atendimento às parturientes.

Porém o dado considerado mais importante no experimento, é o de que 92,0% dos animais que tem o delivramento da placenta dentro do período fisiológico, o fazem entre 1 e 6 horas pós-parto.

4.1.3 COMPARAÇÃO DE DADOS OBTIDOS ENTRE ANIMAIS SOMENTE OBSERVADOS E ANIMAIS ACOMPANHADOS, (TABELA 8).

A tabela 8, mostra alguns itens nos quais comparou-se os animais acima:

TABELA 8. - DADOS PERCENTUAIS OBTIDOS DE 202 VACAS OBSERVADAS EM RELAÇÃO AS 39 TRABALHADAS, RELATIVOS AO NUMERO DE PARTOS, INDICE DE RP E INDICE DE MASTITE.

Critérios	Nº Partos eutócicos		Nº Partos distócicos		Indice de RP	Indice de mastite	
	SR	CR	SR	CR		SR	CR
Observadas	183	25	12	21	19%	10	28
(%)	(88,0)	(12,0)	(36,0)	(64,0)		(4,8)	(61,0)
Trabalhadas	17	9	6	7	41%	4 ^a	10 ^b
(%)	(65,0)	(35,0)	(46,0)	(54,0)		(17,0)	(62,0)

a : b = ($P < 0,05$)

Curitiba, 7/1993.

Os dados acima revelam correlações entre alguns deles, indicando que a amostra trabalhada foi significativa em relação à população bovina.

Alguns parâmetros reprodutivos encontrados na tabela 8, revelam que os critérios adotados para a pesquisa foram eficazes, pois vacas trabalhadas apresentaram problemas reprodutivos com maior frequência.

O índice geral de RP chama atenção, pois foi maior que o citado na literatura mundial. Dado muito importante foi a ocorrência de mastite durante o puerpério precoce, onde observa-se 15,7% dos animais pesquisados (observadas + trabalhadas), apresentando a doença.

Houve correlações muito importantes quanto a incidência de mastite pós RP entre o rebanho de 202 animais e o de 39, revelando ser preocupante a ocorrência da doença no rebanho de 241 animais.

4.1.4 DADOS QUANTO AO SEXO DOS BEZERROS

A tabela 9, mostra o número de bezerros nascidos em 241 partos, em relação ao mês de nascimento.

Os meses nos quais ocorreram maiores percentuais de nascimentos, foram os de abril, junho e julho, aproximadamente 40% do total, devido a programação de partos visando a manutenção de cotas comerciais de leite.

TABELA 9 - SEXO DE BEZERROS NASCIDOS DE FEVEREIRO A
NOVEMBRO DE 1992, (%) e (n= 247).

Meses	Nº MACHOS (%)	Nº FÊMEAS (%)	Nº TOTAL DE PARTOS (%)	Nº TOTAL DE BEZERROS
Fev	8 (53,0)	7 (47,0)	15 (6,2)	15
Mar	10 (45,0)	12 (55,0)	22 (9,1)	22
Abr	12 (40,0)	18 (60,0)	30 (12,4)	30
Mai	9 (53,0)	8 (47,0)	17 (7,0)	17
Jun	16 (52,0)	15 (48,0)	30 (12,4)	31
Jul	23 (61,0)	15 (39,0)	37 (15,3)	38
Ago	14 (54,0)	12 (46,0)	24 (9,9)	26
Set	14 (54,0)	12 (46,0)	26 (10,7)	26
Out	11 (48,0)	12 (52,0)	23 (9,5)	23
Nov	2 (11,0)	17 (89,0)	17 (7,0)	19
Total	119 (48,1)	128 (51,8)	241	247

Curitiba, 7/1993.

Nos meses de julho e novembro houve predominância de bezerros machos e fêmeas respectivamente. Em julho ocorreu maior número de partos difíceis e em consequência retenções de placenta.

4.2 ANÁLISES BIOQUÍMICAS DO SANGUE

A tabela 10 mostra os valores de componentes séricos dosados durante o experimento, comparando os grupos SR (n=23) e CR (n=16), bem como o desvio padrão para cada uma das observações realizadas, quais sejam : 15º e 5º dia que antecediam ao parto, dia "0" (dia do parto) e 3º e 5º dia pós-parturicção.

Para maior elucidacção optou-se por elaborar o perfil dos componentes séricos nos animais da região metropolitana de Curitiba, levando-se em conta vacas CR e SR.

TABELA 10 - PERFILBIOQUÍMICO DE VACAS LEITEIRAS COM E SEM RETENÇÃO DE PLACENTA, NOS ÚLTIMOS 15 DIAS DE GESTAÇÃO, NO DIA DO PARTO E NO 3º E 5º DIA PÓS PARTO (n=39)

Item	Grupo	-15	-5	Parto 0	3	5
	Dias					
Ca mg/dl	SR	11,33±1,59	10,89±1,61	9,90±1,53	9,81±1,63	9,63±1,67
	CR	9,57±1,57	9,79±1,97	9,63±2,42	9,48±1,73	9,80±2,02
P mg/dl	SR	5,42±0,81	5,37±0,84	5,41±1,11	5,62±1,13	5,59±1,29
	CR	6,01±1,19	5,99±1,04	5,84±0,76	5,84±1,00	5,90±1,16
Prot. totais g/dl	SR	6,73±1,04	6,87±0,81	6,94±0,91	6,79±1,02	6,89±1,26
	CR	7,19±0,76	7,33±1,26	7,04±1,16	5,84±1,00	6,55±1,02
albumina g/dl	SR	4,80±0,64	4,40±0,18	4,58±0,76	4,08±0,89	3,75±0,83
	CR	4,85±0,57	4,93±0,67	4,58±0,74	4,10±0,72	3,83±0,93
Colesterol mg/dl	SR	99,89±29,06	112,64±19,89	105,13±29,12	91,82±26,86	75,06±28,57
	CR	117,22±45,85	128,31±51,94	112,55±27,29	104,34±22,62	85,18±31,40
Urêia mg/dl	SR	33,52±18,79	42,92±18,80	42,77±21,01	46,20±16,00	64,13±30,45
	CR	29,56±14,60	45,72±20,58	74,21±61,53	76,55±35,05	78,58±23,64
ALP U/l.	SR	33,91±12,23	36,26±15,97	50,38±20,05	48,68±23,79	28,36±11,43
	CR	38,27±20,34	55,16±13,51	61,42±37,74	54,69±34,57	45,66±36,85
ACP U/l.	SR	3,14±1,92	3,21±2,10	4,24±2,35	3,78±2,32	3,61±1,88
	CR	2,59±1,99	5,39±3,05	4,63±2,61	3,46±2,61	2,11±1,22
LDH U/l.	SR	551,45±127,12	622,30±120,37	691,67±180,37	713,79±216,05	735,94±227,10
	CR	596,74±153,07	642,40±160,58	754,54±112,41	810,44±137,54	729,62±119,84
AST U/l.	SR	48,69±19,87	58,30±20,61	51,66±12,51	51,00±17,54	46,96±23,34
	CR	42,62±9,94	62,51±25,08	59,79±16,04	59,50±19,91	55,51±34,65

4.3.1 CALCIO

A figura 1, mostra as curvas obtidas para ambos os grupos de animais pesquisados, em mg/dl. O grupo SR apresentou valores plasmáticos mais elevados para o cálcio nos dias -15, -5, dia do parto e 3º dia pós-parto que o grupo CR. Os níveis cálcicos decaíram a partir do 3º dia pós-parto em ambos os grupos, (9.81±1.6 e 9.48±1.7), respectivamente SR e CR sem significância. As concentrações de cálcio variam consideravelmente em vacas que retém placenta, influenciando na 3ª fase da parturicção, onde o cálcio disponível está abaixo dos níveis normais.

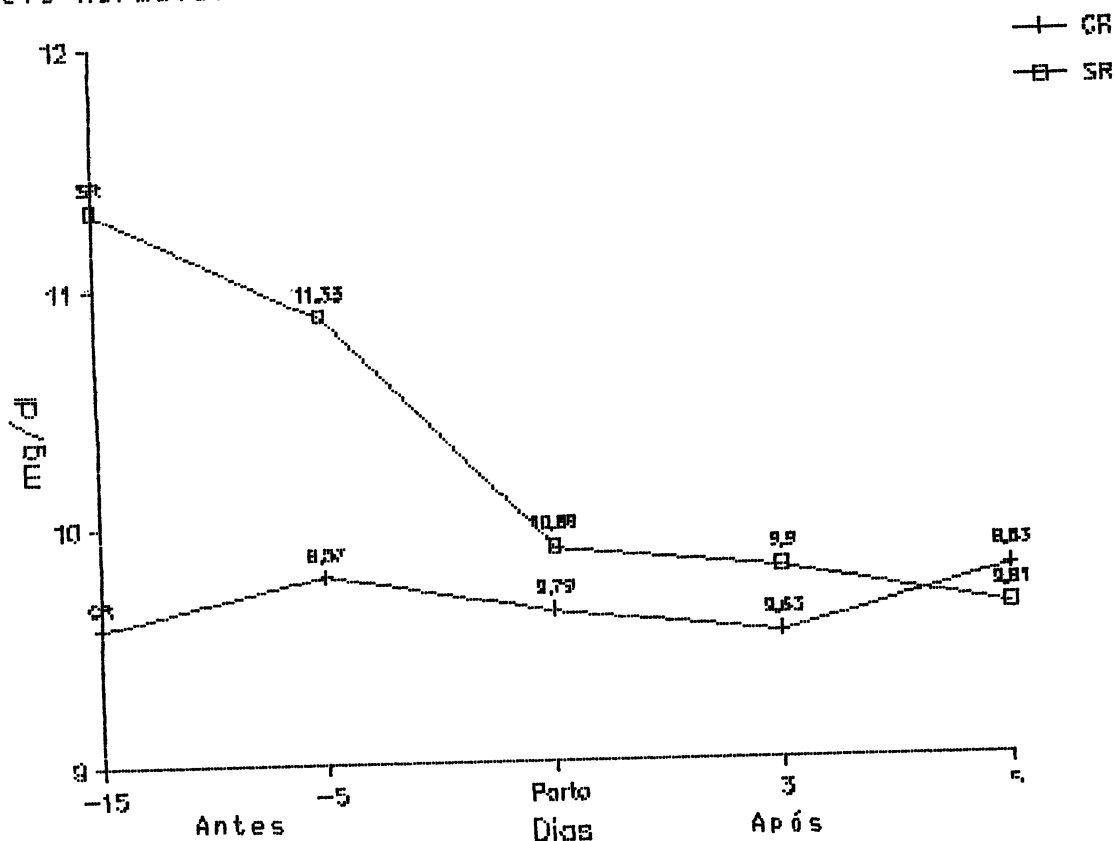


Figura 1. Perfil dos teores de Cálcio em vacas leiteiras SR e CR, antes, durante e após o parto.

4.2.2 FOSFORO

A figura 2, apresenta dados dos teores plasmáticos de fósforo inorgânico em ambos os grupos. Curiosamente o grupo CR apresentou médias mais elevadas em todo perfil elaborado, com variações de animal para animal, maiores nas amostras colhidas antes do parto.

Fato esclarecedor foi detectado ao se relacionar o fósforo com o cálcio, afim de estabelecer as relações entre os dois minerais. (Figura 3). Nos resultados encontrados para o grupo SR, observou-se queda acentuada da relação, evidenciando elevado consumo de cálcio na parturição.

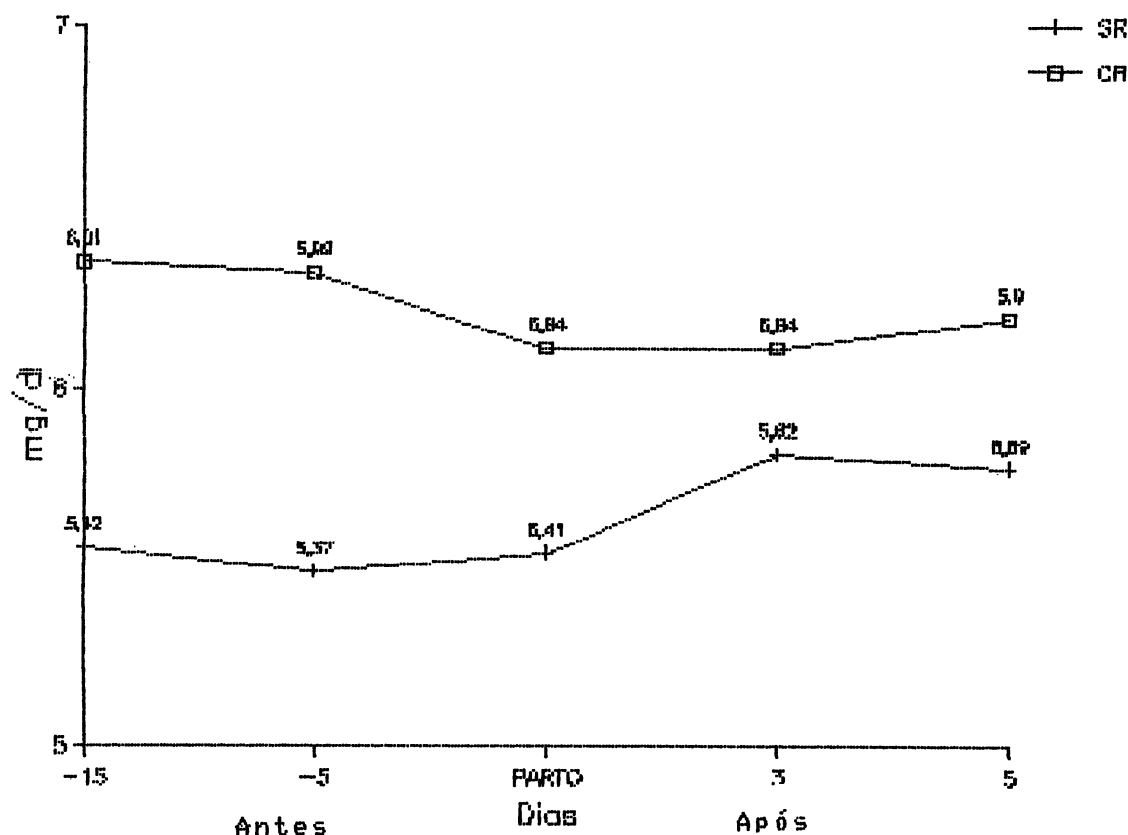


Figura 2. Perfil dos teores de fósforo em vacas leiteiras SR e CR no período peripartal. ($P < 0,01$).

O grupo CR manteve as relações Ca/P, bastante estável, embora inferior aos padrões normais, revelando significância a nível de ($P < 0,01$).

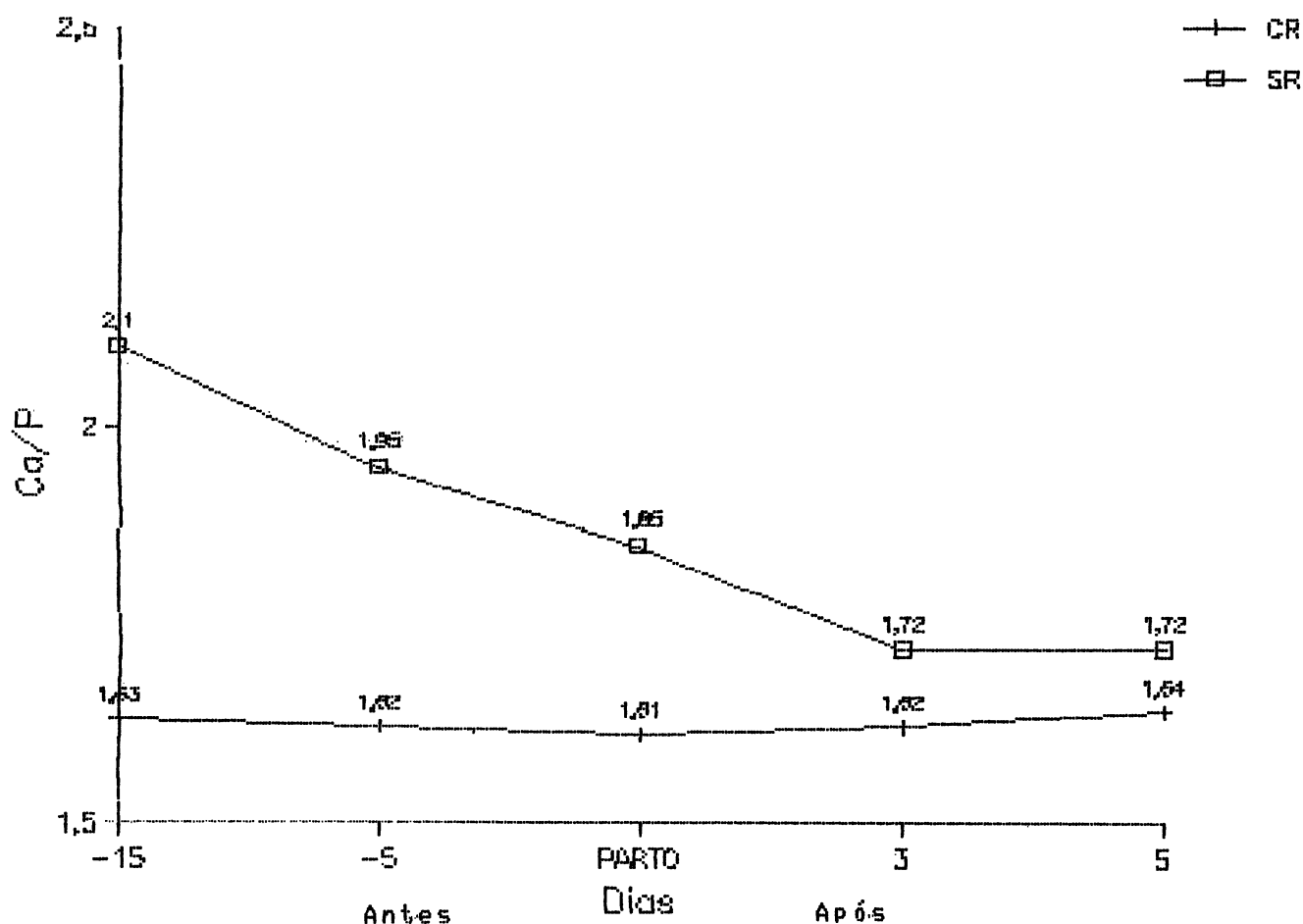


Figura 3. Relação cálcio/fósforo de vacas leiteiras SR (n=23) e CR (n=16), no período peripartal. ($P < 0,01$).

4.2.3 PROTEÍNAS TOTAIS

Os resultados obtidos para as proteínas totais, (PT) são mostrados na figura 4. Apesar de estatisticamente não se concluir significância, estes dados foram muito elucidativos no estudo das variações de suas frações.

Antes da parturicção, os níveis de PT foram mais elevados para o grupo CR. ($7,1 \pm 0,7$ e $7,3 \pm 1,2$ contra $6,7 \pm 1,0$ e $6,8 \pm 0,8$) do SR. No dia do parto os níveis no SR e CR, estavam

muito próximos um do outro, (6.9 ± 0.9 e 7.0 ± 1.1) respectivamente, porém no puerpério houve inversão da situação devido aos "problemas apresentados" pelos animais do grupo CR, os quais tiveram proteínas cindidas e níveis de uréia aumentados.

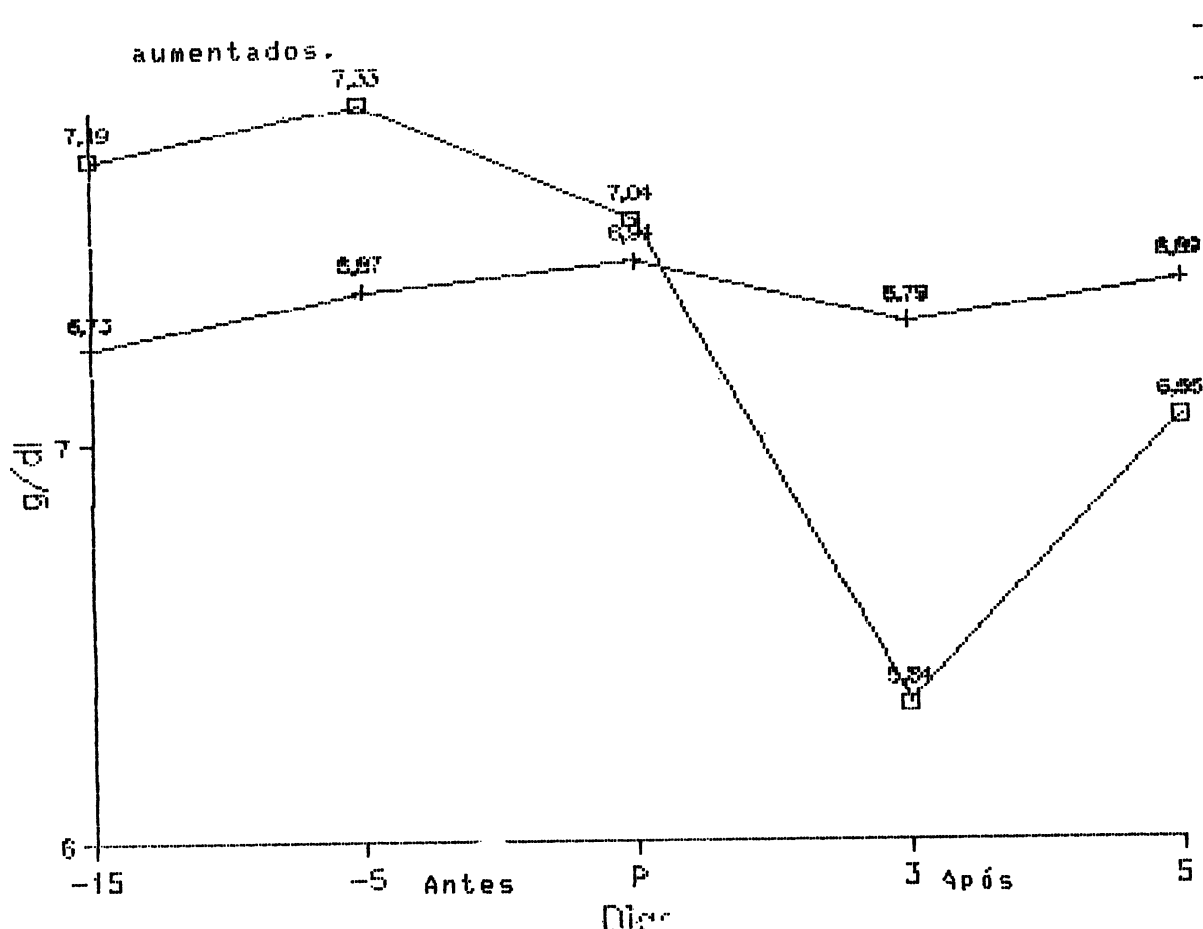


Figura 4. Perfil de proteínas totais no soro de vacas leiteiras SR (n=23) e CR (n=16), no período peripartal.

4.2.4 ALBUMINA

A figura 5, mostra os dados de albumina, que como era de se esperar, não foram significativos entre os grupos. Observando-se as curvas de ambos os grupos verifica-se leve e gradual queda dos níveis séricos.

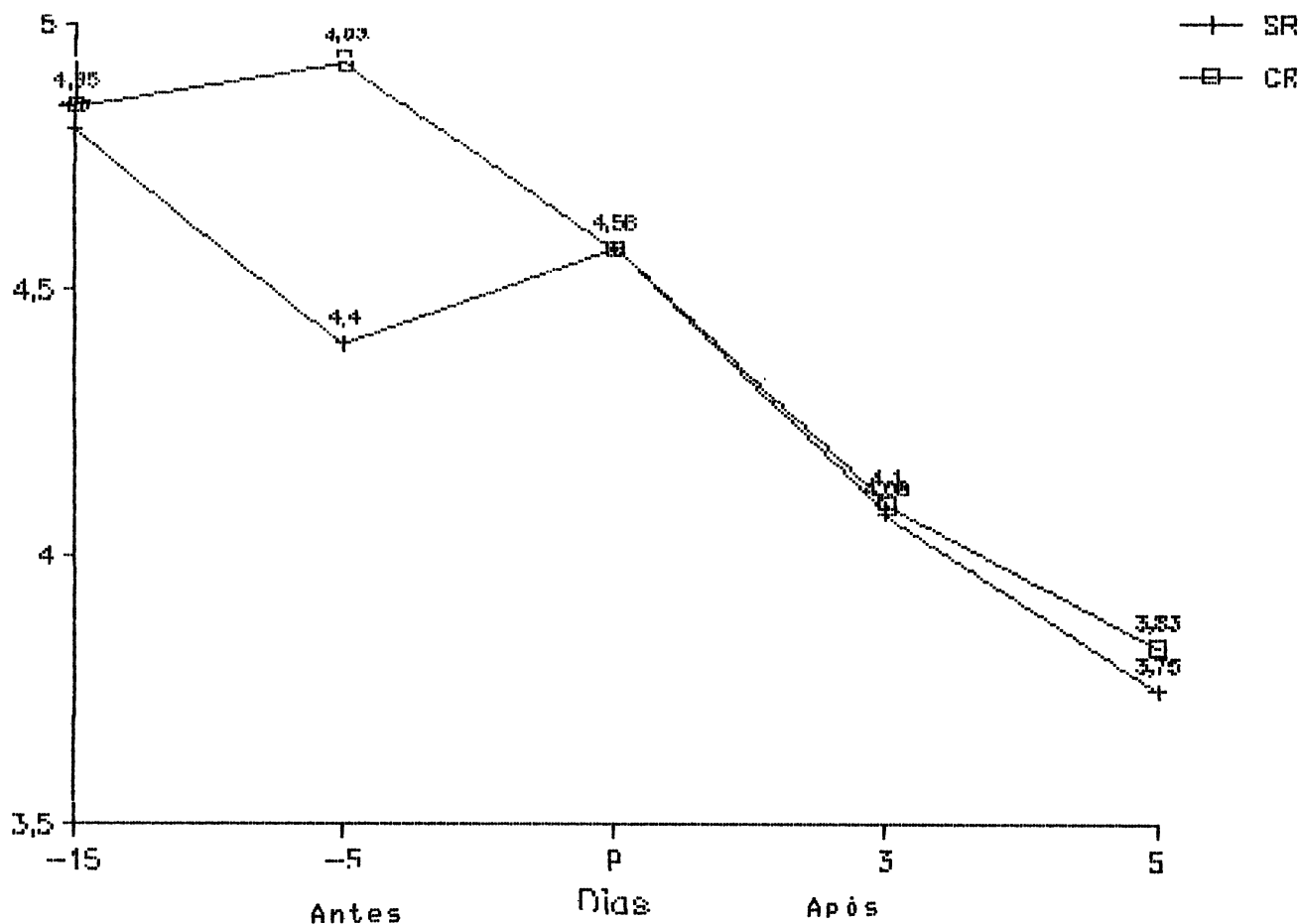


Figura 5. Perfil dos teores de albumina no período peripartal de vacas leiteiras SR (n=23) e CR (n=16).

4.2.5 COLESTEROL

Os dados obtidos do colesterol foram muito elucidativos para o estudo da RP, com significância de ($P < 0,01$) entre os grupos CR e SR. No 5º dia antes do parto, houve incremento das concentrações plasmáticas de colesterol em relação ao 15º dia antes do parto. A partir deste dia diminuíram consideravelmente em ambos os grupos.

Isso demonstra que os níveis circulantes encontrados são mais elevados no grupo CR do que no SR, com diferença marcante nos 15 dias que antecedem à parturicção.

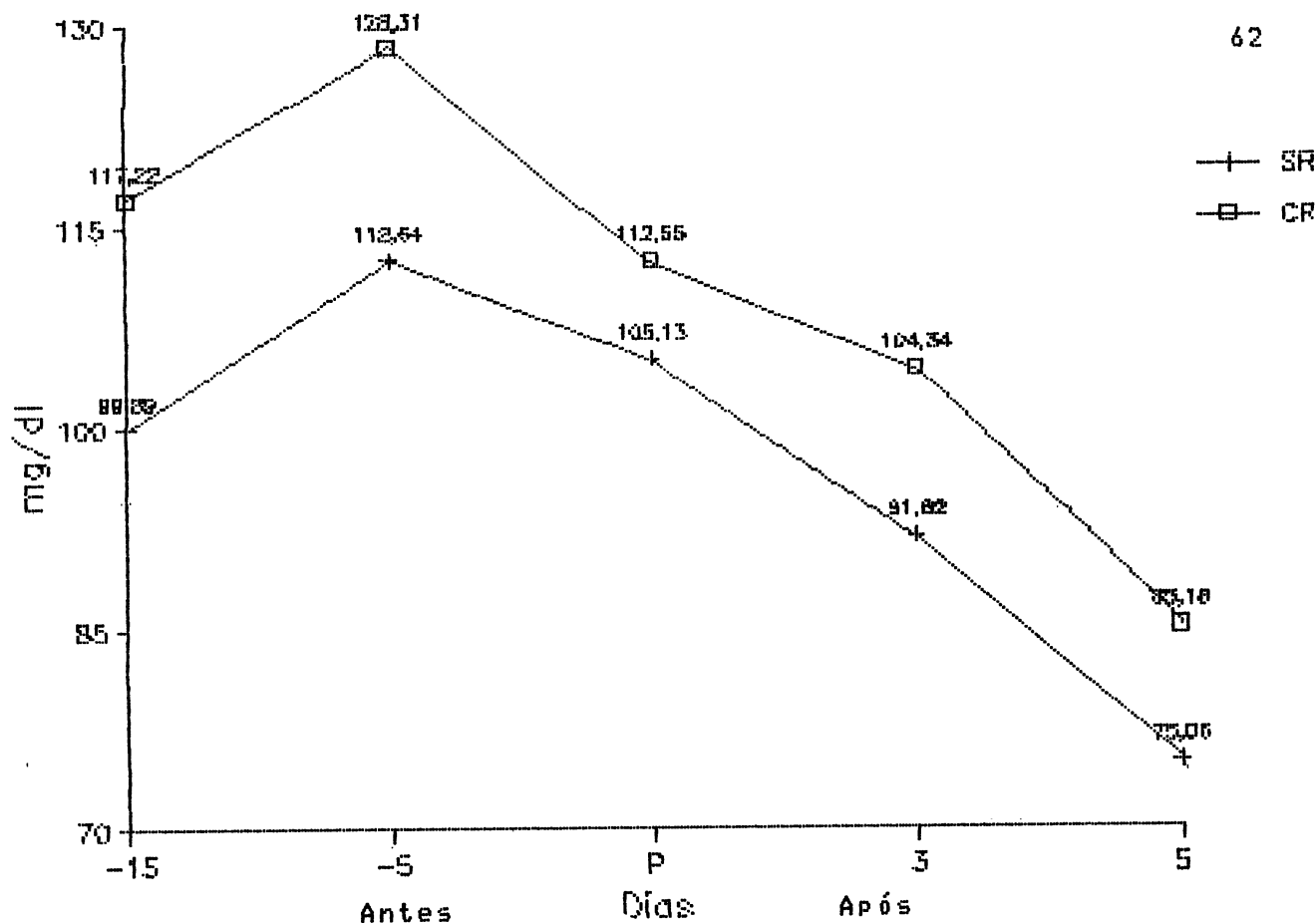


Figura 6. Perfil do colesterol no soro de vacas leiteiras nos últimos 15 dias de gestação, no dia do parto e nos 5 dias após a parturição. Vacas SR (n= 23) e CR (n=16), ($P < 0,01$).

4.2.6 URÉIA

A figura 7, mostra as curvas obtidas para a uréia permitindo dados conclusivos quanto à RP. Via de regra, a uréia, em todo o perfil do período peripartal apresentou-se mais elevada que os valores tidos como normais para os bovinos fora do parto.

Aos dias -15 e -5 antes do parto os valores presentes no plasma, apresentaram diferenças pequenas. Porém a partir do dia da parturição ocorreram diferenças significativas, com aumentos consideráveis nos níveis do grupo CR. Este aspecto demonstra

aumento do catabolismo, degeneração placentária e aumento da excreção de nitrogênio no grupo de placenta retida. A partir do dia do parto as concentrações plasmáticas apresentaram maiores variações entre os grupos, fato demonstrado pelo desvio padrão elevado.

Não foram observadas correlações com a dieta protéica ou energética, oferecida aos animais no grupo CR.

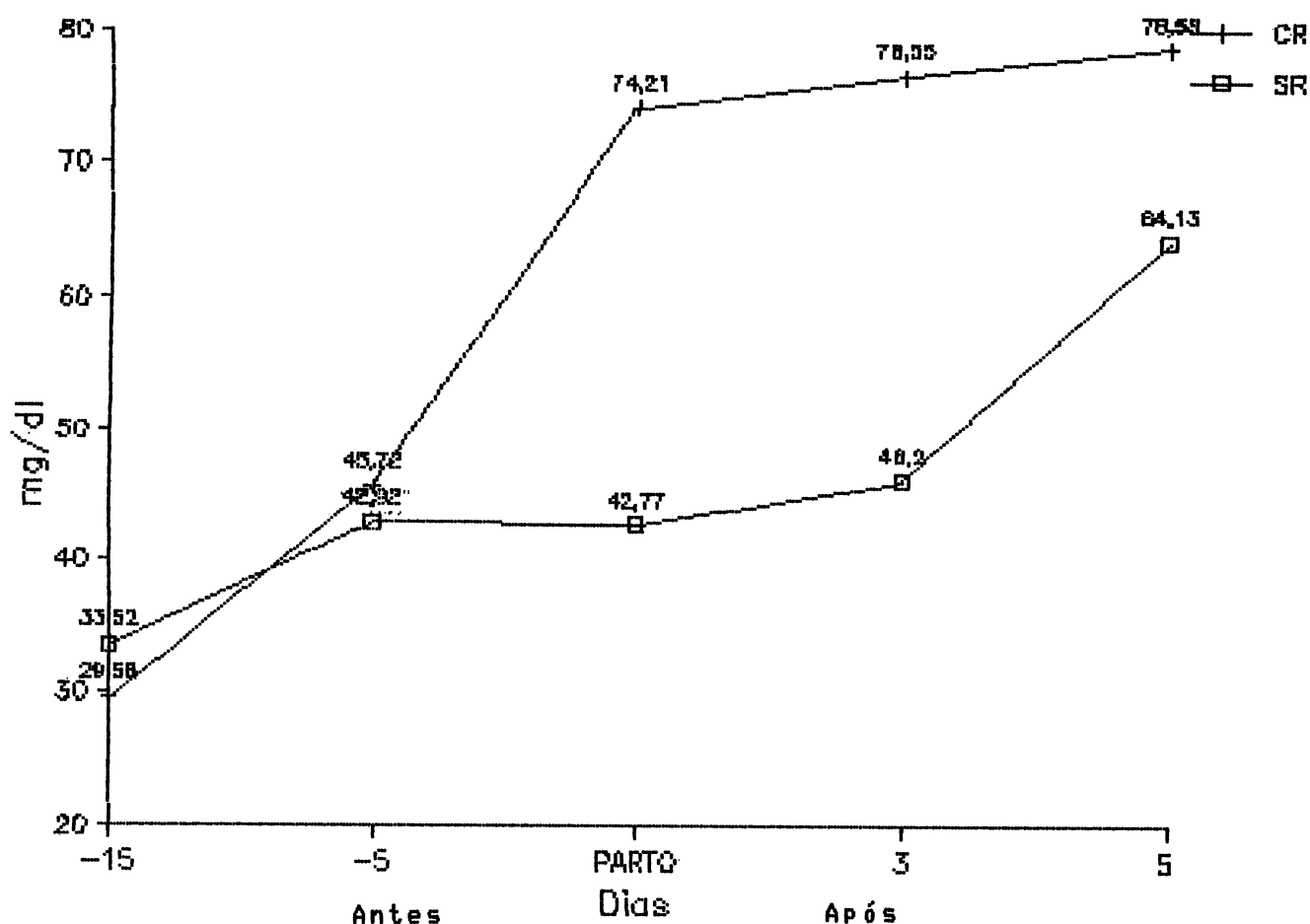


Figura 7. Perfil de uréia no soro de vacas leiteiras SR (n=23) e CR (n=16), nos 15 dias finais de gestação, no dia do parto e nos 5 dias que se sucederam à parturicção.

4.2.7 FOSFATASE ALCALINA

Os resultados obtidos para ALP são mostrados na figura 8, em U/l (unidades/litro). Durante todo perfil os resultados mostraram-se elevados para o grupo com placenta retida, embora o grupo SR apresentasse níveis mais elevados que os valores tidos como normais, (0-30 U/l).

Ocorreram maiores variações de concentrações plasmáticas no grupo CR, demonstrado pelo desvio padrão elevado para estes animais.

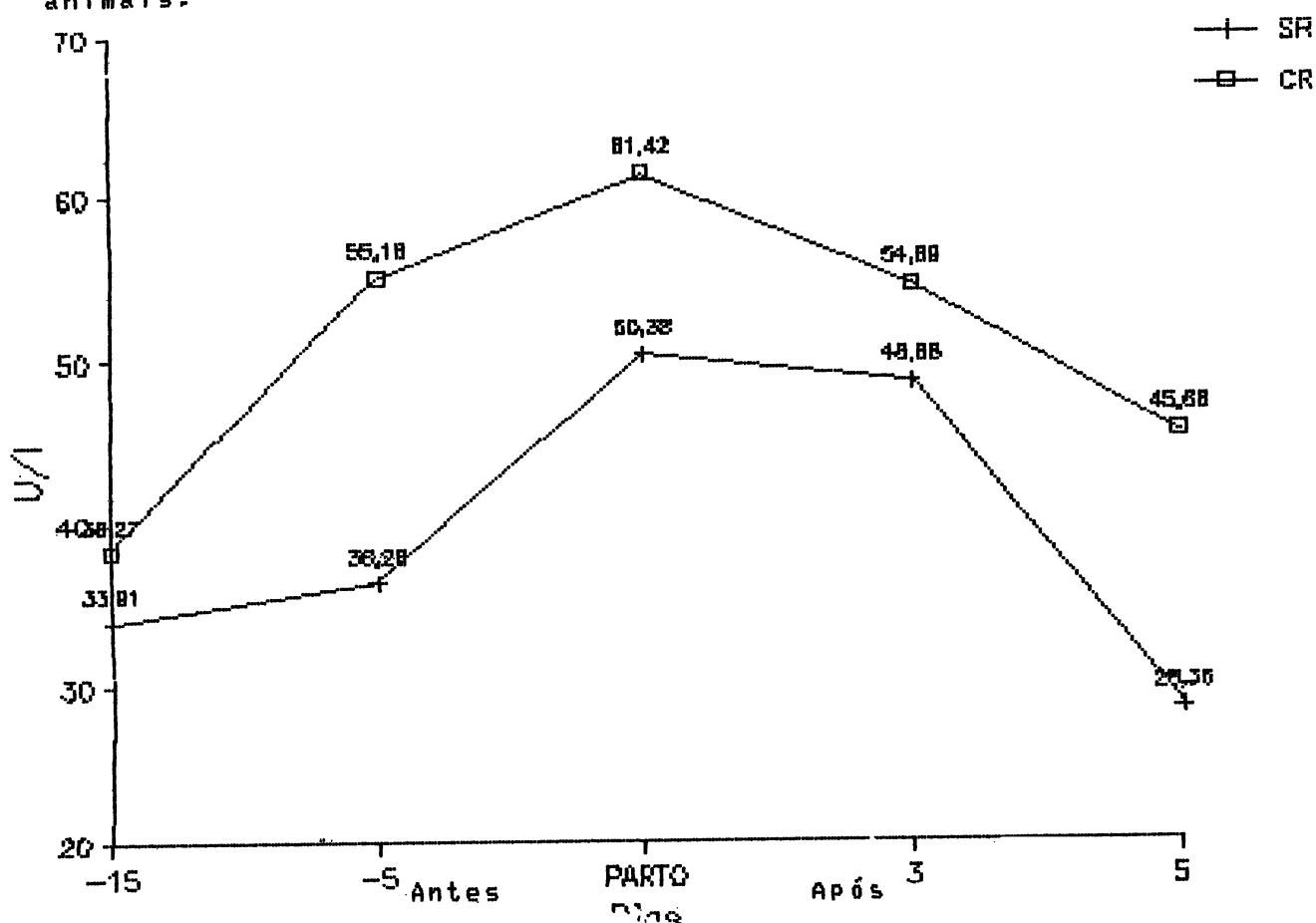


Figura 8. Perfil da fosfatase alcalina, em vacas leiteiras SR (n=23) e CR (n=16), no período peripartal, (P < 0,05).

Os níveis do grupo SR aumentaram abruptamente de 33,9 ± 12,2 (dia -15) para 50,3 ± 20,0 (Tabela 10), na parturição,

mantendo-se elevados por 3 dias após o parto, retornando posteriormente aos valores normais. As diferenças entre os grupos apresentaram significância a nível de ($P < 0.05$). Os animais SR não apresentaram alterações patológicas.

4.2.8 FOSFATASE ACIDA

A figura 9, mostra os dados obtidos para ACP, em U/l; cujos resultados embora não significativos entre os grupos ($P > 0.05$), são bastante sugestivos. A literatura consultada indica valores aumentados para ACP em casos com delivramento normal da placentá, ao se trabalhar com placentomas; porém com a enzima circulante no plasma, os resultados encontrados

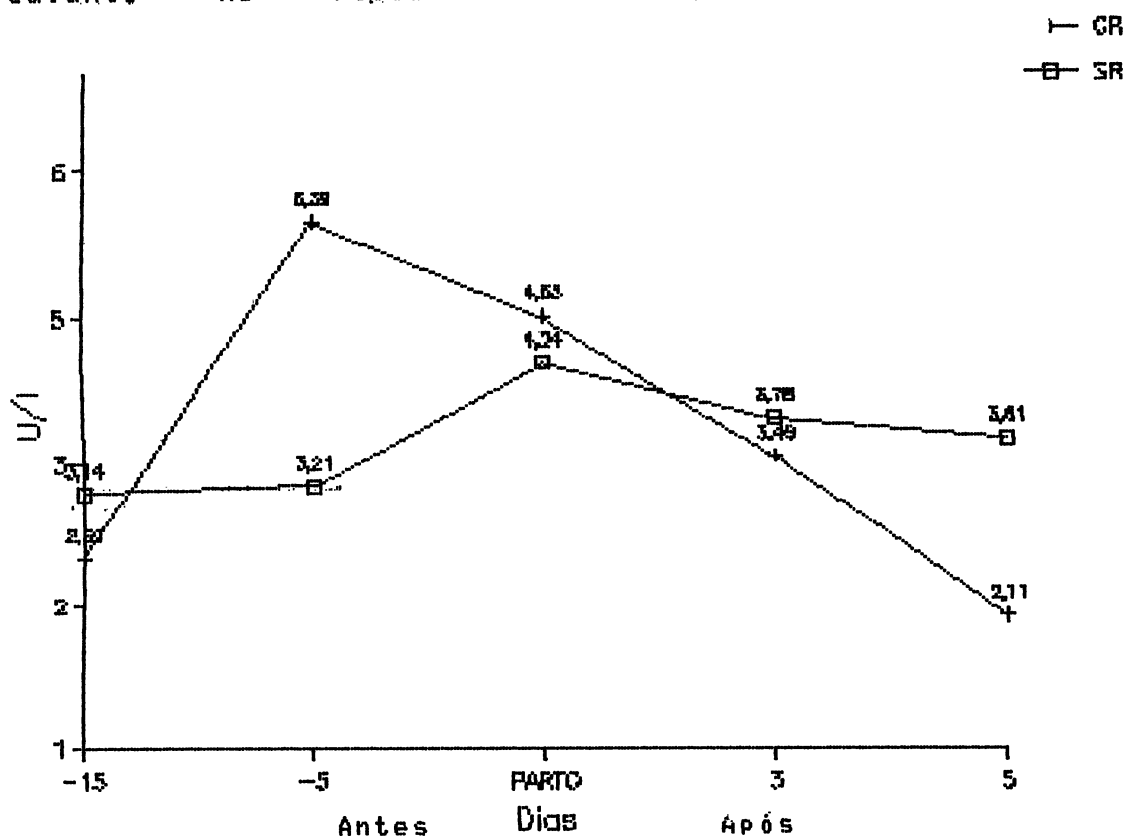


Figura 9. Atividade da fosfatase ácida no período peripartal de vacas leiteiras SR (n=23) e CR (n=16).

revelaram concentrações sanguíneas dentro dos padrões fisiológicos, mais elevadas para o grupo CR. O mesmo grupo também apresentou maiores variações entre os animais pesquisados no 5º dia antes do parto.

4.2.9 DESIDROGENASE LACTICA

O perfil obtido para LDH, em U/l, revela concentrações semelhantes para ambos os grupos nas amostras colhidas antes do parto. A partir da parturicção, até o 3º dia inclusive, observou-se significativo incremento nos níveis séricos ($P < 0,05$), no grupo CR. Animais do grupo SR apresentaram

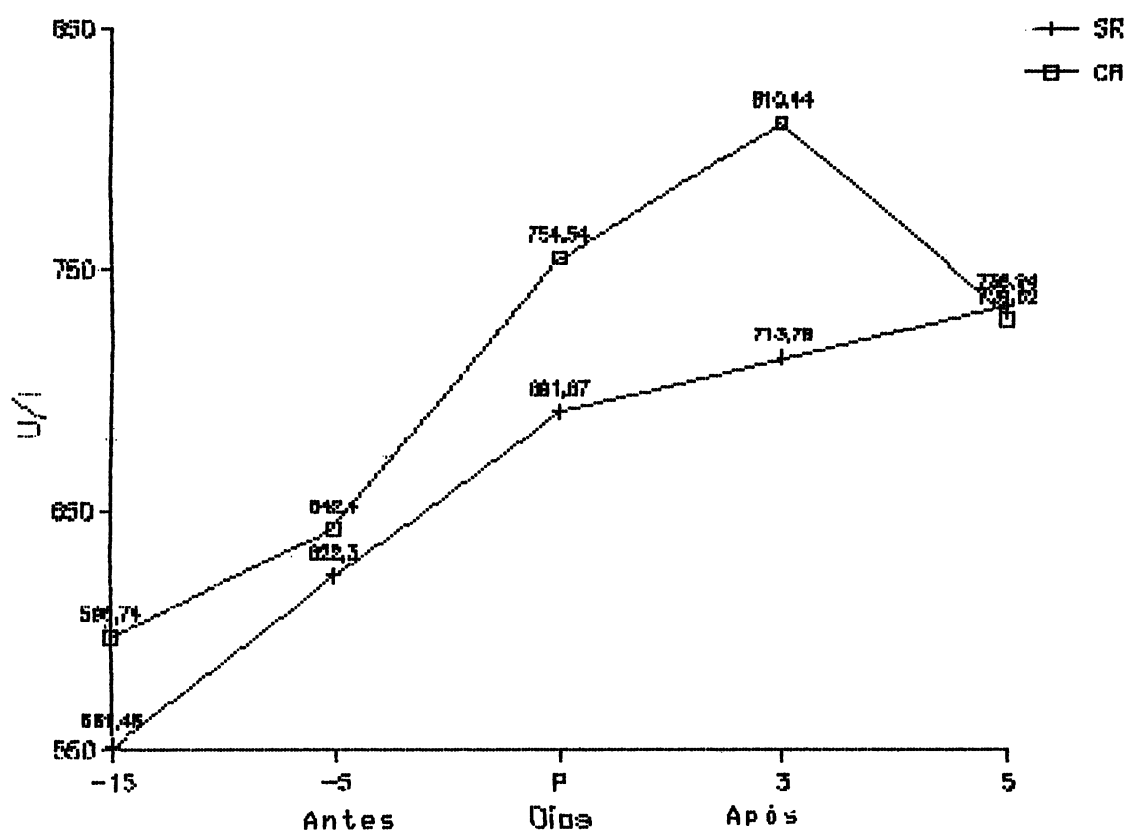


Figura 10. Perfil da desidrogenase láctica, no período peripartal de vacas leiteiras com e sem retenção de placenta ($P < 0,05$).

semelhantemente aumentos nos níveis como se observa na figura 10, contudo menos marcante. Nas vacas do grupo CR o aumento da LDH indica processo infeccioso iniciando-se, ainda sem a apresentação clínica de endometrite e mastite. Curiosamente as variações de animal para animal observadas nas concentrações do grupo SR, foram maiores a partir da parturicção.

4.2.10 ASPARTATOAMINOTRANSFERASE

A figura 11, mostra os resultados para AST em U/l. Apesar desses dados não acusarem significância, observou-se

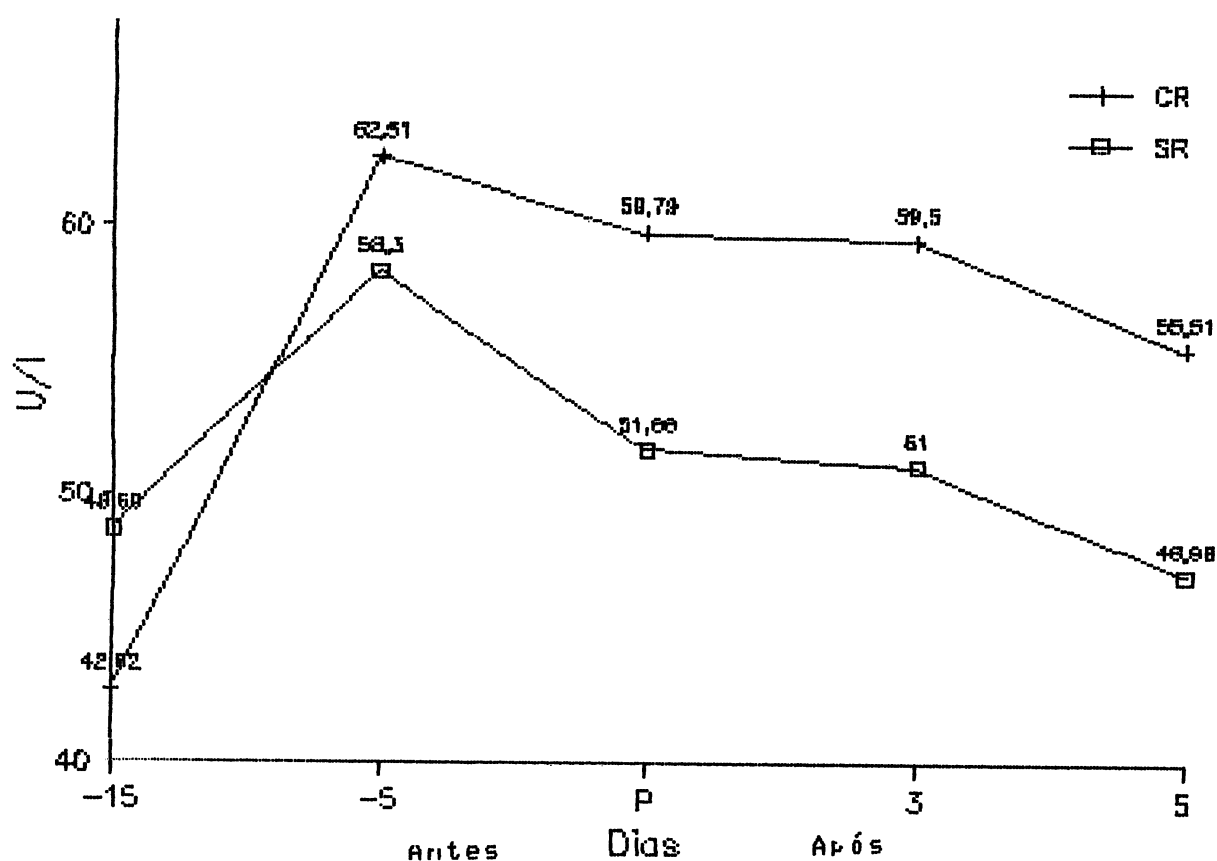


Figura 11. Atividade da Aspartatoaminotransferase no período peripartal de vacas leiteiras SR (n=23) e CR (n=16).

maiores concentrações no grupo CR, a partir do 5º dia antes do parto. Há nesse fato um relacionamento importante. Os animais que retiveram os anexos fetais, pariram via de regra antes da data prevista, estando o incremento das concentrações de AST relacionadas com a liberação de substâncias celulares, antecipadamente, para atender as demandas na parturição. Os níveis encontrados para ambos os grupos foram mais elevados que os parâmetros normais (10-50 U/l), desde os 5 dias que antecediam ao parto, porém muito altos nos animais do grupo CR.

4.3 ELETROFORESE DAS PROTEÍNAS PLASMÁTICAS NO SORO BOVINO

4.3.1 RELAÇÃO ALBUMINA/GLOBULINA, (A/G)

A relação A/G em torno da parturição foi calculada por diferença entre as proteínas totais e albumina ($G=PT-A$), e confirmada pela separação através da eletroforese em fita de acetato de celulose. Os resultados obtidos com 4 animais de cada grupo (40 amostras) embora não significativas demonstraram que essa relação é importante no estudo da RP.

A figura 12 expõe os dados obtidos com as vacas de número 33 e 39 do experimento, respectivamente do grupo SR e CR mostrando claramente as diferenças entre os grupos. A vaca do grupo SR apresentava relação maior que 1,0 nos dias que antecederam ao parto, caindo em seguida para 0,5.

Resultados opostos foram verificados com a vaca do grupo CR, que antes do parto mantinha valores normais, elevando-se nos teores de albumina no dia da parturição, decrescendo somente no 5º dia pós-parto.

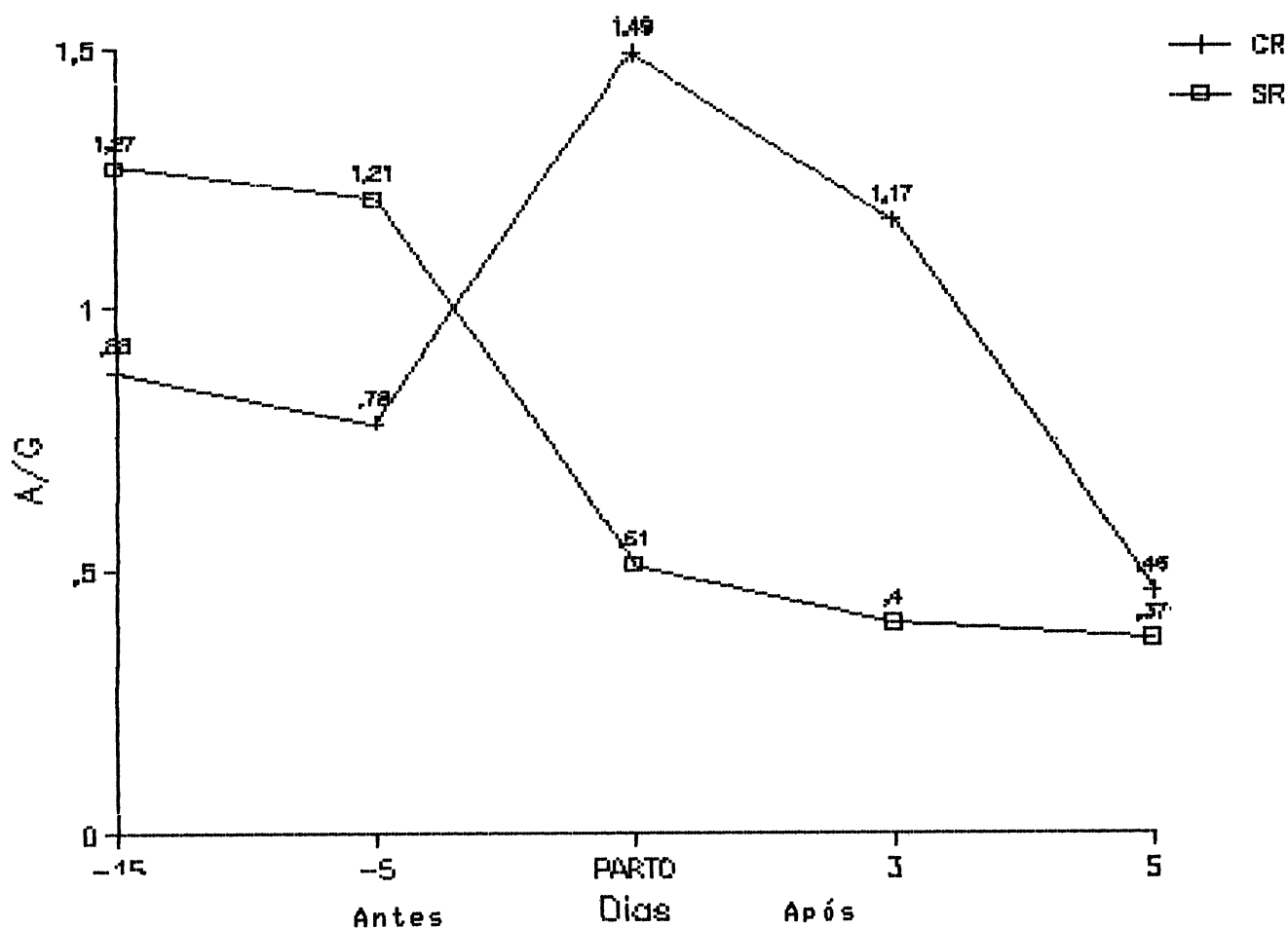


Figura 12. Relação A/G em vacas leiteiras SR (n=23) e CR (n = 16), nos 15 dias e 5 dias que antecederam ao parto, no dia do parto e no 3º e 5º dia após a parturicção.

Essa relação pode ser melhor entendida ao se observar as figuras 13 e 14, que mostram respectivamente as variações entre albumina e globulina, destas mesmas duas vacas do experimento.

A figura 13 traduz as alterações ocorridas na vaca número 33. Anteriormente ao parto havia mais albumina do que globulina, situação que inverteu-se enormemente no parto com acentuado aumento das globulinas, podendo-se considerar como existência de grande reação orgânica, comum no parto de bovinos, mais detalhada na figura 15.

A vaca número 39 apresentou perfil diferente. Nas amostras colhidas antes da parturicção predominavam as globulinas, que somente aumentaram no 5º dia pós-parto, quando diminuiu a albumina, atingindo valores semelhantes ao animal SR, pois antes essa fração estava abaixo do normal e manteve-se constante até o 3º dia após a parturicção. O fracionamento das globulinas desse animal será melhor estudado na figura 16.

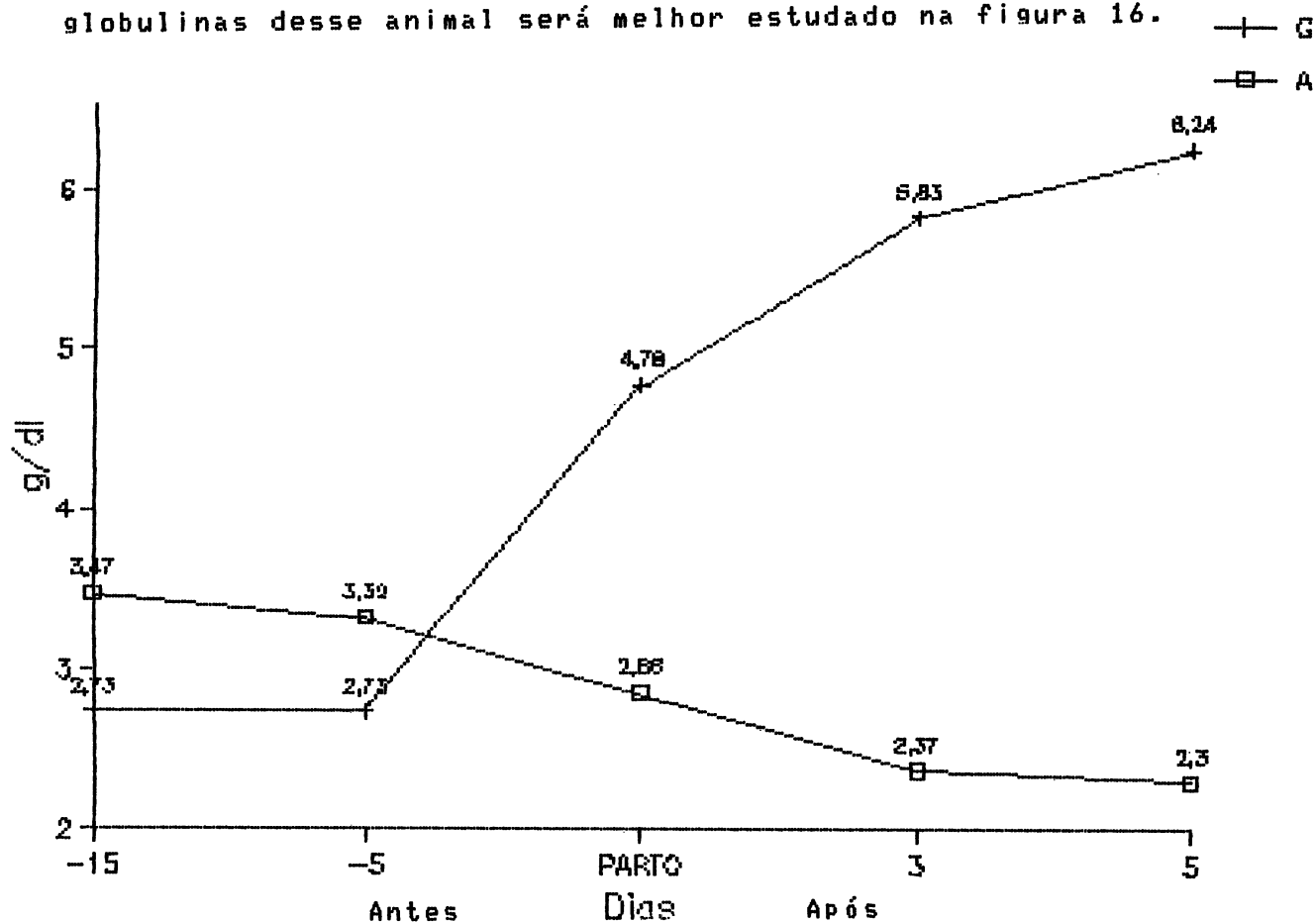


Figura 13. Relação A/G da vaca número 33, do grupo SR, durante o período peripartal, demonstrando a elevação dos teores de globulina.

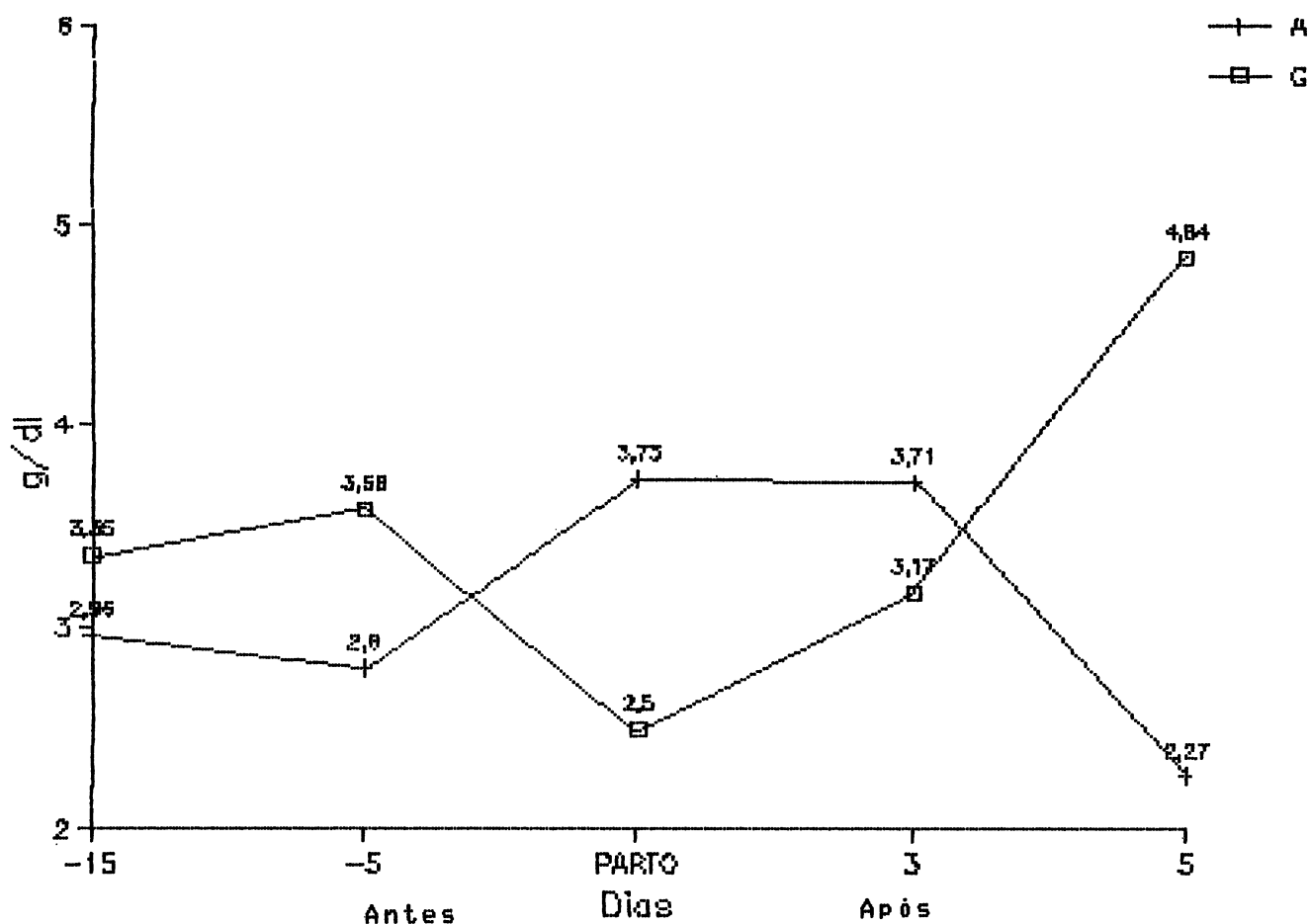


Figura 14. Perfil da relação A/G, na vaca número 39 do grupo CR, no período peripartal.

4.3.2 GLOBULINAS

Os dados das globulinas dos animais 33 e 39 são expostos nas figuras 15 e 16, mostrando resultados bastante conclusivos quando combinados com aqueles das figuras 19, 20 e 21, do item 4.4.

A figura 15 mostra os resultados obtidos com a separação das frações globulínicas do animal do grupo SR. A gama-globulina predominou em todo perfil, de forma que as outras duas frações sempre estiveram abaixo do nível de 1,0 g/dl. Resultados opostos

são observados na figura 16, mostrando as três globulinas do animal do grupo CR, o qual "esbocou" reação 5 dias antes da parturição, diminuindo seus níveis no dia do parto e somente atingindo valores aceitáveis no 5º dia pós-parto. As frações da alfa e beta-globulinas também demonstraram variações positivas, complementando a outra fração.

As figuras 17 e 18, mostram dados eletroforéticos desses animais.

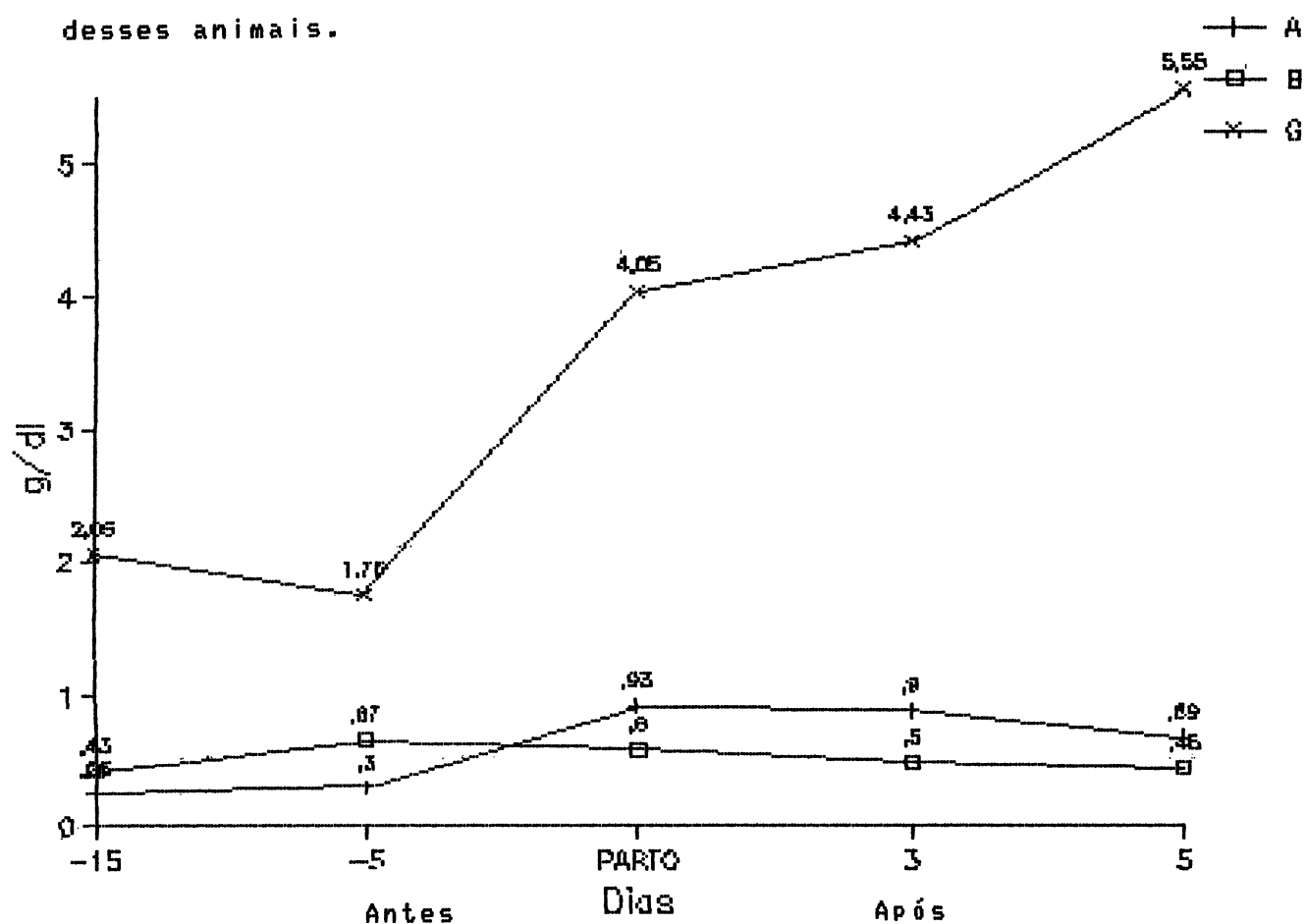


Figura 15. Comportamento das frações de globulinas no soro da vaca número 33, (Grupo SR) durante o período peripartal, expondo a elevação ocorrida da gama-globulina.

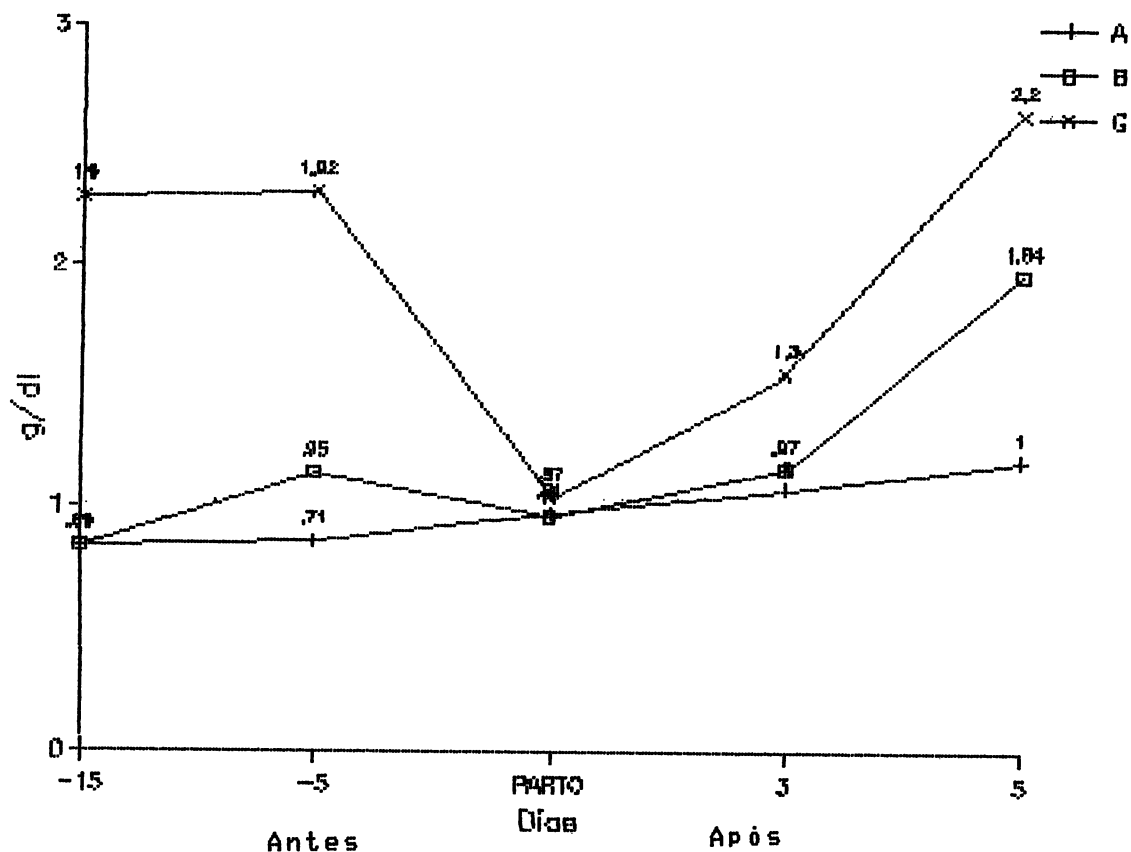


Figura 16. Variações das frações de globulinas séricas na vaca número 39. (Grupo CR), durante o período peripartal, demonstrando incremento dos três tipos a partir do 3º dia após o parto.

4.4 ANALISE DO CONTEUDO DE IMUNOGLOBULINAS NO SORO SANGUINEO, COLOSTRO E LEITE

Os dados obtidos de imunoglobulinas podem ser vistos na tabela 11, em mg/dl, onde constam as taxas de IgM, IgG e IgA presentes no soro (período peripartal), no colostro (dia da parturicção) e no leite (3º ou 5º dia após o parto). Esses resultados combinados com dados protéicos do plasma, elucidam bastante os achados deste experimento, para vacas do grupo SR e CR.

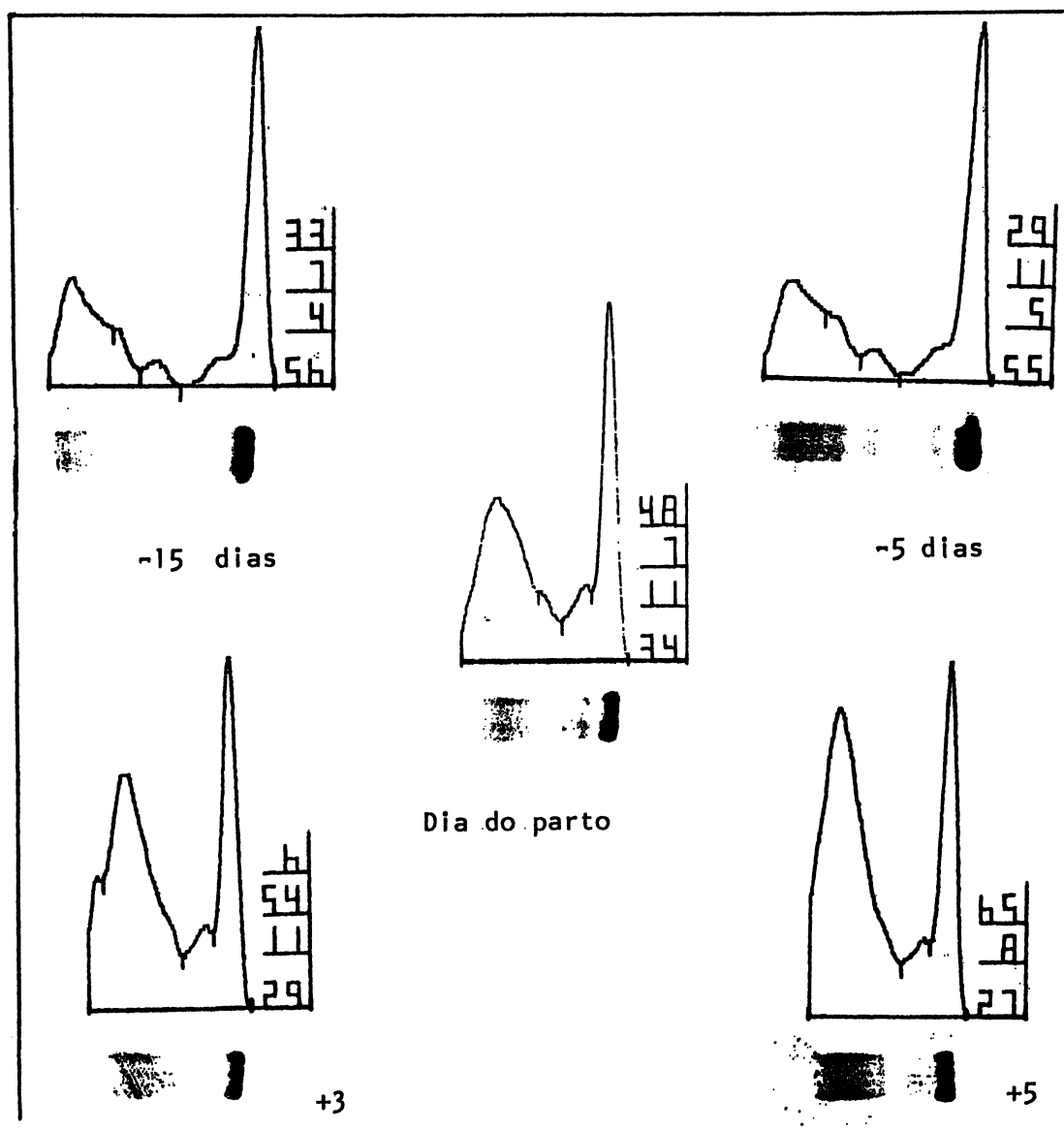


Figura 17. Perfis eletroforéticos da vaca número 33 do grupo SR, no período peripartal.

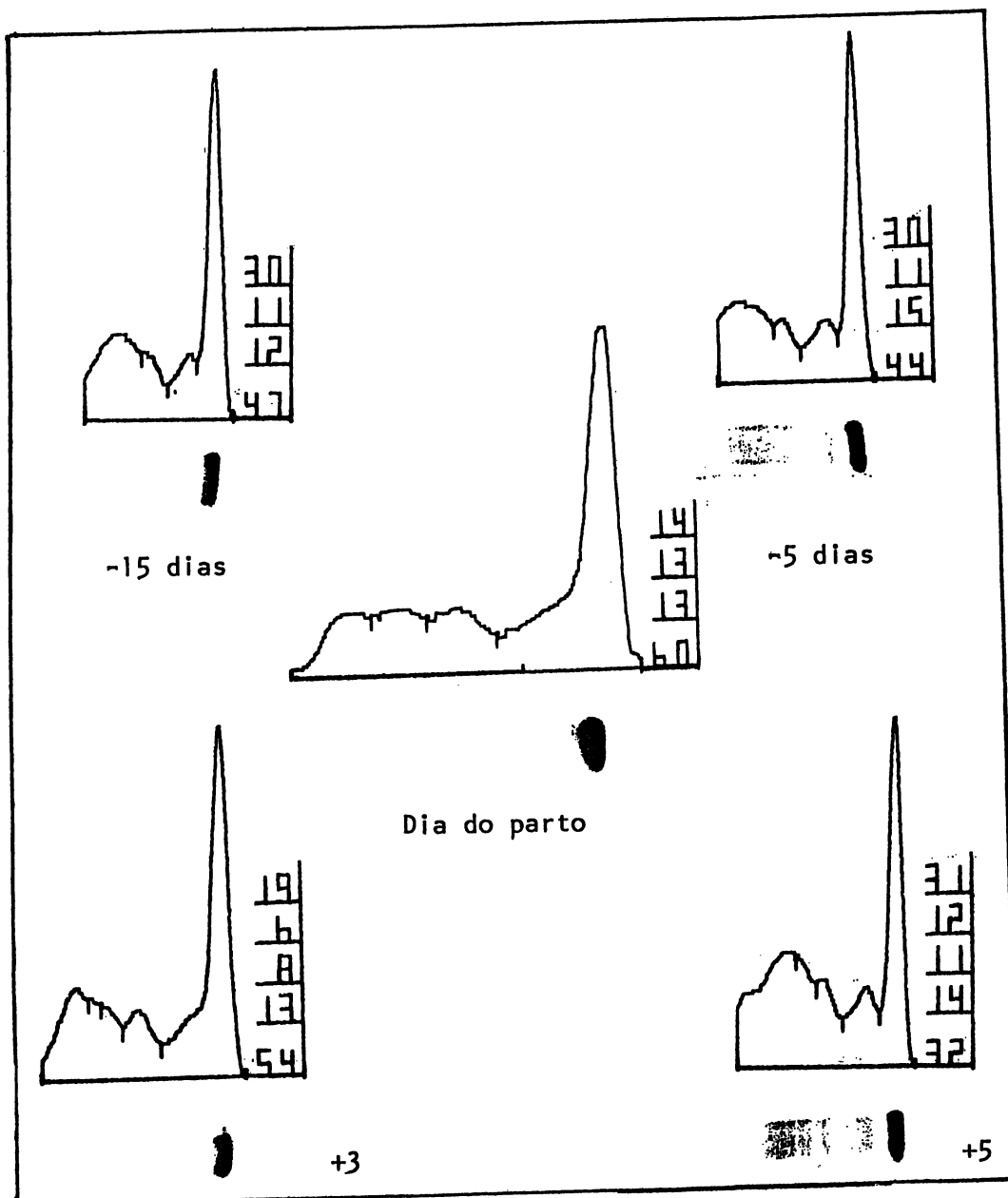


Figura 18. Perfis eletroforéticos da yaca número 39, do grupo CR, no período peripartal.

TABELA 11 - PERFIL DE IMUNOGLOBULINAS NO SORO SANGUÍNEO, COLOSTRO E LEITE DE VACAS LEITEIRAS COM E SEM RETENÇÃO DE PLACENTA, NOS ÚLTIMOS 15 DIAS DE GESTAÇÃO, NO DIA DO PARTO E NO 3º E 5º DIA PÓS-PARTO (n=16)

Material	Ig. determin.	Grupo - Dias	-15	-5	0	3	5
Soro	IgG	SR	2480+ 677,68	2420+ 629,44	2430+ 680,60	2590+ 684,63	2580+ 853,16
		CR	2080+ 683,43	2050+ 501,46	2080+ 461,11	2130+ 462,26	2160+ 668,49
	IgM	SR	328+ 126,18	305+ 58,74	362+ 68,44	298+ 126,70	266+ 142,62
		CR	278+ 111,14	210+ 138,68	221+ 133,18	199+ 118,83	207+ 120,68
	IgA	SR	20,3+ 2,51	27,3+ 3,04	24,3+ 6,02	30,0+ 8,66	15,3+ 6,42
		CR	41,6+ 28,86	50,3+ 15,50	39,0+ 13,07	39,3+ 4,50	41,0+ 14,73
Colostro	IgG				3420+ 1325,10		
					4026+ 1754,56		
	IgM				196+ 57,73		
					454+ 306,31		
	IgA				266+ 249,79		
					191+ 154,43		
leite	IgG	SR					341+ 65,10
		CR					390+ 152,37
	IgM	SR					27,5+ 0,70
		CR					41,0+ 19,79
	IgA	SR					39+ 6,67
		CR					19+ 9,04

4.4.1 SORO SANGUINEO

4.4.1.1 Imunoglobulina M

A figura 19 expõe os resultados obtidos na dosagem de IgM no soro sanguíneo de 16 animais pesquisados, dos quais 8 são do grupo SR e 8 do CR, com significância de ($P < 0,001$).

Os animais que expeliram a placenta fetal dentro do período fisiológico, apresentaram níveis muito mais elevados de IgM que o grupo CR. As duas curvas estão dentro dos valores normais, revelando que as vacas do grupo CR, ou produziram menores quantidades de IgM, ou a demanda da mesma teria sido maior que no grupo SR.

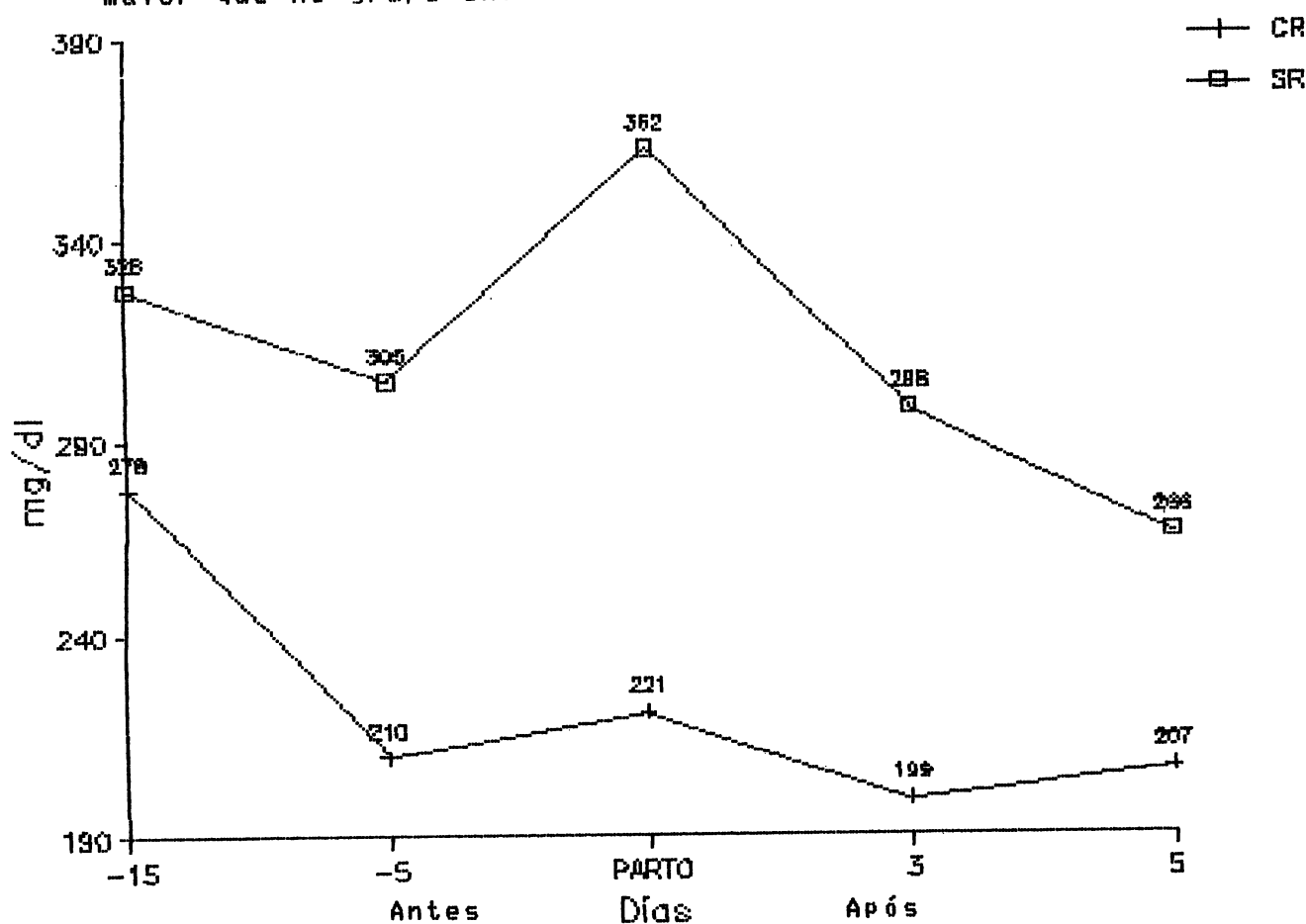


Figura 19. Perfil da IgM no soro sanguíneo de vacas SR e CR no período peripartal. ($P < 0,001$).

4.4.1.2 Imunoglobulina G

A segunda imunoglobulina produzida quando o organismo bovino é solicitado, mostra resultados semelhantes dentro dos padrões normais para a espécie bovina. As curvas de ambos os grupos evoluíram quase paralelamente, com concentração significativamente maior de IgG em animais do grupo SR, resultando em significância a nível de ($P < 0,001$).

Ao se observar na tabela 11 o desvio padrão das vacas SR, verificar-se-á que as variações no grupo foram ainda

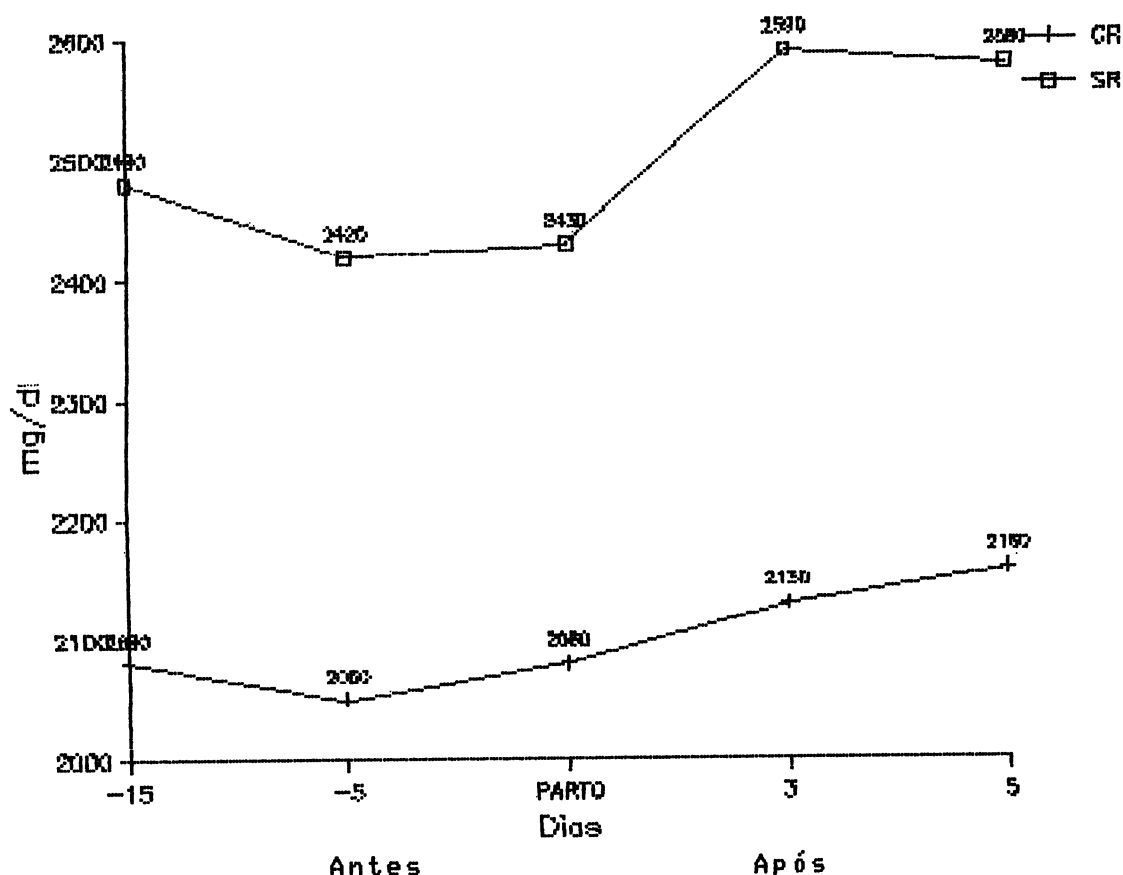


Figura 20. Taxas de IgG no soro sanguíneo de vacas SR e CR nos 15 dias finais de gestação, no dia do parto e no 3º e 5º dia após a parturicção, ($P < 0,001$).

maiores que as verificadas no grupo CR, mostrando que a possibilidade de os animais SR produzirem IgG é melhor que as vacas com placenta retida.

Os dados obtidos para ambos os grupos ao serem submetidos à análise estatística revelam a existência de regressão linear simples, podendo-se afirmar que a repetição do experimento, nas mesmas condições, trará mesmos resultados.

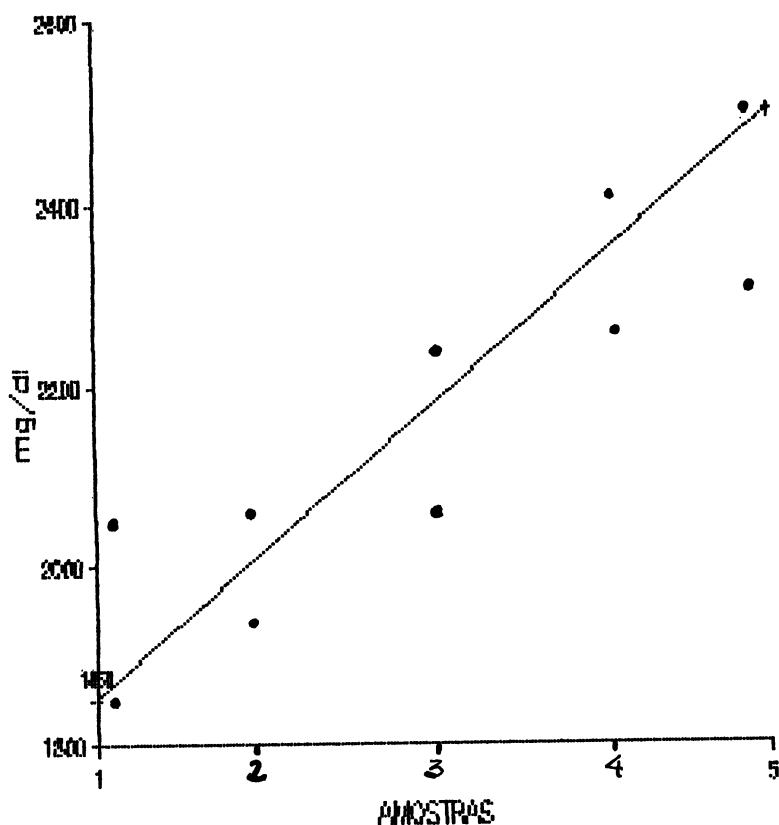


Figura 21. Regressão linear simples aplicada nos eores de IgG dosados no soro sanguíneo de vacas leiteiras SR e CR (n=16), durante o período peripartal. (P<0,001).

4.4.1.3 Imunoglobulina A

Apesar de a IgA ser secretada a nível de epitélios e mucosas, as dosagens sorológicas foram significativas a nível de ($P < 0.001$). Considerando como valores normais entre 10 e 50 mg/dl. (figura 22), as concentrações estão próximas dos limites máximos nos animais do grupo CR, que no geral apresentam perfil bem mais elevado da imunoglobulina, que o grupo SR, com grandes variações de concentrações nas amostras examinadas.

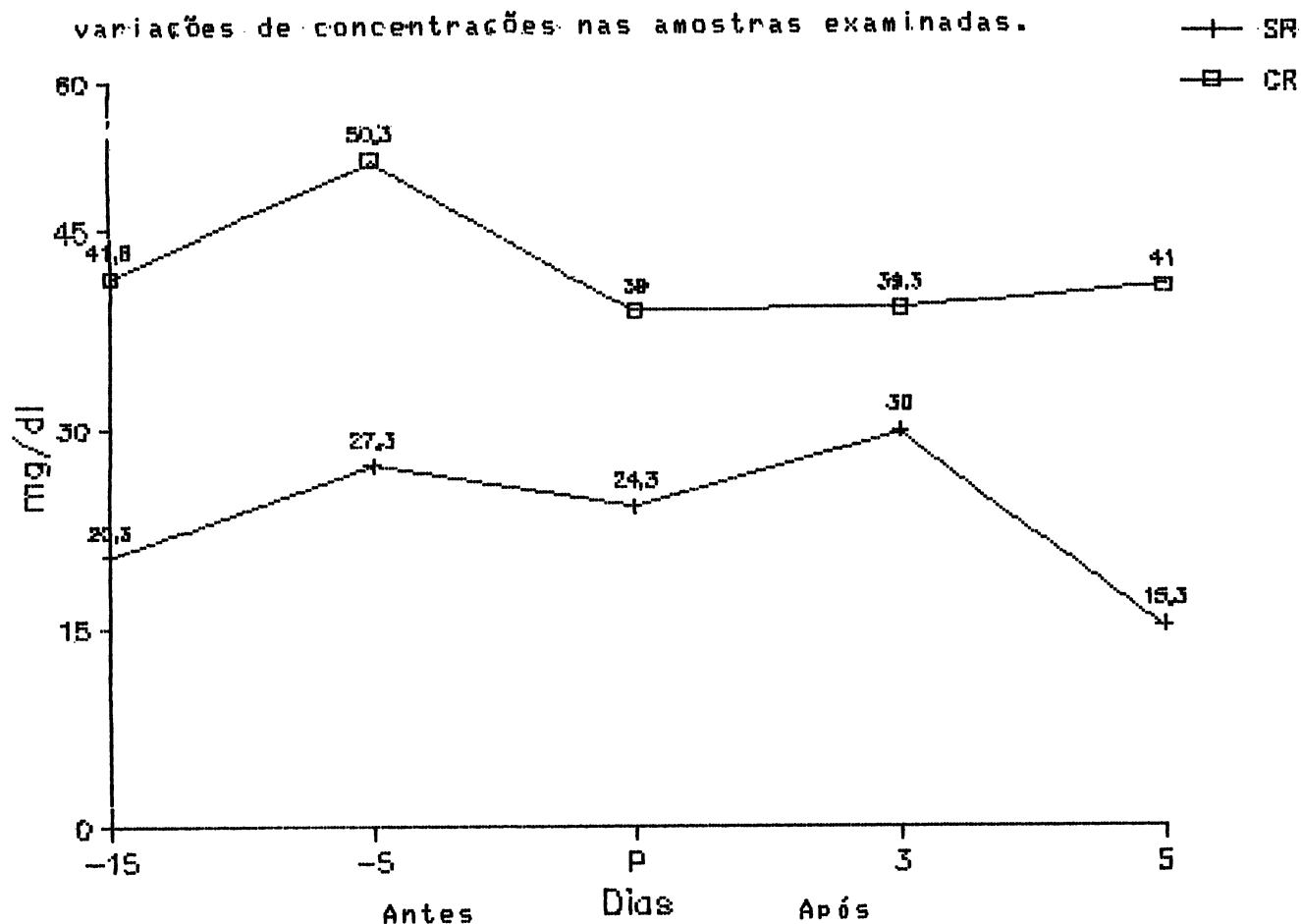


Figura 22. Perfil da IgA no soro sanguíneo de vacas SR e CR (n=16), durante o período peripartal ($P < 0.001$).

4.4.2 COLOSTRO

Os resultados obtidos com as dosagens de IgM, IgG e IgA, no colostro podem ser vistos nas figuras 23, 24 e 25.

Para a IgM observa-se concentrações muito elevadas no colostro dos animais CR, embora dentro de valores tidos como normais. Por outro lado, os animais SR apresentaram valores bastante diminuídos.

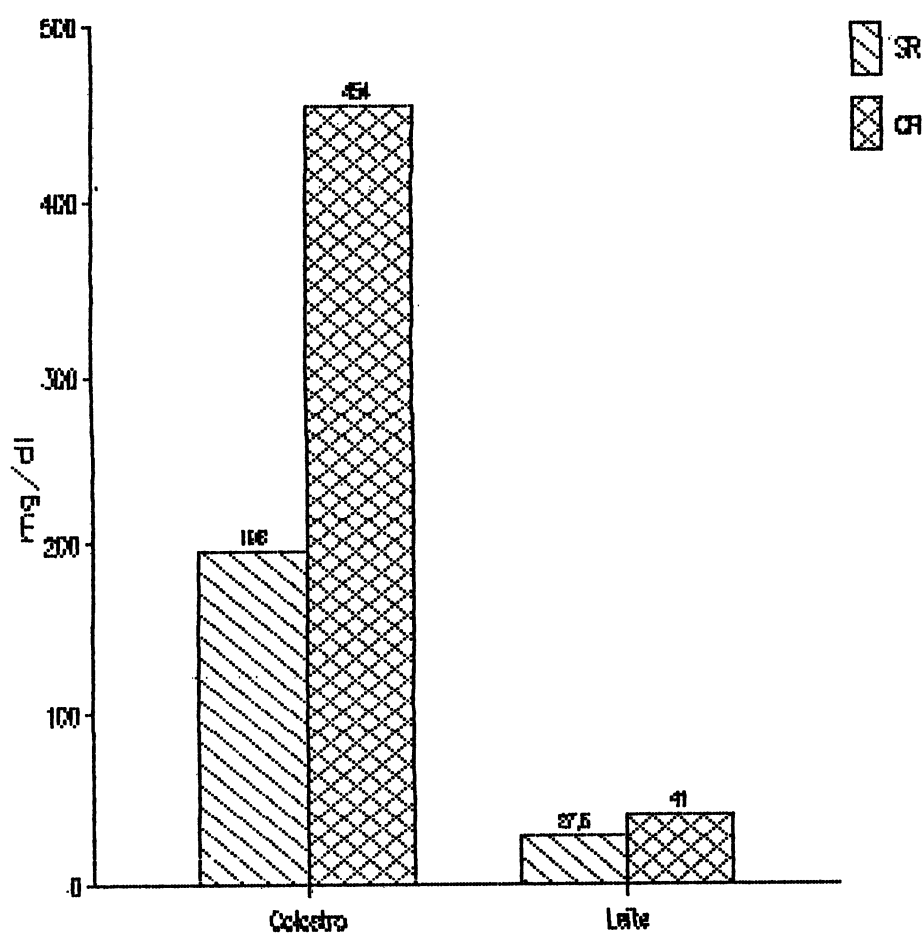


Figura 23. Concentração de IgM no colostro e leite de vacas leiteiras SR e CR, no dia do parto e no 3º dia após a parturição.

Quadro bastante semelhante ocorreu com a IgG. Os valores para ambos os grupos apresentaram diferenças menores que a IgM, porém o desvio padrão mostrou grandes variações no grupo CR.

A imunoglobulina mais importante dosada no colostro foi a IgA, que apresentou resultados opostos as outras, isto é, predominou no grupo SR. As concentrações achadas foram pouco menores que as máximas para o colostro.

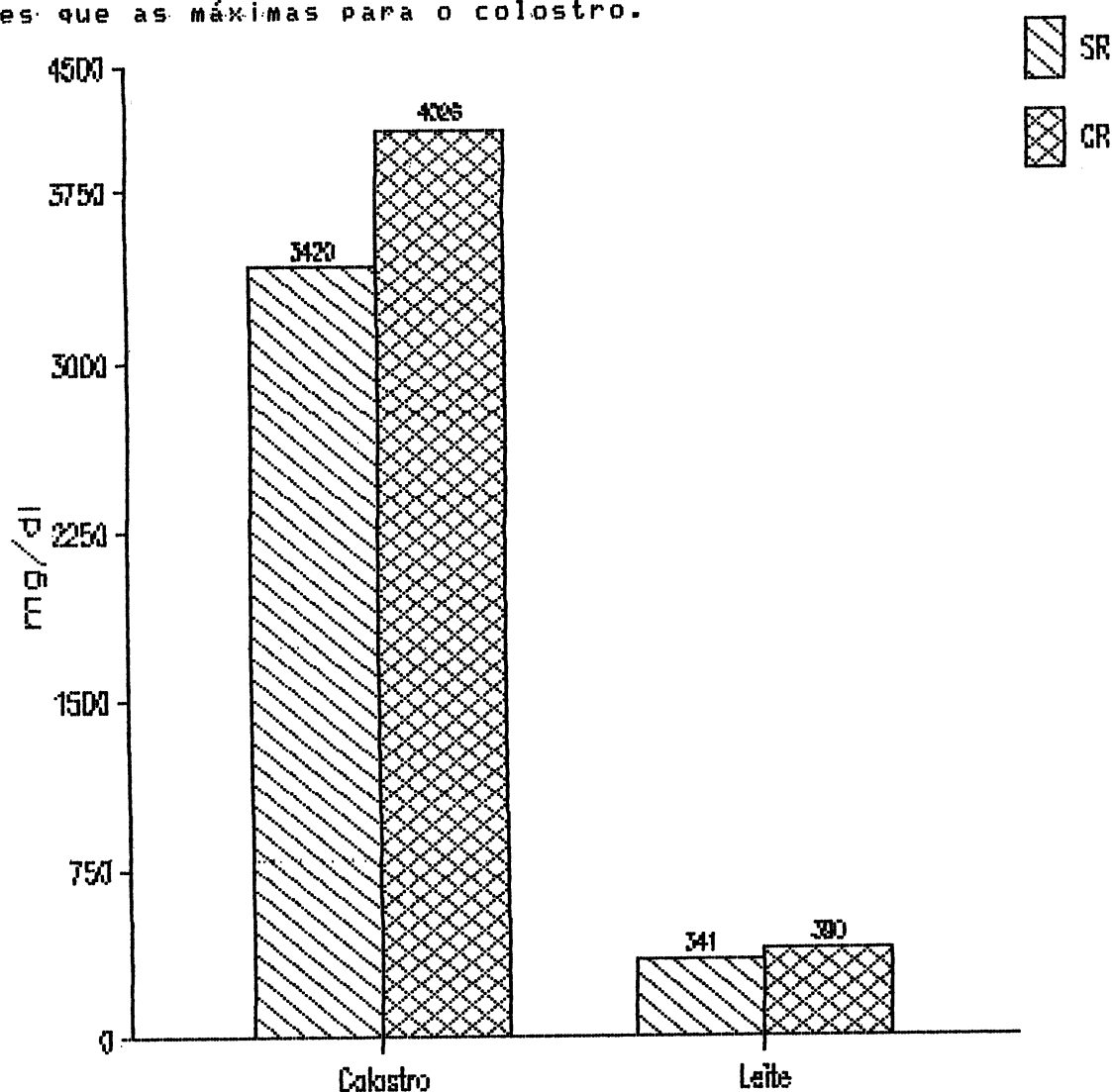


Figura 24. Teores de IgG no colostro e leite de vacas leiteiras SR e CR, no dia do parto e no 3º dia pós-parto, (n=16)

4.4.3 LEITE

As dosagens no leite, podem ser vistas na tabela 11, e representadas nas figuras 23, 24 e 25, com curvas semelhantes as do colostro, porém em concentrações bastante diminuídas como era esperado.

Assim sendo verifica-se predominância de IgM e IgG nas vacas do grupo CR, enquanto que a IgA predominou no grupo SR.

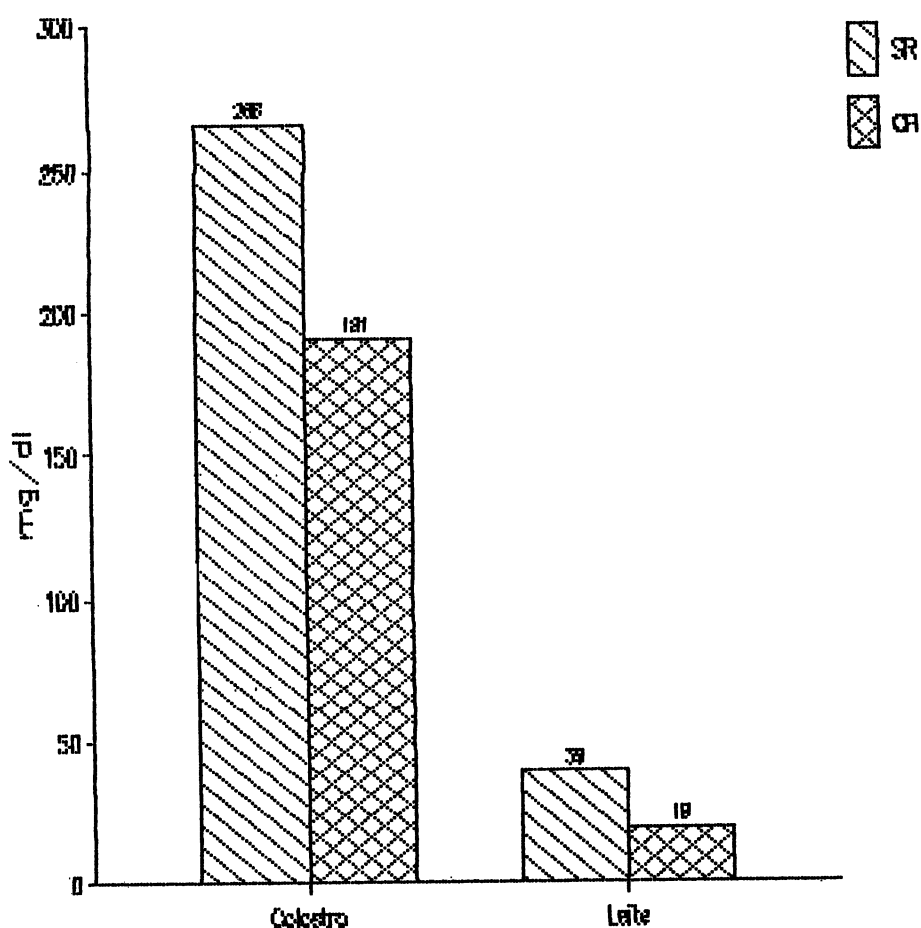


Figura 25. Concentração de IgA no colostro e leite de vacas leiteiras SR e CR no dia do parto e no 3º dia após a parturicão (n=16) ($P < 0,01$)

4.5. LEUCOGRAMA DE VACAS LEITEIRAS NO DIA DA PARTURIÇÃO

Os resultados dos leucogramas podem ser vistos na figura 26.

4.5.1 GRANULOCITOS

Os granulócitos (neutrófilos e eosinófilos) foram observados em todos os animais de ambos os grupos, num total de 39 vacas, apresentando significativas diferenças, ($P < 0,05$).

Quanto aos neutrófilos, (segmentados e bastonetes) as diferenças foram gritantes (14.500 contra 5.100/ml), mostrando que vacas que expeliram normalmente a placenta, possuem maior aporte de neutrófilos, frente aos animais com placenta retida.

Os eosinófilos apresentaram-se em maior número que os padrões normais em ambos os grupos. As diferenças encontradas, (1.400 contra 830/ml), respectivamente para os grupos SR e CR, demonstraram significância entre estes grupos, ($P < 0,05$).

4.5.2 MONOCITOS

Os monócitos são células mononucleadas extremamente importantes no sistema imunológico bovino. Seu número circulante apresentou pouca diferença entre os grupos SR e CR, (660 contra 500/ml), porém a níveis teciduais as diferenças provavelmente foram maiores, pois os monócitos são fagócitos extremamente importantes nos eventos relatados neste trabalho.

Os número de monócitos circulantes permaneceu dentro dos padrões normais para bovinos.

4.5.3 LINFOCITOS

Não menos revestidos de importância os linfócitos, sejam fagócitos ou produtores de anticorpos, foram estudados a parte dos demais leucócitos. O número encontrado para ambos os grupos foram bastante diferentes (SR= 12.500/ml e CR= 8.650/ml) revelando haver maior capacidade de defesa orgânica por parte do grupo de vacas SR, capacidade esta evidente em todos tipos celulares estudados neste âmbito.

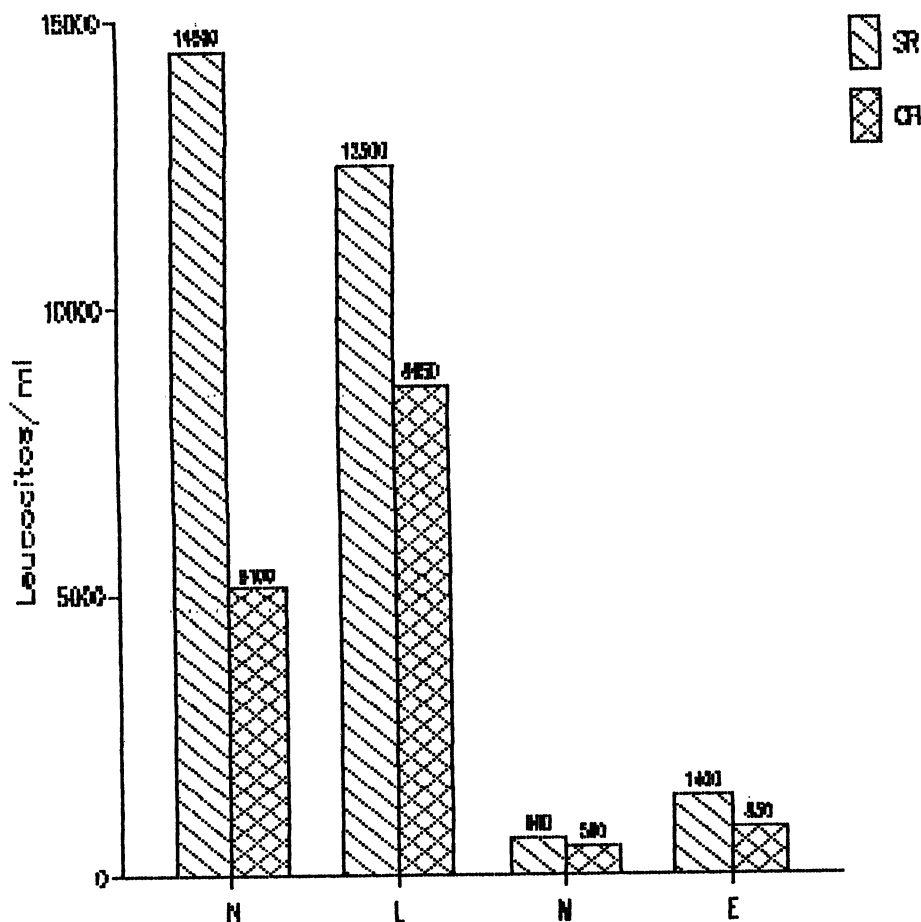


Figura 26. Número de leucócitos circulantes em vacas SR e CR (n=39), 2 a 3 horas após o parto. ($P < 0,05$). N = neutrófilos; L = Linfócitos; M = monócitos; E = Eosinófilos.

4.6 ALTERAÇÕES PATOLÓGICAS ENCONTRADAS NA RETENÇÃO DE PLACENTA BOVINA

4.6.1. Cotilédones

Nas amostras colhidas foi encontrado o seguinte: menor presença de células gigantes, necrose, picnose, cariólise menos intensa, hemorragias, pouca infiltração leucocitária, não colapamento de vasos e edemaciação das vilosidades coriônicas.

Estas alterações poderão ser observadas nas figuras de números 27 - 28 - 29 - 30 - 31 - 32 -33 e 34:

4.6.2 UTERO

Os resultados encontrados quanto a patologia uterina, provocada ou não pela retenção de placenta, são apresentados na tabela abaixo:

TABELA 12 - PATOLOGIA DO UTERO, CONSEQUENTE OU NÃO A RETENÇÃO DE PLACENTA OBSERVADA EM BOVINOS LEITEIROS (n=16)

Grupos	Endometrite purulenta	Loquimetra
SR	2 'a'	- 'c'
CR	9 'b'	5 'd'
Total	11	5

a : b = (P < 0,05) ; c : d = (P, 0,01) Curitiba, 7/1993.

4.7 UTILIZAÇÃO DO "CALIFORNIA MASTITIS TEST" E CULTURAS REAGENTES DAS AMOSTRAS DE LEITE

A utilização do "California Mastitis Test" mostrou-se eficiente em 100% dos casos, isto é, todas amostras reagentes ao serem manipuladas em laboratório, resultaram no crescimento de culturas e nesse ínterim os animais estudados apresentaram mastite clínica.

Os resultados estão na tabela abaixo:

TABELA 13 - PARÂMETROS DE VACAS LEITEIRAS COM RETENÇÃO DE PLACENTA EM RELAÇÃO À MASTITE, NA REGIÃO DE CURITIBA, (n= 14)

Grupos	Reacção ao CMT (%)	Tipos de bactérias	(%)
SR 4/23 ^(a)	17,4	<u>Staphylococcus aureus</u>	7,6 (3/14)
		<u>Streptococcus sp.</u>	2,5 (1/14)
CR 10/16 ^(b)	62,5	<u>Staphylococcus aureus</u>	15,3 (6/14)
		<u>Streptococcus sp.</u>	7,6 (3/14)
		<u>E. coli.</u>	2,5 (1/14)

a : b = (P < 0,05)

Curitiba, 7/1993.

5 DISCUSSÃO

5.1 PARÂMETROS REPRODUTIVOS

De acordo com trabalhos de EDMONDSON (1992), 82,1% dos animais pesquisados apresentaram E.C.C. adequado para parturicção, enfatizando os dados aqui discutidos.

5.1.1 INTERVALO PARTO-CONCEPCÃO E DURAÇÃO DA GESTAÇÃO

O IPC verificado chama atenção, pois em todas as propriedades nas quais realizou -se o experimento adota-se a inseminacção artificial. Se 41,5 % dos animais possuem IPC sofrível, maior que o encontrado por HALPERN et al. (1985), conclui-se que há elevada repetição de cio e conseqüentemente elevados custos para aplicacção de técnica tão simples e consagrada. Os proprietários procuram direcionar os cruzamentos para melhoria genética dos rebanhos, e ao mesmo tempo adequar sua produccção ao esquema comercial do leite, fazendo alterar o sistema de manejo e alimentacção. Situações como estas devem ser corrigidas, pois o aumento do IPC, não diz respeito exclusivamente à nutricao, como cita CAPAUL e LUCA (1984), PARGAONKAR e BARSHI (1987) e KOZICKI (1992 a,b).

Cuidados especiais devem ser dispensados às novilhas. Ao se observar o item 7 da tabela 5, ve-se animais com idade de 64 a 76 meses com IPC maior que 235 dias, tendo muitos animais desta categoria vida útil prejudicada, na 1ª ou 2ª parturicção.

5.1.2 PARTURICÇÃO DAS VACAS LEITEIRAS

A tabela 7 expõe dados importantes quanto à parturicção de vacas leiteiras, demonstrando que partos distócicos acarretam elevado índice de RP, concordando com relatos de BENDIXEN et al.

(1987), DISTL et al (1989) GRUNERT et al.(1989), WAGNER (1989), WERVEN et al. (1992). A maioria dos partos ocorreram diurnamente; 92,0 % dos animais que tem delivramento dos anexos fetais no período fisiológico, o fazem entre uma e seis horas, achado que coincide com o encontrado por WERVEN et al. (1992), permitindo sugerir existência de RP a partir deste período.

Os resultados da tabela 7, concordam com os publicados por BENDIXEN et al. (1987) à exceção do percentual de incidência de RP, mais elevado com a idade do animal, pois ocorre frequentemente em vacas jovens e primíparas. Ao mesmo tempo não verificou-se correlação quanto ao sexo dos bezerros e incidência de RP, excetuando-se a consideração do tamanho dos machos (maiores e mais pesados) os quais através de partos distócicos elevaram o índice de retenção de placenta.

Consultando-se trabalhos como os de KUMPF (1985), VUKOVIC et al.(1987), STOYANOV et al.(1988), DISTL et al. (1989), CHASSAGNE e BARNOUIN (1992), HEINONEN e HEINONEN (1992) e confrontando os resultados obtidos pelos penúltimos autores, supõe-se que o índice de retenção de placenta aumenta devido à problemas de manejo e nutrição durante a gestação. Igualmente são importantes os cuidados dispensados à estes animais durante o puerpério precoce, como relata WAGNER (1989), apoiado pelos trabalhos de HEINONEN e HEINONEN (1991). Assim sendo, não é possível concordar com o proposto por MURRAY et al. (1990), ao preconizarem não haver vantagem alguma no tratamento de endometrites.

5.1.3 SEXO DOS BEZERROS, MÊS DE NASCIMENTO E NUTRIÇÃO.

Ao se admitir que o sexo dos bezerros nascidos, causam indiretamente RP, ou ao se demonstrar que a incidência de retenção de placenta pode variar com a época do ano, admite-se estar a retenção de secundinas relacionada com a nutrição e o manejo dispensado ao animal no " período de secagem láctea", conforme relatos de GRUNERT et al.(1989), CHASSAGNE e BARNOUIN (1992).

A formação de cotas comerciais de leite no início do inverno e a preparação de animais para exposições-feira, concentram os nascimentos nos meses de abril a julho (40,0 %). A predominância de bezerros machos no mês de julho, levou à ocorrência de maior número de partos distócicos concordando com citações de GRUNERT et al. (1989), e conseqüentemente à índice elevado de RP e mastite. Nestes meses as vacas ressentiram-se da mudança da estação das águas para a da seca, conduzindo a desequilíbrios nutricionais, devido à redução da disponibilidade de proteínas e outros nutrientes, confirmando relatos de DISTL et al. (1989), elevando ainda mais o índice de RP. Com a crescente disponibilidade de nutrientes em pastagens de inverno, os animais recuperaram-se num íterim variável para cada propriedade.

5.2 ANÁLISES BIOQUÍMICAS DO SANGUE

Literatura consultada de ROSENBERGER (1984), OLIVEIRA et al.(1985), SILVEIRA (1988 a,b), não coincide entre si quanto às concentrações de componentes plasmáticos pesquisados neste trabalho, pois são representativas de diferentes populações

bovinas. Assim sendo, a elaboração do perfil do rebanho leiteiro trabalhado no período peripartal e das alterações ocorridas na RP revestem-se de importância, pois permitirão conhecer os parâmetros normais e prever a ocorrência da síndrome, com antecedência de até 15 dias.

5.2.1 CÁLCIO (Ca)

O conceito de que o cálcio é mineral que interfere nas três fases do parto é antigo. Trabalhos de FAIEZ et al. (1982), MARTIN et al. (1982), CAPAUL e LUCA (1984), KUMPF (1985), VER et. al. (1989), esclarecem que a deficiência de cálcio nas parturientes bovinas, leva a problemas fisiológicos, seja pela deficiência de contrações musculares, pela não moderação da excitação vagal, seja pela dificuldade de permeabilidade de vasos capilares e da membrana celular, ou ainda por interferir no metabolismo dos carboidratos.

Os resultados encontrados neste experimento coincidiram com os dos pesquisadores supra-citados, os quais relataram que os níveis de cálcio diminuem em vacas SR, mostrando que a demanda de Ca é grande no período peripartal. Os animais do grupo CR apresentavam níveis (mg/dl) abaixo do fisiológico, no 15º e 5º dia antes do parto, no dia do parto e no 3º e 5º dia após o parto, respectivamente 9.5 ± 1.5 ; 9.7 ± 1.9 ; 9.6 ± 2.4 ; 9.4 ± 1.7 ; 9.8 ± 2.0 , com maior atividade do paratormônio, (medida indiretamente pela ALP) como preconiza BACILA (1980). É possível que abaixo destas concentrações surgissem problemas metabólicos provocados pela deficiência de cálcio.

Os animais do grupo SR apresentaram concentrações dentro dos padrões fisiológicos (10 a 12 mg/dl) embora no dia do parto fossem sub-normais (9.9 ± 1.5 mg/dl) e a ALP ultrapassasse 50 U/l, comprovando a elevada demanda do mineral na parturicção, uma vez que estas vacas não apresentaram nenhum problema que pudesse explicar a elevação da atividade da enzima, conforme citações de DUTTA e DUGWEKAR (1982), KUMMER et al. (1985). A presença de perfil sub-normal de cálcio no pré-parto constitui elemento valioso na prevenção da RP, acenando para a suplementação do Ca afim de evitá-la.

5.2.2 FOSFORD (P)

Segundo KUMPF (1985), o nível de cálcio não prejudicou a absorção do fósforo em vacas com RP. Sua importância está na formação de ATP's, (SILVEIRA 1988 a), e os resultados encontrados neste trabalho coincidem com os de KUMPF (1985), VUKOVIC et al. (1987) demonstrando que níveis elevados; respectivamente no 15º- 5º dia do parto, 3º- 5º dia pós-parto (6.0 ± 1.1; 5.9 ± 1.0; 5.8 ± 0.7; 5.8 ± 1.0; 5.9 ± 1.1), são indicativos de metabolismo energético deficiente.

Não encontrou-se estudos sobre relação Ca/P, no período peripartal, apesar de ela revestir-se de importância. Os padrões fisiológicos de 2 : 1 citados por BACILA (1980), encontravam-se alterados nos animais com placenta retida, (próximos de 1.6 : 1), e normais no grupo de vacas SR. O alto consumo de Ca no grupo SR diminuiu suas concentrações plasmáticas e conseqüentemente a relação Ca/P, caindo até 1.7 : 1,

confirmando que a suplementação de Ca na dieta pré-parto é fundamental às parturientes destes rebanhos.

5.2.3 PROTEÍNAS TOTAIS (PT)

CHASSAGNE e BARNOUIN (1992), dosaram proteínas totais plasmáticas, visando estudar dietas pré-parto diferenciadas por lotes de animais. Os resultados evidenciaram índices variados de retenção de placenta, confirmando a importância da dieta pré-parto. Os resultados obtidos por estes pesquisadores (7,6 e 8,5 g/dl respectivamente para vacas normais e com RP) foram muito elucidativos do ponto de vista nutricional, bioquímico e fisiológico, pois não dosaram apenas PT isoladamente, mas também colesterol, uréia, glicose e outros componentes plasmáticos, e enfaticamente as prostaglandinas pela sua importância na parturição. Por outro lado não acenaram para as relações com o sistema imune (WAGNER 1989, ROITT 1991), deixando de lado importantes estudos no campo da imunologia, que certamente contribuiriam para o aumento de conhecimentos sobre retenção de placenta. As frações albumina e globulinas, (estas últimas precursoras de anticorpos), estão igualmente relacionadas à dieta pré-parto. Os resultados encontrados por CHASSAGNE e BARNOUIN (1992) demonstraram apenas que as concentrações protéicas são mais elevadas em vacas com placenta retida, e não elaboraram um perfil deste componente sérico.

Desta forma, os resultados deste experimento vem complementar os de CHASSAGNE e BARNOUIN (1992), evidenciando que no puerpério de vacas leiteiras com RP, há queima excessiva de proteínas, razão pela qual seus níveis fisiológicos diminuíram

nas vacas com RP, para 5.8 ± 1.0 e 6.5 ± 1.0 g/dl, no 3º e 5º dia pós-parto respectivamente, sendo confirmados pelos aumentos nas taxas de uréia, forma do organismo excretar seus excessos de nitrogênio. (OLIVEIRA et al. 1985 e SILVEIRA 1988 a). A preocupação com o estudo das frações (relação albumina/globulina) permitiu prever a ocorrência da retenção das secundinas, porém isoladamente não tiveram o mesmo valor, como pretenderam aqueles pesquisadores.

5.2.4 ALBUMINA (A)

Seu estudo demonstrou maior proporção da albumina nas vacas com placenta retida, (acima de 4,0 g/dl) perfeitamente relacionada com a menor taxa de globulina encontrada.

Como as funções mais importantes da albumina no estudo da retenção de placenta, são as de: ligar-se ao cálcio, transportar hormônios e ácidos graxos poli-insaturados, as taxas elevadas dessa proteína plasmática em vacas com RP, combinada com deficiência de Ca^{2+} , e com o desequilíbrio de ácidos graxos poli-insaturados na dieta pré-parto, revelam futuros problemas na cascata do ácido aracdônico e na produção de anticorpos, (WAGNER 1989, CHASSAGNE e BARNOUIN 1992).

5.2.5 COLESTEROL

O colesterol é importante no estudo da RP, devido à que os hormônios esteróides são sintetizados também a partir de suas moléculas (SHALEM 1988, WAGNER 1989). Os resultados obtidos neste trabalho, ao contrário de CHASSAGNE e BARNOUIN (1992), foram significantes. Os níveis aumentados ou diminuídos

revelaram anormalidades corroborando relatos de OLIVEIRA et al.(1985).

As taxas de colesterol verificadas neste trabalho, demonstraram concentrações mais elevadas no grupo com retenção de placenta, durante todo o período peripartal, embora apenas um dos resultados se situasse acima da normalidade ($128,3 \pm 51,9$ mg/dl), no 5º dia antes da parturicão.

Considerando que foram pesquisados animais de várias faixas etárias, o perfil (Tabela 10) demonstra médias para fêmeas bovinas de idades que variam de 26 até 144 meses. Como na dosagem de colesterol, a faixa etária deve ser considerada, pois taxas elevadas, nem sempre são indicativas de retenção de placenta. A prevenção da RP através de dosagens de colesterol, deve levar em conta: a) vacas com até 40 meses de idade apresentam perfil entre 80 e 100 mg/dl, quando expelirem a placenta no período fisiológico. O perfil nas vacas com RP situar-se-á entre 85 e 110 mg/dl. b) vacas com idade entre 41 e 80 meses apresentam perfil entre 90 e 110 mg/dl contra 100 e 130 mg/dl., respectivamente para animais SR e CR. c) vacas na faixa etária entre 81 e 100 meses apresentam taxas entre 95 e 120 mg/dl para o grupo SR e 110 a 140 mg/dl para o CR.

A consideração destes parâmetros fisiológicos na dosagem do colesterol, permitirá prever com segurança a ocorrência de RP.

5.2.6 URÉIA

Os resultados encontrados por CHASSAGNE e BARNQUIN (1992), 31.3 mg/dl e 29.2 mg/dl, respectivamente em animais com e sem

retenção de placenta, diferem dos resultados deste trabalho, no 15º dia que antecedia ao parto ($33,5 \pm 18,7$ e $29,5 \pm 14,6$ mg/dl), respectivamente para vacas SR e CR. No período compreendido entre o parto e o 5º dia após a parturição, os resultados foram semelhantes aos relatados por LOTTHAMMER (1984). O aumento das concentrações plasmáticas de uréia ocorreram nos grupos com e sem retenção de placenta, com aumentos mais efetivos no grupo CR, atingindo 4 vezes mais que o fisiológico. Do ponto de vista nutricional, apenas 17,8% das vacas eram alimentadas com dietas cujo teor protéico era elevado e as demais 82,1% eram submetidas a dietas com teor de proteínas adequado, e níveis de energia mais elevados, respectivamente com E.C.C. entre 4,0 a 4,5 e 3,0 a 3,5 (EDMONDSON 1992). Isso sugere que aumentos nas taxas de uréia devem-se à processos degenerativos da placenta, (hemorragia e necrose) e à outras alterações mais evidentes (metrite e mastite), que segundo SILVEIRA (1988 a) elevam as taxas de excreção de nitrogênio. A dosagem de uréia em vacas com RP, permitiu saber da ocorrência desta afecção antes do aparecimento de seus sinais clínicos.

5.2.7 FOSFATASE ALCALINA, (ALP)

Tanto os níveis séricos estudados por DUTTA e DUGWEKAR (1982), como as concentrações presentes no epitélio da placenta materno-fetal, comunicadas por KUMMER et al. (1985), demonstraram atividade aumentada da ALP, resultados coincidentes com os da presente pesquisa. A literatura concorda unânime que o aumento de atividade da enzima está relacionado à determinadas condições, incluindo as partes fetal e materno-fetal da placenta, uma

vez que a fosfatase alcalina está presente nas células da placenta, e a destruição destas células levaria ao quadro bioquímico observado. Concorde-se com este fato, embora se tenha discutido que os níveis de ALP no soro de vacas parturientes devem-se em parte ao metabolismo do tecido ósseo, de onde o paratormônio, possivelmente com maior atividade, retira o cálcio necessário para atender a demanda do mineral na parturição, e evita provavelmente o surgimento de doença metabólica no pós-parto, causada pela deficiência desse íon (BACILA 1980). As patologias de vacas com RP no período peripartal, indubitavelmente seriam as responsáveis por parte dos excedentes de fosfatase alcalina, ao comparar as taxas de ambos os grupos de animais, coincidindo com os trabalhos de DUTTA e DUGWEKAR (1982), KUMMER et al. (1985).

A dosagem da ALP pode orientar a suplementação de cálcio às parturientes e prever a ocorrência de RP e suas complicações.

5.2.8 FOSFATASE ACIDA, (ACP)

Os resultados deste trabalho são diferentes dos comunicados por KUMMER et al. (1985). Essa diferença deve-se a que o pesquisador dosou a ACP em placentomas, onde havia maior concentração local da enzima no grupo de vacas com parto normal, nas quais observa-se fisiologicamente destruição dos tecidos placentários. Ao contrário, neste trabalho o nível de fosfatase ácida circulante está aumentado em vacas que retiveram a placenta. Os níveis séricos de 2,5 ± 1,9, 5,3 ± 3,0; 4,6 ± 2,6, 3,4 ± 2,6 e 2,1 ± 1,2, sugerem igualmente metabolismo de células do tecido ósseo, destruição de células da placenta e de

leucócitos. (SILVEIRA 1988 a, ROITT e BROSTOFF 1989; KLEIN 1990, ROITT, 1991).

5.2.9 DESIDROGENASE LACTICA, (LDH)

O estudo da atividade desta enzima, também está ligado a integridade celular da placenta, útero, úbere e leucócitos, pois está presente no hialoplasma destas células. (LABTEST 1988, OLIVEIRA et al. 1985, SILVEIRA 1988 a). Os resultados obtidos neste trabalho foram coincidentes com os de DUTTA e DUGWEKAR (1982), que demonstraram estar a atividade da LDH aumentada no grupo com placenta retida apesar de as concentrações por eles verificadas (435,0 U/l), serem inferiores às encontradas nesta pesquisa, as quais variaram entre 596,7 \pm 153,0 até 810,4 \pm 137,4 U/l.

Os achados deste experimento coincidem igualmente com BADALIAN et al. (1989) que relatam estar a atividade da enzima alterada devido à aumentos nos teores de lactato e piruvato, pois vacas sem retenção de secundinas apresentaram também elevações nos níveis séricos.

A verificação do perfil da LDH, (Tabela 10) em vacas com retenção de placenta, permite concordar com DUTTA e DUGWEKAR (1982), ao relatarem que o aumento das taxas plasmáticas de LDH, indicaram endometrite e mastite mesmo antes do surgimento dos sinais clínicos.

5.2.10 ASPARTATOAMINOTRANSFERASE, (AST)

Os resultados encontrados neste trabalho (Tabela 10) coincidem com os de KUMPF (1985), revelando que a AST está

presente na liberação pelas células envolvidas, de substâncias necessárias durante o transcurso da parturicção.

A observação mais importante porém, refere-se a atividade aumentada da enzima, de 50,0 U/l nos grupos com retenção de placenta e sem RP a partir das últimas semanas antecedentes ao parto, (58,3 +- 20,6, 62,5 +- 25,0 U/l, no 15º e 5º dias respectivamente) revelando transudação aumentada das células para o plasma, com conseqüente liberação de substâncias importantes à parturicção, resultando na antecipação da data prevista do parto, sugerindo que a dosagem de AST, pode prever o encurtamento do período de gestação em até uma semana. Por outro lado este achado comprova que o encurtamento do período de gestação, não deve-se à ocorrência de RP, como preconizam CHASSAGNE e BARNOUIN (1992), mas sim à outros fatores tais como o tamanho e sexo do bezerro.

5.3 ELETROFORESE DAS PROTEINAS PLASMATICAS NOS SOROS

BOVINOS

5.3.1 RELAÇÃO ALBUMINA/GLOBULINA, (A/G)

Prosseguindo com a discussão das frações de proteínas plasmáticas, a queda na relação A/G até 0,3 no grupo de vacas que tiveram parto normal, demonstra claramente o predomínio das globulinas entre as frações protéicas do soro. Realmente pastagens muito adubadas elevam a relação A/G à 1,3 fato citado por BACILA (1980). Porém foi importante o fato de a relação decrescer de 1,3 para 0,3, revelando maior produção de globulinas nos animais com parto normal, e por conseqüência maior produção de anticorpos.

A situação observada com o grupo de vacas que retiveram a placenta fetal, foi exatamente inversa. A relação A/G inseria-se dentro dos padrões fisiológicos nas vacas CR, (em torno de 0,80) apesar dos animais serem alimentados em pastagens altamente adubadas. Elevou-se para 1,46 no dia do parto, caindo para 1,0 três dias após, fazendo com que, o grupo CR apresentasse relação semelhante ao grupo SR, somente no 5º dia pós-parto, quando reagiu frente à problemas presentes de endometrite e mastite.

Se há diferenças tão significativas entre os grupos estudados, a relação A/G e as frações de globulina devem ser minuciosamente pesquisadas, pois prestam-se para produção de anticorpos, podendo-se prever o aparecimento de RP e suas complicações, antes do surgimento dos sinais clínicos, facilitando com isso a dissolução do problema.

5.3.2 GLOBULINAS.(G)

ROITT e BROSTOFF (1989), KLEIN (1990) e ROITT (1991), ressaltam que as frações alfa, beta e gama, das globulinas plasmáticas são importantes para produção de anticorpos através dos linfócitos B, predominantes nos bovinos (TIZARD 1987). Como era esperado, as vacas que tiveram parto normal apresentaram elevadas concentrações de gama-globulinas, não necessitando das outras frações para produção de imunoglobulinas. Apresentaram igualmente número mais elevado de linfócitos, (25,0 % a mais), que o grupo com retenção de placenta. O grupo CR utilizou inclusive as frações alfa e beta, além da fração gama-globulina, conseguindo no 5º dia pós-parto, somente 70,0 % das globulinas produzidas pelos animais

com parto normal. Mesmo utilizando-se das outras frações de globulinas, os animais com retenção de placenta apresentaram concentrações 0.71 g/dl menores que somente a fração de gama-globulina do grupo sem RP. Essas marcantes diferenças entre os grupos pesquisados, requerem estudos mais aprofundados sobre retenção de placenta e suas complicações, calcados na área imunológica, e sugerem que a presença deste quadro possa indicar retenção placentária.

5.4 ANÁLISE DO CONTEÚDO DE IMUNOGLOBULINAS NO SORO SANGUÍNEO, COLOSTRO E LEITE

São escassos os trabalhos relativos a dosagem de imunoglobulinas no período peripartal de vacas com retenção de placenta nos últimos 10 anos, cujo perfil ainda desconhece-se. Os resultados deste trabalho sugerem que este procedimento poderá prever a ocorrência de RP, com muita segurança.

5.4.1 SORO SANGUÍNEO

5.4.1.1 Imunoglobulina M, (IgM)

O estudo da IgM revelou em primeiro lugar concentrações dentro dos limites normais para os grupos com e sem retenção de placenta, porém com diferenças significativas entre os grupos.

Como a IgM, segundo TIZARD (1987) ROITT e BROSTOFF (1989), KLEIN (1990), ROITT (1991), é a primeira imunoglobulina produzida após agressão ao organismo, tornou-se importante sua dosagem no período peripartal para verificar-se quando iniciava-se esse desafio. As vacas com retenção de placenta apresentaram no dia do parto, em média somente 60.0 % da concentração encontrada em vacas com parto normal, (362 +- 68 contra 221 +-

133 mg/dl). Essa diferença nos 15 dias que antecediam à parturicão era somente de 15,0% , (328 +- 121 contra 278 +- 111 mg/dl), expondo claramente a diminuição na produção de IgM no dia do parto, quadro que persistiu até o 5º dia pós-parto. Estudos mais aprofundados e abrangentes devem ser realizados, pois não foi possível precisar se os animais com retenção de placenta produziram menores quantidades de IgM devido à outros fatores, ou se esta imunoglobulina apresentava maior demanda frente aos problemas sabidamente ocorridos com esses animais, (como endometrite e mastite). Estas afecções provavelmente seriam detectadas pelos sinais clínicos ou por exames laboratoriais dias após o parto, mas que estariam instalando-se já aos 15 dias que antecediam a parturicão. Sugere-se que o procedimento de dosa-la no pré-parto reduziria índices de metrites e mastite no puerpério precoce de vacas com ou sem retenção de placenta.

5.4.1.2 Imunoglobulina G. (IgG)

Os resultados encontrados situaram-se igualmente dentro dos limites normais entre 1.700 e 2.700 mg/ dl. (VMRD em 1992). Comparando-se as concentrações plasmáticas de IgG nos dois grupos, que retiveram ou não a placenta fetal, ela foi constantemente menor na proporção de 400 mg/dl no grupo com placenta retida. (2.480 +- 677; 2.420 +- 629; 2.430 +- 680; 2.590 +- 684; 2.580 +- 853 para o SR, contra 2.080 +- 683; 2.050 +- 501; 2.080 +- 461; 2.130 +-462; 2.160 +- 668 mg/dl). Como a IgG é a segunda imunoglobulina produzida frente à agressão ao organismo. (SCHALM 1975; TIZARD 1987, ROITT e BROSTOFF 1989,

KLEIN 1990 e ROITT 1991), atingindo níveis elevados quando a IgM diminui suas taxas consideravelmente, é possível que algumas das agressões sofridas pelos animais sejam anteriores ao período peripartal pesquisado, e que novos desafios estariam ocorrendo. Como os resultados em ambos os grupos, apresentam certa constância durante o tempo estudado, com diferenças entre eles em torno de 400 mg/dl, foi possível aplicar a análise da regressão linear simples, procedimento estatístico que valoriza estes dados para utilização futura, visando diagnosticar RP e suas complicações anteriormente ao período peripartal, com margem de erro não superior à 0,1%.

A IgG dosada foi a total, porém conhece-se a existência das frações IgG₁ e IgG₂ em bovinos TIZARD, (1987), requerendo-se estudos mais abrangentes e aprofundados, na área imunológica.

5.4.1.3 Imunoglobulina A. (IgA)

Segundo ROITT e BROSTOFF (1989), KLEIN (1990) ROITT (1991), a IgA é uma imunoglobulina comumente secretada a nível de epitélios e mucosas. Seus níveis circulantes no plasma são em geral pequenos (10-50 mg/dl), quando comparados à IgG (1.700-2.700 mg/dl), ou mesmo à IgM (250-400 mg/dl), padrões fisiológicos estes citados por VMRD em (1992). Os resultados encontrados neste trabalho revelam que vacas com ou sem retenção de placenta apresentam concentrações dentro dos limites normais, mas as diferenças percentuais entre os grupos são maiores que as diferenças encontradas para IgM ou IgG. O perfil inicia com o grupo SR, apresentando apenas 50,0 % da IgA encontrada no grupo com placenta retida (20,3 ± 2,5 contra 41,6 ± 28,8), caindo

até 24,0 % no dia do parto (24,3 +- 6,0 contra 39,0 +- 13,0), e no 5º dia pós-parto passa à aproximadamente 60,0 % (15,3 +- 6,4 contra 41,0 +- 14,7), indicando segundo TIZARD (1987) agressão a nível de epitélios e mucosas, nas vacas do grupo com placenta retida. Devido a importância da IgA nos bovinos, estudos mais aprofundados deverão ser realizados no tocante ao seu componente secretório, pois através dela, pode-se prever a ocorrência de RP e suas complicações anteriormente ao parto.

5.4.2 COLOSTRO

O estudo das imunoglobulinas no colostro é muito conclusivo, pois encontra-se situação inversa a do soro, coincidindo com dados publicados por FIELD et al. (1989), quando estudavam a transferência de imunidade à bezerros via colostro. Vacas com placenta retida, apresentaram concentrações mais elevadas de IgM (454 +- 306 contra 196 +- 57 mg/dl) e IgG (4.026 +- 1.754 contra 3.420 +- 1.325 mg/dl) e menor concentração de IgA (191 +- 154 contra 266 +- 249 mg/dl), do que as vacas sem retenção das secundinas. O grupo CR apresentava com isso 57,0 % a mais de IgM e 15,0 % a mais de IgG que o grupo SR no dia do parto. Por sua vez as vacas com parto normal apresentavam 30,0 % a mais de IgA que vacas com placenta retida. Como as amostras de colostro foram colhidas no período intrapartal, a dosagem das três imunoglobulinas demonstraram o início da reação imunológica, em vacas com secundinas retidas, pois havia segundo relatos de TIZARD (1987) maiores concentrações de IgM, baixa taxa de IgG, combinadas com baixos níveis de IgA. Com este quadro evidenciou-se a presença de mastite aguda, antes

mesmo do aparecimento de leucócitos detectados pelo teste CMT (California Mastitis Test). Pesquisas mais aprofundadas e específicas da IgA contribuirão na elucidação dos mecanismos que poderiam interligar-se à retenção placentária seguida de mastite. Segundo FIELD et al. (1989), níveis inferiores a 1500 mg/dl de IgG no colostro representa total falência da transferência de imunidade para o bezerro, isso porque esta imunoglobulina existe em maior quantidade. Os resultados encontrados no presente trabalho não chegam a este patamar, mas sugerem que bezerros nascidos de partos com RP, complicados ou não com metrite e mastite, recebem menor aporte de IgG que os provenientes de parto normal. Este fato requer novos estudos.

5.4.3 LEITE

A imunodifusão radial das amostras de leite para dosagem de taxas de IgM, IgG e IgA, demonstram quadro com concentrações mais diluídas que as do colostro (Tabela 11) nos dois grupos de vacas. As diferenças nas concentrações de IgM entre os grupos pesquisados, apresentaram-se menores ($27,5 \pm 0,7$ mg/dl) para vacas SR, contra ($41,0 \pm 19,7$ mg/dl) para vacas CR, demonstrando reação imunológica menos intensa do que nas amostras de colostro favorecendo à mastite. A IgG permaneceu mais elevada nas vacas com RP, variando quanto às taxas presentes, sendo 10 vezes mais diluídas no leite (FIELD et al. 1989).

A observação mais importante foi quanto a IgA, que no colostro, apresentava níveis 30,0 % (266 ± 249 mg/dl contra 191 ± 154 mg/dl), mais elevados em vacas do grupo com parto normal. No leite esta diferença estava aumentada, próxima de 50,0 % (39

+ 6.6 contra 19 +- 9.0 mg/dl), demonstrando que a capacidade de reação imunológica de vacas do grupo CR, era ainda menor, sugerindo maior susceptibilidade à mastite.

A higiene e o manejo da ordenha, dispensados aos animais em cada uma das propriedades pesquisadas é variável, porém o que não varia entre os grupos são as taxas de imunoglobulinas presentes no soro, colostro e leite. Segundo TIZARD (1987) estas imunoglobulinas somadas as prostaglandinas, serotonina, lacteninas e neutrófilos impedem o aparecimento de mastite aguda, quando em quantidades suficientes.

5.5 LEUCOGRAMA DAS VACAS LEITEIRAS NO DIA DA PARTURIÇÃO

SCHALM (1975), estudou as variações dos leucócitos circulantes no período peripartal, em partos normais e partos com retenção de placenta. Seus resultados foram complementados por GRAEN (1985), que encontrou fagócitos (polimorfonucleares, eosinófilos e monócitos) em números mais elevados no plasma de vacas que não haviam retido as secundinas, observando-se queda destas taxas, 24 horas após o parto. Esta diminuição observada após a parturicção era igualmente encontrada em vacas com retenção de placenta, apesar de possuírem taxas de leucócitos inferiores as dos animais com parto normal.

Os resultados deste trabalho concordam com SCHALM (1975), quanto às taxas de leucócitos circulantes observadas no dia do parto. Elas equilibram-se três a cinco dias após transcorrida a parturicção. Concordam igualmente com GRAEN (1985), que comunicou diminuição do número de leucócitos circulantes 24 horas pós-

parto. O resultado do leucograma pode ser indicativo da ocorrência de RP, antes do aparecimento dos sinais clínicos.

5.5.1 GRANULOCITOS

As maiores diferenças no dia do parto foram entre os polimorfonucleares (bastonetes e segmentados), encontrados na proporção de 14.500/ml no grupo com partos normais, contra 5.100/ml no grupo que reteve placenta, significando que as vacas deste último grupo, tinham somente 35,0 % dos neutrófilos do grupo normal, ficando segundo SCHALM (1975) e GRAEN (1985), prejudicado o primeiro ataque aos germes causadores de endometrite e mastite aguda.

Outro granulócito, o eosinófilo, apresentava-se com taxas plasmáticas elevadas nos grupos que retiveram ou não a placenta fetal, porém com diferenças significativas, entre ambos, ou seja 1.400/ml no grupo SR, contra 830/ml do grupo CR.

As conclusões apresentadas por SCHALM (1975) e GRAEN (1985) e as complementações feitas por este trabalho, permite concluir que vacas com retenção dos anexos fetais encontravam-se temporariamente deprimidas em suas defesas orgânicas, uma vez que granulócitos são células fagocíticas muito importantes no útero, placenta e úbere, principalmente no período peripartal.

Parte deste problema começou a ser solucionado por CULLOR et al. (1990) utilizando o Hr-BCSF; (fator Hr - estimulante de colônias de granulócitos). Os resultados obtidos foram animadores, pois as taxas normalizaram-se dentro dos padrões fisiológicos após 5 dias. CULLOR et al. (1990) não citam diferenças entre outros granulócitos que tem a produção

estimulada por aquele fator. A inconveniência deste tipo de tratamento, são as várias aplicações diárias do fator de crescimento, para manter elevada a produção de granulócitos naqueles 5 dias, sem contar com o esgotamento das reservas medulares do animal, como relatam os pesquisadores.

Isto sugere que diferentes dosagens de GCSF sejam aplicadas, com mudanças protocolares, bem como outras substâncias conhecidas como estimulantes da função medular, conforme tratam (ABRAHAM e FREITAS 1989, DUDLEY et al. 1990 e ROITT (1991).

Outros estudos imunológicos deverão ser encetados, pois a solução do problema da taxa de granulócitos no período peripartal não é definitiva. Restará ainda outro grande desafio, o de tornar os leucócitos responsivos à estímulos quimiotáticos. Trabalhos de EHLERT (1985), GUNNINK (1985), HEUWIESER e GRUNERT (1987), OFFENEY (1987) e WAGNER (1989), esclarecem que fatores quimiotáticos estão presentes, mas os leucócitos não respondem à esse tipo de comunicação intercelular. Tentativa de melhorá-la, levará à avanços na prevenção da RP, metrites e mastite e outras afecções.

5.5.2 MONOCITOS

A diferença verificada entre taxas de monócitos nos grupos que retiveram ou não a placenta foi pequena (660 / ml) no grupo SR e (500 / ml) no grupo CR. O grupo SR apresentava 25,0 % mais monócitos que o grupo CR. Considerando que os monócitos ao saírem da corrente circulatória atuam como poderosos fagócitos, reconhecendo antígenos e participando da comunicação

intercelular de defesa do organismo, (ROITT e BROSTOFF 1989, KLEIN 1990, ROITT 1991), a diferença de 25,0 % entre os grupos pesquisados, significa que 1/4 destas comunicações estiveram prejudicadas, ou que 1/4 dos antígenos não foram devidamente reconhecidos, interferindo por conseqüência nos níveis imunológicos do animal.

5.5.3 LINFOCITOS

SCHALM (1975) e GRAEN (1985) estudaram os linfócitos circulantes. Os resultados encontrados no presente trabalho coincidem com os destes pesquisadores, referente ao dia da parturição, quando encontrou-se animais com retenção de placenta apresentando 69,0 % dos linfócitos existentes nas vacas que tiveram delivramento normal dos envoltórios fetais (12.500/ml contra 8.650/ml). As taxas de linfócitos circulantes em vacas com ou sem retenção de placenta, diminuíram durante o pós-parto, e as vacas com RP aumentaram suas taxas equiparando-se àquelas que tiveram parturição normal, somente no 5º dia pós-parto.

Os resultados encontrados no presente trabalho revelaram linfocitose, pois as taxas por mililitro estão acima dos limites máximos para a espécie bovina (8.000/ml), segundo (SCHALM 1975).

Segundo TIZARD (1987), os bovinos possuem maior quantidade de linfócitos B. Sua linhagem celular, é secretora de imunoglobulinas séricas e teciduais, envolvendo IgM, IgG e a IgA. Estudos mais profundos e abrangentes devem ser idealizados para verificar como se comportam as proporções entre os linfócitos B e linfócitos T nas vacas com retenção de placenta,

pois os bovinos sofreram evolução na especialização de raças produtoras de leite, dentre as quais, destaca-se a holandesa. É possível que sejam encontradas taxas diferentes daquelas citadas por TIZARD (1987) para linfócitos T e B e correlacione-se o número de linfócitos circulantes com a produção de IgM, IgG e IgA, no período peripartal de vacas acometidas da síndrome de retenção de placenta.

5.6 ALTERAÇÕES PATOLÓGICAS EM CASOS DE RETENÇÃO DE PLACENTA.

5.6.1 COTILÉDONES

Estudos histológicos dos cotilédones foram realizados principalmente na década passada (DELMAN 1986). Autores como DZUVIC et al. (1982), GRUNERT (1986), HEUWIESER et al. (1986), KING (1987) relatam proliferação do epitélio das criptas em vacas com retenção de placenta, ao contrário de vacas com parto normal, conseguindo-se através disto reconhecer o grau de maturação dos placentomas. Relatam ainda que os vilos apresentam-se edemaciados, incrustados no interior das criptas, com alterações celulares como picnose, cariólise e alterações teciduais como hemorragias e hemosiderina. As células binucleadas estão intimamente ligadas a separação dos epitélios fetal e materno. (KUMMER et al. 1985, MANASYAN et al. 1985). Nas vacas com RP estas células estão diminuídas e desaparecem 12 horas após o parto, mais tardiamente que com parto normal, nos quais desaparecem em 01 hora, (WILLIAMS et al. 1987).

Estudos da função de secreção nas células da placenta, apresentaram consideráveis avanços. GROSS (1987), SANERWEIN et al. (1989) e WAGNER (1989), mostraram que células binucleadas

produzem esteróides e células mononucleadas prostaglandinas. As binucleadas servem como moduladoras da síntese de prostaglandinas por parte das mononucleadas. Este mecanismo é relatado por WAGNER (1989), citando que o aumento das secreções de esteróides das células binucleadas, provocam aumento da produção de prostaglandina, através do metabolismo do ácido aracdônico, via cicloxigenase, e, posteriormente regula-se a conversão de prostaglandina E₂ em prostaglandina F₂ alfa nas células mononucleadas. Esta conversão não ocorreria em casos de RP, prejudicando a homeostase de proteínas e o metabolismo da glicose (CHASSAGNE e BARNDUIN 1992).

CHASSAGNE e BROCHART (1986) e ERWICH et al. (1988) tratam do catabolismo das prostaglandinas, o qual é inibido pela ação do ácido linolênico, enquanto que KINDHAL et al. (1989), esclarecem como é bloqueada a cascata do ácido aracdônico.

Maiores avanços surgiriam nos campos da citoquímica e da imunologia a respeito da cascata do ácido aracdônico e localização de prostaglandinas. CHAN et al. (1990), demonstraram a localização do lactogênio placentário em células mononucleadas, sugerindo que células gigantes apresentaram certa evolução, durante os processos de maturação da placenta e adquiriram com isso novas capacidades. Estudos com anticorpos monoclonais como o de CHAN et al. (1990), a técnica da imunoperoxidase e a técnica de marcação de anticorpos com ouro coloidal, deverão trazer avanços ainda maiores à função secretora da placenta.

5.6.2 UTERO

As pesquisas foram efetivadas no campo das observações clínicas. Pesquisadores como STOYANOV et al. (1988), DISTL et al. (1989), GRUNERT et al. (1989), WAGNER (1989), MURRAY et al. (1990), HEINONEN e HEINONEN (1991) e WERVEN et al. (1992), dedicaram-se ao estudo das patologias do útero, surgidas após ocorrência de retenção de placenta. Relatam que a incidência é alta, pois está estreitamente relacionada com o grau de tecnologia (manejo da reprodução, dos partos, higiene, nutrição) adotada em cada propriedade. Neste experimento dos 16 animais que retiveram placenta, 14 apresentaram complicações patológicas, ou seja, 14 casos de endometrites de variados graus. O índice de endometrite encontrado foi de 87,0 % para o grupo CR, porquanto animais do grupo SR que estariam sujeitos as mesmas contaminações, apresentou somente 2 casos, com índice de 8,7%, (dez vezes menor), sugerindo maior resistência orgânica nos animais com parto normal.

5.7 UTILIZAÇÃO DO "CALIFORNIA MASTITIS TEST" E CULTURA DAS AMOSTRAS REAGENTES

LILIUS e PESONEN (1991), demonstraram ser a quimioluminescência moderno método de diagnóstico precoce da mastite. Devido à impossibilidade de utilização do método neste trabalho, optou-se pelo "California Mastitis Test", pela sua praticidade a campo. A detecção da presença de leucócitos no leite, feita através do ácido desoxirribonucleico, não deixou dúvidas quanto a essa opção. CULLOR (1991) cita que a mediação da presença dos leucócitos no colostro e leite é regulada pela

oxidação do ácido aracdônico, prostaglandinas, leucotrieno B₄ e pela vitamina E, abrindo amplo campo para estudos mais profundos. Inúmeras pesquisas tem sido realizadas, demonstrando o interesse dos cientistas pelo fato de a mastite surgir como complicação da retenção de placenta. Assim HEINONEN e HEINONEN' (1991), verificaram índice de mastite 3 a 4 vezes maior que o normalmente encontrado em rebanhos leiteiros, (15,0 %), coincidindo com os achados deste trabalho, (62,5 %). O índice que parecia ser elevado, ao comparar com as citações de SCHUKKEN et al. (1989), revelaram que o surgimento de mastite neste nível é favorecido pela imunodepressão periférica do animal, associado ao mau manejo e higiene da ordenha. Esta pesquisa coincide igualmente com os dados de KOLK et al. (1991), ao verificarem que 75,0 % de vacas com edema de úbere, continham elevadas taxas de potássio em sua dieta alimentar.

Reações positivas ao CMT, com leite de vacas que clinicamente apresentavam edema do úbere, variaram proporcionalmente com a intensidade do edema, resultando em reação tipo traços, reação 1, reação 2 e reação 3, quanto maior fosse este edema. Encontrou-se somente um caso de mastite ocasionada por Escherichia coli, porém não observou-se variações quanto ao intervalo parto-concepção desse animal. CULLOR (1991), cita que a maioria destas mastites são causadas por Staphylococcus aureus e os resultados encontrados neste trabalho revelaram que 64,2% dos casos positivos de mastite foram provocados por este tipo bacteriano.

Sugere-se pois, para um procedimento correto e prático, a nível de estábulo, a aplicação do CMT em animais suspeitos, encaminhando-se as amostras reagentes ao laboratório, realizando-se cultura do material e antibiogramas. Isso permitirá ao médico veterinário, atuar corretamente, solucionando o problema de imediato.

Este procedimento, relata CULLOR (1991), reduz a reabsorção embrionária ou abortamentos no 1º trimestre da gestação, diminui o intervalo parto-concepção e possibilita maior detecção de estro e lactações mais vantajosas.

6 CONCLUSÕES

Pelos resultados obtidos neste trabalho, considerando-se as condições em que foi conduzido, pode-se chegar às seguintes conclusões:

- 1 58,5 % dos animais apresentaram intervalo parto-concepção aceitável (entre 63 e 106 dias), ao passo que 41,5% o protelaram demasiadamente devido à problemas intrapartais, puerperais, nutricionais e da glândula mamária.
- 2 A maioria dos partos ocorreram no período diurno, (73,0%), sendo a placenta expulsa em 92,0 % dos casos entre 1 e 6 horas após a expulsão fetal.
- 3 O índice de retenção de placenta encontrado nas 241 vacas foi de 19,0 %, variando com a época do ano, sendo que 40,0 % dos partos concentraram-se entre os meses de abril e julho, com predominância de nascimentos de bezerros machos no mês de julho, acarretando maior índice de retenção de placenta.
- 4 As taxas de colesterol, fósforo inorgânico, fosfatase alcalina e desidrogenase láctica no sangue de vacas que não retiveram a placenta, foram significativamente mais elevadas que as do grupo CR ($P < 0,01$; $P < 0,01$; $P < 0,05$; $P < 0,05$ respectivamente).
- 5 A relação cálcio / fósforo, (Ca/P), mostrou-se fisiológica nas vacas do grupo SR e alterada nas vacas do grupo CR, ($P < 0,01$), estando a atividade da

- fosfatase alcalina aumentada em ambos os grupos, porém no grupo CR com significância ($P < 0,05$).
- 6 A relação albumina /globulina no soro foi significativa ($P < 0,01$) demonstrando que animais com placenta retida possuem relação maior que 1,0, apesar de alimentarem-se de pastagens altamente adubadas.
 - 7 As taxas de alfa, beta e gama globulinas elevaram-se somente no 3º e 5º dia pós parto nos animais do grupo CR, enquanto que nas vacas do grupo SR foram encontradas elevadas taxas de gama - globulina no pré - parto, sugerindo maior capacidade de reação orgânica.
 - 8 Vacas do grupo com retenção de placenta apresentaram significativamente menores taxas de imunoglobulinas "G" e "M", (IgG e IgM) no soro sanguíneo, e concentrações menores de imunoglobulina "A" (IgA) nas secreções de colostro e leite. ($P < 0,001$), pressupondo incapacidade por parte das vacas com placenta retida de gerarem anticorpos das classes IgG e IgM no soro e IgA no colostro e leite.
 - 9 Nos animais com retenção de placenta e com decréscimo das taxas sanguíneas de IgG e IgM ($P < 0,001$), encontraram-se níveis mais elevados destas mesmas imunoglobulinas nas secreções de colostro e leite, evidenciando doença da glândula mamária.
 - 10 A retenção de anexos fetais em vacas leiteiras, elevou para 87,0 % o índice de endometrites no puerpério precoce. Em contrapartida os animais sem retenção

- de placenta demonstraram esta afecção somente em 8,7 %.
- 11 A ocorrência de mastite aguda no pós-parto foi de 15,0 % em todo o rebanho pesquisado (n=241), sendo que as vacas com retenção de placenta foram mais susceptíveis à mastite. (62,5 %) ($P < 0,05$), devido principalmente à imunodepressão periférica, associada à resposta imune deficiente do úbere.
 - 12 Vacas com RP, transferem menor aporte de imunoglobulinas aos bezerros através do colostro e leite, devido as suas baixas taxas sanguíneas e à mastite.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 ABBAS, S.K.; PICARD, D. W.; ILLINGWORTH, D.; STORER, J.; PURDIE, D.W.; MONIZ, C.; DIXIT, M.; CAPLE, I.W.; EDLING, P.R.; RODDA, C.P.; MARTIN, T.J. CARE, A.D. Measurements of parathyroid hormone-related protein in extracts of fetal parathyroid glands and placental membranes. *J. Endocrinol., Bristol*, v. 124, n. 2, p. 319-325, 1990.
- 2 ABRAHAM, E.; FREITAS, A. Hemorrhage produces abnormalities in lymphocyte function and lymphokine generation. *J. Immunol., Baltimore*, v. 142, n.3, p. 899-906, 1989.
- 3 AGARWAL, S.K.; SHANKER, U.; MISHRA, R.R. Incidence of retained placenta and its effects on fertility in crossbreed cattle. *Livest. Adv., Uttar Pradesh*, v.9, n.12, p. 49-51, 1984. *Vet. Bul., Abs., Wallingford*, v. 55, n.5, p. 3064, 1985. Resumo.
- 4 ARCHBALD, T.; TRAN, T.; THOMAS, P.G.A.; LYLE, S.K. Apparent failure of PGF_{2a} to improve the reproductive efficiency of postpartum dairy cows that had experienced dystocia and/ or retained fetal membranes. *Theriogenology*, Stoneham, v. 34, n.6, p. 1025-1034, 1990.
- 5 BACILA, M. *Bioquímica veterinária*. São Paulo : Varela, 1980.
- 6 BADALIAN, A.M.; MANASYAN, A.O.; KAMALIAN, R.G. Biochemical values for the blood of cows with calved normally and cows with placental retention. *Vet. Mosc., Moscow*, n.1, p. 43-45, 1989.
- 7 BECAR, W.; VÃN RELL, J.P. *Técnicas de citologia e histologia*. São Paulo: Nobel, 1970.
- 8 BENDIXEN, P.H.; VILSON, B.; EKESBO, I.; ASTRAND, D.B. Diseases frequency in cows in Sweden II. retained placenta. *Prev. Vet. Med., Skara*, v.4, n.5, p. 377-387, 1987.
- 9 BLEIZEFFE, C.E. Placental retention in dairy cows and its effects on the reproductive traits. *Vet. Mex., México*, v. 11, n.3, p. 118-120, 1980.
- 10 BD, J.A.; FERNANDEZ, M.; BARTH, A.D.; MAPLETOP, R.J. Reduced incidence of retained placenta with induction of parturition in the cow. *Theriogenology*, Stoneham, v.38, n.1, p. 45-61, 1992.
- 11 BOITOR, I.; MUNTEAN, M.; MATES, N.; KADAR, L.; BOITOR, M. Relationship between blood vitamin content and the frequency of placental retention in cows. *Bul. Inst.*

- Agron. Ser. Cluj Napoca Zooteh. Med., Cluj Napoca, n. 32, p. 37-41, 1980. Vet. Bul. Abs., Wallingford, v.50; n.10, p. 902-903, 1980. Resumo.
- 12 BOSU, W. T.; PETER, A. T.; DEDECKER, R.J. Short-term changes in serum luteinizing hormone, ovarian response and reproductive performance in postpartum dairy cows with retained placenta. Can. J. Vet. Res., Ottawa, v.52, n.2, p. 165-171, 1988.
 - 13 BUTT, W. R. Hormone chemistry: protein, polipeptide hormones. Chichester: Horwood, 1974.
 - 14 CAMP, S.D. Understanding the processes of placental separation and uterine involution. Vet. Med., Lenexa, n.6, p. 642-646, 1991.
 - 15 CAMP, S.D. I processi della separazione placentare e dell' involuzione uterina. Selezione Veterinaria, Brescia, v.23, n.3, p. 208-211, 1992.
 - 16 CAPAUL, E.G.; LUCA, L. Placental retention as a metabolic disorder of cows and nutritional way preventing it. Vet. Argent., Buenos Aires, v.1, n.3, p. 220-226, 1984.
 - 17 CHAN, S.D.; NIE, R.; PANG, S.C. Cellular localization of ovine lactogen using monoclonal antibodies. Anim. Reprod. Sci., Amsterdam, n.23, p. 33-40, 1990.
 - 18 CHASSAGNE, M.; BARNOUIN, J. Circulating PGF₂ a and nutritional parametrs at parturition in dairy cows with and without retained placenta: relation to prepartum diet. Theriogenology, Stoneham, v.38, n.3, p. 407-418, 1992.
 - 19 CHASSAGNE, M.; BROCHART, M. Predisposing factors in placental retention: summary observations on two INRA farms. Bull. Mens. Soc. Vét. Prat., Ceyrat, v.69; n.10, p.5-11, 1986.
 - 20 CONNERTY, H.V.; BRIGGS, A. R. Determination of serum calcium by means of orthocresolphthalein complex-one. Am. J. Clin. Path., Philadelphia, n. 45, p. 290-296, 1966.
 - 21 CROWLE, A.J. Immunodiffusion. New York : Academic Press, 1961.
 - 22 CULLOR, J.S. Mastitis in dairy cows. Does it hinder reproductive performance? Vet. Med. Lenexa, n.8, p. 830-835, 1991.

- 23 CULLOR, J.S.; FAIRLEY, N.; SMITH, W.L.; DELLINGER, J.D.; INOKUMA, M.S.; SOUZA, L.M. Hemogram changes in lactating dairy cows given human recombinant granulocyte colony stimulating factor (r-Methu G - CSF) Vet. Pathol. Washington, D.C., v.27, n.5, p. 311-316, 1990.
- 24 DELLMAN, W. Histologia veterinária. 2. ed. Rio de Janeiro : Guanabara, 1986.
- 25 DISTL, O.; WURM, A.G.; BREM, G.; KRAUBLISH, H. Analyses of relationship between veterinary record production diseases and milk production in dairy cows. Livest. Prod. Sci. Amsterdam, n. 23, p. 67-68, 1989.
- 26 DOUMAS, B. T.; WATSON, W. A.; BIGGS, H. G. Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromocresol green. Chim. Acta, Copenhagen, n. 31, p. 87-96, 1971.
- 27 DUDLEY, D.J.; MITCHELL, M.D.; CREIGTON, K.; BRANCH, D.N. Lymphokine production during term human pregnancy: differences between peripheral leukocytes and decidual cells. Am. J. Obstet. Gynecol., Bristol, v.163, n.6, p. 1890-1893, 1990.
- 28 DUTTA, J.C.; DUGWEKAR, Y.G. Serum alkaline phosphatase and lactic dehydrogenase activity in cows with retained fetal membranes. Theriogenology, Stonehan, v.18, n.4, p. 423-429, 1982.
- 29 DZUVIC, A.; LOKAVANCIK, H.; FILIPOVIC - PANCIC, M; PODZON, M.; HUSKIC, E. Histological comparison of the epithelium of caruncular crypts of retained and spontaneously delivered bovine placentas, to investigate the aetiology of placental retention. Vet. Glas., Belgrade, v. 35, n.6, p. 595-604, 1982.
- 30 EDMONDSON, A. A importância da avaliação corporal no gado leiteiro. Revista Batavo, Carambeí, v.1, n.8, p. 2-4, 1992.
- 31 EHLERT, R. Chemotatic activity and leukocyte count in the bovine placenta, with reference to placental detachment, Hannover, 1985 55 p. Inaugural - Dissertation - Tierärztliche Hochschule, Hannover. Vet. Bul. Abs., Wallingford, v. 55, n.12, p. 7997, 1985.
Resumo.
- 32 ERWICH, J.J.H.M.; JOOSTEN, I.; HOVINS, J.; KEIRSE, M.J.N.C. Prostaglandins catabolism in the bovine placenta. Placenta, London, v.9, n.3, p. 297-302, 1988.

- 33 ETHERINGTON, W. G.; CHRISTIE, K.A.; WALTON, J.S.; LESLIE LESLIE, K.E.; WICKSTRON, S.; JHONSON, W.H. Progesterone profiles in postpartum Holstein cows as an aid in the study of retained placenta, pyometra and anestrus. Theriogenology, Stoneham, v. 35, n.4, p. 731-746, 1991.
- 34 FAHEY, J.L.; McKELVEY, E.M. Quantitative determination of serum immunoglobulins in antibody-agarplates. J. Immunol. Bethesda, n. 94, p. 84, 1965.
- 35 FAYEZ, K.; GHISHAN, M. D.; PIERCE, E. Placental calcium transport: Effect of cimetidine. Am. J. Obstet. Gynecol. Birmingham, v. 142, n.7, p. 922-923, 1982.
- 36 FERRO, P. V.; HAM, A.B. Rapid determination of total and free cholesterol in serum. Am. J. Clin. Path., Philadelphia, n. 33, p. 545-549, 1960.
- 37 FIELD, R.W.; BRETZLAFF, K.N.; ELMORE, R.G.; RUPP, G.P. Effect of induction of parturition on immunoglobulin content of colostrum and calf serum. Theriogenology, Stoneham, v.32, n.3, p. 501-506, 1989.
- 38 FISKE, C.H.; SUBARROW, Y. The colorimetric determination of phosphorus. J. Biol. Chem., Bethesda, n. 66, p. 375-400, 1925
- 39 FREDERICKSON, D.S.; LEVY, R.I. LEES, R. J. Fat transport in lipoproteins - An integrated approach to mechanism and disorders. New Engl. J. Med., Laurence, n. 276, p.34,-94; 94-103; 273-281, 1967.
- 40 GEOFFREY, R.A. Parto. In. Reprodução e obstetrícia veterinária. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1979 a.
- 41 GEOFFREY, R.A. Retenção de placenta. In. Reprodução e obstetrícia veterinária. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1979 b.
- 42 GOMDRI, G.A. A modification of the colorimetric phosphorus determination for use with photoelectric colorimeter. J. Lab. Clin. Med., St. Louis, n. 27, p. 955-960, 1942.
- 43 GONÇALVES, D. KOZICKI, L.E. Comparação entre taxas de imunoglobulinas "M", "G" e "A" no colostro e no leite de vacas leiteiras com e sem retenção de placenta. In: ENCONTRO PARANAENSE DE MEDICINA VETERINARIA (10.: 1993 :Campo Mourão). Anais. Campo Mourão : SPMV, 1993.

- 44 GORNALL, A.A.; BARDAWIL, C.J.; DAVID, M. M. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. J. Biol. Chem., Bethesda, n. 177, p. 751-766, 1949.
- 45 GRAEN, R. Relationship between the number and activity of leukocytes in the blood of the cows and expulsion of placenta. Hannover, 1985. Inaugural- Dissertation Tierärztliche Hochschule, Hannover. Resumo.
- 46 GROSS, T.S. The biochemistry and physiology of retained fetal membranes in dairy cattle. Diss. Abstr. Int., B. Sci., Eng., Ann Arbor, v.47, n. 11, 1987. Vet. Bul. Abs., Wallingford, v.57, n.10, p. 6591, 1987. Resumo.
- 47 GROSS, T.S.; WILLIAMS, W.F.; MORELAND, T.W. Prevention of fetal membranes syndrome (retained placenta) during inducing calving in dairy cattle. Theriogenology, Stoneham, v.26, n.3, p. 365-370, 1989.
- 48 GRUNERT, E. Morphological and functional aspects of placental maturation mechanisms in the cow. I. Light microscopy. J. Vet. Med. Ser. A, Hamburg, v.33, n.9, p. 660-667, 1986.
- 49 GRUNERT, E.; AHLERS, D.; HEUWIESER, W. The role of endogenous estrogens in the maturation process of the bovine placenta. Theriogenology, Stoneham, v. 31, n.5, p. 1081-1091, 1989.
- 50 GUNNINK, J. W. I. Retained placenta leukocytic activity. II. Pre-partum leukocytic activity and retained placenta. III. Postpartum leukocytic activity and relationship to cesarean section and retained placenta. IV. Influence of dilution on the chemotactic properties of cotyledon suspensions. Vet. Q., Dordrech, v.6, n.2, p. 49-59, 1984. Vet. Bul. Abs., Wallingford, v.54, n.8, p. 5224, 1985. Resumo.
- 51 HAFEZ, E. S. E. Reprodução animal. 4. ed. São Paulo: Manole, 1982.
- 52 HALPERN, N.E.; HOLLIS, N.E.; DAVID-SMITH, R. Duration of the placental membranes and subsequent fertility in dairy cows. Theriogenology, Stoneham, v. 23, n.5, p. 807-813, 1985.
- 53 HARVEY, D.; BASU, S.; BETTERIDGE, K. J.; GOFF, A.K.; KINDHAL, H. The influence of pregnancy on PgF_{2a} secretion in cattle II. Anim. Reprod. Sci., Amsterdam, n.7, p. 217-234, 1984.
- 54 HEDGE, G. Fisiologia endócrina clínica. Rio de Janeiro: Manole, 1988.

- 55 HEINONEN, M.; HEINONEN, K. Ritenzione di Placenta nei bovini. Effetto del Trattamento, o dell non Trattamento, sulle malattie puerperali e sul consecutivo andamento della fertilità. Selezione Veterinaria, Brescia, v. 22, n. 2, p. 469-471, 1991.
- 56 HEUWIESER, W.; GRUNERT, E. Significance of chemotactic activity for placental expulsion in cattle. Theriogenology, Stoneham, v.27, n.6, p. 907-912, 1987.
- 57 HEUWIESER, W.; WOICKE, J.; GRUNERT, E.; EHLERT, R. Importance of chemotatic activity and leukocytic infiltration in a placental tissue for expulsion of fetal membranes in cows. Tierärztl. Wochens., Berlin, v. 99, n.4, p. 127-130, 1986.
- 58 HIGASHI, T.; RUIZ, L.P.; OLIVEIRA, J.F.; BERTONI, L.C.; OBA, M. Dosagem de uréia : Reagente único utilizando diacetil monoxima. Rev. Bras. Patol. Clin., Rio de Janeiro, n. 9, p. 50-51, 1973.
- 59 HIRST, J.J.; RICE, J.E.; JENKIN, G.; THORBURN, G. D. Regulation of secretion by the ovine corpus luteum. Effect of activators of the protein Kinase. Can. J. Endocrinol. Québec, v. 124, n.2, p. 225-232, 1990.
- 60 HOLT, L.C. Involution pathology of the uterus in dairy cattle with retained placenta and uterine discharge following GnRH. Anim. Reprod. Sci., Amsterdam, v. 21, n.1, p. 11-23, 1989.
- 61 JOOSTEN, I.I.; STEELWAGEN, J.; DIJKHUIZEN, A. A. Economic and reproductive consequences of retained placenta in dairy cattle. Vet. Rec., London, v. 123, n.2, p. 49-54, 1989.
- 62 KACMARIK, J.; ELECKO, J.; SEVCIK, A. Thyroxine and cortisol levels in the blood serum of the cows with calves anormal parturition and normal parturition. Folia Vet. Kosice, v. 26, n.1, p. 93-103, 1984. Vet. Bul. Abs., Wallingford, v.56, n.4, p. 310-311, 1986. Resumo.
- 63 KAMIYA, S.; DAIGO, M.; Prepartum and postpartum glycogen accumulation in bovine uterine arteries. Anim. Reprod. Sci., Amsterdam, n. 16, p. 191-198, 1988.
- 64 KESSLER, M.A. A subfamily of bovine prolactin-related transcripts distinct from placental lactogen in fetal placenta. Biochemistry, Washington, D.C., v. 28, n.12, p. 5161-5164, 1989.
- 65 KINDHAL, H.; BASU, S.; AIUMLAMAI, S. O.; STABENFELDT, G. Regulation of prostaglandin synthesis during early

- pregnancy in the cow. J. Reprod. Fertil., Cambridge, v.37, p. 269-276, 1989.
- 66 KING, G. J.; ATKINSON, B. A. The bovine intercaruncular placenta throughout gestation. Anim. Reprod. Sci., Amsterdam, n.12, p. 241-254, 1987.
- 67 KLEIN, J. Immunology. Cambridge: Blackwell, 1990.
- 68 KOHN, J. Cellulose acetate electrophoresis and immunodiffusion techniques. In: Chromatographic and electrophoretic techniques. Chicago : Smith I., 1976, v.2.
- 69 KOLK, J.H.; WESING, T.; BREUNIG, H.J.; WENTING, G.H.; MOL, J.A. Udder oedema associated with adrenocortical insufficiency in a herd of Holstein/Friesian cows. Vet. Rec., London, v. 128, n.7, p. 149-152, 1991.
- 70 KOZICKI, L.E. Über den postpartalen Zyklusverlauf bei Kühen unter verschiedenen Haltungsbedingungen, dargestellt anhand von klinischen Erhebungen und von Progesteronbestimmungen in Milchproben mit Hilfe des Enzymimmuntests und Radioimmuntests. Giessen, 1982. Dissertation - (Doktorgrades) - Fachbereich Veterinärmedizin und Tierzucht, Justus Liebig Universität Giessen.
- 71 KOZICKI, L.E. Primeira atividade ovariana no puerpério de vacas leiteiras acometidas por endometrite. In: ENCONTRO DE PESQUISAS VETERINARIAS (8º .: 1983 : Jaboticabal). Anais. Jaboticabal : UNESP, 1983, p. 132-133.
- 72 KOZICKI, L. E.; TAHIRA, J. K. Contribuição ao estudo do puerpério em vacas leiteiras. Rev. Set. Ciências Agrárias. Curitiba, n.9, p. 145-151, 1987.
- 73 KOZICKI, L.E. Indução ao Estro em Bovinos mediante uso de Cloprostenol. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINARIA (22.: 1992 : Curitiba). Anais. Curitiba : SPMV, 1992, p. 81 a.
- 74 KOZICKI, L.E. Uso da Gonadorelina (GnRH) no puerpério precoce e performance reprodutiva de vacas leiteiras (dados parciais). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINARIA (22.: 1992 : Curitiba). Anais. Curitiba : SPMV, 1992, p. 80 b.
- 75 KOZICKI, L.E.; GONÇALVES, D. Estudo da incidência de problemas reprodutivos no rebanho bovino da bacia leiteira de Curitiba. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINARIA (22.: 1992 : Curitiba). Anais. Curitiba : SPMV, 1992, p. 79

- 76 KRUSE, K.; KRACHT, U. Inhibitory effect of calcium on serum prolactin. Acta Endocrinol., Copenhagen, n. 98, p. 339-344, 1981.
- 77 KUMMER, V.; ZRABY, Z.; CANDLERLE, J.; SVECOVA, D. Histological examination of the placentome of cows after induced parturition. Vet. Med., Brno, v. 32, n.1, p. 9-17, 1985.
- 78 KUMPF, A. Course of puerperal period in cows with placental retention as indicated by chemical values in the blood. Giessen, 1985, 253 p. Inaugural - Dissertation - Fachbereich Veterinärmedizin, Justus Liebig Universität Giessen. Vet. Bul. Abs., Wallingford, v.55, n.11, p. 7319, 1985. Resumo
- 79 LABTEST. Sistemas para diagnósticos. Belo Horizonte, 1988.
- 80 LEIDL, W.; HENER, D.; ROCKEL, P. Investigations of the PGF_{2a} concentrations a maternal and foetal cotyledons of cows with and without RP. Zentralbl. Vet. Med. v.27, n.9, p. 691-696, 1981.
- 81 LILIUS, E.M.; PESONEN, U. Utilizzo dell' attività Delle Cellule infiammatorie del lotte per la diagnosi di mastite bovina. Selezione Veterinaria, Brescia, v.22, n.10, p. 1542-1545, 1991.
- 82 LOTTHAMMER, L.K. Content of enzymes metabolites, minerals and hormones in the blood of cows before calving, in relation to subsequent placental retention. Tierärzth. Wochens. Berlin, v.90, n.10, p. 427-433, 1984.
- 83 MANASYAN, A. O.; DVSEPYAN, A. A.; MARKARYAN, S. G.; KHOTOSANIAN, V. Micromorphology of the bovine placenta during the puerperal period. Vestri, S. Kh. Nauki, Mosc., n.6, p. 125-128, 1985. Vet. Bul. Abs., Wallingford, v.55, n.10, p. 814-815, 1985. Resumo.
- 84 MARTIN, J.M. Effects of retained fetal membranes on milk yield and reproductive performance. J. Dairy Sci. Champaign, v. 69, n.4, p. 1166-1168, 1986.
- 85 MARTIN, L.R.; WILLIAMS, W.F.; RUSSET, E.; GROSS, T.S. Postpartum uterine motility measurements in dairy cows retained their fetal membranes. Theriogenology, Stoneham, v. 18, n. 4, p. 390 - 395 Anim. Breed. Abs., Tucson, v.50, n.2, p. 681-685, 1982.
- 86 MATTON, P.; ADELKOUN, V.; DUFFOUR, J. J. Concentrations de la progesterone, des oestrogenes et du cortisol dans le plasma des vaches ayant donne naissance a des

- jumeaux ou ayant eu des retentions placentaires. Can. J. Anim. Sci., Ottawa, n. 59, p. 481-490, 1979.
- 87 MEYER, H.H.D.; SCHALLENBERGER, E.; FECK, H. Secretion of Prostaglandins F_2 alfa and I_2 in cattle during early pregnancy. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION AND ARTIFICIAL INSEMINATION (11.; 1988 ; Dublin). Brief communications. Dublin : University College, 1988, v.2, p. 107.
- 88 MILLER, J.B.; LODGE, J.R. Postpartum oxytocin treatment for prevention of retained placenta. Theriogenology, Stoneham, v.22, n.4, p. 385-388, 1984.
- 89 MURRAY, R.D.; ALLISON, J. D.; GARD, R.P.; Bovine endometritis: comparative efficacy of alfaprostenol and intrauterine therapies and other factors influencing clinical success. Vet. Rec., London, v.127, n.4, p. 86-90, 1990.
- 90 MUSSAH, I.; SCHABE, C.; ANDERSON, L. L. Relaxin and prostaglandin on oxytocin secretion from bovine luteal cells during different stages of gestation. Acta Endocrinol. Copenhagen, v.122, n.3, p. 396-402, 1990.
- 91 NESS, A.T.; PATEWKA, J.V.; PEACOCK, A.C. Evaluation of a recently reported stable Liebermann-Burchard reagent and its use for the direct determination of total serum cholesterol. Clin. Chim. Acta, Amsterdam, n. 10, p. 229-237, 1964.
- 92 OFFENEY, F. Level of chemotatic activity in the placentomes of the cow with reference to placental expulsion. Hannover, 1986, 61 p. Inaugural-Dissertation Tierärztliche Hochschule, Hannover. Vet. Bul. Abs., Wallingford, v.57, n.1, p. 547, 1987.
- 93 OLIVEIRA, A.L.; SOARES, J.B.; GRECO, J.B.; GALIZZI, J.; CANCADO, J.R. Métodos de laboratório aplicados à clínica : técnica e interpretação. 6. ed. Rio de Janeiro ; Guanabara, 1985.
- 94 PARGAONKAR, D.R.; BAKSHI, S.A. Reproductive disorders of the red Kán dhari cows and their cross-breeds. Indian J. Reprod., Parbhani, v.8, n.1, p. 253-254, 1987.
- 95 PAYSLEY, L. G.; MICKELSON, W. D.; ANDERSON, P. B. Mechanisms and therapy for retained fetal membranes and uterine infections of cows. A review. Theriogenology, Stoneham, v.25, n.3, p. 230-242, 1986.

- 96 PETER, A.T.; BOSU, W.T.K. Peripartal endocrine changes associated with retained placenta in dairy cows. Theriogenology, Stoneham, v. 28, n.3, p. 383-394, 1987.
- 97 PIMENTEL, S.; EVANS, G.; WAGNER, W.C. Placental synthesis of oestrogens at parturition and during placental retention in the cow. Theriogenology, Stoneham, v. 28, n.6, p. 755-766, 1987.
- 98 PIUNIAK, I. G.; BUDNIKOV, V. A.; ZABOLOTSKI, V. A.; RYABKIN, A.V. The effect of microbial and synthetic B-carotene on reproduction performance in cows. Zootekniya, n.2, p. 46-47, 1989.
- 99 REITMAN, S.; FRANKEL, S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic transoxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. Am. J. Clin. Path., Philadelphia, n.28, p. 56-63, 1957.
- 100 REYNOLDS, L.P. Transplacental clearance and blood flows of bovine gravid uterus at the several stages of gestations. Am. J. Physiol., v. 253, n.5, p. 735-739, 1987.
- 101 ROITT, I.; BROSTOFF, D.M. Imunologia. São Paulo : Manole, 1989.
- 102 ROITT, I. Essential immunology. 7. rd. Oxford : Blackwell, 1991.
- 103 ROSA, L.A.C.; ANDRADE, P.; SAMPAIO, A. A. M.; SIQUEIRA, M.M.; OLIVEIRA, M.D.S. Efeito do selênio e vitamina E, sobre retenção de placenta do gado leiteiro. Arq Vet., Jaboticabal, v.1, n.1, p. 117-122, 1985.
- 104 ROSENBERGER, A. Exame clínico de bovinos. 2. ed. Rio de Janeiro : Guanabara, 1984.
- 105 ROY, A.V. Rapid method for determining alkaline phosphatase activity in serum with thymolphthalein monophosphate. Clin. Chem., Winston-Salem, n.16, p. 431-461, 1970.
- 106 ROY, A. V.; BROWER, M. E.; HAYDEN, J.E. Sodium thymolphthalein monophosphate : a new acid phosphatase substrate with greater specificity for the prostatic enzyme in serum. Clin. Chem., Winston-Salem, n. 17, 1093-1102, 1971.
- 107 RUSIA, U. Placental morphology & histochemistry in iron deficiency anemia. Indian J. Med. Res., New Delhi n.87, 468-474, 1988.

- 108 SALA, M.A. Localização ultraestrutural da fosfatase alcalina na placenta normal e a termo. J. Bras. Ginecol., Rio de Janeiro, v. 98, n.4, p. 185-187, 1988.
- 109 SANERWEIN, H.; MEYER, H.H.D.; MOSTEL, E. Low sensitivity to oestrogens in bovine placenta at term. J. Vet. Med. Ser. A., Hamburg, v 36, n.3, p. 236-240, 1989.
- 110 SCHALM, D. W. Bovine mastitis. Philadelphia, : Lea e Febiger, 1971.
- 111 SCHALM, D.W. Veterinary hematology. 3. rd. Philadelphia : Lea e Febiger, 1975.
- 112 SCHUKKEN, Y. E. retained placenta and mastitis. Cornell Vet., Ithaca, v. 79, n.2, 1989. Editorial.
- 113 SCHUKKEN, Y.E.; ERB, H. N.; SCARLETT, J. M. A hospital based study of the relationship between retained placenta and mastitis in dairy cows. Cornell Vet., Ithaca, v.79, n.4, p. 319-326, 1989.
- 114 SHALEM, Z. Control of bovine placental progesterin synthesis : calcium dependent steroidogenesis is modulated at the site of the cholesterol side chain cleavage enzyme. J. Steroid. Biochem., Oxford, v. 31, n.5, p. 835-838, 1988.
- 115 SILVEIRA, J. M. Patologia clínica veterinária. Interpretação. Rio de Janeiro : Guanabara, 1988a.
- 116 SILVEIRA, J.M. Interpretação de exames de laboratório em veterinária. 100 casos clínicos, Rio de Janeiro : Guanabara, 1988b.
- 117 SPINDLER, H. G. Investigations into causes of placental retention in the cow with B-carotene and vitamin A in blood serum and cells structure of the placentoma. Hannover, 1985, 55 p., Inaugural - Dissertation - Tierärztliche Hochschule. Hannover. Vet. Bul. Abs., Wallingford, v. 51, n.6, p. 3530, 1981. Resumo.
- 118 STOYANOV, S.; IOSIFOV, Y.A.; BILDIREV, N.; PETKOVA, P. Calving difficulties in cows housed under different conditions the dry period. Vet. Sbirka, Brno, v. 86, n.4, p. 29-31, 1988.
- 119 TAVERNE, M. A. M.; BEVERS, M. M.; VAN DER WEYDEN, G.C.; DIELEMAN, S.J.; FONTIJNE, P. Concentration of growth hormone, prolactin and cortisol in fetal and maternal blood and amniotic fluid during late pregnancy and

- parturition in cows with canulated fetuses. Anim. Reprod. Sci., Amsterdam, n.17, p. 51-59, 1988.
- 120 TAINTURIER, D.; JAIED, M. Prevention of placental retention in cows with a PGF₂ alfa analogue, Iuprostiol. Rev. Med. Vet., Nantes, v. 140, n.1, p. 899-901, 1989.
- 121 TIZARD, I. Veterinary immunology. 3. rd. Philadelphia : Saunders, 1987.
- 122 VALENZUELA, G.; BODKHE, J. Effect of pregnancy-induced hypertension upon placental prostaglandin metabolism: decreased prostaglandin F₂ alfa catabolism with normal prostaglandin E₂ catabolism. Am. J. Obstet. Gynecol., Birmingham, n. 15, p. 225-257, 1980.
- 123 VER, A.; MULLNER, N.; SZOLLAR, L.; SOMOGYI, J. Oxytocin regulates Ca² level in myometrium by influencing phosphoinositide metabolism. Acta Physiol. Hung., Budapest, v. 74, n.2, p. 189-194, 1989.
124. VUKOVIC, D.; SAMANC, H.; DAMNJANOVIC, Z.; PERKOVIC, S.; IGNJIC, D. Calcium, phosphorus, carotene and vitamin A concentrations in the blood serum of simmental cows with reference to infertility. Vet. Glas., Belgrade, v. 41, n. 11, p. 927-930, 1987.
- 125 WAGNER, W.C. Endocrine physiology of the parturient cow and placental retention. Rev. Bras. Reprod. Animal., Belo Horizonte, n. 2, p. 61-71, 1989.
- 126 WEICHSELBAUM, T.E. Accurate and rapid method for determination of protein in small amounts of blood serum and plasma. Am. J. Clin. Path., Philadelphia, n.10, p. 40-49, 1949.
- 127 WERVEN, T.; SCHUKKEN, Y. H.; LLOYD, J.; BRAND, A.; HEERING, H.T.; SHEA, M. The effects of duration of retained placenta on reproduction, milk production, postpartum disease and culling rate. Theriogenology, Stoneham, v.37, n.6, p. 1191- 1203, 1992.
- 128 WILLIAMS, W.F.; MARGOLIS, M. J.; MANSPEAKER, R. J.; DOUGLASS, L.; DAVIDSON, J.P. Peripartum changes in bovine placenta related to fetal membranes retention. Theriogenology, Stoneham, v. 28, n.2, p. 213-223, 1987.
- 129 WILTBANK, J.N.; TREVINO, R.; VILLALON, A.; CRESCHAW, D. Incidence of retained placenta following induction of parturition with corticoids or prostaglandins.

- Theriogenology, Stoneham, v.22, n.3, p. 427-434, 1987.
- 130 WITAKER, J.F. A general colorimetric procedure for the estimation of enzymes which are linked to the NADH/NAD system. Clin. Chim. Acta, Amsterdam, n.24, p. 23-27, 1969.
- 131 WYBENGA, D.R.; DI GIOGIO, J.; PILEGGIV. J. Manual and automated methods for urea nitrogen measurements in whole serum. Clin. Chem., Winston-Salem, n. 17, p. 891-895, 1971.
- 132 ZDUNCZIK, S.; JANOSWSKI, T. Review of the role of steroid hormones and PG's in expulsion of the placenta (many ref.) Dt. Tierärztl. Wochens. Hannover, v. 96, n.3, p. 146-156, 1989.
- 133 ZOLLERS, W. G.; GAVERICK, H. A.; YOUNQUIST, R. S.; OTTOBRE, J.S.; SILCOX, R.W.; COPELIN, J.H.; SMITH, M.F. In vitro secretion of prostaglandins from endometrium of postpartum beef cows expected to have short or normal luteal phases. Biol. Reprod., Champaign, v. 44, n.3, p. 522-526, 1991.

ANEXOS

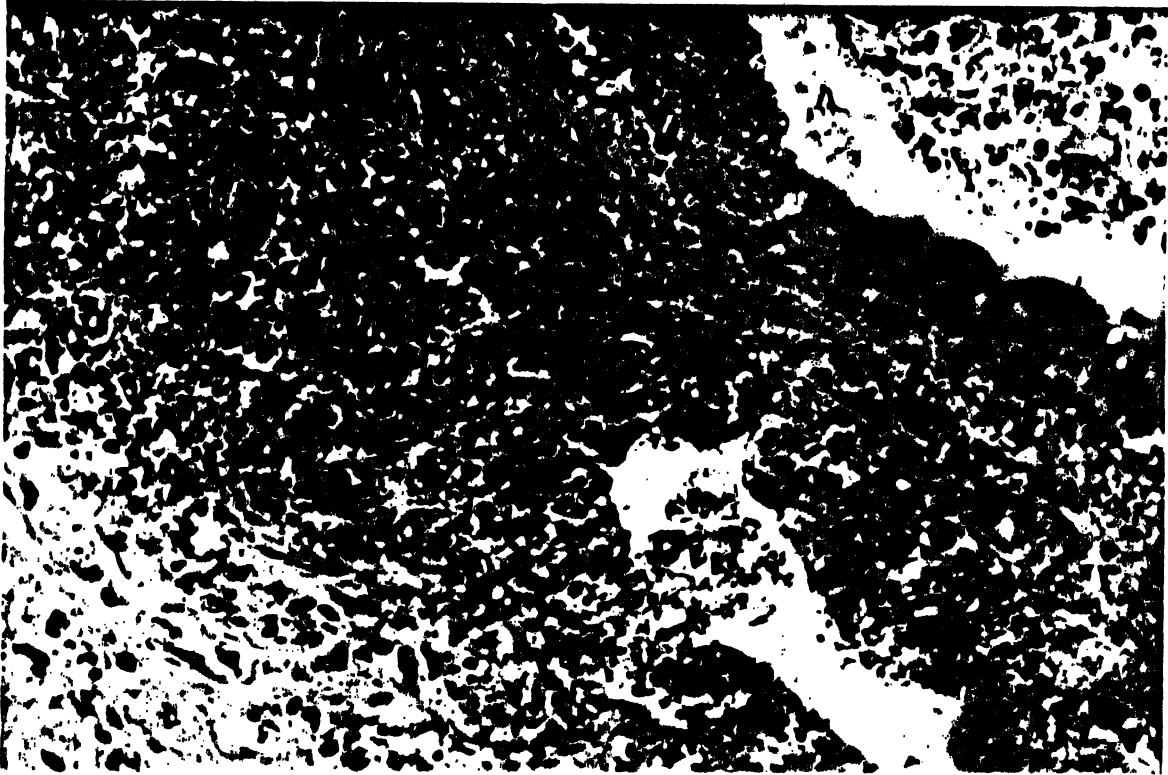


Figura 27. Cotilédone infiltrado por leucócitos, em partos sem RP

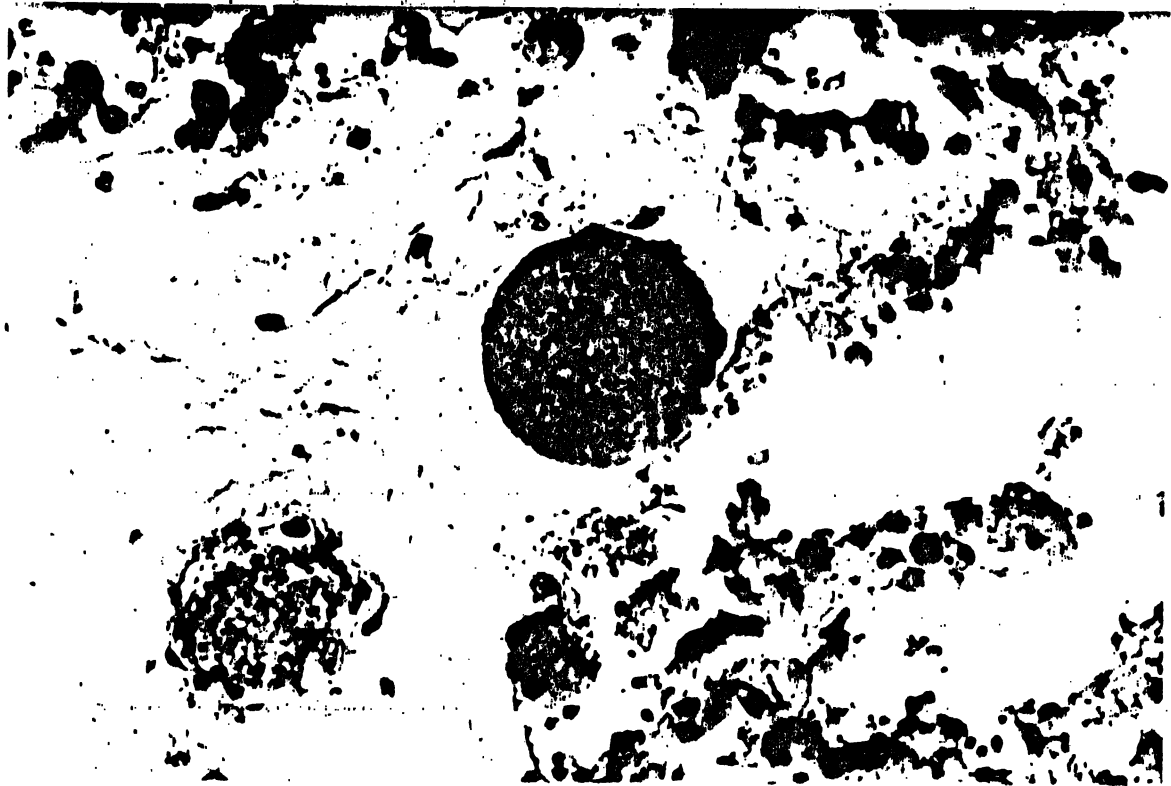


Figura 28. Não colabamento de vaso sanguíneo comum nos casos de retenção de placenta.



Figura 29. Colabamento de vaso sanguíneo comum em partos normais.

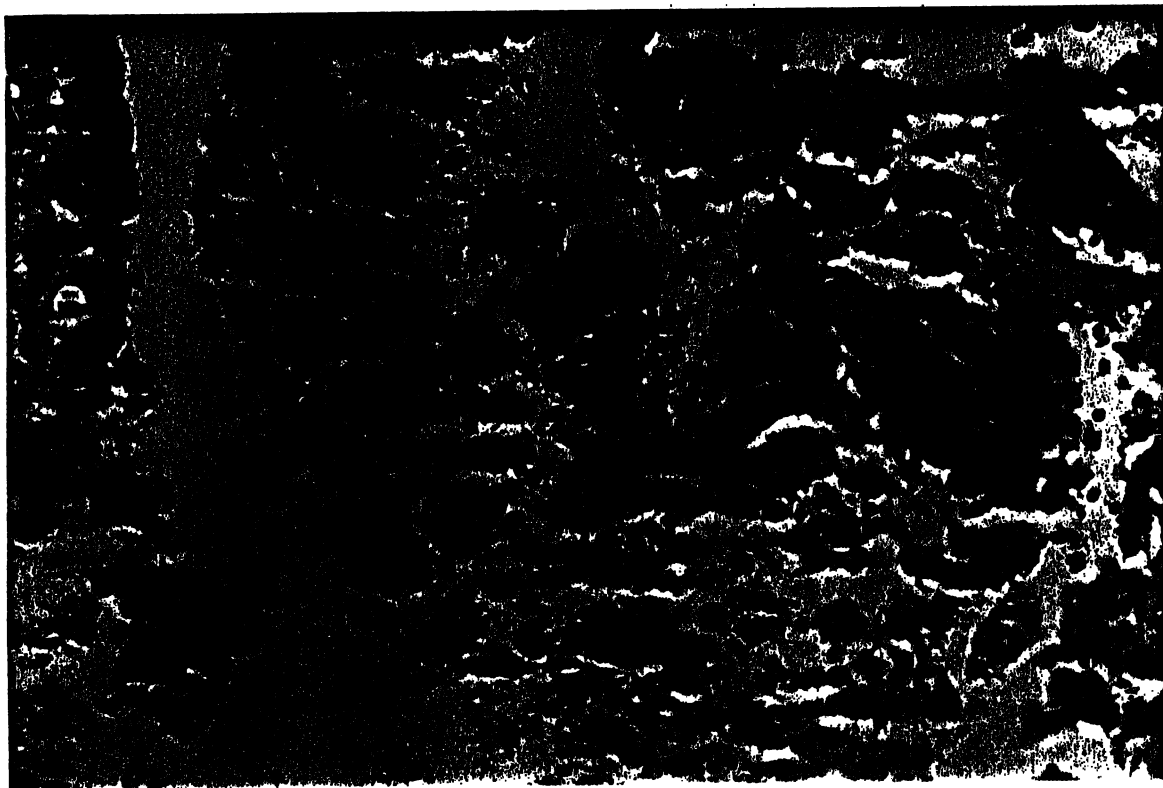


Figura 30. Hemorragia no cotilédone, comum em casos de retenção de placenta

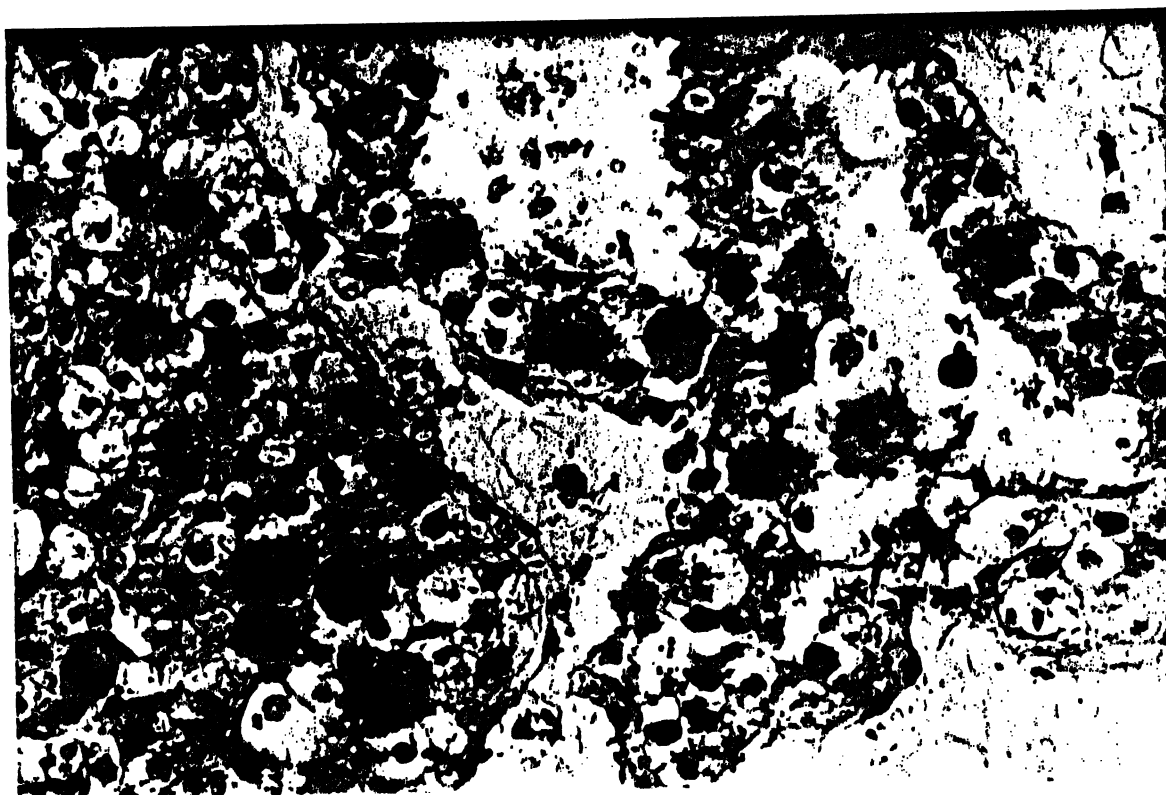


Figura 31. Células gigantes infiltradas no cotilédone como ocorre em vacas sem retenção de placenta.

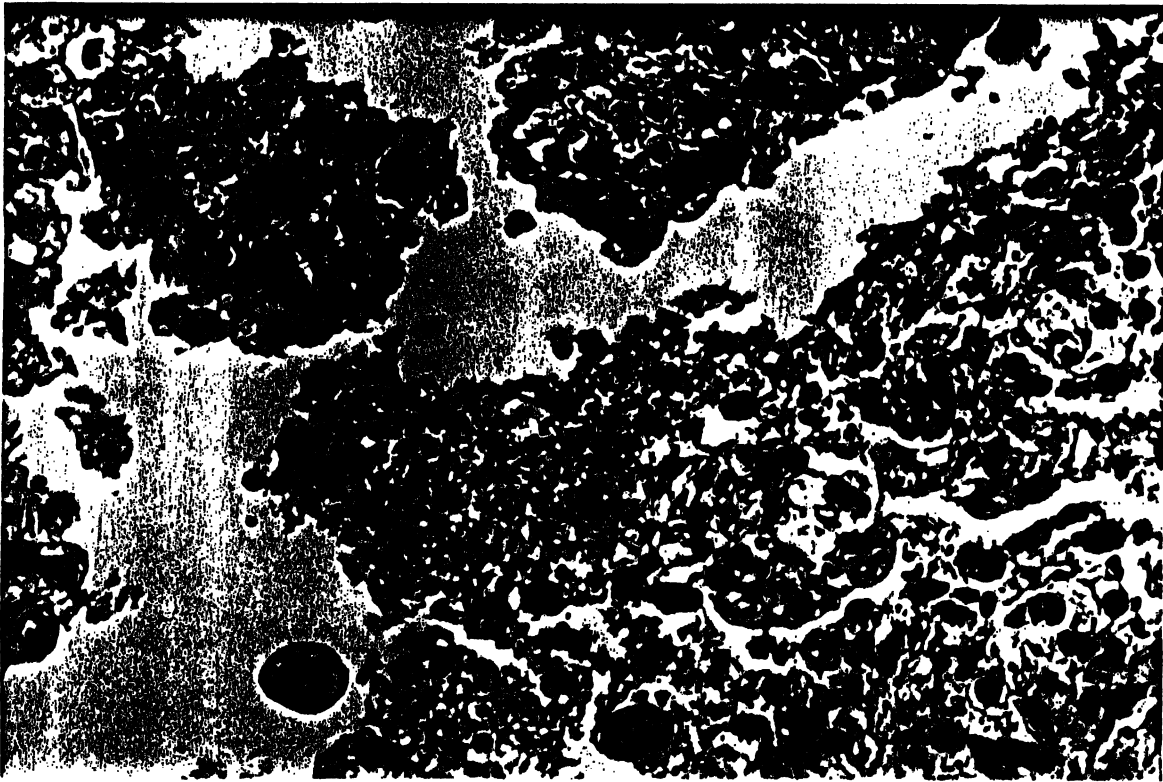


Figura 32. Cotilédone com menor infiltração de células gigantes comum em casos com RP.

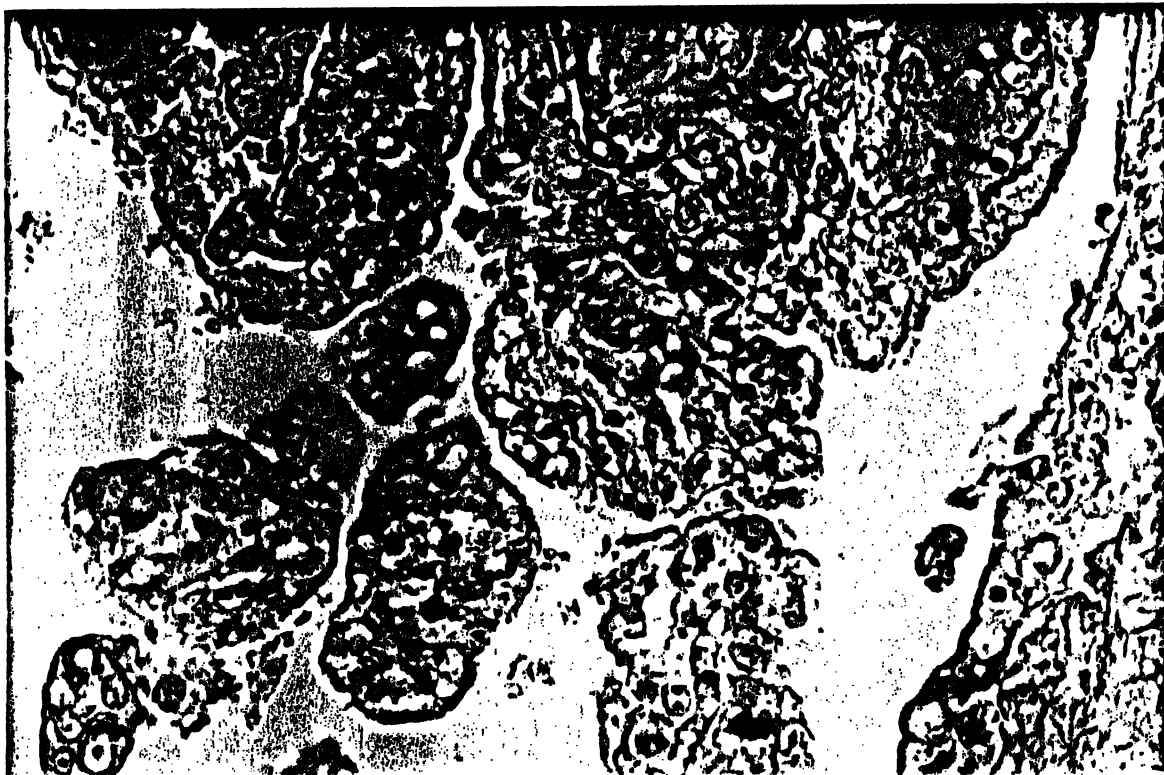


Figura 33. Cotilédone bovino com coloração tricrômica de Van Gieson, demonstrando edema das vilosidades coriônicas.

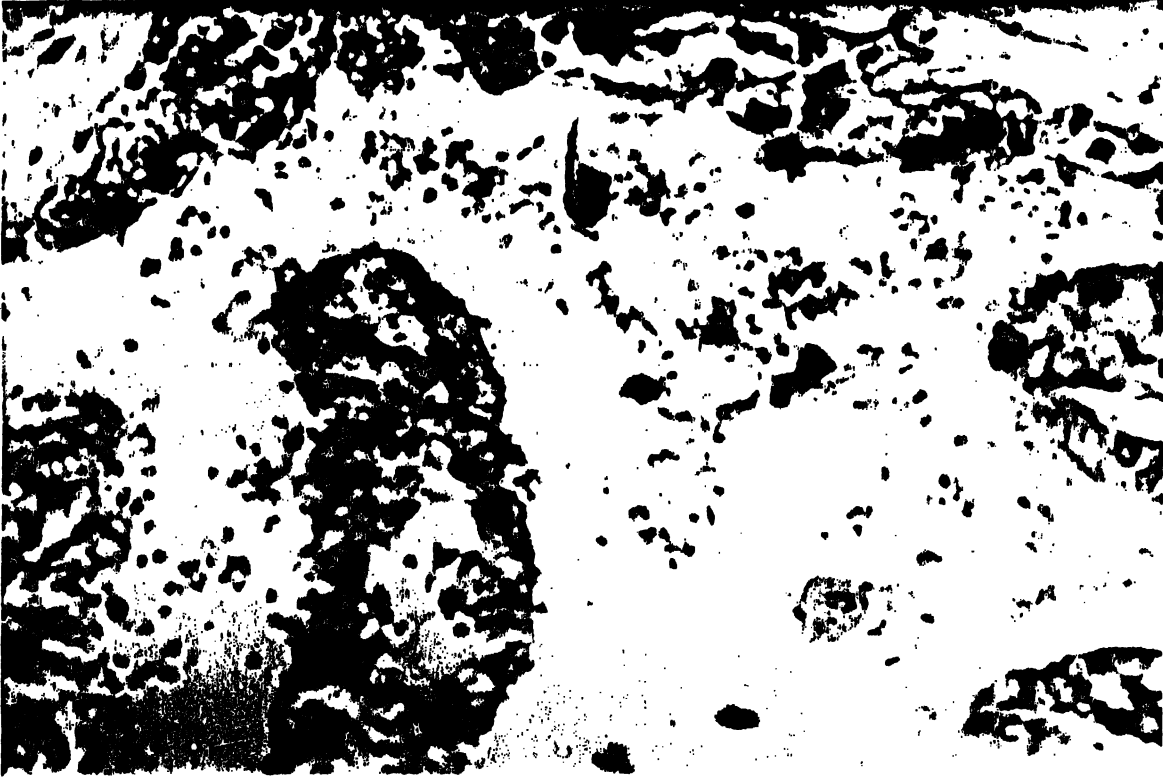


Figura 34. Necrose, picnose e cariólise mais intensa em cotilédones de vacas SR, que em vacas CR.

FICHA DE INFORMAÇÕES SÔBRE PROPRIEDADES

PROPRIEDADE Nº _____

MUNICIPIO: _____

COMUNIDADE: _____

NOME DO PROPRIETÁRIO: _____

DADOS SÔBRE A PROPRIEDADE:

1. INSTALAÇÕES:

Estábulo: _____

Cêrcas: _____

Bezerril: _____

Piquetes: _____

2. ALIMENTAÇÃO:

Pastagens: Verão: _____

Inverno: _____

Suplementação: RAÇÃO: _____ Quanto: _____

OUTROS: _____

Aguasdas : _____

Mineralização: S N Qual sal: _____

Quantidade / Vaca / Dia: _____

3. Manejo:

Aleitamento: Como faz _____

Manejo nos partos: _____

Desmame: _____

Novo serviço: _____

4. SANIDADE:

Desverminações: _____ Vacinações: _____

Desinfecções: _____ Exames: Br. _____ Tb. _____

5. HIGIENE:

6. PRODUÇÃO: n°meses _____ Tipo leite _____ Ordenha / _____ Colostro _____

FICHA DE INFORMAÇÕES DO ANIMAL

NÚMERO: _____

PROPRIEDADE Nº _____

PRÓPRIETÁRIO: _____

ANIMAL: _____

Nº de PARTOS: _____

RAÇA: _____

PARTO: Único Gemelar

NASCIMENTO: _____

PRODUÇÃO DE LEITE _____

IDADE: _____

PARTO: Normal difícil Data ____ / ____ Teve retenção S N

M F Bezerro: vivo morto tamanho PMG _____ Pêso vivo: _____

Houve stress S N ocorrência de geada S N Outros _____ :

Horário que ocorreu o parto: _____

OUTROS DADOS:

Data da secagem: _____ Tetos: normais _____

perdidos _____

Reteve placenta outras vezes _____

Data da I.A. _____

Esteve em tratamento S N Quando _____

Tratamento feito: _____

Avaliação do estado da vaca: _____

ALTERAÇÕES NO PARTO: _____

Datas de coleta de material:

Sangue: 1 ____ / ____ / 92 2 ____ / ____ / 92 3 ____ / ____ / 92

4 ____ / ____ / 92 5 ____ / ____ / 92

Leite: ____ / ____ / 92 Colostro: ____ / ____ / 92

Placenta: ____ / ____ / 92

OBSERVAÇÕES:

