

**Vera Lúcia Pereira de Sousa**

**MONENSINA SÓDICA**



Universidade Fernando Pessoa  
Faculdade de Ciências da Saúde  
Porto, 2016

**Vera Lúcia Pereira de Sousa**

**MONENSINA SÓDICA**



Universidade Fernando Pessoa  
Faculdade de Ciências da Saúde

Porto, 2016

## MONENSINA SÓDICA

---

*Vera Lúcia Pereira de Sousa*

Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

**Orientador:** Professora Doutora Carla Martins  
Lopes

## **Resumo**

O aumento populacional ao nível mundial exige uma maior disponibilidade de proteína de origem animal. Neste contexto, foi e continua a ser necessário utilizar ferramentas que aumentem a produtividade animal.

Desde 2006, a União Europeia proibiu a utilização de antibióticos nas rações dos animais como promotores de crescimento. A necessidade de aumentar o desempenho animal impulsionou o desenvolvimento de estudos relativos à utilização de ionóforos como aditivos na dieta dos ruminantes, com o objetivo de aumentar a eficiência energética e a recuperação do animal após o período de gestação.

O uso de aditivos ionóforos na dieta dos bovinos é um dos recursos que têm sido estudados nos últimos tempos, entre os quais se destaca a utilização da Monensina. O presente trabalho discorre acerca da ação do aditivo Monensina sódica e a sua relação com a rentabilidade do animal. Adicionalmente, esta dissertação apresenta uma revisão bibliográfica de como os ionóforos influenciam o processo de digestão, fermentação ruminal e controlo de determinadas patologias do animal.

A dissertação apresenta ainda um estudo onde foi avaliada a ação da Monensina sódica no arranque das vacas leiteiras, após gestação, e na prevenção e tratamento de doenças metabólicas no período de transição, numa Exploração Agropecuária de produção de leite, na região do Minho, em Braga. Neste estudo verificou-se que a administração de Monensina em vacas leiteiras originou uma diminuição do número de lactantes, reduziu a produção de leite e o número de deslocamentos do abomaso por animal quando comparados com animais do grupo de controlo.

**Palavras-chave:** Monensina, ionóforos, aditivos, cetoses, deslocamento de abomaso, mastite, células somáticas, reprodução, produção de leite.

## **Abstract**

The population growth worldwide requires greater availability of animal protein. In this context, it was and remains necessary to use tools that increase animal productivity.

Since 2006 the European Union banned the use of antibiotics in animal feed as growth promoters. The need to increase animal performance spurred the development of studies on the use of ionophores as additives in the diet of ruminants, in order to increase energy efficiency and the animal's recovery after pregnancy period.

The use of ionophores additives in the diet of cattle is one of the resources that have been studied in recent times, among which stands out the use of monensin. This work refers to the actions of the monensin as additive and its relationship to the productivity of animal. Additionally, this work presents a literature review of how ionophores influence the process of digestion, ruminal fermentation and control of certain animal diseases.

The dissertation also presents a study where the action of monensin sodium was evaluated in the start-up of dairy cows after pregnancy and in the prevention and treatment of metabolic diseases in the transition period in one Agricultural Exploitation of Milk Production in the region of Minho in Braga. In this study it was found that Monensin reduced the administration of fewer lactating, decreased milk production and reduce the number of abomasal displacement per animal compared to animals of the control group.

**Keywords:** Monensin, ionophores, additives, ketosis, displaced abomasum, mastitis, somatic cells, reproduction, milk production.

## **Agradecimentos**

A realização deste trabalho contou com muitos apoios e incentivos, ficarei eternamente grata por tua a ajuda.

À Professora Doutora Carla Martins, pela sua orientação, pelo seu apoio e disponibilidade, pelas críticas e opiniões, que foram surgindo no decorrer deste trabalho.

À Dra. Adelaide e à Dra. Andreia por todo o apoio e trabalho disponibilizado durante o estudo realizado.

Aos meus amigos que sempre me apoiaram e deram coragem para lutar nesta fase, no companheirismo e apoio nos momentos mais difíceis.

À minha família, estarei eternamente grata, porque sozinha nunca chegaria até aqui. Agradeço de forma única toda a ajuda, incentivo, a toda a amizade, apoio incondicional nos obstáculos que foram surgindo nesta caminhada.

## **Dedicatória**

A minha conquista dedico-a, com todo o meu amor, a todos os que acreditaram em mim e de alguma forma contribuíram para que esta vitória fosse possível.

*Dedico este trabalho à minha família.*

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”

*Madre Teresa de Calcutá*

## **Índice Geral**

<b>Resumo</b>	v
<b>Abstract</b>	vi
<b>Agradecimentos</b>	vii
<b>Dedicatória</b>	viii
<b>Índice de Figuras</b>	xi
<b>Índice de Tabelas</b>	xii
<b>Abreviaturas</b>	xiii
<b>I. Introdução</b>	1

<b>II. Promotores de crescimento</b>	4
2.1. Proibição do uso de antibióticos na ração como promotores de crescimento na União Europeia	5
2.2. Consequências da proibição da utilização de antibióticos como promotores de crescimento	8
2.3. Antibiorresistências devido ao uso de antibióticos como promotores de crescimento	9
2.4. Ionóforos	9
2.4.1. Efeito dos ionóforos no metabolismo da energia nos ruminantes	14
2.4.2. Efeitos dos ionóforos no metabolismo da proteína nos ruminantes	15
2.4.3. Efeitos dos ionóforos sobre o pH do rúmen	15
2.4.4. Efeitos dos ionóforos na prevenção de distúrbios metabólicos	17
2.4.5. Ionóforos e absorção mineral	18
2.4.6. Toxicidade pela utilização de ionóforos	18
2.4.7. Outros efeitos dos ionóforos em vacas	19
<b>III. Monensina</b>	20
3.1. Kexxtone <sup>®</sup>	22
3.2. Monensina na produção de leite	24
3.3. Monensina na reprodução	25
3.4. As doenças metabólicas no período de transição	28
3.4.1. Cetose	28
3.4.2. Deslocamento do abomaso	29
3.4.3. Retenção placentária	31
<b>IV. Estudo</b>	33
4.1. Amostra	33
4.2. Procedimentos estatísticos	34
4.3. Resultados	35

4.3.1. Análises preliminares	35
4.3.2. Medidas descritivas	36
4.4. Associações entre administração de Monensina e ocorrência de condições médicas	39
4.5. O impacto da administração da Monensina ao nível do número de lactantes, quantidade de células somáticas e produção de leite	40
4.6. Discussão dos resultados	42
<b>V. Conclusões</b>	45
<b>VI. Bibliografia</b>	46

## Índice de Figuras

<b>Figura 1</b> - Efeitos da Monensina sobre as bactérias.	10
<b>Figura 2</b> - Parede celular para uma bactéria Gram-negativa (A) e para uma bactéria Gram-positiva (B).	11
<b>Figura 3</b> - Representação esquemática do efeito dos ionóforos sobre a fermentação ruminal.	12
<b>Figura 4</b> - Sequência de alterações químicas e microbianas características da acidose ruminal aguda.	16
<b>Figura 5</b> - Molécula de Monensina.	20

<b>Figura 6</b> - Bolus Kexxtone <sup>®</sup> .	22
<b>Figura 7</b> - Aplicador do bólus Kexxtone <sup>®</sup> .	23
<b>Figura 8</b> - Prevalência das vacas com cetose, tratadas com Kexxtone <sup>®</sup> e com placebo.	25

### **Índice de Tabelas**

<b>Tabela 1</b> - Alguns ionóforos produzidos por fermentação de algumas estirpes de <i>Streptomyces</i> sp.	11
<b>Tabela 2</b> - Comparação do número de células somáticas e do número de litros de leite produzidos, entre os 3 momentos de avaliação.	35
<b>Tabela 3</b> - Medidas descritivas relativas à administração de Monensina.	37
<b>Tabela 4</b> - Medidas descritivas relativas ao número de lactantes, células somáticas, produção de leite, número de deslocamentos do abomaso e mastites de cada animal.	37
<b>Tabela 5</b> - Medidas descritivas relativas à ocorrência de condições médicas, morte e abate do animal.	38
<b>Tabela 6</b> - Associações entre administração de Monensina e ocorrência de condições médicas.	39
<b>Tabela 7</b> - Diferenças ao nível de número de lactantes, CCS, produção de leite e condições médicas, em função da administração de Monensina.	40

## **Abreviaturas**

AGNE - Ácidos gordos não esterificados

AGV - Ácidos gordos voláteis

ATP - Adenosina trifostato, do inglês *Adenosine triphosphate*

ATPase - Adenosinatrifosfatases

CCS - Contagem de células somáticas

DL<sub>50</sub> - Dose letal 50

FDA - *Food and Drug Administration*

IGF-1 - Fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1, do inglês *Insulin Growth Factor 1*

LH - Hormona luteinizante, do inglês *Luteinizing Hormone*

β-HB - β-hidroxibutirato

## **I. Introdução**

Nas últimas décadas, o sistema agropecuário tem sofrido uma grande evolução, justificada pelos diversos estudos que contribuem para uma melhoria na segurança dos

produtos de origem animal. Contudo, a necessidade, quer económica quer social, de alimentos incentivou a engorda intensiva de animais, cujo objetivo principal é engordar os animais no menor tempo possível, com padrões de qualidade específicos e ao menor custo. No setor leiteiro, os objetivos passam por obter uma maior produção de leite com uma maior qualidade, em termos de composição e perfil de segurança, e ao menor custo. Desta forma, devem ser evitadas as doenças e é desejável conseguir um bom desempenho reprodutivo dos animais. Alguns compostos têm sido explorados para conseguir alcançar tais objetivos, como por exemplo, os ionóforos.

Os ionóforos são antibióticos que resultam da fermentação de estirpes *Streptomyces sp.*, que incluem diversas substâncias, como por exemplo, a Monensina (Rodrigues *et al.*, 2007). Inicialmente, estes compostos foram utilizados pelos produtores de aves como coccidiostáticos, ou seja, com o objetivo de prevenir a coccidiose. Esta infeção, também designada de eimeriose, é uma ameaça para a indústria de criação de aves, representando a principal patologia parasitária no trato gastrintestinal desta espécie animal, causada por um protozoário do género *Eimeria*. O parasita aloja-se no trato gastrintestinal, transmitindo-se às aves através da ingestão de oocistos infecciosos. Nos últimos 50 anos, foi introduzido o uso de aditivos coccidiostáticos, sendo a Monensina considerado um coccidiostático eficaz nas infeções provocadas por *Eimeria* (Pinheiro *et al.*, 2014; Ribeiro *et al.*, 2000).

A partir de 1970, os ionóforos começaram a ser utilizados na dieta dos ruminantes, apresentando diversas atividades, nomeadamente (Nicodemo, 2001; Gonçalves *et al.*, 2012): capacidade de controlar a acidose ruminal, inibição dos microrganismos Gram-positivos (i.e. produtores primários de ácido láctico), aumento da produção de ácido propiónico e diminuição da produção de metano.

Nos animais ruminantes são realizados constantes estudos e pesquisas com o objetivo de melhorar o processo de fermentação no rúmen e, conseqüentemente, melhorar o desempenho do animal, aproveitando todos os recursos disponíveis. Neste contexto, a Monensina tem sido utilizada com sucesso (Rangel *et al.*, 2008; Rodrigues *et al.*, 2007).

Os ionóforos, incluindo a monensina, apresentam vários efeitos sobre o metabolismo, resultando numa melhoria do desempenho animal (Nicodemo, 2001). Estes efeitos traduzem-se na maior retenção de energia durante o processo de fermentação ruminal, uma vez que estes compostos reduzem a degradação de proteína nos alimentos, permitindo aumentar a quantidade de proteína de origem alimentar que chega ao intestino delgado. Adicionalmente, estes compostos reduzem a incidência de acidose, do timpanismo e da coccidiose.

No período de transição, as vacas leiteiras encontram-se mais debilitadas, apresentando um risco maior de contrair doenças metabólicas (Petersson-Wolfe *et al.*, 2007). Para prevenir o aparecimento das mesmas, por vezes, são utilizados aditivos alimentares com a finalidade de incrementar a produção de proteínas de alto valor biológico. Esta estratégia é considerada uma medida eficaz no aumento da produção e da rentabilidade nas explorações pecuárias (Neto *et al.*, 1995). Em 2013, começou a ser comercializado no mercado português uma forma farmacêutica contendo a Monensina sódica, que tem tido resultados promissores na resolução de grande parte das doenças metabólicas nas vacas leiteiras no período de transição.

O objetivo principal desta dissertação é demonstrar a importância da utilização da Monensina nas vacas leiteiras no período de transição, comparando-se o antes e o após a administração da Monensina. Em colaboração com a Dra. Adelaide Pereira, desenvolvemos um estudo com o objetivo de comprovar a eficácia desta molécula nas vacas leiteiras na prevenção de doenças metabólicas e no aumento da produtividade destes animais no período de transição.

Para a elaboração da presente dissertação foram consultados e analisados vários artigos científicos publicados em diferentes bases de dados, como o PubMed, o Science Direct e a b-On, e em motores de busca, tais como o Google Académico e o AltaVista Search e em revistas da especialidade. As palavras-chave utilizadas durante a pesquisa foram: Monensina, ionóforos, aditivos, cetoses, deslocamento de abomaso, mastite, células somáticas, reprodução, produção de leite. Utilizou-se a informação de artigos científicos compreendidos entre 1997 e 2016, cujo conteúdo se mostrou relevante e com evidências experimentais acerca do tema.

## II. Promotores de crescimento

A utilização de antibióticos como promotores de crescimento surgiu nos anos 50, após comprovado o seu efeito benéfico no crescimento dos animais. Estes compostos atuam na regulação da população bacteriana residente no sistema gastrointestinal, assim como, na absorção de nutrientes, permitindo o crescimento animal e a redução das doenças metabólicas (Anadón *et al.*, 1999; Moreno, 2008).

Stokstad e Jokes, em 1950, pioneiros na investigação de vitaminas, relataram que a adição de massa micelial produzida pela fermentação de *Streptomyces aureofaciens*, na alimentação dos suínos e das aves, resultou no desenvolvimento significativo do crescimento destes animais (Visek, 1978; Guiguére *et al.*, 2013). A partir desta data, verificou-se que a utilização de concentrações baixas de antibióticos (i.e. doses subterapêuticas) poderia melhorar o índice de crescimento dos animais, sendo a sua utilização ampliada como promotores de crescimento na produção animal.

Em 1951, a *Food and Drug Administration* (FDA) aprovou o uso de antibióticos, sem prescrição médica veterinária, como aditivos nas rações para alimentação dos animais, o que estimulou a investigação científica acerca dos efeitos destes compostos na alimentação para animais (Jones e Ricke, 2003). Mais tarde, entre 1950 e 1960, a União Europeia aprovou também o uso de antibióticos com a mesma finalidade (Castanon, 2007).

A introdução de antibióticos como promotores de crescimento coincidiu com a produção intensiva de animais, permitindo otimizar a produção dos géneros alimentícios numa altura de mudança e do aumento das necessidades das populações, garantindo os alimentos e índices de produção eficientes (Anadón *et al.*, 1999). Tendo os custos dos

antibióticos reduzido, tornou-se uma prática corrente a sua utilização como promotores do crescimento e no controlo de doenças por parte dos criadores de gado (Gustafson e Bowen, 1997).

Atualmente, os antimicrobianos são considerados ferramentas indispensáveis para a diminuição da morbidade e mortalidade associada a doenças infecciosas. Desde a sua introdução na medicina veterinária, a produtividade dos animais e a saúde pública têm melhorado significativamente (Giguère *et al.*, 2013).

Após o nascimento do animal, as bactérias do ambiente, da mãe e da dieta iniciam a colonização do trato gastrintestinal da cria, resultando numa população diversa de bactérias com a função de proteger o animal de espécies bacterianas patogénicas (Dibner e Richards, 2005). Neste sentido, a produção animal tem como objetivo otimizar o microbioma intestinal do animal, utilizando para tal suplementos dietéticos. O grande benefício do microbioma é a proteção que este confere à colonização de agentes patogénicos, uma vez que o microbioma segrega compostos antimicrobianos, por estimulação do sistema imunitário, que inibe o crescimento dos agentes patogénicos (Dibner e Richards, 2005).

Os efeitos dos antibióticos como promotores de crescimento são explicados pela sua atuação ao nível do microbioma intestinal, causando alterações benéficas, tais como (Visek, 1978; Barton, 2000): (i) danos letais ou subletais às bactérias patogénicas, (ii) redução da produção de toxinas bacterianas, (iii) redução da utilização dos nutrientes essenciais por parte das bactérias, (iv) aumento da síntese de vitaminas e outros fatores de crescimento, (v) melhor absorção de nutrientes através da redução da espessura do epitélio intestinal, (vi) redução da renovação das células epiteliais da mucosa intestinal, (vii) redução da motilidade intestinal. Outros efeitos destes compostos como promotores de crescimento são a redução da espessura das vilosidades e da parede intestinal, que podem ser explicados pela diminuição da proliferação celular da mucosa, permitindo um aumento da digestibilidade dos nutrientes (Dibner e Richards, 2005).

## **2.1. Proibição do uso de antibióticos na ração como promotores de crescimento na União Europeia**

No final de 1960, no Reino Unido foi criado o Relatório de Swann. Este relatório refere que os antibióticos utilizados com fins de promotores de crescimento deveriam ter pouca ou nenhuma aplicação como agentes terapêuticos no ser humano, com o intuito de não prejudicarem a eficácia dos mesmos devido a problemas de resistência bacteriana (Butaye *et al.*, 2003). Desta forma, o relatório recomendou a exclusão da utilização de penicilinas e tetraciclina como promotores de crescimento, sendo apenas autorizada sob prescrição médico-veterinária (Giguère *et al.*, 2013).

Segundo o regulamento (CE) 1831/2003, de 22 de Setembro, aditivo para alimentação animal, é definido como substâncias, microrganismos ou preparados, adicionados aos alimentos ou à água dos animais, com fim de desempenharem as condições: alterar características dos alimentos, a cor, de modo a se tornarem alimentos favoráveis para o animal; satisfazer as necessidades nutricionais dos animais; melhorar o bem-estar animal, atuando na flora gastrointestinal e/ou digestibilidade dos alimentos, possibilitando assim maior rendimento animal; produzir efeito coccidiostático ou histomonostático.

O Comité Científico Diretor, no seu parecer de 28 de Maio de 1999, permitiu a elaboração de recomendações relativos à utilização racional de antibióticos atendendo quer à vertente terapêutica quer como aditivo alimentar. Foi também criada uma advertência do uso de antibióticos, enquanto aditivo, devido ao desenvolvimento de resistência cruzada entre estirpes de bactérias. O segundo parecer deste Comité, relativo à resistência antimicrobiana, adotado em 10 e 11 de Maio de 2001, recomendou a necessidade da substituição dos antimicrobianos por produtos alternativos sem atuação precipitada a fim de não causar repercussões na saúde dos animais (Barton, 2000; Giguère *et al.*, 2013 e Regulamento (CE) 1831/2003, de 22 de Setembro).

Apesar de diversos artigos reportarem a resistência a antibióticos, devido à ingestão de alimentos contaminados com aditivos, as autoridades de saúde mostravam-se indiferentes a esta problemática (Normark e Normark, 2002; Pérez, 2007; Tokar, 2008; Swedish Government, 1997). A partir da década de 80, com o uso intensivo de antibióticos nas rações, a segurança e o verdadeiro impacto na saúde pública destes compostos começou a ser questionada. Está relatado na literatura que a presença de

resíduos, do próprio antibiótico ou do(s) seu(s) metabolito(s), na carne ou nos produtos derivados dos animais, podem causar efeitos indesejáveis aos consumidores, desde reações de hipersensibilidade e outro tipo de toxicidade, podendo alguns destes resíduos apresentar propriedades cancerígenas (Brumano e Gattás, 2009). Perante esta preocupação, em 1986, o Parlamento Sueco proibiu o uso de aditivos pertencentes à classe de antibióticos na ração dos animais (Swedish Government, 1997).

Em 1990, a Comissão Europeia emite a Diretiva 90/167/CE que estabeleceu o regime jurídico de preparação, colocação no mercado e utilização de alimentos medicamentosos para animais na União Europeia. Apenas em 2005, é que esta diretiva constitui legislação nacional pelo Decreto-Lei n.º 151/2005 de 30 de agosto.

No ano de 1993, na Inglaterra, foram relatados resistências de estirpes de *Enterococcus* e *Staphylococcus* aos antibióticos glicopéptidos, principalmente à vancomicina, em amostras de animais destinadas ao consumo humano. Em 1995, a Dinamarca proibiu o primeiro antibiótico, a avoparcina, pertencente à classe dos peptidoglicanos porque se tornou um risco para a saúde humana, devido a desenvolver processos de resistência. Este antibiótico era aprovado como promotor de crescimento veiculado na ração para alimentação animal. A medida de proibição foi também adotada pela Noruega e pela Alemanha, e dois anos mais tarde, a União Europeia retirou também a avoparcina em todos os estados membros (Dibner e Richards, 2005, Pederson *et al.*, 1999).

Em 1997, a *World Health Organization* (WHO) e, em 1998, o Comité Económico e Social da União Europeia emitiram um relatório sobre o impacto do uso de antimicrobianos em animais de produção, afirmando que embora se conheça o potencial destes compostos para o desenvolvimento de resistências, pouco se conhece do seu real impacto na medicina e saúde pública (Castanon, 2007).

Posteriormente, o Parlamento Europeu permitiu o uso de antibióticos como aditivos até 31 de Dezembro de 1998, apesar de a Suécia ter continuado a apresentar pedidos acompanhados de fundamentos científicos comprovativos das consequências nefastas do uso de antibióticos (Castanon, 2007). Mais tarde, outros Estados Membros baniram o uso de antibióticos como aditivos na alimentação dos animais.

Em 1998, com a homologação do Regulamento (CE) n.º 2821/98 de 17 de Dezembro, que altera a Diretiva 70/524/CEE relativa aos aditivos na alimentação para animais, diversos promotores de crescimento, nomeadamente, a espiramicina, o fosfato de tilosina, a virginiamicina e a bacitracina de zinco, foram proibidos pela União Europeia. Entre julho e setembro de 1999, a União Europeia banuiu o uso de outros antimicrobianos com efeitos promotores de crescimento, o olaquinox e o carbadox, devido ao risco de toxicidade (Regulamento (CE) n.º 2821/98; Brumano e Gáttas, 2009), passando a ser autorizada a utilização, para efeitos de promotores de crescimento, a Monensina e salinomicina, a avilamicina e a flavomicina.

Segundo o Regulamento (CE) n.º 1831/2003 do Parlamento Europeu e do Conselho de 22 de Setembro de 2003, relativo aos aditivos destinados à alimentação animal, os antibióticos, com exceção dos coccidiostáticos e histomonostáticos, podem ser comercializados e usados como aditivos para alimentação animal até 31 de Dezembro de 2005. A partir de 1 de Janeiro de 2006, estas substâncias deveriam ser excluídas do Registo Comunitário, deixando de ser autorizada a sua utilização como aditivos usados para alimentação animal (Brumano e Gáttas, 2009; Castanon, 2007; Butaye *et al.*, 2003).

A partir desta data, os antibióticos passaram a ser permitidos nas rações apenas veiculados como alimento medicamentoso, deixando de ser incorporados como aditivos, ou seja, as dosagens subterapêuticas deixaram de ser permitidas, sendo apenas autorizadas as dosagens profiláticas e /ou terapêuticas (Castanon, 2007).

## **2.2. Consequências da proibição da utilização de antibióticos como promotores de crescimento**

A restrição do uso de antibióticos com efeitos de promotores de crescimento teve algumas consequências negativas tais como (Castanon, 2007): baixa eficiência produtiva, o aumento compensatório da profilaxia ou tratamento, o aumento da incidência das doenças infecciosas.

Contudo, também podem ser referidos aspetos positivos decorrentes desta proibição, uma vez que os tratadores dos animais foram obrigados a procurar alternativas competitivas para a produção animal, tais como: a utilização de aditivos com mecanismos de ação semelhante aos antibióticos, ou seja, que promovessem o crescimento dos animais, melhorando a eficiência da conversão dos alimentos. De facto, quando os aditivos de produção são usados em animais dentro de condições adequadas de manejo, estes permitem que se atinjam melhores índices de crescimento e de conversão alimentar e/ou produção (Castanon, 2007).

### **2.3. Antibiorresistências devido ao uso de antibióticos como promotores de crescimento**

Os genes de resistência aos antibióticos e os seus mecanismos de transferência existem mesmo antes da antibioterapia na medicina humana e na medicina veterinária (Guiguére *et al.*, 2013). No entanto, é em 1951 que surgem os primeiros relatos por Starr e Reynolds da resistência aos antibióticos nos animais destinados à produção de géneros alimentícios (Aryal, 2001). Vários estudos revelaram que estes compostos, mesmo em baixa quantidade nos alimentos dos animais, provocam alterações da população microbiana nos animais e levam ao aparecimento de estirpes resistentes de *E. coli*, *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Pasteurela hemolytica*, *Streptococcus agalactiae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* e muitas outras espécies. Estes microrganismos são suscetíveis de transmitir genes de resistência a bactérias que não as possuíam (Oda, 2001).

### **2.4. Ionóforos**

Os ionóforos são um grupo de antibióticos bacteriostáticos produzidos por fermentação de algumas estirpes de *Streptomyces sp.* (Tabela 1) (Nicodemo, 2001, Gonçalves *et al.*, 2012).

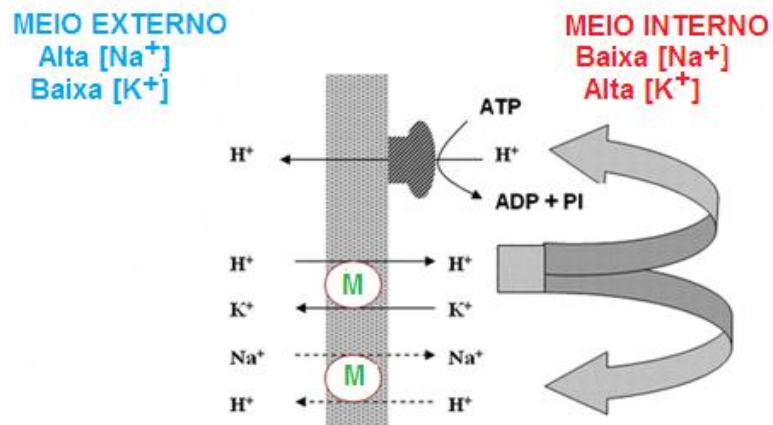
Os ionóforos são ácidos orgânicos de baixo peso molecular, pouco solúveis em meios aquosos e solúveis em solventes orgânicos, possuem capacidade de interagir

estequiometricamente com íons metálicos, transportando estes íons até à membrana lipídica biomolecular (Rangel *et al.*, 2008; Rodrigues *et al.*, 2007).

**Tabela 1** - Alguns ionóforos produzidos por fermentação de algumas estirpes de *Streptomyces sp.*

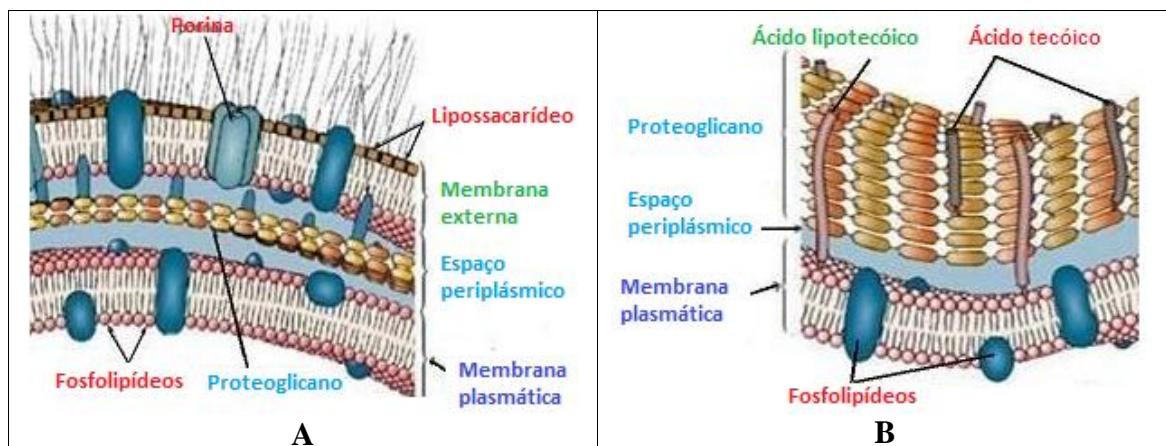
<b>Ionóforo</b>	<b>Sintetizado por:</b>
Monensina	<i>S. Cinnamomnensis</i>
Lasalocida	<i>S. lasaliensis</i>
Narasina	<i>S. aureofaciens</i>
Salinomicina	<i>S. albus</i>

O mecanismo de ação dos ionóforos sobre as bactérias ruminais relaciona-se com fatores de resistência presentes na estrutura da parede celular destes microrganismos, a qual é responsável por regular o balanço químico entre o meio interno e externo da célula (Figura 1). Este equilíbrio é mantido pela bomba iónica  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ . Por exemplo, a Monensina sódica medeia principalmente o transporte do catião  $\text{Na}^+$ , apresentando uma afinidade para este íão dez vezes superior comparativamente à afinidade para o íão  $\text{K}^+$ , e não apresenta afinidade para íons bivalentes (Zanine *et al.*, 2006). Quando o ionóforo se liga ao catião para o qual tem maior afinidade, transporta-o através da membrana celular para dentro da bactéria (Figura 1) (Rangel *et al.*, 2008). Este ionóforo, através do mecanismo da bomba iónica e para manter a osmolaridade, utiliza energia por excesso de forma a inibir o crescimento das bactérias Gram-positivas e a favorecer o crescimento das bactérias Gram-negativas (Gonçalves *et al.*, 2012).



**Figura 1** - Efeitos da Monensina sobre as bactérias (adaptado de Gonçalves *et al.*, 2012).

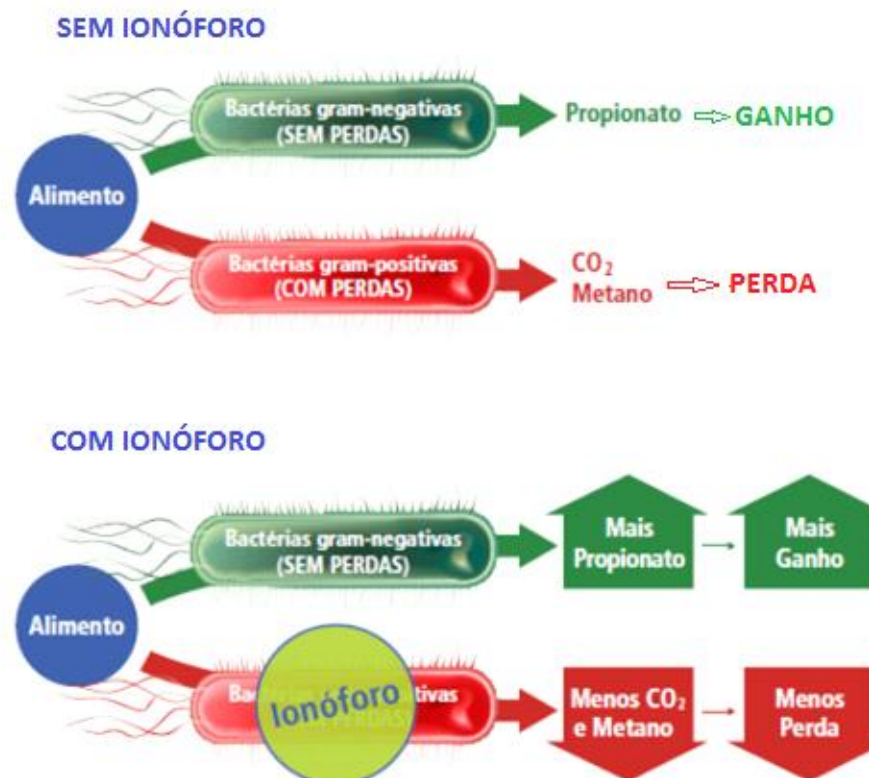
No rúmen dos animais existem bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Russel e Strobel (1989) reportaram que os compostos ionóforos apresentam diferenças no mecanismo de ação em virtude das diferenças existentes ao nível da parede celular das bactérias (Figura 2). As bactérias Gram-negativas apresentam uma parede celular e uma membrana de proteção com canais de porina, os quais estabelecem a ligação do meio intracelular com o meio extracelular. As bactérias Gram-positivas apresentam apenas uma membrana porosa, sem seletividade, sendo sensíveis aos ionóforos.



**Figura 2** - Parede celular de uma bactéria Gram-negativa (A) e de uma bactéria Gram-positiva (B) (adaptado de <http://www.abcdamedicina.com.br>).

Nagaraja *et al.* (1997) constataram que os canais de porina da camada lipídica externa, os quais apresentam um tamanho aproximado de 600 dalton, presentes nas bactérias Gram-negativas, não permitem que a maioria dos ionóforos passe por eles. Pelo contrário, a ausência da camada externa nas bactérias Gram-positiva permite ao ionóforo penetrar livremente através da membrana celular (Gonçalves *et al.*, 2012).

Estes aditivos dietéticos têm como objetivo favorecer a fermentação no rúmen, através da produção do ácido propiônico e diminuição da produção de metano e CO<sub>2</sub> (responsáveis pela perda de 2% a 12% da energia do alimento), diminuindo a proteólise e a desaminação da proteína dietética no rúmen e melhorando a eficiência alimentar nos ruminantes (Figura 3) (Nicodemo, 2001; Rangel *et al.*, 2008).



**Figura 3** - Representação esquemática do efeito dos ionóforos sobre a fermentação ruminal (adaptado de Bergen e Bates, 1984).

O efeito inibitório dos ionóforos nas bactérias Gram-positivas resulta na diminuição de perdas energéticas por formação de gases e no aumento da produção de propionato, que

é utilizado para ganho de energia (Zoetis, 2001). Como os ionóforos são moléculas hidrófobas, a membrana externa das bactérias Gram-negativas funciona como uma barreira à ação destes compostos (Gonçalves *et al.*, 2012).

Atendendo ao facto de que as bactérias Gram-positivas produzem menos adenosina trifostato (ATP) por mol de glicose fermentada, estas bactérias acabam exauridas energeticamente e desaparecem do meio. Desta forma, as bactérias Gram-negativas são pouco afetadas pela ação do ionóforo e, como realizarem fosforilação oxidativa, sobrevivem ao meio. Com a diminuição da competição por substratos energéticos devido ao desaparecimento das bactérias Gram-positivas, as bactérias Gram-negativas acabam dominando o meio (Tavares *et al.*, 2014).

Outro fator importante da ação dos ionóforos são os produtos finais da fermentação dos alimentos no rúmen. Nas bactérias Gram-negativas esses produtos são os ácidos propiónico e sucínico, enquanto os produtos finais de fermentação das bactérias Gram-positivas são os ácidos acético e butírico e, de forma indireta, os gases metano e o dióxido de carbono, amoníaco e ácido láctico. A inclusão de Monensina promove no ambiente ruminal um aumento da concentração molar do ácido propiónico e, concomitantemente, uma redução dos ácidos acético, butírico, láctico e dos gases metano, dióxido de carbono e amoníaco (Bertipaglia, 2008).

Por outro lado, no processo fermentativo onde o produto resultante é o ácido propiónico ocorre uma redução do catião hidrogénio do meio. Atendendo a esta ação, a produção de hidrogénio no rúmen pode ser reduzida pela introdução de ionóforos na dieta pelo seu efeito na indução da biossíntese de ácido propiónico (Bertipaglia, 2008).

Os ionóforos possuem também efeitos positivos sobre o consumo dos alimentos, a digestibilidade, a degradabilidade e sobre o desempenho do animal. A administração de ionóforos a ruminantes provoca uma melhoria da eficácia no metabolismo energético e proteico das bactérias do rúmen e uma diminuição de desordens digestivas na fermentação do rúmen (Gonçalves *et al.*, 2012; Salman *et al.*, 2006). Adicionalmente, o uso de ionóforos relaciona-se com uma melhoria das características organoléticas da

carne, da conservação das rações e com a prevenção de patologias infecciosas e parasitárias, com consequente, diminuição da mortalidade dos animais.

Um estudo realizado por Rodrigues *et al.* (2007) confirmou a hipótese sugerida por Baile *et al.* (1979), afirmando que os animais que ingerem ionóforos na sua alimentação necessitam de menos concentrado do que os animais que não ingerem ionóforos.

#### **2.4.1. Efeito dos ionóforos no metabolismo da energia nos ruminantes**

Os aditivos com função energética, adicionados na alimentação dos ruminantes, são fermentados por microrganismos do rúmen originando ácidos gordos voláteis, metano e dióxido de carbono. Os ácidos gordos voláteis são a principal fonte de energia dos ruminantes. O propionato é o único ácido gordo volátil que pode ser convertido em glicose, a qual pode ser utilizada como fonte de energia pelos ruminantes. A redução na produção de metano permite também melhorar a retenção de carbono e de energia (Millen, 2008).

Segundo Russel e Strobel (1989), os animais ruminantes cujo destino é a produção de carne podem produzir cerca de 12 litros por hora de metano. Sendo este gás eliminado por eructação, a elevada produção de metano pode representar uma perda aproximadamente de 12% de energia do alimento. A administração de ionóforos pode provocar um decréscimo de cerca de 30% da produção de metano, aumentando a produção de propionato. O propionato pode ser oxidado pelo animal, disponibilizando maior quantidade de energia (Rangel *et al.*, 2008; Gonçalves *et al.*, 2012; Salman *et al.*, 2006).

Tal como referido anteriormente, o propionato representa uma fonte de energia para o animal ruminante, podendo ser utilizado no processo da gliconeogénese ou diretamente oxidado no ciclo de krebs, disponibilizando mais energia metabolizável do alimento. A glicose atua a vários níveis, apresentando efeitos benéficos na produção de leite, no balanço energético e na condição corporal do animal (Rangel *et al.*, 2008; Gonçalves *et al.*, 2012).

#### **2.4.2. Efeitos dos ionóforos no metabolismo da proteína nos ruminantes**

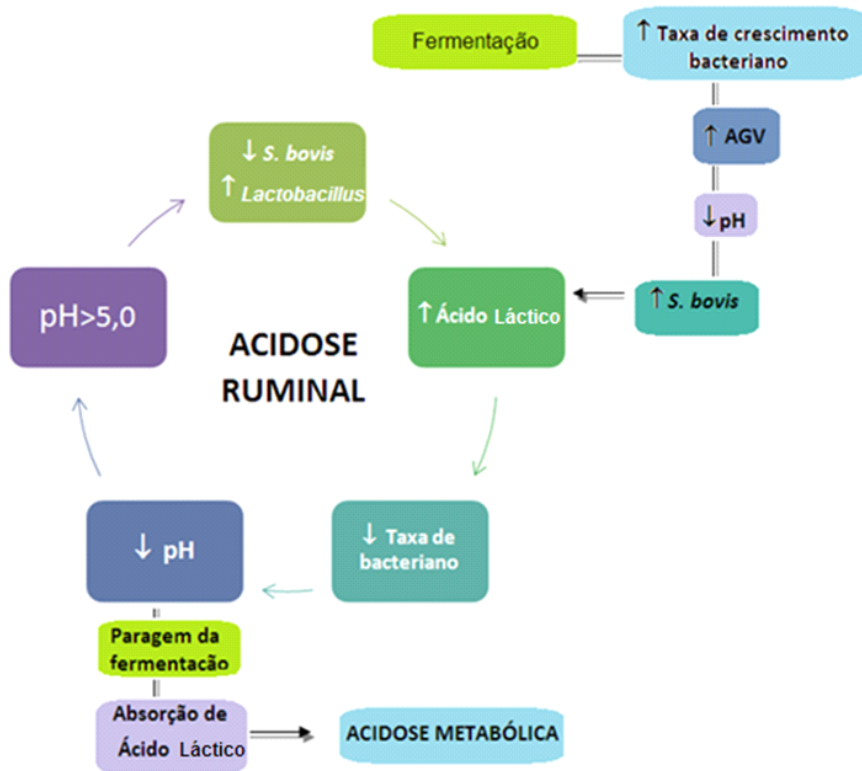
Os ionóforos reduzem a degradação das proteínas da dieta ao nível do rúmen, permitindo a digestão pós ruminal, e diminuem o fluxo de proteína microbiana para o intestino delgado. Uma disponibilidade elevada de proteínas no intestino delgado do ruminante implica uma redução do gasto energético com ureia no fígado. Alguns autores demonstraram que os ionóforos afetam negativamente três espécies de bactérias produtoras de amónia, o *Clostridium stiklandii*, o *Peptostreptococcus anaerobicus* e o *Clostridium aminophilum* (Rangel *et al.*, 2008; Gonçalves *et al.*, 2012).

O uso de ionóforos na dieta dos ruminantes é vantajoso porque permite o aumento de aminoácidos glicogénicos disponíveis na corrente sanguínea, provenientes do intestino delgado, favorecendo a taxa de absorção dos aminoácidos. Este efeito é de extrema relevância numa vaca no início da lactação, porque estes animais necessitam de uma quantidade maior de glicose, uma vez que a glicose é uma molécula precursora da lactose no leite. Neste contexto, a glicose é fundamental para os ruminantes que se encontram em balanço energético negativo, favorecendo a produção de leite (Rangel *et al.*, 2008; Gonçalves *et al.*, 2012).

#### **2.4.3. Efeitos dos ionóforos sobre o pH do rúmen**

Os ionóforos apresentam também um papel importante no controlo do pH do rúmen. Os animais alimentados com forragem têm um pH quase neutro, porque a fibra estimula o processo de ruminação, verificando uma elevada produção de saliva. A composição da saliva permite que esta funcione como solução tampão do fluido ruminal.

As dietas ricas em cereais provocam uma elevada taxa de fermentação, diminuindo acentuadamente o pH do rúmen, causando acidose ruminal, a qual está associada com o aumento da concentração de lactato. O ácido láctico é um ácido mais forte que os ácidos gordos voláteis típicos, promovendo uma diminuição drástica do pH do rúmen. Tal como referido anteriormente, os ionóforos interferem nos níveis de lactato, diminuindo a sua produção, através da inibição do crescimento da espécie *Streptococcus bovis*, principal causadora da acidose ruminal (Figura 4) (Rangel *et al.*, 2008).



**Figura 4** - Sequência de alterações químicas e microbianas características da acidose ruminal aguda (adaptado de Nocek, 1997).

A acidose ruminal tem como consequências (Rangel *et al.*, 2008; Salman *et al.*, 2006): a diminuição da fertilidade, dificuldade de locomoção, redução da produção de leite, redução do nível de gordura do leite, redução do efeito tampão da saliva e a mastite.

#### 2.4.4. Efeitos dos ionóforos na prevenção de distúrbios metabólicos

Os ionóforos apresentam um efeito benéfico nas doenças digestivas, na acidose ruminal e no timpanismo. A Monensina permite reduzir a digestão do amido no rúmen e aumenta a quantidade de amido digerido no intestino (Rangel *et al.*, 2008; Salman *et al.*,

2006). Desta forma, existe uma maior quantidade de energia no intestino absorvida sob a forma de glicose comparativamente à quantidade no rúmen sob a forma de ácidos gordos voláteis (AGV) (Rangel *et al.*, 2008; Salman *et al.*, 2006).

Salles e Lucci (2000) administraram Monensina na dieta de bezerros e verificaram um aumento do pH no rúmen, que deverá estar compreendido entre 5,5 a 6,8, resultando na prevenção da acidose láctica nos bovinos (Gonçalves *et al.*, 2012; Geishauer *et al.*, 2012).

Oliveira *et al.* (2005) administraram cápsulas de libertação prolongada contendo Monensina sódica a bovinos que se encontravam em fase de pasto de trevo branco, em fase vegetativa e reprodutiva. Nestes animais não foram registados problemas de timpanismo nem mortes. De acordo com Goes (2004), os ionóforos previnem os distúrbios devido à sua ação sobre as bactérias metanogénicas, produtoras de mucopolissacarídeos, que fornecem a estabilidade à espuma do líquido ruminal.

Os ionóforos possuem uma ação benéfica na dieta das vacas leiteiras em período pós-parto, prevenindo as cetoses. Geralmente, este distúrbio verificase nas duas a seis semanas pós-parto. A cetose é caracterizada pelo aumento dos níveis plasmáticos de cetona, acetoacetato e  $\beta$ -hidroxibutirato, provocados pelo balanço energético negativo. O balanço energético negativo acontece depois do parto, quando a vaca aumenta a sua produção de leite, reduzindo os níveis de glicose, insulina, IGF-1 (i.e. fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1) e aumentando os ácidos gordos não esterificados (AGNE) no plasma e os níveis de gordura no fígado (Gonçalves *et al.*, 2012).

#### **2.4.5. Ionóforos e a absorção mineral**

Alguns estudos demonstraram que os ionóforos têm a capacidade de aumentar a absorção dos minerais. Os animais ruminantes, cuja alimentação continha ionóforos, tais como a Monensina ou lasolocida, apresentaram um valor superior na taxa de

absorção pré-intestinal de magnésio ( $Mg^{2+}$ ), de fósforo (P) e de cálcio ( $Ca^{2+}$ ) (Lana e Russel, 1996; Salman *et al.*, 2006). Contudo, não se verificou melhorias significativas na absorção de potássio ( $K^+$ ) e sódio ( $Na^+$ ) na presença dos ionóforos (Salman *et al.*, 2006).

Os mecanismos que estão associados às melhorias na absorção dos minerais ainda não são completamente conhecidos. No entanto, supõe-se que este efeito possa estar associado com o aumento da atividade  $Na^+/K^+$ -ATPase, uma vez que absorção destes minerais está relacionada com o sistema  $Na^+/K^+$ -ATPase (Salman *et al.*, 2006).

#### **2.4.6. Toxicidade inerente à utilização de ionóforos**

A intoxicação pela administração de ionóforos é possível. Esta intoxicação está associada à administração sem período de adaptação e/ou pela administração inadequada. Geralmente, a toxicidade destes compostos não está relacionada com a administração de doses excessivas (Gonçalves *et al.*, 2012).

Os sinais clínicos característicos de uma intoxicação pela administração de ionóforos são geralmente agudos e aparecem entre as 6 e as 24 horas após a administração. A intoxicação com doses menores pode manifestar-se em 2 semanas ou mais (Gonçalves *et al.*, 2012).

Potter *et al.* (1984) realizou um estudo com o objetivo de determinar os níveis de tolerância à Monensina. Os animais tratados com doses de Monensina entre os 2000 a 4000 mg mostraram sinais de anorexia, depressão, diarreia e até morte. Também se observou cardiomiopatia degenerativa focal, necrose da musculatura esquelética e falha cardíaca congestiva. A maioria dos sintomas de intoxicação ocorre na fase inicial da administração da Monensina à dieta, e envolve, muitas vezes, erros na mistura e sobredosagem. Nos animais tratados com doses inferiores, ou seja, doses de 1000 mg, os animais sobreviveram (Salman *et al.*, 2006).

Não é conhecido, até ao momento, o antídoto ou o tratamento a administrar perante uma situação de intoxicação por Monensina sódica, mas é possível que a degeneração celular mediada pela peroxidação lipídica possa ser minimizada através da suplementação com antioxidantes, como a vitamina E e o selénio (Zanine *et al.*, 2006).

#### **2.4.7. Outros efeitos dos ionóforos nas vacas**

Os ionóforos podem contribuir para a prevenção da pneumonia intersticial atípica, principalmente nas vacas que frequentam pastos. Esta doença afeta os bovinos adultos e caracteriza-se por uma dificuldade respiratória aguda, ocorrendo normalmente nos animais que trocam de uma pastagem de má qualidade para uma pastagem de qualidade superior. A patogenia da doença relaciona-se com a conversão de L-triptofano, um aminoácido presente nas forragens verdes, em ácido indol acético, metabolizado no rúmen pelas bactérias *Lactobacillus spp*, que é responsável pelos sinais clínicos da doença (Rangel *et al.*, 2008). Segundo alguns autores citados por Rangel *et al.* (2008), nenhum animal tratado com ionóforo e alimentado com forragens ricas em L-triptofano apresentou sinais clínicos de pneumonia intersticial atípica. Os autores defendem que o uso de ionóforos nos animais que frequentam pastagens de excelente qualidade previne esta patologia.

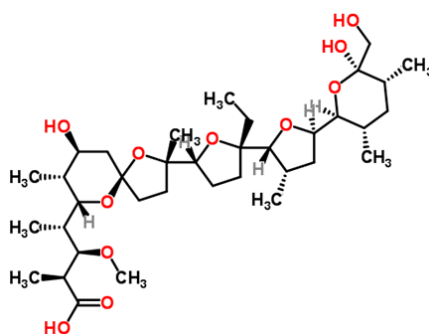
Stephenson (1997) também relata o benefício da Monensina no período peri-parto, na função quimiotática dos neutrófilos.

### **III. Monensina**

A estrutura da Monensina foi descrita, pela primeira vez, por Agtarap *et al.*, em 1967. A Monensina é um metabolito resultante da biossíntese da bactéria *Streptomyces cinnamomensis*. Contudo, apenas em 1979, é que Kishi *et al.* publicaram a biossíntese total deste composto. Vários compostos homólogos foram desenvolvidos a partir desta data, embora o mais conhecido e utilizado, devido à sua atividade farmacológica, é a Monensina sódica (Lowicki e Huczynski, 2013).

A descoberta da estrutura de cristal do complexo de sal de prata da Monensina contribuiu significativamente para explicar o mecanismo de ação dos ionóforos. A partir desse momento foi descoberto um grande número de ionóforos com propriedades antimicrobianas. Atualmente, os ionóforos carboxílicos são constituídos por uma centena de compostos, mas apenas algumas estruturas estão aprovadas na medicina veterinária (Lowicki e Huczynski, 2013).

A Monensina, cuja fórmula química ( $C_{36}H_{62}O_{11}$ ) encontra-se representada na Figura 5, possui toxicidade em bactérias, protozoários, fungos e outros organismos. A sua utilização é autorizada, como coccidiostático, nas rações das aves que se destinam à produção industrial de carne e ovos e nas rações para ruminantes pelas suas vantagens nutricionais, metabólicas e pela sua capacidade de melhorar o desempenho animal.



**Figura 5** - Molécula de Monensina (adaptado de Day *et al.*, 1973).

Em explorações destinadas à produção de leite, a Monensina é muito utilizada em diversos países, como nos Estados Unidos, Canadá, México e América do Sul, Austrália, Nova Zelândia e África do Sul (Duffield *et al.*, 2008; Fereli *et al.*, 2010).

Segundo os autores Lean *et al.* (1994), Beckett *et al.* (1998), Heuer *et al.* (2001) e Duffield *et al.* (2002), a Monensina pode apresentar diversos efeitos benéficos na saúde e na fertilidade das vacas leiteiras. Duffield (2002) relata ainda que esta substância diminui o risco de deslocamento de abomaso e Heuer (2001) reporta uma menor incidência de mastites. Este composto apresenta os mecanismos de ação descritos anteriormente, de uma forma geral, para os ionóforos. A Monensina proporciona uma melhor eficiência alimentar através das mudanças que ocorrem ao nível do rúmen e na

fermentação dos alimentos. A Monensina tem como função alterar a produção dos ácidos gordos voláteis, aumentando a produção do ácido propiónico e diminuindo a produção do ácido butírico; alterar o consumo dos alimentos; alterar a produção de gases, melhorando o metabolismo do azoto e diminuindo o risco de inchaço animal; alterar a digestibilidade dos alimentos; alterar o enchimento do rúmen; modificar o metabolismo das proteínas, diminuir o risco de acidose ruminal. Estas várias ações proporcionam resultados benéficos para a saúde animal no início da lactação, sendo este o período com maior probabilidade de incidência de doenças ao nível metabólico (Duffield *et al.*, 2008).

A alteração da população bacteriana no rúmen provoca uma melhor eficiência ao nível energético. As bactérias Gram-positivas, produtoras de ácido acético, ácido butírico e hidrogénio, são inibidas pela Monensina. As bactérias Gram-negativas, resistentes à Monensina, são produtoras de succionato, ou seja, uma molécula precursora do propionato (Neto *et al.*, 1995).

Como foi referido anteriormente, a Monensina é eficaz e segura em espécies alvo quando utilizada adequadamente, ou seja, nas doses recomendadas. Contudo, a intoxicação pode acontecer devido a erros na mistura, ou seja, se a concentração de Monensina administrada à espécie alvo for superior à recomendada, sendo justificável pela possível interferência no transporte de iões.

As doses de Monensina recomendadas para os ruminantes são de 50 – 200 mg por dia a cada animal. Os valores da dose letal 50 (DL<sub>50</sub>) variam entre 21,9 a 80 mg/Kg de peso corporal. Os sinais clínicos característicos de uma intoxicação por Monensina ocorrem entre as 24 e as 36 horas após a ingestão e incluem: diarreia, letargia e falta de apetite. No caso de toxicidade aguda, os sintomas são: diarreia, apatia, fraqueza e perda de equilíbrio, dispneia e edema generalizado. Nos casos mais graves pode evoluir para morte entre 3 a 14 dias após a ingestão da Monensina (Gonzalez *et al.*, 2005).

Não existe qualquer antídoto ou tratamento específico para a toxicidade induzida por ionóforos. Uma eventual intoxicação pela Monensina deixa lesões nos bovinos, como a degeneração do músculo cardíaco esquelético e a necrose. Uma lesão secundária inclui

a insuficiência cardiovascular crônica. A confirmação de episódios de toxicidade pode ser realizada por análises sanguíneas, através de análises bioquímicas e marcadores cardíacos, como por exemplo, a determinação da enzima aspartato aminotransferase, ureia, creatinina, proteínas séricas, hemograma, cálcio, bilirrubina total e bilirrubina direta, potássio, sódio, creatina quinase e troponina (Gonzalez *et al.*, 2005).

### 3.1. Kexxtone<sup>®</sup>

O Kexxtone<sup>®</sup>, Figura 6, é um medicamento destinado apenas ao uso veterinário e contém como substância ativa a Monensina sódica. Este produto é comercializado pela Elanco<sup>®</sup> e está disponível sob a forma farmacêutica de dispositivo intraruminal de liberação contínua, destinado a bovinos (vacas leiteiras e novilhas). O Kexxtone<sup>®</sup> está indicado para a redução da incidência de cetose na vaca leiteira periparturiente/novilha suscetível de desenvolver cetose (European Medicines Agency, 2012).



**Figura6 - Bolus Kexxtone<sup>®</sup>.**

Cada dispositivo intraruminal contém doze subunidades, cada uma delas com 2,7 g de Monensina sódica. O cilindro apresenta apenas um orifício, com tampa de polipropileno, duas abas de polipropileno e uma mola de aço. Este dispositivo permite uma liberação controlada da Monensina, com uma absorção constante de aproximadamente 335 mg de Monensina, durante um período aproximado de 95 dias. Este dispositivo intraruminal deve ser administrado à vaca leiteira/novilha 3 a 4 semanas antes da data provável do parto, utilizando um aplicador adequado para a sua administração (Figura 7).



**Figura 7** - Aplicador do bolus Kexxtone<sup>®</sup>.

Os animais tratados com Kexxtone<sup>®</sup> devem permanecer fechados no estábulo durante 1 hora sob vigilância, para verificar que o animal não apresenta dificuldade em engolir e que não regurgita o dispositivo. Caso ocorra a regurgitação, o mesmo dispositivo pode ser novamente administrado se não apresentar qualquer dano. A administração acidental de mais do que um dispositivo intraruminal pode provocar efeitos de sobredosagem, nomeadamente diminuição do apetite, diarreia e letargia.

Se no mesmo estábulo, ou na proximidade, estiverem outras espécies de animais, como cães, cavalos ou outros equídeos, estes não devem ter acesso ao Kexxtone<sup>®</sup>, pois a ingestão desta substância pode ser fatal para estas espécies. Este dispositivo intraruminal também está contraindicado em vacas/novilhas com peso inferior a 300 Kg.

O intervalo de segurança do Kexxtone<sup>®</sup> é de zero dias para a carne e para o leite, ou seja as vacas leiteiras tratadas com este medicamento podem continuar a produzir leite e carne para consumo humano sem qualquer restrição (European Commission, 2013; European Medicines Agency, 2012).

### **3.2. Monensina na produção de leite**

A Monensina está autorizada a ser administrada a animais produtores de leite, em forma de cápsula de libertação contínua, com a finalidade de prevenção da cetose subclínica. A administração de Monensina antes do parto e a prevenção de doenças metabólicas

permitem que o animal se mantenha saudável e, desta forma, aumente a produção de leite nesta fase mais crítica (Fairfield *et al.*, 2007; Duffield *et al.*, 2008).

A introdução de 450 mg de Monensina, na dieta das vacas leiteiras, diminui a percentagem de gordura no leite, mas não altera a percentagem de proteínas da composição do leite (Fairfiel *et al.*, 2007). Segundo Heuer *et al.* (2001), a Monensina diminui em 9% as mastites nas vacas leiteiras (Figura 8).

Uma vaca com mastite tem a sua produção leiteira afetada, em quantidade e qualidade, além de ter um aumento na contagem de células somáticas (CCS) no leite. Uma alta contagem de células somáticas no leite de uma vaca indica que provavelmente existe infecção em pelo menos um quarto mamário do úbere, causando um processo inflamatório chamado [mastite](#). Desta forma, a composição do leite, o tempo de coagulação, a atividade enzimática, a produtividade e a qualidade dos derivados lácteos são influenciados negativamente. A Monensina permite uma melhor eficiência do metabolismo energético e uma estimulação do sistema imunitário do animal, tornando a vaca mais resistente à infecção e com menor probabilidade de desenvolver mastites. Por outro lado, as vacas tratadas com Monensina apresentam uma boa capacidade de absorção dos catiões bivalentes, e, conseqüentemente, uma melhor capacidade de resposta face a doenças, uma vez que os catiões são antioxidantes essenciais e que atuam conjuntamente com os neutrófilos e os macrófagos no mecanismo de defesa (Duffield *et al.*, 2008).

**Figura 8** - Prevalência das vacas com cetose, tratadas com Kexxtone<sup>®</sup> e com placebo (adaptado de European Medicines Agency, 2012).

### 3.3. Monensina na reprodução

Nas explorações leiteiras, um dos objetivos é obter um parto/ano por vaca. Considerando este requisito, é necessário que a concepção após o parto ocorra, em média, aos 80 dias. Para que estes objetivos sejam alcançados, a alimentação assume um papel

essencial. No período de transição é fundamental fornecer aos animais o tratamento adequado para que ocorra um retorno à atividade cíclica ovárica que conduza a bons resultados na reprodução (Artunduaga *et al.*, 2008).

No período de transição, que compreende as 3 semanas que antecedem o parto e as 3 semanas após parto, as vacas sofrem muitas alterações endócrinas e metabólicas associadas à diminuição da ingestão de alimentos e a um balanço energético negativo. Tais fatores podem ser responsáveis pelo desencadeamento de doenças ao nível metabólico, diminuição da produção de leite e alterações da fisiologia da reprodução (Artunduaga *et al.*, 2008).

Após o parto, há um período normal de anestro, durante o qual ocorre involução uterina. Coordenado com a atividade do eixo hipotálamo-hipófise e ovários, é estabelecido a reiniciação de um ciclo regular de estro de ovulação. A nutrição das vacas leiteiras, durante este período, é um fator de extrema relevância para que ocorra manifestação do estro e para a inatividade ovárica. No período pós parto, as vacas que carecem de energia e proteína vão sofrer de inatividade ovárica, devido a transtornos da libertação da hormona luteinizante (LH) da adeno-hipófise (Vieira, 2011). De acordo com este autor, as perturbações hormonais, lactação, fatores ambientais, metrite necrobacilar, mumificação e maceração fetal, neoplasias uterinas, e nutrição são fatores importantes que justificam o anestro.

A suplementação com Monensina contribui para o crescimento dos folículos e para o desenvolvimento do corpo lúteo, assim como, para o intervalo anovulatório no pós-parto. Vieira (2011) apresenta algumas justificações para estes processos, nomeadamente: a presença de um substrato para a produção do colesterol, sendo este um precursor da progesterona; regulação do metabolismo do ácido araquidónico, precursor das prostaglandinas; manutenção dos níveis séricos de glicose, elevando os níveis séricos de insulina 1 (IGF-I) e, conseqüentemente, a libertação de LH. Contudo, Opsomer *et al.* (2000) e Moreira *et al.* (2001) demonstraram que 20% das vacas não fizeram ovulação antes do período.

Os programas de sincronização permitem um excelente controlo da ovulação e da inseminação, mas a probabilidade de prenhez em vacas com dificuldade de fazer estro com sinais evidentes é reduzida. Os fatores que influenciam o tempo até ocorrer a primeira ovulação com sinais evidentes e excelentes condições para que a vaca fique gestante incluem (Walsh *et al.*, 2007): a raça, as condições e parto(s) anterior(es), a estação do ano, as condições atmosféricas, a condição corporal, as condições e comportamento pós-parto e a alimentação adequada.

O atraso no retorno da atividade ovárica cíclica, ausência e/ou fraca manifestação do estro são fatores associados à diminuição da taxa de concepção e da taxa de gestação. Como consequência ocorre um alargamento dos intervalos entre o parto e a primeira ovulação e também nos intervalos entre o parto e a concepção. A resposta a este conjunto de situações pode estar associado à intensidade de ingestão de matéria seca, ou seja, o pico da ingestão de matéria seca pelo animal, no após parto, ocorre posteriormente ao seu pico de produção, desencadeando um balanço energético negativo no período desejável para a primeira ovulação e concepção. Como não ocorre o fenómeno de ovulação, nem concepção, a gravidez da vaca é consequentemente atrasada (Artunduaga *et al.*, 2008).

Nas novilhas, a Monensina contribui para melhorar a reprodução, proporcionando um amadurecimento mais precoce (Salles *et al.*, 2001). A Monensina ao atuar na fermentação ruminal e favorecer a produção do ácido propiónico, melhora a taxa de crescimento corporal, permitindo uma melhor resposta endócrina aos mecanismos reguladores da puberdade. Num estudo envolvendo novilhas holandesas, às quais foi administrado 200 mg de Monensina por dia à dieta de cada animal, verificou-se que esta adição não teve um efeito significativo sobre a condição corporal dos animais, mas diminuiu significativamente a idade à primeira gestação em cerca de 24 dias e a idade ao primeiro parto em 48 dias (Salles *et al.*, 2001). Os autores concluíram que a Monensina pode diminuir a idade na puberdade nas novilhas sem afetar o peso e as condições corporais.

Independentemente da produção de leite, a administração da Monensina permite obter um benefício económico no aumento da probabilidade de gestação do animal à primeira

inseminação pós parto (Vieira, 2011). Segundo Arias (1993), nas vacas leiteiras tratadas com Kexxtone<sup>®</sup>, os bezerros apresentam maior peso à nascença. Estes resultados estão provavelmente relacionados com o efeito da Monensina no mecanismo da glicose. Os níveis séricos constantes de glicose no período de secagem podem aumentar o peso do feto. Contudo, é possível que outros mecanismos estejam associados sob o efeito da Monensina, como por exemplo o mecanismo das proteínas. O crescimento do feto é controlado principalmente pelo crescimento placentário, o qual é influenciado pela nutrição, *stress*, doenças genéticas, bem como pela maturidade materna (Duffield *et al.*, 2008).

### **3.4. As doenças metabólicas no período de transição**

Existem algumas doenças do foro metabólico, nomeadamente cetoses, deslocamento de abomaso e retenções placentárias, características dos sistemas de produção intensiva de bovinos de leite, que pela sua prevalência e prejuízos representam elevadas perdas económicas para as explorações.

Em Portugal, a incidência destas doenças é elevada. No caso da cetose, a ocorrência a nível Europeu representa 1% a 4%, mas em Portugal é de 6%. No caso de cetose subclínica, esta incidência aumenta para aproximadamente os 29,5%, que por ser uma patologia subdiagnosticada eleva os custos associados à produção, atingindo valores entre os 86€ e os 600€ por animal (Andreu, 2013; Suthar *et al.*, 2013; Mcart *et al.*, 2015). Estes custos são relacionados com a diminuição da produção de leite, carência energética, diminuição de fertilidade e possibilidade de desenvolvimento de outras doenças (Smith *et al.*, 2007; Leroy *et al.*, 2008).

No caso de deslocamento do abomaso, a incidência a nível da Europa é de 2,7%, mas em Portugal atinge os 4,6%, sendo mais uma vez um caso preocupante em relação aos custos e ao desenvolvimento de outras implicações (Suthar *et al.*, 2013).

No caso da retenção placentária, em Portugal a incidência desta patologia ronda os 8,3%, a qual encontra-se dentro da média dos estudos que varia entre os 5% e 10% (Suthar *et al.*, 2013; Smith *et al.*, 2007).

#### **3.4.1. Cetose**

É na fase de gestação e no início de lactação que as vacas leiteiras têm risco elevado de desenvolverem as desordens metabólicas referidas, associado às elevadas necessidades de energia e à reduzida ingestão de matéria seca (Petersson-Wolfe *et al.*, 2007).

Entre as consequências de uma inadequada adaptação a esta fase está uma elevação excessiva, na circulação sanguínea, de corpos cetónicos (Herdt, 2000). Quando a quantidade de corpos cetónicos produzida é superior à quantidade absorvida, desenvolve-se uma situação de acetose. Nesta fase começam a circular na corrente sanguínea níveis elevados de corpos cetónicos e de ácidos gordos não esterificados (AGNE), acompanhados de hipoglicémia (Fleming, 1993). O balanço energético negativo, característico do início da lactação, pode ser identificado a partir das concentrações de AGNE e de  $\beta$ -hidroxibutirato ( $\beta$ -HB), ajudando os produtores a agir proactivamente (Ospina *et al.*, 2010). As concentrações elevadas de AGNE e de  $\beta$ -HB no período de transição da vaca são indicadores de um maior risco de ocorrer o deslocamento do abomaso, cetose, metrite e retenção placentária (Ospina *et al.*, 2010). Segundo estes autores, os animais que apresentem valores de AGNE acima dos 0,3 mEq/l entre 14 a 2 dias pré-parto e/ou valores de  $\beta$ -HB acima dos 0,96 mmol/l nos 3 a 14 dias pós-parto são animais com elevado risco de desenvolvimento as referidas doenças.

#### **3.4.2. Deslocamento do abomaso**

O deslocamento do abomaso consiste numa elevação do abomaso ao longo da parede abdominal, devido ao gás aprisionado dentro desta parede (Steiner, 2006). O deslocamento do abomaso é a patologia mais frequentemente detetada nas explorações leiteiras, representando a principal causa de cirurgia abdominal (Divers, 2008). O deslocamento do abomaso pode ocorrer quer do lado esquerdo quer do lado direito. Esta

condição causa elevadas perdas económicas na exploração leiteira, pois além dos custos associados ao tratamento, as vacas têm uma redução significativa na produção de leite, e, muitas vezes, estes animais têm de ser refugados (LeBlanc *et al.*, 2005). O deslocamento do abomaso ocorre principalmente em vacas leiteiras de alta produção, sendo o período de maior incidência as duas semanas anteriores ao parto e as oito semanas pós parto (Divers, 2008).

Segundo Steiner (2006), os fatores de risco para a ocorrência do deslocamento do abomaso são: distocia, partos gemelares, retenção placentária, metrite, cetose, hipocalcemia clínica, raça e idade.

Wolf *et al.* (2001) defende que as vacas após o terceiro parto possuem maior risco de sofrer desta condição comparativamente às vacas mais novas. Contudo, outros autores defendem que a vaca na primeira lactação possui também um risco elevado de sofrer de deslocamento do abomaso (Doll *et al.*, 2009). A relação causa/efeito desta patologia é difícil de estabelecer.

A elevada concentração de AGNE no período pós parto é considerado um fator de risco para ocorrer a retenção placentária, sendo que ambas as condições, i.e. deslocamento do abomaso à esquerda e a retenção placentária, apresentam uma etiologia comum. Quando ocorre retenção placentária e/ou metrite, a vaca apresenta uma diminuição do apetite, com conseqüente diminuição da ingestão de alimentos e aumento do risco de deslocamento do abomaso à esquerda (LeBlanc *et al.*, 2005). Por outro lado, nas endometrites são libertadas endotoxinas e mediadores inflamatórios que podem ser uma das causas de deslocamento do abomaso (Van Winden e Kuiper, 2003).

A hipocalcemia ocorre nas vacas no período pós-parto e é considerado um fator de risco para o deslocamento do abomaso à esquerda (Radostits *et al.*, 2007a). As vacas que desenvolvem hipocalcemia no parto possuem uma maior probabilidade de desenvolver deslocamento do abomaso (Doll *et al.*, 2009). Segundo LeBlanc e colaboradores (2005), o balanço energético negativo é o principal fator para ocorrer o deslocamento do abomaso.

A cetose é um fator de risco para ocorrer o deslocamento do abomaso porque está associada à baixa ingestão de matéria seca, levando a um baixo nível de repleção do rúmen e reduzida motilidade gástrica (Cameron *et al.*, 2008). Segundo LeBlanc *et al.* (2005) é muito importante a monitorização do período de transição e do risco de deslocamento do abomaso à esquerda, na semana anterior à data prevista do parto. Devem ser monitorizados os AGNE, e na primeira semana pós-parto devem ser monitorizados os níveis de  $\beta$ -HB. Níveis elevados de AGNE no pós-parto e corpos cetónicos têm uma influência significativa no desenvolvimento de deslocamento do abomaso à esquerda (LeBlanc *et al.*, 2005; Radostits *et al.*, 2007b; Ospina *et al.*, 2010).

Os aspetos ambientais, como a estação do ano, as condições meteorológicas, o sistema de estábulo e a qualidade deste, são fatores importantes na epidemiologia de deslocamento do abomaso (Cannas da Silva *et al.*, 2002).

Os animais com deslocamento do abomaso no período pós parto apresentam sintomas, tais como: perda de apetite, diminuição da produção de leite e contrações ruminais escassas ou inexistentes (Cannas da Silva *et al.*, 2002; Trent, 2004; Divers, 2008).

O tratamento do deslocamento do abomaso à esquerda pode ser por rolamento ou cirurgia. O procedimento depende da situação em que se encontra o animal, da situação económica e das condições disponíveis (Steiner, 2006).

De referir que o deslocamento de abomaso causa perdas económicas nas explorações leiteiras pelos elevados custos de tratamento, refugo prematuro, quebras de produção e, por vezes, morte dos animais. Sendo que as vacas com deslocamento de abomaso produzem menos de 557 kg de leite do que os animais saudáveis e 30% das perdas ocorreram antes do diagnóstico e tratamento (Shaver, 1997; Neto *et al.*, 2011).

### **3.4.3. Retenção placentária**

A retenção placentária acontece quando não ocorre a expulsão da placenta por parte do animal (Eiler e Fecteau, 2007). A expulsão das membranas fetais envolve três componentes fundamentais que devem ocorrer simultaneamente: a maturação da

placenta associada às correspondentes alterações endócrinas na fase final da gestação e perto do momento do parto; a hemorragia do lado fetal da placenta, para que se dê atrofia e colapso das vilosidades cotiledonares e a separação das criptas das carúnculas; suficiente contração miometral com distorção dos placentomas.

A retenção placentária pode ser classificada como primária ou secundária. A primária é causada por um mau destacamento das membranas fetais, podendo estar associada, por exemplo, a causas inflamatórias e problemas hormonais. A retenção placentária secundária ocorre devido à dificuldade mecânica na expulsão das membranas (Eiler e Fecteau, 2007).

Os sintomas mais evidentes desta situação são o corrimento com cheiro fétido e o tecido placentário na vulva. A retenção placentária é uma patologia comum no pós-parto, podendo desencadear uma infecção uterina na ausência de tratamento adequado (Eiler e Fecteau, 2007).

Este acontecimento pode estar associado à carência de certos nutrientes, como a vitamina A, vitamina E, selênio e carotenos. Adicionalmente, a retenção placentária pode ocorrer com maior incidência nas vacas mais gordas no momento do parto (Hillman e Gilbert, 2008).

Alguns autores constataram que o desenvolvimento da retenção placentária manifestava-se mais em animais que apresentavam deslocamento do abomaso e cetose. A relação entre a retenção placentária e a cetose justifica-se pela diminuição da ingestão de matéria seca, agravando o balanço energético negativo (Han e Kim, 2005).

A incidência de retenções placentárias varia dos 3-27% entre explorações, sendo que a incidência em partos singulares é de 10%, enquanto em partos gemelares atinge os 46%. A endometrite ocorre em cerca de 50% dos animais que têm retenção placentária e a probabilidade destas vacas desenvolverem metrites é 25 vezes superior à dos animais sem retenção placentária (Radostits *et al.*, 2007b).

## IV. Estudo

### 4.1. Amostra

O estudo para avaliar o efeito da Monensina sódica em vacas leiteira, após a gestação e na prevenção de doenças metabólicas no período de transição, foi efetuado numa Exploração Agropecuária de Produção de Leite, na região do Minho, em Braga. Para tal, os animais foram analisados durante os meses de outubro de 2013 e outubro de 2014.

A exploração é composta por 191 animais, de raça Holstein Frísia, dos quais 186 animais estiveram em lactação. A exploração possui várias áreas: existe um parque para as vacas secas e um parque para vacas e novilhas pré parto, uma maternidade e uma enfermidade.

As novilhas estão dispostas de acordo com a idade em 6 parques. Os vitelos estão dependentes da progenitora até aos 8 dias de idade, passando posteriormente para o parque onde são alimentados no alimentador automático, depois dos 3,5 meses de idade são transferidos para o lote de desmame.

As vacas de produção são alimentadas 2 vezes por dia. A alimentação é distribuída pelo *unifeed*. Estes animais ainda têm suplementação de ração nas boxes.

As vacas que se encontram no período de secagem, pré-parto e novilhas são alimentadas 1 vez por dia, sendo a alimentação distribuída pelo *unifeed*.

As amostras de leite destinadas ao controlo de células somáticas e utilizadas na determinação da lactação média foram recolhidas uma vez por mês pelos funcionários da cooperativa de Braga. A contagem de células somáticas foi realizada no Laboratório de Estatuto de Utilidade Pública da Associação Interprofissional do Leite e Lacticínios (ALIP).

## 4.2. Procedimentos estatísticos

Os dados foram analisados com recurso ao programa IBM SPSS<sup>®</sup> versão 24 (*Statistical Package for the Social Sciences*). Em primeiro lugar, no que diz respeito às variáveis intervalares (número de células somáticas, litros de leite produzidos, número de lactantes, número de deslocamentos do abomaso e número de mastites), foi realizada uma análise exploratória de dados, visando verificar os pressupostos de normalidade da distribuição e homogeneidade das variâncias, que devem estar cumpridos para a utilização de estatística paramétrica. A análise de normalidade teve por base os valores de assimetria e curtose, bem como os resultados dos testes Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilks. Para a análise do pressuposto de homogeneidade das variâncias foi utilizado o teste de Levene. Não estando cumpridos os pressupostos referidos, e considerando a existência de *outliers*, optou-se pela utilização de estatística não paramétrica.

De seguida foram realizadas análises preliminares, nas quais foram comparados os três momentos de avaliação que tiveram lugar para a obtenção dos dados relativos ao número de células somáticas e número de litros de leite produzidos pelos animais, utilizando testes de Friedman.

Foi então realizada uma análise descritiva de todas as variáveis em estudo, para a amostra total. As medidas descritivas apresentadas foram selecionadas de acordo com o tipo de variável analisada, consistindo em médias e desvios padrão para variáveis intervalares, e frequências e percentagens para variáveis nominais.

Após esta primeira fase, foram analisadas associações entre a administração de Monensina e a ocorrência de condições médicas, morte ou abate do animal. Uma vez que estas se tratam de variáveis nominais, foram utilizados testes de Qui-Quadrado nestas análises. No entanto, os resultados deste teste não são fiáveis quando a percentagem de células da tabela de contingência que tem frequência esperada inferior a 5 é superior a 20%, pelo que se reportou o resultado do Teste de Fisher associado (Martins, 2011).

Por fim, foi utilizado o teste de Mann-Whitney para analisar as diferenças entre os animais aos quais foi administrada Monensina e os animais do grupo de controlo, no que diz respeito às variáveis de interesse.

### 4.3. Resultados

#### 4.3.1. Análises preliminares

Foram realizadas análises no sentido de comparar o número de células somáticas entre os 3 momentos em que foram avaliadas; a mesma análise foi também realizada no que diz respeito ao número de litros de leite produzidos pelos animais, entre os 3 momentos em que os dados foram recolhidos. Para estas análises foram realizados dois testes de Friedman, cujos resultados são apresentados na Tabela 2.

**Tabela 2** - Comparação do número de células somáticas e do número de litros de leite produzidos, entre os 3 momentos de avaliação.

	<i>Média (DP)</i>	<i>P</i>
Células somáticas (1ª avaliação)	413,24 (1807,56)	<b>0,002</b>
Células somáticas (2ª avaliação)	328,41 (1036,76)	
Células somáticas (3ª avaliação)	210,17 (691,75)	
Produção de leite (litros) (1ª avaliação)	33,74 (8,73)	<b>&lt; 0,001</b>
Produção de leite (litros) (2ª avaliação)	38,28 (8,34)	
Produção de leite (litros) (3ª avaliação)	38,43 (7,75)	

Foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os três momentos de avaliação, em relação ao número de células somáticas,  $\chi^2(2) = 12,35, p = 0,002$ , e ao número de litros de leite produzidos,  $\chi^2(2) = 73,86, p < 0,001$ .

De seguida, foram realizados três testes de Wilcoxon, com correção Bonferroni para cada uma destas análises. Estes revelaram diferenças estatisticamente significativas relativamente ao número de células somáticas entre a primeira e segunda avaliação,  $Z = -2,71, p = 0,007$ , e entre a primeira e a terceira avaliação,  $Z = -3,21, p = 0,001$ . Desta forma, o número de células somáticas diminuiu da primeira para a segunda avaliação, e da primeira para a terceira administração de Monensina. Por outro lado, não foram encontradas diferenças significativas no número de células somáticas da segunda para a terceira avaliação,  $Z = -0,41, p = 0,685$ .

No que diz respeito ao número de litros de leite produzidos, três testes de Wilcoxon, com correção Bonferroni, mostraram diferenças estatisticamente significativas entre a primeira e segunda avaliação,  $Z = -8,28, p < 0,001$ , e entre a primeira e a terceira avaliação,  $Z = -7,70, p < 0,001$ . Assim, o número de litros de leite produzidos aumentou da primeira para a segunda avaliação, e da primeira para a terceira avaliação. Por outro lado, não foram encontradas diferenças significativas entre a segunda e a terceira avaliação,  $Z = -0,21, p = 0,832$ .

De seguida, tendo em consideração a existência de associações positivas estatisticamente significativas entre o número de células somáticas nos três momentos em que estas foram medidas (todos  $r_s > 0,45, p < 0,001$ ) bem como entre as três medidas relativas ao número de litros de leite produzidos pelos animais (todos  $r_s > 0,55, p < 0,001$ ), as três medidas de cada variável foram agregadas numa só, consistindo na média de células somáticas e na média de litros de leite produzidas, variáveis com as quais se trabalhou nas análises seguintes.

#### **4.3.2. Medidas descritivas**

Nesta secção são apresentadas as medidas descritivas, relativas às variáveis em estudo, para a amostra completa.

A Tabela 3 apresenta estas medidas, relativas à administração de Monensina.

**Tabela 3** - Medidas descritivas relativas à administração de Monensina.

	<i>n</i>	%
<b>Administração de Monensina</b>		
Sim	55	28,8
Não	136	71,2

Foi administrada Monensina a 55 (28,8%) animais, enquanto aos restantes 136 (71,2%) não foi administrada qualquer substância (Tabela 2).

A Tabela 4 apresenta as medidas descritivas relativas ao número de lactantes, quantidade de células somáticas e produção de leite, bem como ao número de deslocamentos do abomaso e mastites de cada animal.

**Tabela 4** - Medidas descritivas relativas ao número de lactantes, células somáticas, produção de leite, número de deslocamentos do abomaso e mastites de cada animal.

	<b>Min-Máx</b>	<b>Média (DP)</b>	<b>Mediana</b>
Número de lactantes	1,00-6,00	1,91 (1,27)	1,00
Células somáticas (CCS)	12,67-8395,00	317,27 (772,42)	85,00
Produção de leite (litros)	15,33 – 56,67	36,82 (7,25)	36,50
Número de deslocamentos do abomaso	0,00-2,00	0,06 (0,26)	0,00
Número de mastites	0,00-2,00	0,10 (0,36)	0,00

Por fim, a Tabela 5 apresenta as medidas descritivas no que diz respeito à ocorrência de deslocamentos do abomaso, mastites, necessidade de fazer tratamento à cetose, e morte e/ou abate dos animais.

Pela análise da Tabela 5 verifica-se que apenas uma minoria dos animais apresentou deslocamento do abomaso ( $n = 11$ , 5,8%), segundo deslocamento ( $n = 1$ , 0,5%), tratamento à cetose ( $n = 3$ , 1,6%), mastite ( $n = 17$ , 8,9%), segunda mastite ( $n = 3$ , 1,6%). De igual forma, apenas 4 (2,1%) animais morreram, 7 (3,7%) foram abatidos e, nenhum abate foi de urgência.

**Tabela 5** -Medidas descritivas relativas à ocorrência de condições médicas, morte e abate do animal.

	<i>n</i>	%
<b>Deslocamento do abomaso</b>		
Sim	11	5,8
Não	180	94,2
<b>Segundo deslocamento do abomaso</b>		
Sim	1	0,5
Não	190	99,5
<b>Tratamento à cetose</b>		
Sim	3	1,6
Não	188	98,4
<b>Primeira mastite</b>		
Sim	17	8,9
Não	174	91,1
<b>Segunda mastite</b>		
Sim	3	1,6
Não	188	98,4
<b>Morte do animal</b>		
Sim	4	2,1
Não	187	97,9
<b>Abate do animal</b>		
Sim	7	3,7
Não	184	96,3
<b>Abate de urgência</b>		
Sim	0	0,0
Não	191	100,0

#### 4.4. Associações entre administração de Monensina e ocorrência de doenças metabólicas

De seguida, foram utilizados testes de Qui-quadrado no sentido de averiguar a existência de associações estatisticamente significativas entre a administração de Monensina e a ocorrência de condições médicas, morte ou abate do animal. Os resultados destas análises são apresentados na Tabela 6.

**Tabela 6.** Associações entre administração de Monensina e ocorrência de condições médicas.

	<b>Controlo</b> (n = 159)	<b>Monensina</b> (n = 183)	<b>p</b>
<b>Deslocamento do abomaso</b>			
Sim	11 (100,0%)	0 (0,0%)	<b>0,036</b>
Não	125 (69,4%)	55 (30,6%)	
<b>Segundo deslocamento do abomaso</b>			
Sim	1 (100,0%)	0 (0,0%)	1,000
Não	135 (71,1%)	55 (28,9%)	
<b>Tratamento à cetose</b>			
Sim	3 (100,0%)	0 (0,0%)	0,558
Não	133 (70,7%)	55 (29,3%)	
<b>Primeira mastite</b>			
Sim	14 (82,4%)	3 (17,6%)	0,403
Não	122 (70,1%)	52 (29,9%)	
<b>Segunda mastite</b>			
Sim	2 (66,7%)	1 (33,3%)	1,000
Não	134 (71,3%)	54 (28,7%)	
<b>Morte do animal</b>			
Sim	3 (75,0%)	1 (25,0%)	1,000
Não	133 (71,1%)	54 (28,9%)	
<b>Abate do animal</b>			
Sim	6 (85,7%)	1 (14,3%)	0,675
Não	130 (70,7%)	54 (29,3%)	

Nota. Reportado resultado do Teste de Fisher em todas as análises.

Como pode verificar-se na Tabela 6, foi encontrada apenas uma associação estatisticamente significativa entre o deslocamento do abomaso e a administração de Monensina,  $\chi^2 (1) = 4,72$ ,  $p = 0,036$ . Desta forma, os animais que apresentaram deslocamento pertenciam ao grupo de Controlo (100,0%); também, a maioria dos animais que não apresentaram deslocamento pertenciam ao grupo de Controlo (69,4%). Não foram encontradas outras associações estatisticamente significativas.

#### 4.5. O impacto da administração da Monensina ao nível do número de lactantes, quantidade de células somáticas e produção de leite

Por fim, foram realizados testes de Mann-Whitney visando analisar diferenças entre os animais pertencentes ao grupo de controlo e os animais aos quais foi administrada Monensina, ao nível do número de lactantes, quantidade de células somáticas, produção de leite, número de deslocamentos do abomaso e de mastites. Os resultados destas análises são apresentados na Tabela 7.

**Tabela 7.** Diferenças ao nível de número de lactantes, CCS, produção de leite e condições médicas, em função da administração de Monensina.

	<b>Controlo</b> ( <i>n</i> = 136) Média (DP)	<b>Monensina</b> ( <i>n</i> = 55) Média (DP)	<b><i>p</i></b>
Número de lactantes	2,23 (1,36)	1,13 (0,47)	<b>&lt; 0,001</b>
Células somáticas (CSS)	236,24 (420,91)	527,63 (1283,73)	0,098
Produção de leite	37,62 (7,75)	34,73 (5,29)	<b>0,005</b>
Número de deslocamentos	0,09 (0,31)	0,00 (0,00)	<b>0,030</b>
Número de mastites	0,12 (0,37)	0,07 (0,33)	0,300

Nota. Embora se reportem os resultados dos testes não-paramétricos de Mann-Whitney, no sentido de uma melhor compreensão dos dados, são apresentadas as médias e desvios padrão

Como se pode verificar na Tabela 7, foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os animais pertencentes ao grupo de controlo e os animais aos quais foi administrada Monensina no que diz respeito ao número de lactantes,  $U = 1806,00$ ,  $p < 0,001$ , à produção de leite,  $U = 2584,50$ ,  $p = 0,005$ , e ao número de deslocamentos,  $U = 3437,50$ ,  $p = 0,030$ . Desta forma, animais aos quais foi administrada Monensina

apresentaram um menor número de lactantes, menor produção de leite e menor número de deslocamentos do abomaso, quando comparados com animais do grupo de controle.

#### **4.6. Discussão dos resultados**

Neste estudo verificou-se que mesmo com a administração da Monensina ocorreu uma redução na produção de leite.

Na literatura as discrepâncias entre estudos que relacionam a Monensina com a produção de leite são variadas, sendo que estas podem estar relacionadas principalmente com fatores como a fase de lactação, dieta basal e extensão do tratamento. Num estudo realizado por McGuffey e colaboradores (2001), 11 vacas suplementadas com *premix* de Monensina sódica tiveram um efeito positivo de 1,3 Kg de leite em relação ao grupo controle. Resultados semelhantes foram reportados por Gandra (2009) num outro estudo, no qual a administração de Monensina sódica nas rações de vacas leiteiras no terço médio de lactação e com alimentação de volumoso de silagem de milho melhorou em média 2,7% o desempenho produtivo dos animais por dia.

No entanto, os resultados obtidos no presente estudo estão de acordo com os resultados de Andrighetto e colaboradores (2005). Segundo estes autores, a Monensina não aumenta a produção de leite para vacas no início de lactação, uma vez que, nesta fase, ocorrem mudanças no peso corporal do animal que interferem quer na produção de leite quer na reprodução. Por outro lado, o grau de desempenho do animal e a ação da Monensina pode não se manifestar devido aos níveis elevados de alimento na dieta utilizada no arranque de um animal e às pequenas quantidades de Monensina utilizada (Andrighetto *et al.*, 2005; D'ávila Possatti *et al.*, 2015).

Um outro estudo mostrou que a administração de Monensina não influenciou a produção de leite, a condição corporal e o peso de búfalas Murrah, nos primeiros 150 dias de lactação. Adicionalmente, não foi registada qualquer alteração na percentagem de proteína e de sólidos totais do leite destes animais suplementados com Monensina.

Contudo, a Monensina elevou as produções de gordura e de proteína e a percentagem de gordura do leite nos primeiros 150 dias de lactação (Andrighetto *et al.*, 2005).

Apesar da produção de leite nos animais que receberam Monensina não aumentar em relação aos animais controlo, a produção de leite teve um pequeno incremento com as diversas administrações de Monensina (Tabela 2), verificando-se um aumento de cerca de 14% na produção de leite. Este resultado pode estar relacionado com a capacidade da Monensina sódica, através dos produtos do seu metabolismo, promover uma maior eficiência na utilização dos alimentos e a um aumento da proporção molar do ácido propiónico a nível de rúmen. Sendo o ácido propiónico um precursor direto da formação de glicose, atua diretamente na galactopoiese ao nível de glândula mamária, aumentando a produção de leite.

Este estudo revela diferenças estatisticamente significativas relativamente no número de células somáticas entre a primeira e a segunda avaliação. Desta forma, o número de células somáticas diminuiu da primeira para a segunda avaliação, e da primeira para a terceira administração de Monensina. Contudo, com a administração de Monensina não se verificou diminuição da contagem de células somáticas em relação ao grupo controlo. Esta acompanha a baixa prevalência de casos clínicos de mastite durante o estudo. É importante lembrar que todas as contagens de células somáticas avaliadas variaram dentro dos limites estabelecidos como normais (i.e.  $\leq 400\ 000/\text{ml}$ ). Face ao exposto, a suplementação com Monensina sódica, na dose e no período administrado, poderá não contribuir significativamente para a diminuição de acidose láctica ruminal, contudo, os efeitos deste distúrbio fermentativo foram minimizados, ou seja, a gravidade da acidose foi reduzida na sua intensidade e no seu tempo de evolução, tornando a recuperação mais precoce nos animais que receberam este ionóforo (Medeiros, 2008).

Em relação ao deslocamento de abomaso, esta é uma das patologias relativamente comum no gado leiteiro, principalmente no início da lactação e que acarretando custos elevados às explorações leiteiras. O presente estudo verificou que os animais aos quais foi administrada Monensina apresentaram um menor número de deslocamentos do abomaso quando comparados com animais do grupo de controlo, evitando muitas das vezes o abate precoce e o elevado custo do tratamento.

De salientar que neste estudo, apenas 55 animais pertencem ao grupo de animais aos quais foi administrado de Monensina e 136 ao grupo de controlo, ou seja, quase o triplo o que pode influenciar alguns dos resultados estatísticos.

## **V. Conclusão**

As doenças metabólicas (e.g. o deslocamento do abomaso, cetose, retenção placentária) são uma das maiores preocupações nas explorações leiteiras, por isso, um dos grandes desafios da produção leiteira ao nível mundial é a monitorização destas doenças nas explorações com a ajuda dos nutricionistas, veterinários e produtores. Neste sentido, estes profissionais aconselham a suplementação com Monensina, proporcionando uma melhor eficiência alimentar ao nível do rúmen e uma diminuição da probabilidade destas doenças favorecendo a saúde do animal no início da lactação e maiores benefícios económicos para as explorações.

No presente estudo foi possível concluir quanto à eficácia da suplementação com Monensina em vacas leiteiras, no que diz respeito à prevenção de deslocamentos de abomaso em animais considerados de risco elevado. Nas restantes patologias analisadas não foi possível comprovar estatisticamente a influência do Kexxtone<sup>®</sup> na incidência das mesmas.

Foi também possível provar que o uso deste produto influencia, de uma forma positiva, a evolução das células somáticas e a produção de leite. Desta forma, o uso da Monensina sódica pode contribuir positivamente para o desenvolvimento do bovino, melhorando a sua recuperação após o parto, prevenindo patologias e o ganho de peso, diminuindo os custos das explorações de leite.

No futuro, será interessante realizar um estudo mais alargado do efeito e mudanças que este produto poderá originar nas explorações de leite portuguesas, no que diz respeito à reprodução, prevenção de doenças metabólicas e produção de leite.

## **VI. Bibliografia**

Agtarap, A. *et al.* (1967). The structure of monensin acid a new biologically active compound. *Journal of the American Chemical Society* 89(22), pp. 5737-5739.

Anadón, A., Martínez-Larranaga, M. R. and Frejo, M. T. (1999). Problemática atual de los antibióticos como promotores de crescimento. *Revista ANAPORC*, 188 (XIX), pp. 5-52.

Andreu, C. (2013). Cetose, un problema caro. Kexxtone, a solução inovadora. *Comunicação apresentada nas XV Jornadas APB*.

Andrighetto, C. *et al.* (2005). Efeito da Monensina sódica sobre a produção e composição do leite, a produção de mozzarella e o escore de condição corporal de Búfalas Murrah. *R. Bras. Zootec.* 34(2), pp. 573-581.

Arias, G. A. (1993). Effects of monensin delivered by a slow release device on aspects of performance in dairy heifers. *M. Phil. Massey University*. New Zealand.

Artunduaga, M. A. T. *et al.* (2008). Atividade ovariana de vacas leiteiras em dietas com propilenoglicol ou monensinaMonensina no período de transição. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 60(2), pp. 289-293.

Aryal, S. (2001). Antibiotic resistance: A concern to veterinary and human medicine. *Nepal Agriculture Research Journal* 4(5), pp. 66-70.

Baile C.A. *et al.* (1979). Feeding behavior changes of cattle during introduction of monensin with roughage or concentrate diets. *Journal of Animal Science* 48(6), pp. 1501-1508.

Barton, M. D. (2000). Antibiotic use in animal feed and its impact on human health. *Nutrition Research Review* 13, pp. 279-299.

Beam, S. W. and Butler, W.R. (1997). Energy balance and ovarian follicle development prior to first ovulation postpartum in dairy cows receiving three levels of dietary fat. *Biol Reprod.* 56, pp. 133-142.

Beckett, S. *et al.* (1998). Effects of monensin on the reproduction, health, and milk production of dairy cows. *Journal Dairy Science* 81, pp. 1563-1573.

Bergen, W. G. and Bates, D. B. (1984). Ionophores: Their effect on production efficiency and mode of action. *J. Anim. Sci.* 58, pp. 1465-1483.

Bertipaglia, L. M. A. (2008). *Suplementação protéica associada a monensina sódica e Saccharomyces cerevisiae na dieta de novilhas mantidas em pastagens de capim-marandu*. Tese de Doutorado em Zootecnia, Curso de Pós-graduação em Ciências Agrárias e Veterinárias. Universidade Estadual Paulista.

Brumano, G. and Gattas, G. (2009). Implicações sobre o uso de antimicrobianos em rações monogástricos. *Revista Eletrônica Nutritime* 6(3), pp. 953-959.

Butaye, P. *et al.* (2003). Antimicrobial growth promoters used in animal feed: effects of less well known antibiotics on gram-positive bacteria. *Clinical Microbiology Reviews* 16(2), pp. 175-188.

Cannas da Silva *et al.* (2002). Deslocamento do abomaso novos conceitos. *Congresso de Ciências Veterinárias 2002*, pp. 39-62.

Castanon, J. I. R. (2007). History of the use of antibiotic as growth promoters in European poultry feeds. *Poultry Science* 86(11), pp. 2466-2471.

D'ávila Possatti, C. *et al.* (2015). Monensina sódica sobre vacas em fase inicial de lactação: produção de leite e peso vivo. *Ciência Rural* 45(1), pp. 92-97.

Day, L. E. *et al.* (1973). Biosynthesis of monensin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 4(4), pp. 410-414.

Decreto-Lei nº151/2005, de 30 de Agosto. Legislação compilada. **[Em linha]. Disponível em:**[http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/LEGISLACAO/LEGISLACAO\\_FARMACEUTICA\\_COMPILADA/TITULO\\_III/TITULO\\_III\\_CAPITULO\\_IV/083-E\\_DL\\_151\\_2005\\_VF.pdf](http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/LEGISLACAO/LEGISLACAO_FARMACEUTICA_COMPILADA/TITULO_III/TITULO_III_CAPITULO_IV/083-E_DL_151_2005_VF.pdf). **[Consultado em 15 de novembro de 2015].**

Dibner, J. J. and Richards, J. D. (2005). Antibiotics growth promoters in agriculture: history and mode of action. *Poultry Science* 84(4), pp. 634-643.

Directiva 2004/28/CE do Parlamento Europeu e do Conselho de 31 de Março de 2004 que altera a Directiva 2001/82/CE que estabelece um código comunitário relativo aos medicamentos veterinários. **[Em linha]. Disponível em:**[http://ec.europa.eu/health/files/eudralex/vol-5/dir\\_2004\\_28/dir\\_2004\\_28\\_pt.pdf](http://ec.europa.eu/health/files/eudralex/vol-5/dir_2004_28/dir_2004_28_pt.pdf). **[Consultado em 15 de novembro de 2015].**

Directiva 90/167/CEE do Conselho de 26 de Março de 1990, que estabelece as condições de preparação, colocação no mercado e utilização dos alimentos medicamentosos para animais na comunidade. *Jornal oficial nº L 92/42 de 7/4/1990*.

Divers, T. J. (2008). *Rebhun's diseases of dairy cattle*. Saunders: Elsevier.

Doll, K. *et al.* (2009). New aspects in the pathogenesis of abomasal displacement. *Vet J.* 181(2), pp. 90-96.

Duffield, T. F. *et al.* (2008). A meta-analysis of the impact of monensin in lactating dairy cattle. Part 3. Health and reproduction. *J. Dairy Sci.* 91, pp. 2328-2341.

Duffield, T. *et al.* (2002). Prepartum monensin for the reduction of energy associated disease in postpartum dairy cows. *Journal Dairy Science* 85, pp. 397-405.

Eiler, H. and Fecteau, K. (2007). Retained Placenta. *In: Youngquist, R. S. and Threlfall, W.R. (Eds). Current Therapy in Large Animal Theriogenology. Volume 2. United States of America: Saunders.*

European Commission (2013). Kexxtone, monensine. **[Em linha]. Disponível em:** [http://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2013/201301281125085/anx125085\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2013/201301281125085/anx125085_en.pdf) **[Consultado em 28 de junho de 2015].**

European Medicines Agency (2012). Kexxtone<sup>®</sup>. **[Em linha]. Disponível em:** [http://www.emc.europa.eu/docs/pt.PT/document\\_library/EPAR\\_-\\_summary\\_for\\_the\\_public/veterinary/002235/WC500138707pdf](http://www.emc.europa.eu/docs/pt.PT/document_library/EPAR_-_summary_for_the_public/veterinary/002235/WC500138707pdf). **[Consultado em 1 de outubro de 2015].**

Fairfield, A. M. *et al.* (2007). Effects of prepartum administration of a monensin controlled release capsule on rumen pH, feed intake and milk production of a transition dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90(2), pp. 937-945.

Fereli, F. *et al.* (2010). Monensina sódica e *Saccharomyces cerevisiae* em dietas de bovinos: fermentação ruminal, digestibilidade dos nutrientes e eficiência da síntese microbiana. *R. Bras. Zootec.* 39(1), pp. 183-190.

Fleming, S. A. (1993). Cetose dos ruminantes (acetonemia). *In: Smith, B.P. (Ed.). Tratado de Medicina Interna de Grandes Animais.* São Paulo: Editora Monole.

Gandra, F. R. (2009). *Avaliação do uso de monensina* Monensina só dica em rações de vacas leiteiras: desempenho produtivo e resíduos no leite. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

Geishauser, T., Linhart, N., Neidl, A. & Reimann, A. (2012). Factors associated with ruminal pH at herd level. *Journal of Dairy Science* 95(8), pp. 4556-4567.

Goes, R. H. T. B. (2004). Aditivos de alimento para bovinos suplementados a pasto. *Cadernos Tecnicos de Veterinária e Zootecnia* 43, pp. 3445-3448.

Gonçalves, M. F. *et al.* (2012). Ionóforos na alimentação de bovinos. *Vet. Not.* 18(2), pp. 131-146.

Gonzalez, M. *et al.* (2005). Monensin toxicosis in a dairy herd. *Can Vet J.* 46, pp. 910-912.

Guiguére, S.; Prescott, J. F. and Dowling, P. M. (2013). *Antimicrobial therapy in veterinary medicine*. Fifth edition, Iowa, USA: John Wiley & Sons, Inc.

Gustafson, R. H. and Bowen, R. E. (1997). Antibiotic use in animal agriculture. *Journal of Applied Microbiology* 83, pp. 531-541.

Han, Y. and Kim, I. (2005). Risk factors for retained placenta and the effects of retained placenta on the occurrence of postpartum diseases and subsequent reproductive performance in dairy cows. *Journal of Veterinary Science* 6(1), pp. 53-59.

Herdt, T. H. (2000). Ruminant adaptation to negative energy balance. Influences on the etiology of ketosis and fatty liver. *Vet. Clin. North Am Food Anim Pract* 16(2), pp. 215-230.

Heuer, C. *et al.* (2001). Effects of Monensin on blood ketone bodies, incidence and recurrence of disease and fertility in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 84(5), pp. 1085-1097.

Hillman, R. and Gilbert R. O. (2008). Reproductive disease. *In: Divers, T. J. and Peek, S. F. (Eds.) Rebhun's Diseases of dairy cattle* (2<sup>a</sup> Edition). China Saunders.

Jones, F. T. and Ricke, S. C. (2003). Observations on the history of the development of antimicrobials and their use in poultry feeds. *Poultry Science* 82, pp. 613-617.

Lana, R. P. and Russel, J. B. (1996). Use of potassium depletion to assess adaptation of ruminal bacteria to ionophores. *Applied and Environment Microbiology* 62(12), pp. 4499-4503.

Lean, I. *et al.* (1994). Bovine Ketosis and somatotrophin: risk factors for ketosis and effects of ketosis on health and production. *Rev. Vet. Sci.* 57(2), pp. 200-209.

Leblanc, S. J. *et al.* (2005). Metabolic predictors of displaced abomasum in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 88(1), pp. 159-170.

Leroy, J.; Van Soom, A.; Opsomer, G.; *et al.* (2008). Reduced fertility in high-yielding dairy cows: are the oocyte and embryo in danger? Part I. The importance of negative energy balance and altered corpus luteum function to the reduction of oocyte and embryo quality in high-yielding dairy cows. *Reproduction of Domestic Animals* 43(5), pp. 612-622.

Lowicki, D. and Huczynski, A. (2013). Structure and antimicrobial properties of monensin A and its derivatives: Summary of the achievements. *Corporation Biomed Research International*. Article ID 742149.

Martins, C. (2011). *Manual de análise de dados quantitativos com recurso ao IBM SPSS: saber decidir, fazer, interpretar e redigir*. Psiquilíbrios, Edições: Braga.

Mcart, J.; Nydam, D. and Overton, M. (2015). Hyperketonemia in early lactation dairy cattle: component and total cost per case. *Journal Animal Science* 98(3), pp. 2043-2054.

McGuffey, R. K. *et al.* (2001). Ionophores for dairy cattle: current status and future outlook. *Journal of Dairy Science* 84, pp. 194-203.

Medeiros, L. (2008). Classificação do leite na produção. Segurança e qualidade alimentar.

Millen, D. D. (2008). *Desempenho, avaliação ruminale perfil metabólico sanguíneo de bovinos jovens confinados suplementados com monensina sódica ou anticorpos policlonais*. Dissertação de Mestrado em Zootecnia e Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, São Paulo.

Moreira, F. *et al.* (2001). Effects of presynchronization and bovine somatotropin on pregnancy rates to a timed artificial insemination protocol in lactating dairy cows. *Journal Dairy Science* 84, pp. 1646-1659.

Moreno, D. M. A. (2008). Red de vigilancia veterinaria de resistencias a antimicrobianos. *Conferencia impartidala Real Academia de Ciencias Veterinarias. Salud Publica*. [Em linha]. Disponível em: <http://racve.es/publicaciones/red-de-vigilancia-veterinaria-de-resistencias-a-antimicrobianos/>. [Consultado em 1 de Outubro de 2015].

Nagaraja, T. G. *et al.* (1997). Manipulation of ruminal fermentation. In: Hobson, P.N. and Stewart, C. S. (Eds.). *Rumen microbial ecosystem*. Blackie Academic & Professional an imprint of Chapman Hall, London, pp. 523-632.

Neto, A. C. *et al.* (2011). Problemas metabólicos provenientes do manejo nutricional incorreto em vacas leiteiras de alta produção recém paridas. *Rev. Electron. Vet.* 12(11), pp. 1-25.

Neto, O. C. *et al.* (1995). Avaliação da monensina sódica em vacas leiteiras. *Sci. Agric., Piracicaba* 52(2), pp. 268-273.

Nicodemo, M. L. F. (2001). Uso de aditivos na dieta de bovinos de corte. Documento 106. *Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*. Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, Brasil.

Nocek, J. E. (1997). Bovine acidosis: implications in laminitis. *Journal of Dairy Science* 80(5), pp. 1005-1028.

Normark, B. H. and Normark, S. (2002). Evolution and spread of antibiotic resistance. *J. of Internal Medicine* 252, pp. 91-96.

Oda, Y. *et al.* (2001). Metabolic activation of heterocyclic amines and other procarcinogens in *Salmonella typhimurium* umu tester strains expressing human cytochrome P4501A1, 1A2, 1B1, 2C9, 2D6, 2E1 and 3A4 and human NADPH-P450 reductase and bacterial O-acetyltransferase. *Mutat. Res.* 492(1-2), pp. 81-90.

Oliveira, M. V. M. *et al.* (2005). Influência da monensina no consumo e na fermentação ruminal em bovinos recebendo dietas com teor baixo e alto de proteína. *R. Bras. Zootec.* 34(5), pp. 1763-1774.

Opsomer, G. *et al.* (2000). A risk factors for post partum ovarian dysfunction in high producing dairy cows in Belgium: A field study. *Theriogenology* 53, pp. 841-857.

Ospina, P. A. *et al.* (2010). Associations of elevated nonesterified fatty acids and  $\beta$ -hydroxybutyrate concentrations with early lactation reproductive performance and milk production in transition dairy cattle in the northeastern United States. *Journal Dairy Science* 93(4) pp. 1596-1603.

Parede celular das bactérias. [Em linha]. Disponível em: <http://www.abcdamedicina.com.br> [Consultado em 20 de outubro de 2016].

Pederson, K. B. *et al.* (1999). The need for a veterinary antibiotic policy. *The Veterinary Record* 145(2), pp. 50-53.

Pérez, C. (2007). SusMedicos.com. em *Resistencia bacteriana*. [Em linha]. Disponível em: [http://www.susmedicos.com/art\\_Resistencia\\_Bacteriana.htm](http://www.susmedicos.com/art_Resistencia_Bacteriana.htm) [Consultado em 20 de outubro de 2016].

Petersson-Wolfe, C. S. *et al.* (2007). Effects of monensin delivery method on dry matter intake, body condition score, and metabolic parameters in transition dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90(4), pp. 1870-1879.

Pinheiro, B. C. *et al.* (2014). Coccidiose em frangos de produção. *Rev. Cient. Medicina Veterinária* 22, pp. 1679-7353.

Potter, E. L. *et al.* (1984). Monensin toxicity in cattle. *Journal Animal Science* 58(6), pp. 1499-1511.

Radostits, O. *et al.* (2007a). *Diseases of the abomasum; Veterinary medicine: A textbook of the diseases of cattle, horse, sheep, pigs and goats*. Philadelphia: Elsevier.

Radostits, O. M. *et al.* (2007b). *Metabolic diseases. Veterinary medicine E-Book, 10th edition. A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*. Philadelphia: Elsevier.

Rangel, A. H. N. *et al.* (2008). Utilização de ionóforos na produção de ruminantes. *Revista de Biologia de Ciências da Terra* 8(2), pp. 264-273.

Regulamento (CE) nº 1831/2003 do Parlamento Europeu e do Conselho de 22 de Setembro de 2003. *Jornal oficial nº L268/29 de 18/10/2003*. [Em linha]. Disponível em: [http://www.drapc.min-agricultura.pt/base/geral/files/regulamento\\_183\\_2001.pdf](http://www.drapc.min-agricultura.pt/base/geral/files/regulamento_183_2001.pdf).

[Consultado em 15 de dezembro de 2015].

Regulamento (CE) nº 2821/98 do Conselho de 17 de Dezembro de 1998 que altera, no que respeita à retirada de autorização de certos antibióticos, a Diretiva 70/524/CEE relativa aos aditivos na alimentação para animais. *Jornal oficial nº L351* de 29/12/1998 pp.0004-0008. [Em linha]. Disponível em: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/?uri=CELEX%3A31998R2821>. [Consultado em 15 de dezembro de 2015].

Ribeiro, A. M. L. *et al.* (2000). Avaliação da monensina no desempenho e rendimento da carcaça e partes de frango de corte. *Rev. Bras. Zootec.* 29(4), pp. 1141-1152.

Rodrigues, P. H. M. *et al.* (2007). Avaliação da monensina administrada pela forma convencional ou por dispositivo de liberação lenta (bólus) em bovinos alimentados com ferragens de baixo valor nutritivo e suplementados ou não com uréia. *R. Bras. Zootec.* 36(6), pp. 1937-1944.

Russel, J. B. and Strobel, H.J. (1989). Effect of ionophers on ruminal fermentation. *Applied and Environmental Microbiology* 55(1), pp. 1-6.

Salles, M. S. V. *et al.* (2001). Efeitos da monensina no desempenho bezerras leiteiras em crescimento. *Rev. Bras. Zootec.* 30(4), pp. 1293-1298.

Salles, M.S.V. and Lucci, C. S. (2000). Monensina para bezerros ruminantes em crescimento acelerado. *Revista Brasileira de Zootecnia* 29(2), pp. 573-581.

Salman, A. K. D. *et al.* (2006). Utilização de ionóforos para bovinos de corte. Documento 101. *Embrapa*. [Em linha]. Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CPAF-RO-2010/14287/1/doc101-ionoforos.pdf>. [Consultado em 15 de dezembro de 2015].

Shaver, R. D. (1997). Nutritional risk factors in the etiology of left displaced abomasum in dairy cows: a review. *Journal Dairy Science* 80(10) pp. 2449-2453.

Smith, D.; Kononoff, P. and Keon, J. (2007). Dairy cow health and metabolic disease relative to nutritional factors. [Em linha]. Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CPAF-RO-2010/14287/1/doc101-ionoforos.pdf>. [Consultado em 30 de Outubro de 2016].

Starr, M. P. and Reynolds, D. M. (1951). Streptomycin resistance of coliform bacteria from turkeys fed streptomycin. *Society of American Bacteriology*, pp. 15-34.

Steiner, A. (2006). Surgical treatment of the left displacement of the abomasum an update. *World Buiatrics Congress*. Nice, France. [Em linha]. Disponível em: <http://cmapspublic3.ihmc.us/rid=1PKVY3MQR-1SQ9G9L-1RMRH/Surgical%20Treatment%20of%20LDA.pdf>. [Consultado em 15 de agosto de 2016].

Stephenson, K. A. *et al.*, (1997). Effects of monensin on the metabolism of periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science* 80(5), pp. 830-837.

Suthar, V.; Canelas-Raposo, J.; Deniz, A. *et al.* (2013). Prevalence of subclinical ketosis and relationships with postpartum diseases in Europe dairy cows. *Journal Dairy Science* 96(5), pp. 2925-2938.

Swedish Government (1997). Antimicrobial Feed Additives. [Em linha]. Disponível em: <http://www.government.se/legal-documents/1997/01>. [Consultado em 15 de janeiro de 2016].

Tavares, M. M. *et al.* (2014). Efeito do aditivo monensina sódica no metabolismo ruminal de bovinos de corte. *Revista Científica de Medicina Veterinária* 22, pp.1-21.

Tokar, K. (2008). *Bacterial Resistance to Antibiotics*. [Em linha]. Disponível em: <http://www.textbookofbacteriology.net/reantimicrobial.html>. [Consultado em 20 de outubro de 2016].

Trent, A. M. (2004). Surgery of the bovine abomasum. *Vet. Clin. North Am Food Animal Pract.* 6(2), pp. 399-448.

Van Winden, S. C. L. and Kuiper, R. (2003). Left displacement of the abomasum in dairy cattle: recent developments in epidemiological and etiological aspects. *Vet. Res.* 34(1), pp. 47-56.

Vieira, R. J. (2011). Transtornos endócrinos e metabólicos na reprodução de vacas leiteiras. *Rev. Bras. Reprod. Anim.* 35(2), pp. 286-292.

Visek, W. J. (1978). The mode of growth promotion by antibiotics. *Journal of Animal Science* 46(5), pp. 1447-1469.

Walsh, R. B. *et al.* (2007). Prevalence and risk factors for postpartum anovulatory condition in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90(1), pp. 315-324.

Wolf, V.; Hamann, H.; Scholtz, H. *et al.* (2001). Influences on the occurrence of abomasal displacements in German Holstein cows. *Dtsch Tierärztl Wochenschr* 108(10), pp. 403-408.

Zanine, A. M. *et al.* (2006). Importância, uso, mecanismo de ação e retorno econômico dos ionóforos na nutrição de ruminantes. *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária e Zootecnia de Garça* 6, pp. 1-8.

Zoetis (2001). Mecanismos de ação e efeitos biológicos dos ionóforos. *Boletim Técnico. Taurotec*, pp. 1-4.