



ESCOLA UNIVERSITÁRIA VASCO DA GAMA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DE REUTILIZAÇÃO DE CIDR OVIS® EM OVINOS DE LEITE

Vitor Manuel Cortez Camões

Coimbra, julho 2020



ESCOLA UNIVERSITÁRIA VASCO DA GAMA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DE REUTILIZAÇÃO DE CIDR OVIS® EM OVINOS DE LEITE

Coimbra, julho de 2020

Vitor Manuel Cortez Camões

Aluno do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Constituição do Júri

Presidente do Júri: Prof. Doutor Sérgio Sousa

Arguente: Prof. Doutora Rosa Lino Neto

Orientador: Prof. Doutora Sofia Duarte

Orientador Interno

Sofia Alexandra Giestas Cancela Duarte

Coorientador Interno

Elisabete Gomes Martins

Orientadores Externos

Carlos Daniel Correia Cruz

(CruzVet – Medicina e Produção, Lda,
Coimbra, Portugal)

Pedro Miguel Mota Alegria

(CSA- Centro de Saúde Animal, Lda,
Portalegre, Portugal)

Agradecimentos

Dedico este capítulo a todas as pessoas e entidades que tornaram possível a realização da presente dissertação, e que de alguma forma contribuíram para a conclusão e enriquecimento social, pessoal e académico desta minha “viagem” de 6 anos.

No âmbito empresarial, agradeço à CruzVet- Medicina e Produção Lda, à Escola Universitária Vasco da Gama (EUVG), à HIPRA®Portugal, aos Laboratórios Syva®S.A, Portugal, e à Zoetis®Portugal o apoio financeiro. À Rebanhos d’Avó (em particular ao Sr. Carlos e ao Engenheiro Dinis), Lda, um muito obrigado quer pela cedência das infraestruturas e animais, quer pelo apoio logístico prestado ao longo da componente prática do presente trabalho. Ao CSA- Centro de Saúde Animal, Lda, à João Pedro Medalhas- Serviços Veterinários, Lda, à CruzVet- Medicina e Produção, Lda, muito obrigado não só por me terem acolhido durante a realização do Estágio Curricular, mas também pela transmissão de valores e conhecimentos durante o mesmo. À 4V-Consultório Veterinário, à Cooperativa Agrícola Leiteira do Concelho da Póvoa de Varzim e à UNICOL- Cooperativa Agrícola, C.R.L., agradeço a orientação durante as Práticas Veterinárias Integradas. À CruzVet- Medicina e Produção, Lda, ao CSA- Centro de Saúde Animal, Lda, e à Dra. Esmeralda Almeida, agradeço a orientação e a oportunidade concedida para a realização de estágios extracurriculares. Agradeço de igual forma a todos os docentes da EUVG que de alguma forma contribuíram para a minha formação académica, em particular àqueles que me acompanharam e acreditaram na realização deste projeto, o Professor Carlos Cruz, a Professora Sofia Duarte, a Professora Elisabete Martins e o Professor Nuno Carolino. Muito obrigado a todos pela orientação e horas despendidas. Ao Professor Carlos Cruz, gostaria de lhe agradecer de uma forma especial. Poder conhecê-lo foi sem dúvida um marco muito importante da minha vida académica. Não só fez crescer (e muito!!) a minha paixão pelos animais de produção e Medicina Veterinária aplicada aos mesmos, como também me ajudou a crescer enquanto pessoa e futuro Médico Veterinário através da transmissão de inúmeros valores e princípios. Ainda relacionado com o corpo docente da EUVG, um agradecimento particular à D^a Sandra, à D^a Paula, ao Sr. Amaral e à D^a Emília.

Àqueles que conviveram comigo de uma forma mais assídua ao longo destes últimos 6 anos, os meus colegas de turma, um enorme obrigado pelo apoio demonstrado. Em particular à Mia, à Rafa, ao Sandro, ao Rodrigo, ao Pedro, ao Ricardo, à Rita e ao João. À Diana Valente, agradeço também o apoio prestado durante a realização do Estágio Curricular.

Por último, mas não menos importantes, agradeço aos meus familiares. Aos meus pais, ao meu irmão, irmã e avós, um eterno obrigado. Foram eles que tornaram possível a realização deste sonho. Em particular aos meus pais, muito obrigado pela oportunidade concedida (estudar Medicina Veterinária). Sem o esforço deles, a todos os níveis, nada teria sido possível. À minha namorada Andreia, um muito obrigado pelo apoio incondicional e por nunca me ter deixado “deitar a toalha ao chão” nos momentos mais difíceis. Obrigado a vocês por terem sido o meu “porto seguro” desta jornada!

Em conclusão, um “astronómico” obrigado a todos vós! Não existem palavras suficientes que descrevam o vosso apoio! Foram 6 anos cheios de altos e baixos, mas que no final faço um balanço muitíssimo positivo! Um MUITO obrigado a todos!

Índice Geral

Agradecimentos.....	iv
Índice Geral.....	vi
Índice de Figuras.....	vii
Índice de Gráficos.....	vii
Índice de Tabelas.....	vii
Lista de Siglas e Acrónimos.....	viii
Página de título.....	1
Resumo.....	2
<i>Abstract</i>	3
1. Introdução.....	4
2. Materiais e métodos.....	5
2.1 Seleção das ovelhas e alocação a grupos de tratamento.....	6
2.2 Sincronização e indução de estro.....	6
2.3 Seleção e manejo dos carneiros.....	7
2.4 Avaliação de Progesterona sérica.....	7
2.5 Retenção dos dispositivos CIDR.....	7
2.6 Avaliação dos parâmetros reprodutivos.....	8
2.6.1 Períodos de marcação e detecção de estro.....	8
2.6.2 Diagnóstico de gestação.....	8
2.6.3 Prolificidade e tipologia de parto.....	8
2.7 Edição e análise dos dados.....	8
2.7.1 Taxa de retenção (TR).....	9
2.7.2 Avaliação de Progesterona sérica.....	9
2.7.3 Taxa de submissão (TS).....	9
2.7.4 Taxa de concepção (TC).....	9
2.7.5 Tipologia de parto.....	10
2.7.6 Prolificidade.....	10
3. Resultados.....	10
3.1 Taxa de retenção.....	10
3.2 Avaliação de Progesterona sérica.....	11
3.3 Períodos de marcação e Taxa de Submissão.....	13
3.4 Taxa de concepção.....	14
3.5 Taxa de parto.....	14
3.6 Tipologia de parto.....	15
3.7 Prolificidade.....	15
4. Discussão.....	17
5. Conclusões.....	20
6. Financiamento.....	20
Referências bibliográficas.....	20

Índice de Figuras

Figura 1: Planificação de tarefas e respetivos momentos de realização.	6
---	---

Índice de Gráficos

Gráfico 1: Representação gráfica dos resultados da ANOVA aplicada à variável "Concentração sérica de P4", no dia 0, 5 e 11 do protocolo farmacológico, em cada um dos grupos.....	12
---	----

Índice de Tabelas

Tabela 1: Resultado do TQQ aplicado à variável "Taxa de Retenção".....	10
Tabela 2: Resultado da ANOVA aplicada à variável "Concentração sérica de P4", no dia 0, 5 e 11 do protocolo farmacológico	11
Tabela 3: Resultado da ANOVA aplicada à variável "Concentração de P4", no dia 0, 5 e 11 do protocolo farmacológico, em cada um dos grupos.....	12
Tabela 4: Resultado do TQQ aplicado à variável "Concentração de P4>1 ng/ml" nos dias 0, 5 e 11 do protocolo farmacológico, em cada um dos grupos.....	13
Tabela 5: Resultado do TQQ aplicado à variável "Taxa de Submissão", nos momentos M1 e M2, em cada um dos grupos	13
Tabela 6: Resultado do TQQ aplicado à variável "Taxa de concepção", nos dias 23/10/2019 e 20/12/2019, em cada um dos grupos	14
Tabela 7: Resultado do TQQ aplicado à variável "Taxa de parto", em cada um dos grupos.....	14
Tabela 8: Resultado do TQQ aplicado à variável "Tipologia de parto", nomeadamente "Parto eutócico" e "Parto distócico", em cada um dos grupos.....	15
Tabela 9: Resultado da ANOVA aplicada ao número total de animais nascidos	16
Tabela 10: ANOVA aplicada à variável "Prolificidade", nomeadamente "Nascidos totais", "Nados vivos" e "Nados mortos", em cada um dos grupos.....	16
Tabela 11: Frequência de ocorrência das variáveis "Nascidos Totais", "Nados vivos" e "Nados mortos"	17

Lista de Siglas e Acrónimos

ANOVA – Análise de variância

CIDR – do Inglês: *Controlled Internal Drug Release* (dispositivo intravaginal de liberação controlada de fármaco)

eCG – do Inglês: *equine chorionic gonadotropin* (gonadotrofina coriônica equina)

MREE – Maximização da rentabilidade, eficácia e eficiência na utilização de recursos

P4 – Progesterona

PGF2 α - Prostaglandina F2 α

PR – Pequenos ruminantes

RCMV – Resumo das características do medicamento veterinário

TC – Taxa de concepção

TQQ – Teste de Qui-quadrado

TR – Taxa de retenção

TS – Taxa de submissão

Avaliação da eficácia de reutilização de CIDR ovis® em ovinos de leite

Vitor Camões^a, Carlos Cruz^{a,b}, Elisabete Martins^a, Nuno Carolino^{a,c}, Sofia Duarte^{a,d}

^a Departamento de Ciências Veterinárias/ Centro de Investigação Vasco da Gama, Escola Universitária Vasco da Gama, Av. José R. Sousa Fernandes 197, Campus Universitário- Bloco B, Lordemão, 3020-210, Coimbra, Portugal (camoes1996@gmail.com, cdc.cruz@hotmail.com, ebete.martins@sapo.pt, carolinonuno@hotmail.com, s.cancela.duarte@gmail.com)

^b CruzVet Medicina e Produção Lda., Rua Padre José Mendes Barreto, n°88, 3045-480 Taveiro, Portugal

^c Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I. P., Unidade Estratégica de Investigação e Serviços de Biotecnologia e Recursos Genéticos, Estação Zootécnica Nacional – Polo de Investigação da Fonte Boa, Fonte Boa, 2005-048 Vale de Santarém, Portugal

^d LAQV, REQUIMTE, Laboratório de Bromatologia e Farmacognosia, Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, Polo III, Azinhaga de Stª Comba, 3000-548 Coimbra, Portugal

Resumo

O CIDR (do Inglês *Controlled Internal Drug Releasing*) é um dispositivo intravaginal impregnado de progesterona natural, utilizado para sincronização e manipulação do estro e ovulação em pequenos ruminantes. O presente estudo teve por objetivo avaliar a eficácia da reutilização de CIDR ovis®0,35g (Zoetis®Portugal), num protocolo combinado de d-cloprostenol e eCG (gonadotrofina coriônica equina), com duração de 11 dias em ovinos de raça *Lacaune*, provenientes da mesma exploração e com média de dias em leite semelhantes. Para tal, a amostra foi dividida em três grupos de estudo: CIDR1 (n=20 animais), com utilização de CIDR em aplicação *de novo*; CIDR2 (n=20 animais) com uso de CIDR em “reutilização imediata”, e CIDR3 (n=17 animais) com uso de CIDR em “reutilização tardia”. Nos 3 grupos em análise, foi avaliada a variação da concentração sérica de progesterona (P4), em amostras de sangue recolhidas aos dias 0, 5 e 11 pós-aplicação do CIDR. Posteriormente, todas as ovelhas foram colocadas à cobertura natural, num lote comum e num rácio macho:fêmea de 1:7. Foi registada a taxa de retenção do CIDR, os dados reprodutivos (taxa de submissão, taxa de concepção e prolificidade) e a tipologia de parto (eutócico ou distócico) nos três grupos.

A concentração sérica de P4 em todos os grupos foi superior a 1 ng/ml nos três momentos de medição. A taxa de retenção do dispositivo ao longo dos 11 dias de protocolo revelou-se superior nos grupos CIDR3 e CIDR2, e menor em CIDR1. As taxas de concepção obtidas no primeiro e segundo momento de diagnóstico ultrassonográfico não diferiram. A taxa de partos foi semelhante à taxa de concepção. Relativamente à tipologia de parto, o grupo que apresentou um maior número de partos distócicos foi CIDR2, enquanto que CIDR1 foi o grupo que apresentou maior número de partos eutócicos. A análise da prolificidade revelou que CIDR3 foi o grupo que apresentou um maior número médio total de crias, nados vivos e nados mortos por parto. Apesar destas diferenças verificadas, quando analisado estatisticamente o efeito da reutilização nos diferentes fatores avaliados, não se evidenciaram diferenças estatisticamente significativas ($p>0,05$).

Desta forma, a sincronização éstrica com CIDR ovis® 0,35g em protocolos de 11 dias, sob a forma imediata ou tardia, pode ser executada com eficácia semelhante. A reutilização destes dispositivos contribui para a maximização da rentabilidade, eficácia e eficiência reprodutiva no quotidiano das explorações. A reutilização integra-se ainda na aplicação prática da abordagem *One Health*.

Palavras-chave: CIDR, ovinos, reutilização

Abstract

The CIDR (Controlled Internal Drug Releasing) is an intravaginal device impregnated with natural progesterone, used for synchronization and manipulation of estrus and ovulation in small ruminants. The present study aimed to evaluate the effectiveness of the reused CIDR ovis™0.35g (Zoetis™Portugal) in an 11 day protocol, combined with d-cloprostenol and eCG (equine chorionic gonadotropin), in Lacaune sheep, from the same farm and with a similar average of days in milk. Animals were divided into three study groups: CIDR1 (n = 20 animals), with the use of CIDR in new application; CIDR2 (n = 20 animals) using CIDR in “Immediate Reuse”, and CIDR3 (n = 17 animals) using CIDR in “Late Reuse”. The effectiveness of the protocols was assessed by measuring serum progesterone levels (P4), in blood samples collected on days 0, 5 and 11 after application of the CIDR. Subsequently, all the sheep were placed under natural service, in a common lot and in a male:female ratio of 1:7. The CIDR retention rate, reproductive data (submission rate, conception rate, and prolificity) and type of birth (eutocic or dystocic) in the three groups were recorded.

The serum P4 concentration in all groups was greater than 1 ng/ml in the three measurement times. The retention rate of the device over the 11 days of the protocol was higher in groups CIDR3 and CIDR2, and lower in CIDR1. The conception rates obtained in the first and second moments of ultrasound diagnosis did not differ. The birth rate was similar to the conception rate. Regarding the type of birth, the group with the highest number of dystocia was CIDR2, while CIDR1 was the group with the highest number of eutocic births. The analysis of prolificity revealed that CIDR3 was the group that had the highest average total number of offspring, live births and stillbirths. Despite these differences, when analyzing the effect of reutilization on the different factors evaluated, no statistically significant differences ($p > 0.05$) were observed.

Thus the estrous synchronization with reused CIDR ovis™0.35g in 11 day protocols, either in the immediate or late form, can be performed with similar effectiveness. The reutilization of these devices contributes to the maximization of profitability, effectiveness and reproductive efficiency in the daily life of the farms. Reused devices also fit and accommodate the practical application of the “One Health” approach.

Key-words: CIDR, sheep, reuse

1. Introdução

O setor pecuário, paralelamente à garantia da segurança alimentar dos produtos, da saúde pública e do ambiente, apresenta diariamente a missão de ir ao encontro de uma “pecuária de precisão” numa perspetiva de maximização da rentabilidade, eficácia e eficiência na utilização de recursos (MREE).

Dada a sazonalidade reprodutiva dos pequenos ruminantes (PR), a otimização produtiva implica a realização de protocolos de indução e sincronização do estro e ovulação. O aumento da eficiência reprodutiva é obtido através da manipulação ou controlo do ciclo reprodutivo dos PR por meio da modelação hormonal endógena (via manipulação do fotoperíodo, nível de ingestão alimentar e efeito macho), exclusivamente ou em associação com a administração de hormonas exógenas, como progestagénios, progesterona, prostaglandina e seus análogos, melatonina e gonadotrofinas (Abecia, Forcada, González-Bulnes, 2012; Whitley, Jackson, 2004; Wildeus, 2000). O uso destas hormonas, com o objetivo de obter a sincronização e indução éstrica, revelou-se desde cedo um processo de enorme utilidade, sendo por isso cada vez mais frequente a sua utilização no manejo reprodutivo das explorações (Carlson *et al.*, 1989; Dixon, *et al.*, 2006; Greyling, Brink, 1987; Wheaton *et al.*, 1993), nomeadamente através da utilização de esponjas de poliuretano ou CIDRs (do Inglês *Controlled Internal Drug Releasing*) (Abecia, Forcada, González-Bulnes, 2011). Inicialmente comercializados na Austrália e Nova Zelândia (Welch *et al.*, 1984), e aprovados para utilização em PR na União Europeia desde 2018, os CIDRs são dispositivos constituídos à base de um elastómero de silicone moldado sobre uma matriz de *nylon* (Wheaton *et al.* 1993) e impregnados de progesterona natural. Comparativamente às esponjas, os CIDRs apresentam inúmeras vantagens, designadamente diminuição da taxa de ocorrência de vaginites, por não impedirem a drenagem de secreções vaginais; maior taxa de retenção do dispositivo; maiores taxas de gestação, fertilidade, gestação gemelar e fecundidade (Cabrera, *et al.*, 2019; Chemineau, *et al.*, 2010; Chemineau *et al.*, 2008; Knights, Singh-knights, 2016; Ozyurtlu, Kucukaslan, Cetin, 2010; Swelum, Alowaimer, Abouheif, 2015; Vasconcelos *et al.*, 2016); e, apesar de ainda ser pouco evidenciado, é sugerida a possibilidade de reutilização (Guido *et al.*, 2007). Como desvantagem, os CIDRs apresentam um custo superior às esponjas. A utilização destes dispositivos, pode ser feita de duas formas, através de protocolos longos (11 a 14 dias) ou através de protocolos curtos (5 a 7 dias) associados à administração de gonadotrofina coriónica equina (eCG, do Inglês *equine chorionic gonadotropin*) e prostaglandina-F₂ α (PGF₂ α) (Cabrera, *et al.*, 2019; Swelum, Alowaimer, Abouheif, 2015). No que diz respeito ao funcionamento do CIDR, após a sua colocação intravaginal, a progesterona (P₄) que contém é libertada e absorvida pela mucosa vaginal a uma taxa constante (Guido *et al.*, 2007), suprimindo assim a maturação dos folículos ovários. Após o término do protocolo implementado e remoção dos dispositivos, a diminuição abrupta dos níveis sanguíneos de progesterona, associada à utilização simultânea de eCG e PGF₂ α , permite a maturação folicular, estro e ovulação (Sanity, 2015).

A MREE é assim alcançada através da uniformização e coordenação dos períodos de parto para momentos mais desejáveis (períodos em que a procura do produto pelo consumidor é mais intensa e/ou paga a preços mais favoráveis), maior homogeneidade nos lotes de borregos/cabritos e diminuição dos custos logísticos associados à sincronização e indução do estro, devido à reutilização (Husein, Kridli, 2003; Titi, Kridli, Alnimer, 2008).

Desde cedo se verificou o interesse em avaliar a utilização dos CIDRs, no entanto este recaiu apenas sobre a testagem da sua eficácia, tanto no período reprodutivo como no período de anestro, e associando variáveis como a periodicidade dos protocolos utilizados e presença ou ausência da administração de gonadotrofinas (Nogueira *et al.*, 2011 e Inya, Sumretprasong, 2013; Pellicer-Rubio *et al.*, 2007; Souza *et al.*, 2011; Cetin *et al.*, 2009 e Vilariño *et al.*, 2011).

Posteriormente, após ter sido verificada a eficácia da utilização do CIDR em qualquer altura do ano, o paradigma associado mudou e o interesse recaiu na avaliação da reutilização dos dispositivos. Os estudos anteriores de Vilariño e col. (2013) e Abdel e col. (2018), avaliaram a eficácia da reutilização através da determinação da concentração de progesterona, resposta ovárica, *performance* reprodutiva e respetivo impacto económico. Sendo a reutilização uma característica de destaque, importa ainda aferir o modo de reutilização e parâmetros reprodutivos. Assim, através da realização do presente estudo, pretendeu-se avaliar a eficácia da reutilização de CIDRovis® 0,35g (Zoetis® Portugal) “imediate” (reutilização imediatamente após a primeira utilização) e “tardia” (reutilização após acondicionamento e armazenamento por um período de 30 dias) em protocolos de 11 dias, com recurso à medição da P4 sérica. Pretendeu-se de igual forma caracterizar a associação entre o tipo de reutilização e a taxa de retenção e *performance* reprodutiva, nomeadamente taxa de submissão e concepção, tipologia de parto e análise da descendência.

2. Materiais e métodos

O presente estudo decorreu numa exploração leiteira de carácter intensivo (com um efetivo de 70 caprinos e 350 ovinos), localizada na região Centro do país, mais concretamente em Soure, na localidade de Quatro Lagoas (40°01'04.4"N 8°30'33.1" W). Os animais incluídos no estudo foram carneiros e ovelhas multíparas da raça *Lacaune*, uma raça de ovinos que se caracteriza por uma forte aptidão leiteira. O estudo decorreu entre agosto de 2019 e janeiro de 2020 e foi aprovado pelo Conselho Científico da Escola Universitária Vasco da Gama, respeitando o Regulamento Geral de Proteção de Dados 679/2016/CE e demais legislação vigente e aplicável. Foi ainda considerado o princípio dos 3 R's (do Inglês *Reduction, Refinement, Replacement*) no uso dos animais. O número de animais incluído no estudo foi o menor possível para garantir a robustez e representabilidade dos resultados (Redução). E o período de realização foi determinado pelo Refinamento do desenho experimental, tendo por isso decorrido no período habitual de manipulação reprodutiva normal dos animais com vista à obtenção de partos sazonais.

2.1 Seleção das ovelhas e alocação a grupos de tratamento

Foram selecionadas 60 ovelhas, com base na maior proximidade possível de dias pós-parto, a fim de se conseguirem obter grupos com média de dias em leite semelhantes. Após esta seleção, foi realizado um exame clínico de estado geral individual, tendo resultado na exclusão de 3 animais do grupo de estudo. Posteriormente, 57 ovelhas foram aleatoriamente divididas em 3 grupos: o grupo 1 (CIDR1), n=20 animais, todos sujeitos a aplicação de CIDR *de novo* (grupo de controlo); Grupo 2 (CIDR2), n=20 animais, todos sujeitos a aplicação de CIDR em “reutilização imediata”; Grupo 3 (CIDR3), n=17 animais, todos sujeitos a aplicação de CIDR em “reutilização tardia”. Os CIDR ovis®0,35g (Zoetis®Portugal) utilizados em CIDR2 e CIDR3, foram recuperados após a primeira utilização, submersos numa solução antisséptica de iodopovidona 10 % (Agadine dérmico®) diluída dez vezes (1 ml de solução de Agadine dérmico®:10 ml de água) durante 2 minutos, e posteriormente secos com papel absorvente. Os que foram reutilizados de forma “tardia”, após o procedimento de desinfecção, foram armazenados num saco plástico, de forma coletiva, selados com fecho *zip* e guardados num local seco e fresco, protegidos da luz UV durante 30 dias.

2.2 Sincronização e indução de estro

Foi aplicado o protocolo experimental com duração de 11 dias de tratamento (permanência intravaginal) do CIDRovis® 0,35g (Zoetis®Portugal). A aplicação intravaginal seguiu as recomendações do fabricante (secção 4.9. do Resumo das Características do Medicamento Veterinário -RCMV- de CIDRovis®0,35g). A planificação das atividades realizadas (o protocolo de sincronização e indução de estro, tarefas associadas e respetivas datas de realização) apresenta-se esquematizada na Figura 1, conforme se descreve: 1) Colocação dos CIDRs no dia 0 e permanência dos mesmos até ao 11º dia pós-colocação; 2) remoção dos CIDRs no 11º dia e administração intramuscular de 350 U.I. de eCG (Oviser®5000 UI) e 0,5ml (37,5µg) de d-cloprostenol (Dalmazin® 75µg/ml); 3) colocação das ovelhas à cobertura num rácio macho:fêmea de 1:7, 48 horas após a retirada dos CIDRs.

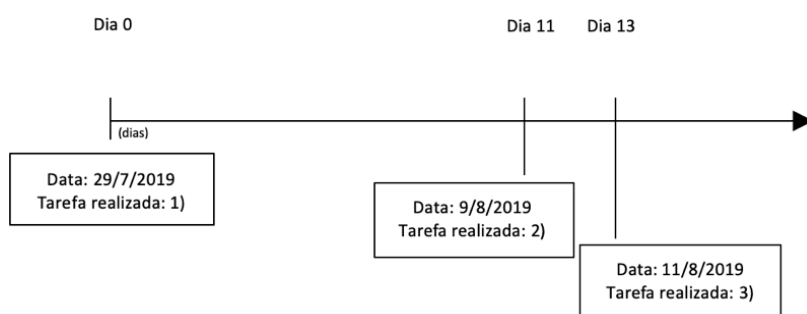


Figura 1: Planificação de tarefas e respetivos momentos de realização. “Tarefa realizada:1)”: colocação dos CIDRs; “Tarefa realizada: 2)”: remoção dos CIDRs e administração de eCG e d-cloprostenol; “Tarefa realizada:3)”: colocação das fêmeas à cobertura

2.3 Seleção e manejo dos carneiros

Para o estudo foram selecionados 8 machos, de raça *Lacaune*, com idades compreendidas entre os 4 e os 5 anos e sem estudo andrológico prévio. Antes de colocados juntamente com as ovelhas, foi realizado um exame físico de estado geral através do qual se concluiu que todos eles se encontravam saudáveis. Aos carneiros, foram aplicados arneses detetores de monta individuais (modelo 31/11710, Comercial Veterinária®), com lápis marcadores de cores diferentes, tendo estes permanecido durante todo o período de cobrição (3 dias). O período de cobrição teve início às 8:00h do dia 11 de agosto e terminou às 8:00h do dia 14 do mesmo mês de 2019.

2.4 Avaliação de Progesterona sérica

Nos 3 grupos em análise, foi avaliada a variação da concentração de P4 sérica. A medição de P4 sérica, foi realizada em amostras sanguíneas recolhidas a todas as ovelhas em estudo, em três momentos distintos no decorrer do protocolo farmacológico aplicado, respetivamente nos dias 0 (imediatamente antes da colocação do CIDR), 5 e 11 do mesmo. As amostras foram recolhidas em sistema de vácuo através de agulhas por punção da veia jugular (Vacuette® 20Gx1" esterilizado, 0,9x25 mm) diretamente para tubos com gel ativador de coagulação (Vacumed® 13x75 mm, esterilizado, com gel ativador de coagulação para 4 ml de sangue). Após a colheita, as amostras foram centrifugadas a 2000 g, durante 30 minutos (centrifugadora SIGMA 3-16k®, Alemanha). O soro resultante foi aspirado, transferido para tubos *Eppendorf*®, devidamente identificados e imediatamente congelados a uma temperatura de -20 °C, temperatura na qual se mantiveram até análise laboratorial. Quatro meses após a colheita, procedeu-se ao envio das amostras para um laboratório acreditado (Segalab – Laboratórios de Sanidade Animal e Segurança Alimentar, Rua Cidade da Póvoa de Varzim, 55, 4490-295 Argivai, Póvoa de Varzim), via transportador urgente e devidamente acondicionadas (em caixa isotérmica e com acumuladores de frio de gel rígido). A quantificação de P4 foi realizada através da técnica laboratorial de referência de quimioluminescência enzimática.

2.5 Retenção dos dispositivos CIDR

No dia 11 do protocolo (momento da retirada dos CIDRs), foi registada a permanência (retenção) ou ausência do dispositivo intravaginal, de forma a monitorizar o cumprimento integral do protocolo.

2.6 Avaliação dos parâmetros reprodutivos

2.6.1 Períodos de marcação e detecção de estro

A cobrição das ovelhas foi avaliada visualmente, mediante observação e identificação bi-diária das ovelhas com marcas de cor visíveis na região da garupa (em resultado dos marcadores aplicados aos carneiros). A fim de facilitar o manejo dos animais e simultaneamente garantir a correta identificação, os animais foram observados nos momentos de ordenha, ao longo dos 3 dias em que os machos estiveram em contacto com as fêmeas. O primeiro registo foi realizado 36 horas após a colocação das fêmeas à cobrição (M1) e o segundo às 72 horas, ou seja, no final do período de cobrição (M2), imediatamente após a retirada dos machos.

2.6.2 Diagnóstico de gestação

O diagnóstico de gestação foi realizado mediante ultrassonografia (ecógrafo portátil digital Iberscan A9®, de sonda setorial, mecânica e multifrequência, 2,5 Mhz, 3,5 Mhz e 5,0 Mhz). Os diagnósticos foram realizados em dois momentos após o fim do período de cobrição: o primeiro, após 72 dias e o segundo, após 130 dias. Em cada um dos controlos ultrassonográficos, procedeu-se ao registo do respetivo resultado para todos os animais: um diagnóstico de gestação positivo ou negativo.

2.6.3 Prolificidade e tipologia de parto

Estes fatores foram avaliados com o auxílio dos colaboradores da exploração através do registo dos partos à medida que estes decorreram. Em cada parto foi efetuado o registo dos seguintes parâmetros: identificação da ovelha, data de parto, tipologia de parto (distócico ou eutócico), número total de crias nascidas (“Nascidos Totais”), número de nados-vivos (“Nados vivos”) e número de nados-mortos (“Nados mortos”) de cada grupo. Para este efeito foi realizada formação específica aos colaboradores envolvidos.

Foi definido como parto distócico todo e qualquer parto em que se verifica alguma anomalia (de natureza materna ou fetal) que impossibilita a saída autónoma do feto, havendo por isso a necessidade de intervenção do médico veterinário (Mavrogianni, Brozos, 2008). O parto eutócico foi definido por exclusão dos anteriores.

2.7 Edição e análise dos dados

Os dados foram editados em Microsoft®Excel (Versão 16.16.2020,© 2018 Microsoft), e realizada a análise descritiva preliminar. Posteriormente foi realizada a análise estatística através do Programa SAS® (SAS Institute, Cary, NC, USA, 2000) designadamente através de Análise de Variância (ANOVA) e Teste de Qui-quadrado (TQQ). Foi considerado o valor de prova de $p < 0,05$. A realização

de ANOVA teve como principal objetivo a decomposição da variabilidade dos valores obtidos das variáveis em análise. Após a identificação dos fatores que influenciam a variabilidade das variáveis em estudo, pôde-se comparar as respectivas médias. Já os TQQ, permitiram a análise de “tabelas de contingência” que resultaram da classificação cruzada de duas ou mais variáveis. Foram também calculadas as frequências relativas de ocorrência dos vários fatores em análise

2.7.1 Taxa de retenção (TR)

A TR foi calculada individualmente para cada grupo, como a percentagem de animais que retiveram o dispositivo até ao dia 11 do tratamento, relativamente ao número de animais em cada grupo. A diferença entre as TR obtidas para cada grupo foi avaliada através de TQQ.

2.7.2 Avaliação de Progesterona sérica

Os dados de P4 sérica obtidos nos diferentes grupos e momentos, foram analisados através de ANOVA e TQQ. Relativamente à ANOVA, através de um modelo que inclui apenas o efeito do grupo, pretendeu-se averiguar se o efeito do grupo influenciou as concentrações séricas médias de P4. Adicionalmente pretendeu-se calcular a frequência de ocorrência do número de animais de cada grupo com concentração sérica de P4 superior a 1 ng/ml, correspondente à menor concentração sérica de P4 capaz de bloquear a atividade ovárica (Souza, 2010). Com o TQQ, pretendeu-se saber se a diferença entre o número de animais com concentrações séricas de P4 superiores a 1 ng/ml nos três momentos de colheita foi estatisticamente significativa.

2.7.3 Taxa de submissão (TS)

Após o registo dos dados relativamente às ovelhas marcadas em cada momento de marcação (M1 e M2), a TS foi determinada individualmente para cada grupo, e nos dois momentos, como a percentagem de ovelhas pintadas na zona da garupa de cada grupo, relativamente ao número de ovelhas de cada grupo. A diferença entre as TS obtidas para cada momento de marcação e para cada grupo foi avaliada através de TQQ.

2.7.4 Taxa de concepção (TC)

Após a obtenção dos resultados nos dois momentos de controlo ultrassonográfico, determinou-se, para cada grupo, as respectivas TC. Estas foram expressas como a percentagem de animais com diagnóstico de gestação positivo em cada grupo, sobre o número total de animais controlados de cada grupo. A fim de avaliar se a diferença entre os três grupos foi estatisticamente significativa, foi igualmente aplicado um TQQ.

2.7.5 Tipologia de parto

Os dados relativos à tipologia de parto (distócico ou eutócico), foram analisados através da aplicação de um TQQ, a fim de se averiguar se as diferenças entre os mesmos nos três grupos foram estatisticamente significativas. Foram calculadas as respectivas frequências de ocorrência de partos eutócicos/distócicos de cada grupo.

2.7.6 Prolificidade

Após a obtenção dos dados relativos aos “Nascidos Totais”, “Nados vivos” e “Nados mortos”, executou-se uma ANOVA (com um modelo que inclui apenas o efeito do grupo) para se saber se o grupo de tratamento influenciou significativamente o número total de crias por parto, o número total de nados vivos por parto e o número de nados mortos por parto. Foi calculada a frequência de ocorrência em cada grupo para cada variável avaliada.

3. Resultados

3.1 Taxa de retenção

Através da análise da Tabela 1, pode verificar-se que CIDR3 foi o grupo de animais que obteve um valor mais elevado (100%), seguido por CIDR2 e CIDR1. As diferenças observadas não foram estatisticamente significativas ($p > 0,05$). Os animais que não retiveram o dispositivo foram censurados para as etapas posteriores da análise, tendo por isso CIDR1 ficado reduzido a 17 animais e CIDR2 a 18 animais.

Tabela 1: Resultado do TQQ aplicado à variável "Taxa de Retenção".

Parâmetro	Grupos, n/N (%)			Total	Valor QQ	Valor p
	CIDR1	CIDR2	CIDR3			
Taxa de retenção	17/20 (85,0%)	18/20 (90,0%)	17/17 (100,0%)	57	1,93	0,38

3.2 Avaliação de Progesterona sérica

Os resultados da análise de variância (*vide* Tabelas 2 e 3) indicam também que não foi possível observar diferenças significativas entre as concentrações séricas de P4 nos três grupos, em nenhum dos momentos. No entanto, os valores de P4 ao dia 0, apresentaram o valor de *p* mais próximo de 0,05 (*vide* Tabela 2).

Os valores médios da concentração de P4 avaliada nos três momentos, encontram-se apresentados na Tabela 2 e foram superiores no dia 0. No que diz respeito aos valores médios da concentração sérica de P4 e respectivos desvios padrões (*vide* Tabela 3), o grupo que apresentou um valor mais elevado no dia 0 foi CIDR1. Enquanto nos dias 5 e 11 (dia de remoção dos CIDRs) foram os grupos CIDR3 e CIDR2, respectivamente.

A evolução das concentrações séricas de P4 médias, ao longo dos três momentos de colheita, encontra-se representada no Gráfico 1.

As diferenças entre os números de animais dos diferentes grupos que obtiveram concentração sérica de P4 superior a 1 ng/ml não foi estatisticamente significativa em nenhum dos três momentos avaliados. No dia 0, CIDR 1 foi o grupo que apresentou uma maior percentagem de animais com concentração sérica de P4 superior a 1 ng/ml. Enquanto nos dias 5 e 11, foi CIDR3 (*vide* Tabela 4).

Tabela 2: Resultado da ANOVA aplicada à variável "Concentração sérica de P4", no dia 0, 5 e 11 do protocolo farmacológico

	Dia 0	Dia 5	Dia 11
Número de observações	52	52	52
Média	4,47	1,53	1,09
Graus de liberdade modelo	2	2	2
F modelo	2,98	1,65	0,16
Valor de <i>p</i>	0,06	0,20	0,85
Coeficiente de determinação (<i>r</i>²)	0,11	0,06	0,06

Tabela 3: Resultado da ANOVA aplicada à variável "Concentração de P4", no dia 0, 5 e 11 do protocolo farmacológico, em cada um dos grupos

Parâmetro	Grupos			Total	F	Valor p
	CIDR1	CIDR2	CIDR3			
Concentração sérica de P4						
Dia 0	7,51±1,52	3,06±1,48	2,92±1,52	52	2,98	0,06
Dia 5	1,57±0,26	1,19±0,26	1,85±0,26	52	1,65	0,20
Dia 11	1,02±0,25	1,20±0,24	1,05±0,25	52	0,16	0,85

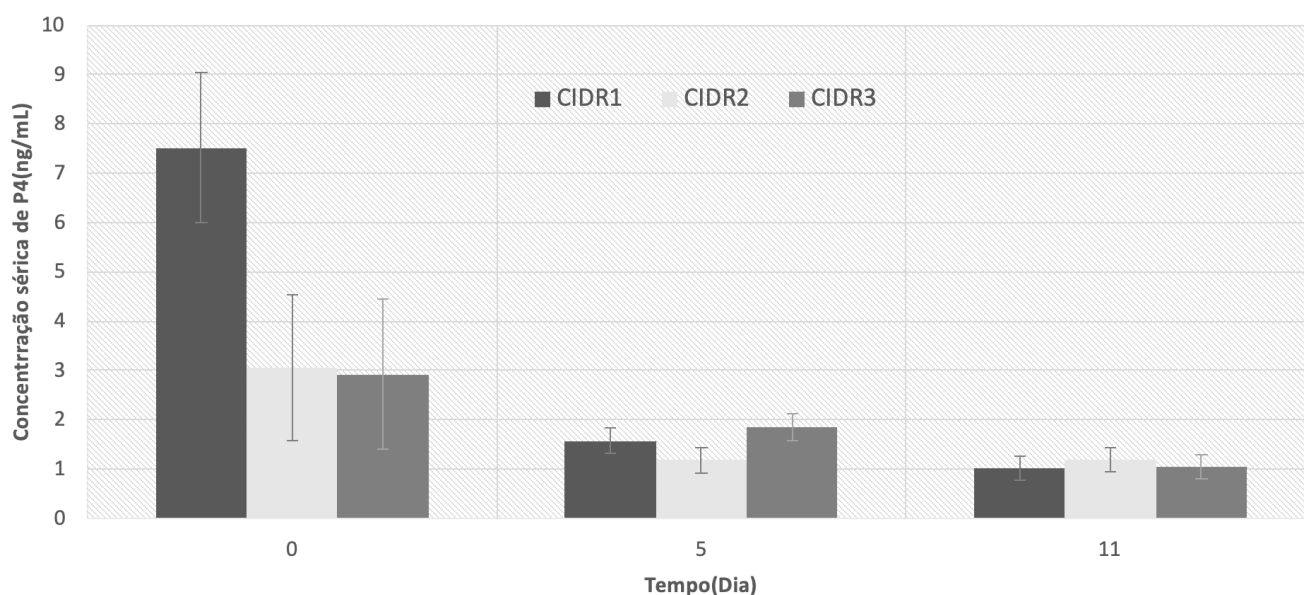


Gráfico 1: Representação gráfica dos resultados da ANOVA aplicada à variável "Concentração sérica de P4", no dia 0, 5 e 11 do protocolo farmacológico, em cada um dos grupos

Tabela 4: Resultado do TQQ aplicado à variável "Concentração de P4>1 ng/ml" nos dias 0, 5 e 11 do protocolo farmacológico, em cada um dos grupos

Parâmetro	Grupos, n/N (%)			Total	Valor QQ	Valor p
	CIDR1	CIDR2	CIDR3			
Concentração sérica de P4 >1 ng/ml						
Dia 0	14/17 (82,4%)	14/18 (77,8%)	12/17 (70,6%)	52	0,67	0,71
Dia 5	11/17 (64,7%)	7/18 (38,9%)	12/17 (70,6%)	52	4,11	0,13
Dia 11	4/17 (23,5%)	6/18 (33,3%)	6/17 (35,3%)	52	0,64	0,73

3.3 Períodos de marcação e Taxa de Submissão

Através da análise da Tabela 5, pode verificar-se que em M1 (36h após a colocação dos machos) a TS nos 3 grupos foi superior à obtida em M2 (72h após a colocação dos machos). Em M1, a TS foi superior em CIDR1, enquanto que em M2 foi superior em CIDR2. Apesar das diferenças absolutas observadas entre os grupos de reutilização e o grupo de aplicação de “dispositivo *de novo*”, estas não foram significativas ($p>0,05$).

Tabela 5: Resultado do TQQ aplicado à variável "Taxa de Submissão", nos momentos M1 e M2, em cada um dos grupos

Parâmetro	Grupos, n/N (%)			Total	Valor QQ	Valor p
	CIDR1	CIDR2	CIDR3			
Taxa de submissão						
M1	14/17 (82,4%)	11/18 (61,1%)	12/17 (70,6%)	52	1,93	0,38
M2	3/17 (17,7%)	7/18 (38,9%)	5/17 (29,4%)			

3.4 Taxa de concepção

As TC obtidas nos dois momentos de diagnóstico ecográfico foram iguais em todos os grupos e CIDR2 foi o grupo que obteve um valor mais elevado. Não obstante, as diferenças não foram estatisticamente significativas (*vide* Tabela 6).

Tabela 6: Resultado do TQQ aplicado à variável "Taxa de concepção", nos dias 23/10/2019 e 20/12/2019, em cada um dos grupos

Parâmetro	Grupos, n/N (%)			Total	Valor QQ	Valor <i>p</i>
	CIDR1	CIDR2	CIDR3			
Taxa de concepção						
Dia 23/10/2019	15/17 (88,2%)	17/18 (94,4%)	14/17 (82,4%)	52	1,25	0,53
Dia 20/12/2019	15/17 (88,2%)	17/18 (94,4%)	14/17 (82,4%)	52	1,25	0,53

3.5 Taxa de parto

CIDR2 foi o grupo que apresentou uma maior taxa de parto. Estes dados estão em consonância com as TC obtidas e descritas anteriormente (*vide* Tabela 6). Através da realização do TQQ, apesar das diferenças entre os grupos de reutilização e o grupo de utilização de “dispositivo *de novo*”, não foi possível identificar diferença significativa nos resultados obtidos (*vide* Tabela 7).

Tabela 7: Resultado do TQQ aplicado à variável "Taxa de parto", em cada um dos grupos

Parâmetro	Grupos, n/N (%)			Total	Valor QQ	Valor <i>p</i>
	CIDR1	CIDR2	CIDR3			
Taxa de parto	15/17 (88,2%)	17/18 (94,4%)	14/17 (82,4%)	52	1,25	0,53

3.6 Tipologia de parto

Relativamente à tipologia de parto, verificou-se uma maior percentagem de ocorrência de partos eutócicos em CIDR1. Enquanto que CIDR2 foi o grupo que apresentou uma maior percentagem de ocorrência de partos distócicos. Apesar das observações registadas, não foram detetadas diferenças estatísticas entre os grupos, para nenhum dos fatores descritos ($p>0,05$) (*vide* Tabela 8).

Tabela 8: Resultado do TQQ aplicado à variável "Tipologia de parto", nomeadamente "Parto eutócico" e "Parto distócico", em cada um dos grupos

Parâmetro	Grupos, n/N (%)			Total	Valor QQ	Valor p
	CIDR1	CIDR2	CIDR3			
Tipologia de parto						
Parto eutócico	14/15 (93,3%)	14/17 (82,4%)	13/14 (92,9%)			
				46	1,28	0,53
Parto distócico	1/15 (6,7%)	3/17 (17,7%)	1/14 (7,1%)			

3.7 Prolificidade

A partir da análise das Tabelas 9 e 10, pode verificar-se que o efeito grupo não influenciou significativamente o número de "Nascidos totais" ($p=0,6$). O valor médio de crias por parto foi 1,72 (*vide* Tabela 9).

Analisando o número médio de crias nascidas ("Nascidos totais"), "Nados vivos" e "Nados mortos", e os respetivos desvios padrões, observou-se que CIDR3 foi o grupo que apresentou um valor mais elevado (*vide* Tabela 10).

Tabela 9: Resultado da ANOVA aplicada ao número total de animais nascidos

Número de observações	46
Média	1,72
Graus de liberdade modelo	2
F modelo	0,45
Valor de p	0,64
Coefficiente de determinação (r^2)	0,02

Tabela 10: ANOVA aplicada à variável "Prolificidade", nomeadamente "Nascidos totais", "Nados vivos" e "Nados mortos", em cada um dos grupos

Parâmetro	Grupos			Total	F	Valor p
	CIDR1	CIDR2	CIDR3			
Prolificidade						
Nascidos totais	1,65±0,52	1,71±0,16	1,86±0,17	46	0,45	0,64
Nados vivos	1,53±0,17	1,53±0,16	1,71±0,18	46	0,37	0,69
Nados mortos	0,13±0,13	0,12±0,12	0,14±0,14	46	0,01	0,99

Na Tabela 11, encontram-se especificados os valores relativos à caracterização dos animais nascidos. De um total de 79 crias nascidas ("Nascidos totais"), verificou-se um maior nascimento de borregas (tendo esta sido mais elevada em CIDR3).

Relativamente à percentagem de "Nados vivos", CIDR3 foi o grupo que apresentou um valor mais elevado. No total, a percentagem de borregos foi superior à de borregas.

Por último e analisando os valores médios obtidos relativamente aos “Nados mortos”, estes foram superiores em CIDR1 e CIDR2. No entanto, percentualmente os 3 grupos apresentaram valores iguais entre si.

Tabela 11: Frequência de ocorrência das variáveis "Nascidos Totais", "Nados vivos" e "Nados mortos"

Parâmetro	Grupos, n/N (%)			Total
	CIDR1	CIDR2	CIDR3	
Nascidos totais	25/79 (31,7%)	25/79 (31,7%)	29/79 (36,7%)	79
Fêmeas	13/25 (52%)	11/25 (44%)	16/29 (55,1%)	40/79 (50,6%)
Machos	12/25 (48%)	14/25 (56%)	13/29 (44,8%)	39/79 (49,4%)
Nados vivos	23/73 (31,5%)	23/73 (31,5%)	27/73 (36,9%)	73/79 (92,5%)
Fêmeas	12/23 (52,2%)	10/23 (43,5%)	14/27 (51,9%)	36/73 (49,3%)
Machos	11/23 (47,8%)	13/23 (56,5%)	13/27 (48,2%)	37/73 (50,7%)
Nados mortos	2/6 (33,3%)	2/6 (33,3%)	2/6 (33,3%)	6/79 (7,6%)
Fêmeas	1 /2 (50%)	1 /2 (50%)	2/2 (100%)	4/6 (66,7%)
Machos	1 /2 (50%)	1 /2(50%)	0	2/6 (33,3%)

4. Discussão

As desvantagens relativas à aplicação de protocolos de longa duração (11 a 14 dias) referidas por Johnson e col. (1996) e Leyva (1998) estão associadas à exposição do folículo a concentrações de P4 sub-lúteínicas no fim dos protocolos e consequente aumento da probabilidade de ocorrência de falhas ováricas e formação de folículos persistentes. Apesar destas desvantagens, a eleição de um protocolo de longa duração é justificável uma vez que a sua associação com a administração de eCG é considerada a estratégia mais eficaz na indução e sincronização éstrica durante o período de anestro sazonal (Amer, Hazzaa, 2009).

Neste estudo foram selecionados os dias 0, 5 e 11 para a realização da colheita das amostras sanguíneas. Esta decisão teve como principal objetivo monitorizar e garantir que se alcançava o nível de P4 sérico mínimo de referência (>1 ng/ml) até ao momento de retirada do dispositivo. Traduzindo simultaneamente a adequação e eficácia de reutilização “tardia” e “imediate” em protocolos de curta duração (5 dias). Caso as concentrações de P4 não se mantivessem elevadas o suficiente (>1 ng/ml) até ao dia 11 do protocolo, tal seria uma contraindicação clara à reutilização dos CIDRs em protocolos de longa duração (11 dias).

Os resultados observados no presente estudo, vão ao encontro dos resultados obtidos por Swelum e col. (2018, 2019), podendo concluir-se que a reutilização de CIDR em PR é possível, viável e sem qualquer perda de fertilidade, prolificidade ou outra aqui estudada. Comprovou-se ainda que, contrariamente ao que é afirmado na secção 4.9 do RCMV do CIDR[®] ovis 0,35g (“Cada dispositivo destina-se a ser utilizado uma só vez”), estes podem ser reutilizados em protocolos de 11 dias, de uma forma “tardia” ou “imediate”. À semelhança do que foi relatado por Swelum e col. (2019), ao longo dos 11 dias do protocolo farmacológico aplicado, constatou-se que a concentração sérica de P4 média nos três grupos foi consistentemente superior a 1 ng/ml, garantindo assim a supressão da ciclicidade ovárica. A maturação folicular e posterior ovulação foram suspensas até ao momento da remoção dos dispositivos (Diskin *et al.*, 2002). A diminuição da concentração de P4 sérica de forma abrupta, inibe o mecanismo de *feedback* negativo sobre a neurohipófise levando à secreção de hormona folículo-estimulante e hormona luteinizante, com consequente desenvolvimento de uma nova onda folicular e ovulação (Hashim and Sembiring, 2013; Dias *et al.*, 2015). É igualmente importante salientar que, apesar das diferenças nos valores numéricos encontrados nos valores de P4 sérica nos diferentes grupos, nenhum foi estatisticamente significativo ($p>0,05$). A concentração sérica de P4 média no dia 0, em CIDR1, parece apresentar um desvio em relação às restantes (*vide* Gráfico 1 e Tabela 3). Este facto pode estar relacionado com os valores de P4 obtidos em dois dos 17 animais do grupo, que foram demasiado elevados (26,9 ng/ml e 40,0 ng/ml). Os valores médios de P4, no dia 0, em todos os grupos foram superiores aos encontrados no dia 5 e 11. Sugerindo desta forma que, apesar do protocolo farmacológico ter sido implementado em agosto, os animais encontravam-se cíclicos e na fase luteínica do ciclo reprodutivo (Souza, *et al.*, 2002; Vilariño *et al.*, 2011).

Relativamente à taxa de submissão, sublinha-se que a maioria dos animais dos diferentes grupos apresentaram comportamento de cio e aceitação de monta até às primeiras 36 horas (M1). A maior taxa de submissão em M1 foi observada no grupo CIDR1 enquanto a taxa de submissão posterior às 36h (M2) foi maior nos grupos CIDR2 e CIDR3. Estes resultados embora não apresentem diferença estatisticamente significativa, podem ser justificados pelo facto de, em CIDR1, o valor médio de progesterona ao dia 11 ser o mais baixo ($1,02\pm0,25$ ng/ml), despoletando assim uma resposta éstrica mais precoce. Adicionalmente o presente estudo demonstra igualmente um igual sucesso na reutilização “tardia” (CIDR3), o que permite a flexibilização da reciclagem dos dispositivos, bem como a redução drástica do custo médio do protocolo nas explorações.

Após análise dos resultados obtidos relativamente à TR, ao contrário do que foi relatado por Swelum e col. (2018, 2019), apesar da diferença não ser estatisticamente significativa, verificou-se uma taxa de retenção menor no grupo com utilização de CIDR *de novo* (CIDR1). A variação individual na introdução dos dispositivos no meio intravaginal das ovelhas pelo médico veterinário e/ou a diferença entre os produtos usados para a higienização e assepsia dos dispositivos pode ser a resposta para a diferença no resultado; nos estudos referidos foi usada uma solução alcoólica, enquanto no presente estudo foi utilizada uma solução de iodopovidona diluída.

Relativamente aos resultados obtidos nos diferentes momentos de controlo ultrassonográfico e cálculo da respetiva TC, foi possível comprovar a igualdade de resultados individuais em cada um dos grupos, em ambos os momentos. Significando assim que não houve perda gestacional em nenhum dos animais e que o método de controlo ultrassonográfico foi bem executado. Apesar de, mais uma vez, as diferenças não serem estatisticamente significativas, a TC foi superior em CIDR2, vindo contrariar os resultados obtidos por Ungerfeld (2009), que refere que a TC em ovelhas, é menor em dispositivos de progesterona reutilizados por períodos de tempo com duração igual ou superior a 11 dias. As TC dos diferentes grupos (88,24%, 94,44% e 82,35%, para CIDR1, CIDR2 e CIDR3, respetivamente) foram superiores às obtidas por Amer, Hazzaa (2009) e Swelum e col. (2019). Tal facto pode ser justificável pelo bom maneio, estado sanitário e condição corporal do efetivo. A análise da informação permite também concluir que a ocorrência de parto vai de encontro aos valores da TC. Não foram, de igual forma, encontradas diferenças na tipologia de parto e caracterização dos animais nascidos, nos diferentes grupos em estudo.

Vários autores referem vantagem na utilização de outros protocolos alternativos, quer na duração quer na ausência da aplicação de eCG (Martinez-Ros et al, 2019). Como tal, numa perspetiva futura, poderá ser interessante aferir a eficácia dos mesmos modelos de reutilização em protocolos de curta duração (5 a 7 dias) ou em protocolos alternativos que prescindam, designadamente, da administração da eCG.

É de referir a importância dos resultados obtidos no presente estudo, do ponto de vista zootécnico, por permitir a obtenção da MREE em explorações de maior e menor dimensão dado que o modelo de reutilização tardia poderá ser uma mais valia em explorações mais pequenas onde a sincronização de novos grupos de animais possa carecer de algum distanciamento temporal. É ainda de apontar a relevância deste trabalho numa abordagem *One Health*, não só de saúde humana e animal, mas também ambiental, uma vez que vai de encontro à exposição à dose mínima necessária, minimização de resíduos e de utilização de recursos farmacológicos, sobretudo de origem hormonal, de resíduos de plásticos da matriz do dispositivo e demais procedimentos de embalamento e recursos de produção e comercialização.

5. Conclusões

O presente estudo demonstrou que a sincronização éstrica em ovinos pode ser obtida através da reutilização de dispositivos de CIDR®ovis0,35g (de forma “imediata” ou “tardia”) em protocolos de 11 dias, previamente utilizados uma vez e durante o mesmo período de tempo. Os resultados obtidos não evidenciaram qualquer diferença significativa entre a utilização de CIDR®ovis 0,35g *de novo* e a sua reutilização “imediata” ou “tardia”.

Com o apoio do tecido empresarial, foi criada com sucesso a tão desejada ligação entre o ensino superior e as necessidades reais dos produtores, simultaneamente à aplicação e respeito do conceito *One Health* e a política dos 3 R's.

6. Financiamento

É agradecido o apoio financeiro às seguintes entidades: CruzVet Medicina e Produção Lda.; Escola Universitária Vasco da Gama, HIPRA®Portugal, Laboratórios Syva®S.A, Portugal, Zoetis®Portugal.

Referências bibliográficas

Abdel, A., Swelum, A., Mohamed, M., Hany, A. A., Awadh, B., Alowaimer, A. N. (2018). Efficacy of using previously used controlled internal drug release (CIDR) insert on the reproductive performance, hormone profiles and economic measures of sheep. *WILEY - Reproduction in Domestic Animals*, 1–9. <https://doi.org/10.1111/rda.13212>

Abecia, J. A., Forcada, F., González-Bulnes, A. (2011). Pharmaceutical Control of Reproduction in Sheep and Goats. *Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, 27(1), 67–79. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2010.10.001>

Abecia, J. A., Forcada, F., González-Bulnes, A. (2012). Hormonal control of reproduction in small ruminants. *Animal Reproduction Science*, 130, 173–179. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.01.011>

Amer, H. A., Hazzaa, A. M. (2009). The effect of different progesterone protocols on the reproductive efficiency of ewes during the non-breeding season. *VETERINARSKI ARHIV*, 79(1), 19–30. Retrieved from <http://vetarhiv.vef.unizg.hr/papers/2009-79-1-3.pdf>

Cabrera, C., Maier, G. U., Cuneo, M., McNabb, B. R. (2019). The use of progesterone intravaginal devices is superior to use of the ram effect at hastening the reproductive performance in transitional Targhee ewes. *Theriogenology*, 128, 17–22. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.01.015>

Carlson K.M., Pohl H.A., Marcek J.M., Muser R.K., Wheaton J.E. (1989). Evaluation of progesterone controlled internal drug release dispensers for synchronization of estrus in sheep. *Animal Reproduction Science* 18,205–218. [https://doi.org/10.1016/0378-4320\(89\)90022-5](https://doi.org/10.1016/0378-4320(89)90022-5)

Cetin Y., Sagcan S., Gungor O., Ozyurtlu N., Uslu B.A. (2009). Effects of CIDR-G and melatonin implants, and their combination on the efficacy of oestrus induction and fertility of Kilis goats. *Reproduction in Domestic Animals* 44, 659–662. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2007.01043.x>

Chemineau, P., Bodin, L., Migaud, M., Thiéry, J. C., Malpaux, B. (2010). Neuroendocrine and genetic control of seasonal reproduction in sheep and goats. *Reproduction in Domestic Animals*, 45 (SUPPL. 3), 42–49. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2010.01661.x>

Chemineau, P., Guillaume, D., Migaud, M., Thiéry, J. C., Pellicer-Rubio, M. T., Malpaux, B. (2008). Seasonality of Reproduction in Mammals: Intimate Regulatory Mechanisms and Practical Implications. *Reproduction in Domestic Animals*, 43(SUPPL.2), 40–47. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01141.x>

Dias, L. M. K.; Paes de Barros, M. B.; Viau, P.; Sales, J. N. S.; Valentim, R.; Santos, F. F.; Cunha Jr., M. C.; Marino, C. T. and Oliveira, C. A. (2015). Effect of a new device for sustained progesterone release on the progesterone concentration, ovarian follicular diameter, time of ovulation and pregnancy rate of ewes. *Animal Reproduction Science* 155:56-63. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2015.01.016>

Diskin, M. G.; Austin, E. J. and Roche, J. F. (2002). Exogenous hormonal manipulation of ovarian activity in cattle. *Domestic Animal Endocrinology* 23:211-228. [https://doi.org/10.1016/S0739-7240\(02\)00158-3](https://doi.org/10.1016/S0739-7240(02)00158-3)

Dixon, A., Knights, M., Pate, J., Lewis, P., Inskeep, E. (2006). Reproductive performance of ewes after 5-day treatment with in- transvaginal inserts containing progesterone in combination with injection of prostaglandin F2 α . *Reproduction in Domestic Animals*, 41, 142–148. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2006.00656.x>

Greyling J.P.C., Brink W.C.J., (1987). Synchronization of oestrus in sheep: the use of controlled internal drug release (CIDR) dispensers. *South African Journal Animal Science*, 17, 128–132. Retrieved from: <https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=2ahUKEwjJh4-R5tnpAhWz6uAKHXuUCWkQFjABegQIARAB&url=https%3A%2F%2Fwww.ajol.info%2Findex.php%2Fsaajas%2Farticle%2Fdownload%2F139236%2F128932&usg=AOvVaw1526naCrZolQfrn-2EsJrp>

Guido, S. I., Guido, F., Nascimento Filho, E., Rocha, J., Freitas Neto, L., Aguiar Filho, C., Chaves, R. (2007). Avaliação da concentração de P4 utilizando CIDR novo e reutilizado em protocolos de sincronização do estro e da ovulação em cabras, *Medicina Veterinária*, 1, 66–68. Retrieved from <http://www.journals.ufrpe.br/index.php/medicinaveterinaria/article/view/721/600>

Hashim, N. H. and Sembiring, M. (2013). Time of PMSG administration: Effect on progesterone and estradiol concentration in synchronized ewes. *Biomedical Research* 24, 7-12. Retrieved from <https://www.biomedres.info/biomedical-research/time-of-pmsg-administration-effect-on-progesterone-and-estradiolconcentration-in-synchronized-ewes.html>

Husein, M. Q., Kridli, R. T. (2003). Effect of progesterone prior to GnRH-PGF2 α treatment on induction of oestrus and pregnancy in anoestrous Awassi ewes. *Reproduction in Domestic Animals*, 38(3), 228–232. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0531.2003.00411.x>.

Inya T., Sumretprasong J. (2013). Serum progesterone profiles in Saanen crossbred goats during a 5-day progestin-based estrous synchronization protocol. *Kasesart Journal of Natural Science* 47,94–100. Retrieved from <http://cmuir.cmu.ac.th/jspui/handle/6653943832/52094>

Johnson S.K., Dailey R.A., Inskeep E.K., Lewis P.E.(1996) Effect of peripheral concentrations of progesterone on follicular growth and fertility in ewes. *Domestic Animal Endocrinology*, 13:69–79. [https://doi.org/10.1016/0739-7240\(95\)00045-3](https://doi.org/10.1016/0739-7240(95)00045-3)

Knights, M., Singh-knights, D. (2016). Use of controlled internal drug releasing (CIDR) devices to control reproduction in goats : A review. *Animal Science Journal*, 1–6. <https://doi.org/10.1111/asj.12627>.

Leyva V., Buckrell B.C., Walton J.S.(1998) Regulation of follicular activity and ovulation in ewes by exogenous progestagen. *Theriogenology*; 50:395–416. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(98\)00148-4](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(98)00148-4)

Martinez-ros, P., Gonzalez-bulnes, A. (2019). Efficiency of CIDR-Based Protocols Including GnRH Instead of eCG for Estrus Synchronization in Sheep. *Animals*, 9, 1–11. <https://doi.org/10.3390/ani9040146>

Mavrogianni, V. S., Brozos, C. (2008). Reflections on the causes and the diagnosis of periparturient losses of ewes. *ELSEVIER* , 76, 77–82. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2007.12.019>

Nogueira, D. M., Soares, E., Júnior, L., Peixoto, R. M. De, Christilis, M., Martins, S. R., Pains, A. (2011). Using the same CIDR up to three times for estrus synchronization and artificial insemination in dairy goats. *Acta Scientiarum Animal Sciences*, 33, 321–325. <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v33i3.10120>

Ozyurtlu, N., Kucukaslan, I., Cetin, Y. (2010). Characterization of Oestrous Induction Response, Oestrous Duration, Fecundity and Fertility in Awassi Ewes During the Non-breeding Season Utilizing

both CIDR and Intravaginal Sponge Treatments. *Reproduction in Domestic Animals*, 45, 464–467. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01246.x>

Pellicer-Rubio M.T., Leboeuf B., Bernelas D., Forgerit Y., Pougard J.L., Bonne J.L., Senty E., Chemineau P., (2007). Highly synchronous and fertile reproductive activity induced by the male effect during deep anoestrus in lactating goats subjected to treatment with artificially long days followed by a natural photoperiod. *Animal Reproduction Science* 98, 241–258. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2006.03.002>

Sanity, A. (2015). Desempenho reprodutivo de cabras leiteiras submetidas à indução e sincronização do estro com o uso de dispositivos de progesterona reutilizados. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal*, 9, 622–633. <http://dx.doi.org/10.5935/1981-2965.20150056>

Souza, J.M.G.; Torres, C.A.A.; Ribeiro, S.D.A.; Ribeiro, A.C.; Becalet, L.; Rigo, A.G.; Silva, W.J.; Facó, O.; Fonseca, J.F. (2010). Induction of estrus in Anglo-Nubian goats in the transition season with short-term progestagen protocols with or without eCG administration. *International Embryo Society Transfer*, 36. <https://doi.org/10.1071/RDv22n1Ab447>

Souza J.M.G., Torres C.A.A., Maia A.L.R.S., Brandão F.Z., Bruschi J.H., Viana, J.H.M. (2011). Autoclaved, previously used intravaginal progesterone devices induces estrus and ovulation in anestrus Toggenburg goats. *Animal Reproduction Science* 129,50–55. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2011.09.012>

Souza, M., Oba, E., Uribe-Velásquez, L., Ramos, A. (2002). Secreção diária de estradiol, progesterona e hormônio folículo estimulante (FSH) em ovelhas durante o anestro estacional. *Arquivo de Ciências Veterinária e Zoologia UNIPAR*, 5(1), 015–020. Retrieved from: <https://revistas.unipar.br/index.php/veterinaria/article/viewFile/741/648>

Swelum, A. A., Alowaimier, A. N., Abouheif, M. A. (2015). Use of fluorogestone acetate sponges or CIDR for estrus synchronization in ewes: effects of hormonal profiles and reproductive performance. *Theriogenology*, 1–23. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.03.018>

Swelum, A. A.; Saadeldin, I. M.; Moumen, A. F.; Ali, M. A.; Ba-Awadh, H. and Alowaimier, A. N. (2018). Efficacy of using previously used controlled internal drug release (CIDR) insert on the reproductive performance, hormone profiles and economic measures of sheep. *Reproduction Domestic Animal*, 53:1114-1122. <https://doi.org/10.1111/rda.13212>

Swelum, A. A. A., Saadeldin, I. M., Moumen, A. F., Ali, M., Ba-Awadh, H., Alowaimier, A. N. (2019). Effects of long-term controlled internal drug release reuse on reproductive performance, hormone profiles, and economic profit of sheep. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 48. <https://doi.org/10.1590/RBZ482018008>

Titi H.H., Alnimer M., Tabbaa M.J., Lubbadeh W.F., (2008). Reproductive performance of seasonal ewes and does fed dry fat during their postpartum period. *Livestock Science*, 115, 34–41. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2007.06.006>

Vasconcelos, C.O.P., Brandão, F. Z., Martins, G., Penna, B., Souza-Fabjan, J. M. G., Lilenbaum, W. (2016). Qualitative and quantitative analysis of bacteria from vaginitis associated with intravaginal implants in ewes following estrus synchronization. *Ciencia Rural*, 46(4), 632–636. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20150365>

Vilariño, M., Rubianes, E., Menchaca, A. (2011). Re-use of intravaginal progesterone devices associated with the Short-term Protocol for timed artificial insemination in goats. *ELSEVIER*, 75, 1195–1200. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.11.03>

Vilariño, M., Rubianes, E., Menchaca, A. (2013). Ovarian responses and pregnancy rate with previously used intravaginal progesterone releasing devices for fixed-time artificial insemination in sheep. *Theriogenology*, 79(1), 206–210. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.10.007>

Welch, R.A.S., Andrews, W.D., Barnes, D.R., Bremmer, K., Harvey, T.G. (1984). CIDR dispensers for oestrus and ovulation control in sheep. *Proceedings of the 10th International Congress on Animal reproduction and Artificial Insemination*, Vol. 3, 356. University of Illinois, Urbana-Champaign. Retrieved from <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US19860065256>

Wheaton, J. E.; Carlson, K. M.; Windels, H. F. and Johnston, L. J. (1993). CIDR: A new progesterone-releasing intravaginal device for induction of estrus and cycle control in sheep and goats. *Animal Reproduction Science*, 33:127-141; [https://doi.org/10.1016/0378-4320\(93\)90111-4](https://doi.org/10.1016/0378-4320(93)90111-4)

Whitley, N. C., Jackson, D. J. (2004). An update on estrus synchronization in goats: a minor species. *Journal of Animal Science*, 82, 270–276. https://doi.org/10.2527/2004.8213_supplE270x

Wildeus, S. (2000). Current concepts in synchronization of estrus: Sheep and goats. *Journal of Animal Science*, 77, 1–14. <https://doi.org/10.2527/jas2000.00218812007700es0040>

