

**Universidade Federal de Minas Gerais  
Escola de Veterinária  
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal**

**ASPECTOS REPRODUTIVOS E PRODUTIVOS DE  
VACAS DA RAÇA HOLANDESA E EXPRESSÃO GÊNICA  
ENDOMETRIAL DE RECEPTORES TIPO *TOLL*  
E  $\beta$ -DEFENSINA 5 APÓS O PARTO**

**Telma da Mata Martins**

**Belo Horizonte  
Escola de Veterinária - UFMG  
2010**

**Telma da Mata Martins**

**ASPECTOS REPRODUTIVOS E PRODUTIVOS DE  
VACAS DA RAÇA HOLANDESA E EXPRESSÃO GÊNICA  
ENDOMETRIAL DE RECEPTORES TIPO *TOLL*  
E  $\beta$ -DEFENSINA 5 APÓS O PARTO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Medicina Veterinária.

Área de concentração: Reprodução Animal

Orientador: Prof. Alan Maia Borges

Co-orientadores: Prof. Renato de Lima Santos  
Prof<sup>ª</sup>. Tatiane Alves da Paixão

**Belo Horizonte  
Escola de Veterinária - UFMG  
2010**

M383a Martins, Telma da Mata, 1982-  
Aspectos reprodutivos e produtivos de vacas da raça holandesa e expressão  
gênica endometrial de receptores tipo *toll* e  $\beta$ -defensina 5 após o parto / Telma da  
Mata Martins. – 2010.

137 p. : Il.

Orientador: Álan Maia Borges

Co-orientadores: Renato de Lima Santos, Tatiane Alves da Paixão

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de  
Veterinária

Inclui bibliografia

1. Holandês (Bovino) – Reprodução – Teses. 2. Puerpério – Teses. 3.  
Endométrio – Biópsia – Teses. 4. Útero – Infecções – Teses. 5. Imunologia  
veterinária – Teses. I. Borges, Álan Maia. II. Santos, Renato Lima. III. Paixão,  
Tatiane Alves da. IV. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de  
Veterinária. V. Título.

CDD – 636.214 089 26

Dissertação defendida e aprovada em 09 de fevereiro de 2010, pela Comissão Examinadora constituída por:




---

Prof. Alan Maia Borges  
Orientador



---

Prof. José Reinaldo Mendes Ruas



---

Prof. Andrey Pereira Lage



*Dedico esse trabalho à minha família,  
em especial aos meus pais, José Maria Martins e  
Maria Aparecida da Mata Martins, que sempre  
estiveram ao meu lado na incansável caminhada  
em busca da realização dos meus objetivos.*

## AGRADECIMENTOS

Ao final de um novo capítulo da história da minha vida, agradeço de coração a todos os personagens. Aos antigos, obrigada por continuarem ao meu lado. Aos recentes, agradeço pelas participações especiais, imprescindíveis para a elaboração desse trabalho.

À Escola de Veterinária da UFMG, agradeço por ter possibilitado a realização do meu mestrado.

À FAPEMIG, por ter concedido a minha bolsa de estudos.

Ao meu orientador, Prof. Alan Maia Borges, sou grata pelo companheirismo, pelos ensinamentos e pela dedicação. E também, pela paciência, compreensão e boa vontade, do início ao final desse trabalho.

Aos meus co-orientadores, Prof. Renato de Lima Santos e Prof<sup>a</sup>. Tatiane Alves da Paixão, pelas idéias brilhantes para o projeto de pesquisa e pelo auxílio na execução do experimento.

Aos professores José Reinaldo Mendes Ruas e Andrey Pereira Lage, agradeço pela participação na banca examinadora e pelas valiosas sugestões.

Aos demais professores e aos funcionários do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinárias, agradeço pelas contribuições na execução do estudo e na minha formação como mestra.

Ao Prof. Felipe Zandonadi Brandão, pelo empréstimo da pinça para biópsias endometriais.

Ao pessoal do Laboratório de Patologia Molecular da Escola de Veterinária, em especial à Érica, muito obrigada pela enorme ajuda nas análises laboratoriais.

Aos meus colegas da Pós-Graduação em Reprodução Animal, Rute, Luíza, Michele, Rafael, Henrique, Rebeca, Cláudia, Diego, Leandro, Custódio, Thiago, Samuel, e a todos os outros, pela amizade, carinho e apoio em todas as fases do mestrado.

Aos alunos de iniciação científica, Felipe Santiago Santos, Guilherme Corrêa de Sousa Pontes, Lorrana Martins Salgado e Vinícius Silveira Raposo, pela colaboração na execução do trabalho.

Em especial, gostaria de agradecer imensamente ao médico veterinário, Alexandre Pires de Carvalho, aos proprietários da Fazenda Bom Jardim (Oliveira, MG), Sr. Miguel Furtado Neto & Filhos, e a todos os funcionários, pela confortável acolhida e por abrirem completamente as porteiras da propriedade para a execução do experimento.

Ao REHAGRO, em especial ao médico veterinário Sérgio Rubens Veiga Soares, pelo fornecimento dos dados do controle reprodutivo e produtivo da Fazenda Bom Jardim.

Agradeço de coração aos meus pais, José Maria e Aparecida, aos meus irmãos, Thélío, Thiago e Thaís, à tia Assunção, à tia Dalva, aos demais familiares, e às amigas de república, pelo apoio, incentivo e compreensão, em todos os momentos.

E por fim, agradeço a Deus, o maior de todos os mestres. Sem Ele, nada disso seria possível.

*Eu sou o sujeito das minhas ações,  
o autor do meu personagem,  
o artesão do meu mundo.*

*(Henry Ey)*



---

## SUMÁRIO

---

	<b>LISTA DE TABELAS .....</b>	<b>11</b>
	<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>14</b>
	<b>LISTA DE ANEXOS .....</b>	<b>15</b>
	<b>RESUMO.....</b>	<b>16</b>
	<b>ABSTRACT .....</b>	<b>17</b>
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO GERAL .....</b>	<b>18</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>19</b>
2.1	Período voluntário de espera .....	19
2.2	Fertilidade das vacas após o parto .....	19
2.3	Monitoramento de vacas leiteiras de alta produção recém-paridas .....	20
2.4	Aspectos fisiológicos do puerpério.....	21
2.4.1	Involução uterina .....	22
2.4.2	Retorno da atividade ovariana luteal cíclica .....	25
2.5	Aspectos patológicos do puerpério .....	26
2.5.1	Retenção de placenta .....	26
2.4.2	Infecções uterinas .....	29
2.5.3	Cistos ovarianos.....	36
2.5.4	Distúrbios metabólicos .....	37
2.6	Mecanismos de defesa do útero após o parto .....	37
2.6.1	Imunidade inata .....	39
2.6.2	Defesa hormonal.....	44
2.6.3	Defesa humoral.....	45
	<b>CAPÍTULO 1</b>	
	<b>PUERPÉRIO NORMAL OU PATOLÓGICO EM VACAS DA RAÇA</b>	
	<b>HOLANDESA .....</b>	<b>46</b>
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>46</b>
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>46</b>
2.1	Local e animais .....	46
2.2	Acompanhamento dos animais .....	48
2.3	Separação dos grupos experimentais .....	49
2.4	Análises estatísticas .....	50
<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>50</b>
3.1	Escore de condição corporal e peso vivo ao parto.....	50
3.2	Temperatura retal após o parto .....	51
3.2.1	Temperatura retal entre seis e doze horas após o parto .....	51
3.2.2	Temperatura retal até dez dias após o parto.....	53
3.3	Sexo da cria .....	55
3.4	Ocorrências de partos simples ou gêmeos .....	56
3.5	Ocorrências de partos normais ou auxiliados .....	56
3.6	Ocorrência de retenção de placenta .....	58
3.6.1	Ocorrência de retenção de placenta de acordo com a categoria .....	58
3.6.2	Ocorrência de retenção de placenta de acordo com o escore de condição corporal (ECC) e peso vivo ao parto .....	59

3.6.3	Ocorrência de retenção de placenta de acordo com o tipo de parto, simples ou gemelar.....	60
3.6.4	Ocorrência de retenção de placenta de acordo com o tipo de parto, normal ou auxiliado.....	61
3.6.5	Ocorrência de retenção de placenta de acordo com o adiantamento do parto.....	61
3.6.6	Ocorrência de retenção de placenta de acordo com o sexo da cria.....	62
3.7	Incidências de infecções uterinas durante o puerpério.....	63
3.7.1	Incidência de metrite puerperal aguda de acordo com a categoria.....	63
3.7.2	Incidência de metrite puerperal aguda de acordo com a presença de retenção de placenta.....	63
3.7.3	Incidência de metrite puerperal aguda de acordo com o tipo de parto, simples ou gemelar.....	64
3.7.4	Incidência de metrite puerperal aguda de acordo com o tipo de parto, normal ou auxiliado.....	65
3.7.5	Incidências de infecções uterinas em diferentes intervalos até o primeiro serviço após o parto.....	65
3.8	Involução uterina.....	67
3.8.1	Período de involução uterina de acordo com a categoria.....	67
3.8.2	Período de involução uterina de acordo com a ocorrência de retenção de placenta e/ou infecção uterina.....	68
3.8.3	Avaliação da involução uterina.....	69
3.8.3.1	Posição do útero.....	69
3.8.3.2	Presença de conteúdo no útero.....	70
3.8.3.3	Simetria dos cornos uterinos.....	71
3.8.3.4	Condição da cérvix.....	72
3.8.3.5	Aspecto e odor da secreção cérvico-vaginal.....	72
3.8.4	Involução uterina de acordo com a ocorrência de infecção.....	74
3.8.4.1	Posição do útero.....	74
3.8.4.2	Presença de conteúdo no útero.....	75
3.8.4.3	Simetria dos cornos uterinos.....	75
3.8.4.4	Condição da cérvix.....	76
3.8.4.5	Aspecto e odor da secreção cérvico-vaginal.....	77
3.9	Cistos ovarianos.....	79
3.10	Outros transtornos puerperais.....	80
3.11	Parâmetros reprodutivos.....	81
3.11.1	Intervalo do parto ao primeiro estro observado.....	81
3.11.2	Intervalo do parto à detecção do primeiro corpo lúteo.....	83
3.11.3	Intervalo do parto ao primeiro serviço.....	86
3.11.4	Taxa de gestação ao primeiro serviço.....	88
3.11.5	Número de serviços por concepção.....	89
3.11.6	Período de serviço.....	90
3.12	Parâmetros produtivos.....	91
3.12.1	Produção de leite no puerpério de acordo com a ocorrência de retenção de placenta e/ou infecção uterina.....	91
3.12.2	Estimativa das perdas financeiras relacionadas com a redução na produção de leite durante o puerpério.....	92
<b>4</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>93</b>

	<b>CAPÍTULO II</b>	
	<b>EXPRESSÃO GÊNICA DE RECEPTORES TIPO <i>TOLL</i> E <math>\beta</math>-DEFENSINA 5 NO ENDOMÉTRIO APÓS O PARTO .....</b>	<b>94</b>
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>94</b>
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>95</b>
2.1	Biópsia endometrial.....	95
2.2	Separação dos grupos experimentais.....	95
2.3	Extração do RNA e obtenção do cDNA.....	95
2.4	Delineamento dos <i>primers</i> e realização da técnica de qRT-PCR ( <i>Quantitative Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction</i> ).....	96
2.5	Análises estatísticas.....	97
<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>97</b>
3.1	Parâmetros clínicos e reprodutivos.....	97
3.2	Expressão gênica endometrial dos TLRs 1/6, 2, 4 e 5 e da $\beta$ -defensina 5.....	98
3.3	Correlações entre expressão gênica de TLRs e $\beta$ -defensina 5, parâmetros clínicos e reprodutivos.....	101
<b>4</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>103</b>
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>103</b>
	<b>ANEXOS.....</b>	<b>115</b>

---

**LISTA DE TABELAS**

---

Tabela 1	Período de involução uterina de vacas leiteiras, em diferentes estudos.....	23
Tabela 2	Principais ligantes dos receptores tipo <i>toll</i> 1 a 10.....	41
Tabela 3	Parâmetros climáticos obtidos na Fazenda Bom Jardim durante o período experimental.....	47
Tabela 4	Número de animais avaliados e descartados durante o experimento, em diferentes intervalos do parto à primeira inseminação artificial (IA), de acordo com a categoria.....	47
Tabela 5	Número de animais avaliados de acordo com a ocorrência de retenção de placenta.....	49
Tabela 6	Número de animais avaliados de acordo com a ocorrência de infecção uterina até 42 dias pós-parto.....	49
Tabela 7	Número de animais avaliados de acordo com a ocorrência de infecção uterina até a primeira inseminação artificial.....	49
Tabela 8	Escore de condição corporal (ECC) e peso vivo ao parto de acordo com a categoria.....	50
Tabela 9	Temperatura retal entre seis e doze horas após o parto de acordo com a categoria e a ocorrência de retenção de placenta.....	52
Tabela 10	Temperatura retal média durante os dez primeiros dias após o parto de acordo com a ocorrência de retenção de placenta e metrite puerperal.....	53
Tabela 11	Nascimento de machos ou fêmeas de acordo com a categoria dos animais que tiveram parto simples.....	55
Tabela 12	Ocorrência de partos simples ou gemelares de acordo com a categoria.....	56
Tabela 13	Ocorrências de partos normais e auxiliados de acordo com a categoria.....	57
Tabela 14	Ocorrência de partos auxiliados de acordo com a categoria dos animais que tiveram parto simples ou gemelar.....	57
Tabela 15	Nascimentos de machos de acordo com a categoria dos animais que tiveram parto normal ou auxiliado simples.....	58
Tabela 16	Ocorrência de retenção de placenta de acordo com a categoria.....	58
Tabela 17	Escore de condição corporal (ECC) e peso vivo ao parto de acordo com a ocorrência de retenção de placenta.....	59
Tabela 18	Escore de condição corporal (ECC) e peso vivo ao parto de acordo com a categoria dos animais e a ocorrência de retenção de placenta.....	60
Tabela 19	Ocorrência de retenção de placenta de acordo com a categoria dos animais que tiveram partos simples ou gemelares.....	61
Tabela 20	Ocorrência de retenção de placenta de acordo com a categoria dos animais que tiveram partos normais ou auxiliados.....	61
Tabela 21	Número de dias de adiantamento do parto de acordo com a ocorrência de retenção de placenta.....	62
Tabela 22	Nascimento de machos ou fêmeas de acordo com a categoria dos animais que apresentaram retenção de placenta e parto simples.....	63
Tabela 23	Incidência de metrite puerperal aguda de acordo com a categoria.....	63
Tabela 24	Incidência de metrite puerperal aguda de acordo com a ocorrência de retenção de placenta.....	64
Tabela 25	Incidência de metrite puerperal aguda de acordo com o tipo de parto, simples ou gemelar.....	64

Tabela 26	Incidência de metrite puerperal aguda de acordo com o tipo de parto, normal ou auxiliado.....	65
Tabela 27	Incidências de infecções uterinas em diferentes intervalos até o primeiro serviço após o parto.....	66
Tabela 28	Período de involução uterina de acordo com a categoria.....	67
Tabela 29	Período de involução uterina de acordo com a ocorrência de retenção de placenta.....	68
Tabela 30	Período de involução uterina de acordo com a categoria e a ocorrência de retenção de placenta.....	68
Tabela 31	Período de involução uterina de acordo com a ocorrência de infecção uterina até 42 dias pós-parto (dpp) ou até a primeira inseminação artificial (1ª IA).....	68
Tabela 32	Período de involução uterina de acordo com a categoria e a ocorrência de infecção uterina até 42 dias pós-parto (dpp) ou até a primeira inseminação artificial (1ª IA).....	69
Tabela 33	Incidência de cistos ovarianos até o primeiro serviço e intervalo do parto à detecção de acordo com a categoria.....	79
Tabela 34	Incidência de cistos ovarianos até o primeiro serviço e intervalo do parto à detecção de acordo com a ocorrência de retenção de placenta.....	79
Tabela 35	Incidência de cistos ovarianos até o primeiro serviço e intervalo do parto à detecção de acordo com a categoria e a ocorrência de retenção de placenta.....	79
Tabela 36	Incidências de cistos ovarianos e intervalo do parto à detecção de acordo com a ocorrência de infecção uterina até 42 dias pós-parto (dpp) ou até a primeira inseminação artificial (1ª IA).....	79
Tabela 37	Incidência de cistos ovarianos e intervalo do parto à detecção de acordo com a categoria e a ocorrência de infecção uterina até 42 dias pós-parto (dpp) ou até a primeira inseminação artificial (1ª IA).....	79
Tabela 38	Intervalo do parto ao primeiro estro de acordo com a categoria.....	81
Tabela 39	Intervalo do parto ao primeiro estro de acordo com a ocorrência de retenção de placenta.....	81
Tabela 40	Intervalo do parto ao primeiro estro de acordo com a categoria e a ocorrência de retenção de placenta.....	81
Tabela 41	Intervalo do parto ao primeiro estro de acordo com a ocorrência de infecção uterina até 42 dias pós-parto (dpp) ou até a primeira inseminação artificial (1ª IA).....	82
Tabela 42	Intervalo do parto ao primeiro estro de acordo com a categoria e a ocorrência de infecção uterina até 42 dias pós-parto ou até a primeira inseminação artificial (1ª IA).....	82
Tabela 43	Intervalo do parto à detecção do primeiro corpo lúteo de acordo com a categoria.....	83
Tabela 44	Intervalo do parto à detecção do primeiro corpo lúteo de acordo com a ocorrência de retenção de placenta.....	84
Tabela 45	Intervalo do parto à detecção do primeiro corpo lúteo de acordo com a categoria e a ocorrência de retenção de placenta.....	84
Tabela 46	Intervalo do parto à detecção do primeiro corpo lúteo de acordo com a ocorrência de infecção uterina até 42 dias pós-parto (dpp) ou até a primeira inseminação artificial (1ª IA).....	84
Tabela 47	Intervalo do parto à detecção do primeiro corpo lúteo de acordo com a categoria e a ocorrência de infecção uterina até 42 dias pós-parto.....	85
Tabela 48	Intervalo do parto ao primeiro serviço de acordo com a categoria.....	87

Tabela 49	Intervalo do parto ao primeiro serviço de acordo com a ocorrência de retenção de placenta.....	87
Tabela 50	Intervalo do parto ao primeiro serviço de acordo com a categoria e a ocorrência de retenção de placenta.....	87
Tabela 51	Intervalo do parto ao primeiro serviço de acordo com a ocorrência de infecção uterina até 42 dias pós-parto ou até a primeira inseminação artificial (1ª IA).....	87
Tabela 52	Intervalo do parto ao primeiro serviço de acordo com a categoria e a ocorrência de infecção uterina até 42 dias pós-parto ou até a primeira inseminação artificial (1ª IA).....	87
Tabela 53	Produção de leite durante o puerpério de acordo com a ocorrência de retenção de placenta.....	91
Tabela 54	Produção de leite de acordo com a ocorrência de infecção uterina até 42 dias após o parto.....	91
Tabela 55	Produção de leite de acordo com a ocorrência de infecção uterina até 42 dias após o parto.....	92
Tabela 56	Redução na produção de leite de acordo com a ocorrência de retenção de placenta e infecção uterina até 42 dias após o parto.....	92
Tabela 57	Sequências dos <i>primers</i> de receptores tipo <i>toll</i> (TLR), $\beta$ -defensina 5 (BDEF 5) e beta-actina.....	97
Tabela 58	Dados (média $\pm$ desvio-padrão) de parâmetros clínicos e reprodutivos, referentes aos animais selecionados para análise da expressão gênica de TLRs e $\beta$ -defensina 5.....	98
Tabela 59	Correlações dos níveis de expressão gênica (valores normalizados de Ct) de receptores tipo <i>toll</i> (TLR) e $\beta$ -defensina 5 (BDEF5), com parâmetros clínicos e reprodutivos.....	102
Tabela 60	Correlações entre os níveis de expressão gênica (valores normalizados de Ct) de receptores tipo <i>toll</i> (TLR) e $\beta$ -defensina 5 (BDEF5).....	102

---

**LISTA DE FIGURAS**

---

Figura 1	Variação do escore de condição corporal ao parto de acordo com a categoria....	51
Figura 2	Temperatura retal entre seis e doze horas após o parto de acordo com ocorrência de retenção de placenta.....	52
Figura 3	Temperatura retal entre seis e doze horas após o parto de acordo com o tipo de parto, normal ou auxiliado.....	53
Figura 4	Animais com febre até dez dias pós-parto, de acordo com a ocorrência de retenção de placenta.....	54
Figura 5	Animais com febre durante os dez primeiros dias pós-parto, de acordo com as ocorrências de retenção de placenta e/ou metrite puerperal.....	54
Figura 6	Ausência ou presença de retenção de placenta de acordo com o intervalo do escore de condição corporal ao parto.....	55
Figura 7	ITU (Índice de Temperatura e Umidade) abaixo ou acima do limite considerado como estresse térmico (72), em diferentes horários do dia (7, 12 e 18 horas), durante o período de ocorrência dos partos.....	62
Figura 8	Evolução da posição do útero durante o puerpério.....	69
Figura 9	Presença ou ausência de conteúdo no útero durante o puerpério.....	70
Figura 10	Evolução da simetria dos cornos uterinos durante o puerpério.....	71
Figura 11	Evolução da condição da cérvix durante o puerpério.....	72
Figura 12	Observação de secreção cérvico-vaginal durante o puerpério.....	72
Figura 13	Evolução do aspecto da secreção cérvico-vaginal durante o puerpério.....	73
Figura 14	Evolução do odor da secreção vaginal durante o puerpério.....	73
Figura 15	Evolução da posição do útero durante o puerpério de acordo com a ausência (A) ou presença (B) de infecção uterina até 42 dias após o parto.....	75
Figura 16	Presença de conteúdo no útero durante o puerpério de acordo com a ocorrência de infecção uterina até 42 dias após o parto.....	75
Figura 17	Evolução da simetria dos cornos uterinos durante o puerpério de acordo com a ausência (A) ou presença (B) de infecção uterina até 42 dias após o parto.....	76
Figura 18	Evolução da condição da cérvix durante o puerpério de acordo com a ocorrência de infecção uterina até 42 dias após o parto.....	77
Figura 19	Observação de secreção cérvico-vaginal durante o puerpério de acordo com a ocorrência de infecção uterina até 42 dias após o parto.....	77
Figura 20	Evolução do aspecto da secreção cérvico-vaginal durante o puerpério de acordo com a ausência (A) ou presença (B) de retenção de placenta.....	78
Figura 21	Evolução do odor da secreção cérvico-vaginal durante o puerpério de acordo com a ocorrência de infecção uterina até 42 dias após o parto.....	78
Figura 22	Características do primeiro estro observado.....	83
Figura 23	Tipos de estros que antecederam a primeira inseminação artificial.....	89
Figura 24	Expressão gênica dos receptores tipo <i>toll</i> (TLR) 1/6, 2, 4 e 5, e da $\beta$ -defensina 5, no endométrio de vacas da raça holandesa, entre seis e 12 horas pós-parto (média $\pm$ erro padrão).....	99

---

**LISTA DE ANEXOS**

---

Quadro 1	Temperaturas de bulbo seco (BS) e bulbo úmido (BU), utilizadas para cálculo da umidade relativa do ar.....	115
Quadro 2	Índice de Temperatura e Umidade para gado de leite.....	116
	<b>TABELAS ESTATÍSTICAS.....</b>	<b>117</b>



## RESUMO

Fêmeas da raça holandesa, de primeira a terceira lactação ( $n = 103$ ), foram submetidas à biópsia endometrial entre seis e 12 horas pós-parto, com o objetivo de comparar a expressão gênica dos receptores tipo *toll* (TLRs) 1/6, 2, 4 e 5, e da  $\beta$ -defensina 5, entre vacas que tiveram ou não infecção uterina posteriormente. Os animais foram monitorados até 42 dias pós-parto, por meio de palpação transretal, ultrassonografia e vaginoscopia. As incidências de partos gemelares, partos auxiliados e retenção de placenta foram de 11,7%, 20,4% e 38,8%, respectivamente, e 64% das vacas tiveram metrite e/ou endometrite. A involução uterina, a detecção do primeiro corpo lúteo e a primeira inseminação artificial ocorreram, em média, aos  $33,5 \pm 11,1$ ;  $43,6 \pm 21,5$  e  $75,9 \pm 31,0$  dias pós-parto, com diferenças ( $P < 0,05$ ) entre animais com ou sem infecção uterina. A taxa de gestação ao primeiro serviço foi de 20,7%. A produção de leite foi, em média, de  $27,9 \pm 7,3$  litros/dia. Foram selecionadas dez pluríparas com puerpério normal (grupo 1) e dez com retenção de placenta e infecção uterina (grupo 2). Por meio de PCR em tempo real, foi verificada expressão gênica de todos os imunomediadores considerados, sem diferença entre os grupos. A involução uterina foi correlacionada ( $P < 0,05$ ;  $r > 0,60$ ) com a expressão do TLR4, contudo, não houve relação de TLRs e  $\beta$ -defensina 5, com a ocorrência de infecções uterinas.

Palavras-chave: puerpério bovino; imunidade uterina

## ABSTRACT

Holstein females, from first to third lactation ( $n = 103$ ), were submitted to endometrial biopsies between six and 12 hours postpartum, in order to compare the gene expression of toll-like receptors (TLRs) 1/6, 2, 4 and 5, and  $\beta$ -defensin 5, in cows with or without uterine infection later. Animals were monitored until 42 days postpartum through rectal palpation, ultrasonography and vaginoscopy. The incidence of twin births, assisted births and retained placenta were 11.7%, 20.4% and 38.8%, respectively, and 64% of cows had metritis and/or endometritis. The uterine involution, the first detection of the corpus luteum and the first artificial insemination occurred, on average,  $33.5 \pm 11.1$ ,  $43.6 \pm 21.5$  and  $75.9 \pm 31.0$  days postpartum, with significant differences ( $P < 0.05$ ) between cows with or without uterine infection. The conception rate to first service was 20.7%. Milk production was, on average,  $27.9 \pm 7.3$  liters/day. Twenty pluriparous cows, ten with normal postpartum (group 1) and ten with retained placenta and uterine infection (group 2), were selected for gene expression studies through real-time PCR. The gene expression for all considered immune-mediated did not differ between groups. The uterine involution was correlated ( $P < 0.05$ ,  $r > 0.60$ ) to the expression of TLR4, however, no relationship was verified between uterine infections and TLRs and  $\beta$ -defensin 5.

Keywords: bovine puerperium; uterine immunity

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

Para atender a crescente demanda mundial de leite e seus derivados, a produtividade e o tamanho dos rebanhos leiteiros aumentaram consideravelmente. Essas mudanças implicaram em redução da eficiência reprodutiva, o que compromete o desempenho atual das indústrias de laticínios, uma vez que a produção de leite depende diretamente da capacidade da vaca se tornar gestante. As adaptações fisiológicas para a alta produção de leite e a elevada ocorrência de doenças puerperais estão diretamente relacionadas com a redução da fertilidade (Lucy, 2001).

Durante o parto, a abertura das barreiras anatômicas constituídas pela vulva, vagina e cérvix, possibilita a invasão do útero por bactérias ambientais, presentes nas fezes e na pele dos animais. Alterações nos mecanismos de defesa contribuem para a persistência de bactérias patogênicas e favorecem o estabelecimento de doenças. Nesses casos, modificações no ambiente uterino e atraso no retorno da atividade ovariana podem resultar em subfertilidade (Sheldon e Dobson, 2004; Földi et al. 2006; Sheldon, 2007; Sheldon et al. 2008, 2009)

O periparto das vacas de alta produção é caracterizado por diminuição da ingestão de alimentos e aumento súbito na demanda energética, imposta pelo início de lactação. As mudanças fisiológicas ocorridas nessa fase podem afetar o estado nutricional e o sistema imunológico, favorecendo o estabelecimento de doenças, como as infecções uterinas (Van Saun, 2000; Butler, 2006; Sordillo et al., 2009). Porém, por que algumas vacas submetidas ao mesmo nível de contaminação após o parto desenvolvem infecção uterina persistente, enquanto outras não? A competência do sistema imunológico pode ser a maior diferença entre esses animais (Lewis, 1997).

A detecção precoce de patógenos e a ativação da resposta imune adquirida são funções da imunidade inata, essencial para a proteção do hospedeiro (Werling e Coffey, 2007; Horne et al., 2008). Como em outros locais do organismo suscetíveis à invasão por patógenos, a imunidade inata é responsável pela primeira linha de defesa do endométrio (King et al., 2003; Sheldon e Dobson, 2004; Herath et al., 2006). A presença de imunoestimuladores na estrutura dos patógenos permite o seu reconhecimento por imunomediadores característicos do hospedeiro, como os receptores tipo *toll* (TLRs), importantes constituintes da imunidade inata, juntamente com peptídeos antimicrobianos naturais, por exemplo, as  $\beta$ -defensinas (King et al., 2003; Werling e Jungi, 2003).

A grande importância econômica da bovinocultura para a agropecuária e a alta incidência de doenças uterinas no pós-parto estimulam a realização de estudos que visam compreender os mecanismos moleculares envolvidos na imunidade inata do trato reprodutivo desses animais (Werling e Jungi, 2003; Herath et al., 2006, 2009). A expressão de TLRs e defensinas no endométrio de bovinos já foi relatada (Herath et al., 2006; Petzl, 2007; Davies et al., 2008; Chapwanya et al., 2009; Herath et al., 2009a), porém, não foi verificada relação com a ocorrência de doenças uterinas.

O presente estudo foi dividido em dois capítulos, sendo que no primeiro, o objetivo foi verificar as ocorrências de puerpério normal ou patológico em um rebanho de vacas da raça holandesa, e em seguida, comparar aspectos reprodutivos e produtivos desses animais. No segundo capítulo, o objetivo foi comparar os níveis de expressão gênica endometrial dos TLRs 1/6, 2, 4 e 5, e da  $\beta$ -defensina 5, após o parto, entre animais com ou sem sinais clínicos de infecção uterina no puerpério.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1. Período voluntário de espera**

O período voluntário de espera (PVE) é o tempo aguardado para inseminar a vaca após o parto e, geralmente, varia de 45 a 60 dias (Rocha e Carvalheira, 2002), com intervalos mais curtos (30 dias) ou mais longos (90 dias), dependendo da decisão do produtor (DeJarnette, 2007). A falta de controle sobre a fertilidade é estímulo para os produtores tornarem as vacas gestantes o mais rapidamente possível após o parto, porém, a baixa fertilidade nessa ocasião influencia na decisão de quando iniciar a reprodução (De Vries, 2007; Sartori, 2007).

Atualmente, acredita-se que o melhor momento esteja compreendido entre 80 e 100 dias após o parto. Em rebanhos de alta produção, o retorno econômico é maior quando o período de serviço (intervalo do parto à nova gestação) é de 105 dias para primíparas e 63 dias para pluríparas (De Vries, 2007). Além da ordem de parto, outros fatores como escore de condição corporal do animal, época do ano na qual ocorre o parto, média de produção da vaca, valor da reposição do rebanho e custo da inseminação, podem influenciar na decisão dos produtores quanto à duração do PVE (DeJarnette, 2007; De Vries, 2007).

### **2.2. Fertilidade das vacas após o parto**

A subfertilidade compreende qualquer condição relacionada com a dificuldade para estabelecer uma nova gestação após o término da involução uterina, que geralmente ocorre de 40 a 50 dias após o parto em vacas taurinas (Royal et al., 2000). A subfertilidade é um dos maiores desafios para os produtores de leite, uma vez que implica grandes perdas econômicas e é difícil de ser tratada (Royal et al., 2000; Fernandes et al., 2001; Leite et al., 2001).

A dificuldade para estabelecer nova gestação dentro do período de serviço planejado pode refletir anormalidades, tais como falhas de ovulação, estros silenciosos ou não observados, alteração na ciclicidade ovariana e mortalidade embrionária. Estas condições podem ser decorrentes de alterações no eixo hipotálamo-hipófise-ovário, no útero ou no desenvolvimento do embrião, o que dificulta o estabelecimento de um diagnóstico correto e um tratamento eficiente (Royal et al., 2000).

O baixo desempenho reprodutivo determina maior número de doses de sêmen por gestação, aumento de despesas com vacas secas, maior taxa de descarte, menor produção de leite e redução do número de bezerros. A eficiência reprodutiva é um dos componentes mais importantes na lucratividade dos sistemas de produção de leite (Leite et al., 2001). Recomenda-se utilizar um conjunto de indicadores ou parâmetros que traduzem o desempenho reprodutivo do rebanho (Rocha e Carvalheira, 2002). Erros nas anotações e decisões de manejo como o descarte de animais problema, além da adoção de terapias hormonais como rotina, podem alterar esses indicadores (Royal et al., 2000; Rocha e Carvalheira, 2002).

Entre os parâmetros reprodutivos mais importantes citados por Rocha e Carvalheira (2002), encontram-se:

- Intervalo do parto ao primeiro serviço: reflete a eficiência na detecção dos estros e o período de anestro após o parto, sendo que quanto maior for o período voluntário de espera, menor será o valor desse índice como indicador de anestro;
- Intervalo do parto à nova gestação (período de serviço ou dias em aberto): é considerado mais importante que o anterior, pois reflete indiretamente a fertilidade do rebanho. Quanto maior o número de serviços, maior será o seu valor;

- Taxa de gestação: é um dos índices reprodutivos mais confiáveis, pois se baseia no diagnóstico positivo da gestação;
- Número de serviços por concepção: é um bom indicador reprodutivo, pois avalia indiretamente a qualidade do sêmen, a técnica de inseminação e fatores associados à sanidade e fertilidade da fêmea.

Quando vacas e novilhas não se tornam gestantes ao primeiro serviço, ocorre um aumento substancial nos custos da atividade leiteira. Os custos totais relacionados com a ocorrência de transtornos reprodutivos como abortos, natimortos, distocias, retenção de placenta, infecções uterinas e consequente subfertilidade de vacas leiteiras de rebanhos dos EUA, foram estimados em aproximadamente 53 dólares por animal por ano. Esse valor foi seis vezes maior que os gastos com doenças respiratórias. A redução na fertilidade e na produção de leite, decorrentes de distocias e retenção de placenta, foram os fatores que mais contribuíram para os altos custos, pois implicaram em descarte dos animais na maioria das vezes (Bellows et al., 2002).

### **2.3. Monitoramento de vacas leiteiras de alta produção recém-paridas**

Vacas leiteiras de alta produção recém-paridas geralmente apresentam redução da ingestão de alimentos e depressão do sistema imunológico, tornando-se mais suscetíveis ao estabelecimento de doenças após o parto (Van Saun, 2000; Butler, 2006; Sordillo, 2009). Nessa fase, a identificação precoce do animal doente e a adoção de cuidados para promover a sua recuperação o mais rápido possível, são primordiais para minimizar as consequências da ocorrência de doenças puerperais (Smith e Risco, 2005). O controle das doenças do parto tem como objetivo melhorar a eficiência produtiva e reprodutiva do rebanho (Van Saun, 2000).

Na realidade dos sistemas de produção de leite, é difícil encontrar funcionários capazes de detectar animais na fase inicial das doenças, principalmente em fazendas com grande número de animais. Torna-se necessário então, adotar programas de monitoramento visando prevenir a ocorrência de doenças, e em segundo plano, detectá-las e tratá-las precocemente (Van Saun, 2000; Smith e Risco, 2005; Overton e Nydam, 2009).

A compreensão das alterações que ocorrem no metabolismo dos animais durante a gestação e durante o período de preparação para a nova lactação é primordial para estabelecer programas de prevenção para as afecções puerperais. As adaptações metabólicas ocorrem em todos os animais, inclusive naqueles que apresentam boa condição corporal. No entanto, estas alterações podem ser exacerbadas, principalmente nos casos de desequilíbrios na dieta, o que contribui para a depressão do sistema imunológico e consequente estabelecimento de doenças. Cuidados especiais devem ser tomados em relação à nutrição dos animais durante o parto, pois este fator está diretamente relacionado com a ocorrência de afecções puerperais e distúrbios produtivos e reprodutivos (Van Saun, 2000).

Os lotes de vacas recém-paridas devem ser monitorados por funcionários treinados, adotando-se protocolos com finalidades preventivas (utilização de fluidoterapia, suplementos de cálcio e probióticos) ou terapêuticas (Van Saun, 2000). Dentre os diversos parâmetros usados para monitorar a saúde de vacas recém-paridas, citam-se: avaliação da condição corporal, produção de leite diária, comportamento dos animais; exames de sangue, concentração de cetonas na urina ou no leite, avaliação ruminal e temperatura retal, que é o método mais utilizado (Smith e Risco, 2005).

Muitas fazendas adotam a avaliação da temperatura retal, no mínimo, dez dias após o parto. A febre pode ser detectada na presença de infecções uterinas após o parto e geralmente determina intervenções quanto ao manejo dos animais. Na presença de febre e outros sinais sistêmicos é necessário intervir com tratamentos de suporte (fluidoterapia, antipiréticos) e antibióticos específicos (Van Saun, 2000; Smith e Risco, 2005; Drillich et al., 2003; 2006a; 2006b; Benzaquen et al., 2007). A média de temperatura considerada normal para os animais varia de acordo com o estado de saúde, idade, raça, estação do ano, horário do dia, entre outros fatores (Smith e Risco, 2005). A temperatura de 39,5°C é considerada como limite superior para animais sadios (Van Saun, 2000).

Quanto ao escore de condição corporal (ECC), trata-se de um método de avaliação não-invasivo, subjetivo e rápido, e amplamente utilizado para estimar a quantidade de gordura de um animal. O ECC é baseado na observação visual e tátil da gordura armazenada nas regiões caudal e dorsal, sendo atribuída pontuação específica a partir de uma escala numérica (Edmonson et al., 1989; Waltner et al., 1993).

Variados parâmetros e escalas de pontuação foram criados para a avaliação da condição corporal de vacas leiteiras, dificultando a interpretação dos resultados de diferentes estudos. Criou-se então, um método específico para vacas da raça holandesa, baseado numa escala de 1 a 5, na qual 1 equivale a uma vaca muito magra e 5, a um animal obeso (Edmonson et al., 1989).

Ao parto, vacas leiteiras de alta produção devem apresentar reservas de tecido em quantidade suficiente para atender a demanda de energia e proteína necessárias para a produção de leite durante o pico da lactação. A condição corporal ideal é aquela que favorece maior produção de leite, minimiza os transtornos de saúde e

distúrbios reprodutivos e maximiza o retorno econômico para o produtor (Gearhart et al., 1990).

Recomenda-se que o ECC ao parto seja de 3,0 a 3,5. A obesidade (ECC maior ou igual a 4,0) aumenta o risco de ocorrência de distúrbios metabólicos (Butler, 2006), e a perda de peso no início da lactação está relacionada com queda na produção de leite. Vacas obesas tendem a ingerir menor quantidade de alimentos no pós-parto e a apresentar redução da condição corporal mais acentuada (Waltner et al., 1993).

A condição corporal tem relação direta com a saúde das vacas leiteiras. Vacas obesas à secagem apresentam maior risco de desenvolver problemas relacionados com a reprodução, além de apresentarem mais alterações no aparelho locomotor (Gearhart et al., 1990). Ao entender a relação biológica existente entre o ECC e a saúde das vacas, avaliada indiretamente pela produção de leite e condição reprodutiva, os produtores são capazes de tomar decisões com o objetivo de aumentar a eficiência de práticas de manejo como a alimentação do rebanho (Britt, 1992; Waltner et al., 1993).

#### **2.4. Aspectos fisiológicos do puerpério**

O puerpério compreende o período entre o parto e o aparecimento do primeiro estro compatível com o estabelecimento de uma nova gestação (Marques Júnior, 1993; Horta, 1995). Didaticamente, é dividido em três fases, sendo que no puerpério precoce ou primeira fase, a hipófise encontra-se refratária ao hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), o que ocorre do dia zero ao dia 14 após o parto. A segunda fase, intermediária, inclui o período de sensibilidade da hipófise ao GnRH até a ocorrência da primeira ovulação. A terceira fase, pós-ovulatória, termina com a involução uterina completa e abrange período variável dependendo das condições fisiológicas do animal (Olson et al., 1986).

A vida útil de uma vaca está diretamente relacionada à ocorrência desses eventos. Quanto mais rápido é o retorno desses animais à reprodução, maior é a chance de ocorrer uma nova gestação dentro de 90 dias após o parto, a ponto de viabilizar um intervalo de partos de 12 meses, como almejado por todos os sistemas de produção de bovinos. O aumento na produção de leite e no número de bezerros nascidos por ano permite maior retorno financeiro para o produtor (Peters, 1984; Marques Júnior, 1993; Horta, 1995; Fernandes et al., 2001; Bellows et al., 2002; Kask et al., 2003; Sartori, 2007).

#### **2.4.1. Involução uterina**

Entre os animais domésticos, a involução uterina das vacas é a mais estudada (McEntee, 1990). Na literatura internacional, Rasbeck (1950), citado por Johanns (1967), é mencionado como um dos pioneiros no estudo da involução uterina dessa espécie, estabelecendo os primeiros parâmetros para a avaliação do útero de vacas da raça holandesa no pós-parto. Na literatura nacional, Araújo et al. (1974) foram os primeiros a obterem informações sobre a dinâmica da involução uterina, trabalhando com vacas mestiças holandesa x Zebu.

Na maioria dos estudos, o período de involução uterina das vacas foi determinado através da palpação retal, tendo como parâmetros a posição do útero em relação à pelve, a medida do comprimento e do diâmetro dos cornos, o retorno do tônus e da consistência uterina normal, além das características do muco cervical (Buch et al., 1955; Jana e Mishra, 1978; Zain et al. 1995; Lopes, 2007). A partir da década de 80, a ultrassonografia por via transretal passou a ser utilizada na prática, como um exame complementar para avaliação dos órgãos reprodutores de bovinos, facilitando a interpretação dos achados e o diagnóstico de possíveis patologias (Rajamahendran et

al., 1994). O uso dessa ferramenta como auxílio diagnóstico permite verificar com maior precisão a presença de conteúdo líquido no interior do útero e a completa regressão do diâmetro dos cornos uterinos durante o puerpério (Rajamahendran et al., 1994; Zain et al., 1995; Kask et al., 2003; Sheldon et al., 2003; Simões et al., 2008).

A involução uterina completa é caracterizada pela ocorrência simultânea de redução do tamanho dos cornos, perda tecidual, reepitelização, diminuição do conteúdo uterino e contração do tecido muscular da cérvix (McEntee, 1990). Através da ultrassonografia, verifica-se a ocorrência desse quadro após o retorno do útero à cavidade pélvica, com restauração da forma, ausência de conteúdo e redução máxima do diâmetro do corno anteriormente gestante (Kamimura et al., 1993; Zain et al., 1995; Kask et al. 2003; Sheldon et al., 2003). É difícil comparar os resultados de estudos sobre involução uterina, verificando-se diferentes períodos de involução de acordo com o sistema de produção, localização dos rebanhos e características dos animais (Tabela 1).

A involução inicial do útero é relativamente lenta e se deve à vasoconstrição e contrações peristálticas, presentes até o terceiro dia após o parto, promovendo a redução das fibras musculares. A redução do tamanho do útero é mais rápida entre o quinto e o 15º dia após o parto, mais lenta até os 30 dias e entre 40 e 50 dias é imperceptível, sendo que nesse período a involução geralmente encontra-se completa (Gier e Marion, 1968). Araújo et al. (1974) verificaram que o útero involui rapidamente entre 10 e 30 dias e lentamente entre 40 e 50 dias após o parto. Observações semelhantes ocorreram no estudo de Kocamuftuoglu e Vural (2008), que verificaram involução mais rápida do útero entre 20 e 30 dias após o parto e mais lenta entre 30 e 40 dias, em animais que tiveram puerpério patológico ou não.

Tabela 1. Período de involução uterina de vacas leiteiras, em diferentes estudos

<i>Referências</i>	<i>n</i>	<i>Local</i>	<i>Raça</i>	<i>Involução uterina</i>
Buch et al., 1955	323 (252 + 71) <sup>2</sup>	Wiscosin, EUA	<i>Holstein-Friesian</i>	42 e 50 dias <sup>1</sup> (48 e 56 dias) <sup>2</sup>
Menge et al., 1962	229	Wiscosin, EUA	<i>Holstein-Friesian</i>	42,3 dias <sup>3</sup>
Gier e Marion, 1968	57	Manhattan, EUA	Vacas leiteiras de diversas raças	50 dias <sup>3</sup>
Araújo et al., 1974	160	RJ, Brasil	Vacas leiteiras mestiças	24,5 e 28,3 dias <sup>1</sup>
Jana e Mishra, 1978	190 (148 + 42) <sup>2</sup>	Haryana, Índia	Puras (Taurinas e Zebuínas) e mestiças	32,61 ± 0,49 e 36,94 ± 0,52 dias (45,17 ± 0,65 dias) <sup>4</sup>
Lara, 1985	151	MG, Brasil	Vacas leiteiras mestiças	28,2±5,2 e 31,7 ± 5,7 dias <sup>1</sup>
Kamimura et al., 1993	40	Hokkaido, Japão	Holandesas	41,5 ± 5,8 dias <sup>3</sup>
Zain et al., 1995	72	Hokkaido, Japão	<i>Holstein-Friesian</i>	30,8 ± 0,8 e 35,5 ± 0,9 dias <sup>1</sup>
Kozicki et al., 1998	18	PR, Brasil	Holandesas	24,1 ± 8,1 dias <sup>3</sup>
Lopes, 2007	24	GO, Brasil	Holandesas	40,33 dias <sup>3</sup>

1. Referente a primíparas e pluríparas, respectivamente

2. Referente a animais com ausência ou presença de infecção uterina, respectivamente

3. Referente à média dos animais que não apresentaram infecção uterina

4. Referente à média dos animais que apresentaram infecção uterina

O peso médio do útero sofre redução de 9 kg, logo após o parto, para 1 kg aos 30 dias, e 750 g aos 50 dias (Gier e Marion, 1968). Na avaliação da involução uterina de vacas da raça holandesa abatidas no puerpério, verificou-se que o peso médio do útero sem a cérvix foi, em média, de 7 kg dois dias após o parto; 3,5 kg no quarto dia; 800 g no 15º dia e 500 g no 30º dia (McEntee, 1990). Observa-se grande correlação entre os diâmetros da cérvix e dos cornos uterinos (Caravajal, 1989). Até duas semanas após o parto, o diâmetro dos cornos é maior que o da cérvix. Aos 15 dias, ambos apresentam aproximadamente 7 cm de diâmetro, e após esse período, o útero involui mais

rapidamente que a cérvix (Morrow, 1980). No trabalho de Gier e Marion (1968), o diâmetro da cérvix reduziu de 15 cm para 5 cm entre dois e 60 dias após o parto.

Na primeira semana após o parto, o útero permanece na cavidade abdominal. Os cornos uterinos encontram-se assimétricos, com paredes espessadas e com presença de líquido no seu interior. Ao final da segunda semana, o útero retorna à cavidade pélvica, apresentando acentuada redução de volume e consistência firme. A partir de 10 a 15 dias após o parto é possível contornar toda a superfície do útero. Entre 30 e 40 dias, o útero encontra-se completamente involuído



(Buch et al., 1955; Jana e Mishra, 1978; Lara, 1985; Zain et al., 1995; Lopes, 2007).

A involução do corno previamente gestante é mais rápida que a do não gestante (Gier e Marion, 1968; Jana e Mishra, 1978; Caravajal, 1989; Sheldon et al., 2002), e sua parede permanece mais espessa, mesmo após a involução completa (Gier e Marion, 1968; Morrow et al., 1969; Lara, 1985). Aos 60 dias ainda é possível notar diferença na espessura da parede e no diâmetro dos cornos uterinos (Albuquerque, 1985).

Restos de fragmentos teciduais, sangue e fluidos provenientes de hemorragias no endométrio, constituem a descarga de lóquio observada principalmente durante os dez primeiros dias após o parto (Marques Júnior, 1988). O volume de fluido intra-uterino pode variar de 1500 mL para 500 mL e posteriormente 75 mL, durante o primeiro, oitavo e 21º dias após o parto, respectivamente. A perda de tecido uterino pode ser verificada até o 19º dia pós-parto e consiste em reorganizações estruturais, redução de vasos sanguíneos, regressão de glândulas uterinas e contração do miométrio (Gier e Marion, 1968). No estudo conduzido por McEntee (1990), o volume do conteúdo uterino variou de 1000 mL para 165 mL durante os primeiros nove dias após o parto. Pouco conteúdo foi encontrado a partir de 12 dias.

O conteúdo uterino pode ser expelido normalmente até a terceira semana após o parto, sendo que a característica do fluido é importante para avaliar os estágios da involução uterina (Morrow, 1980; Mateus et al., 2002). Até dois dias pós-parto o fluido apresenta aspecto serosanguinolento, sendo que porções de tecidos e quantidades variáveis de sangue podem ser observadas por causa da degeneração do tecido caruncular (Morrow, 1980).

O fluido uterino de vacas sadias apresenta coloração inicialmente vermelha brilhante

e, posteriormente, marrom escuro, sem odor. Se a involução estiver atrasada, observa-se coloração escura juntamente com áreas esbranquiçadas, além de odor fétido (Morrow, 1980, McEntee, 1990; LeBlanc et al., 2002a; Sheldon e Dobson, 2004). Algumas vacas podem continuar a expelir fluidos anormalmente depois da terceira semana após o parto (Morrow, 1980; García-Ispierto et al., 2007; Kocamuftuoglu e Vural; 2008).

Juntamente com a inspeção da secreção cérvico-vaginal e palpação transretal, a ultrassonografia pode ser útil para diferenciar a involução uterina normal da atrasada (Rajamahendran et al., 1994; Zain et al., 1995; Kask et al., 2003; Sheldon et al., 2003; Simões et al., 2008). No processo de involução uterina normal, pode ser observada pequena quantidade de líquido no interior do útero, nem sempre perceptível à palpação retal, no período entre a fase final de eliminação do lóquio até o final do processo de involução uterina, cerca de quatro semanas após o parto. No exame ultrassonográfico, esse fluido é visualizado como pequenas áreas anecogênicas (escuras) no interior dos cornos (Kahn e Leidl, 1989).

A involução uterina das vacas pode ser afetada por diversos fatores, sendo que os mais estudados são ordem de parto, idade das vacas e ocorrência de afecções puerperais. Quanto à ordem de parto e idade das vacas, verifica-se que as primíparas apresentam regressão uterina significativamente mais rápida que as pluríparas (Buch et al., 1955; Araújo et al., 1974; Jana e Mishra, 1978; Lara, 1985; Zain et al., 1995). Esses achados são atribuídos à idade mais elevada das pluríparas e ao maior número de partições. Observa-se que a involução é mais lenta em vacas com mais de seis anos de idade (Araújo et al, 1974). Essas alterações são decorrentes de alterações fisiológicas ocorridas no útero de animais mais velhos,

que incluem fibrose, relaxamento das células musculares e dos ligamentos de sustentação desse órgão, com consequente diminuição da contratilidade durante o processo de involução (LeBlanc et al., 1995; LeBlanc et al., 1998).

O útero de vacas que apresentam complicações durante o puerpério, como retenção de placenta e doenças metabólicas, involui mais lentamente que o de vacas com parto normal. Isso se deve às alterações nos mecanismos de defesa, que favorecem o estabelecimento de infecções uterinas e diminuem a velocidade da involução em animais com puerpério patológico (Buch et al., 1955; Gier e Marion, 1968; Jana e Mishra, 1975; Mateus et al., 2002; Sheldon, 2007; Senosy et al., 2009).

A atividade ovariana exerce importante papel no período pós-parto, porém não há relação entre involução uterina e o retorno da atividade ovariana luteal cíclica (RAOLC) após o parto (Menge et al., 1962, Araújo et al., 1974). O período de involução uterina não é afetado pela ausência da atividade ovariana, já que se verifica involução clínica e histológica do útero antes do RAOLC (Paisley et al., 1986). Porém, quanto mais precoce é o estro de animais que apresentam puerpério normal, mais rápida será a involução uterina, visto que o estrógeno potencializa a defesa imunológica do útero, promove maior irrigação e atração de células de defesa, favorece a produção de muco e a abertura do cérvix, ajudando na limpeza do lúmen uterino (Horta, 1995).

#### **2.4.2. Retorno da atividade ovariana luteal cíclica**

Após o parto, os elevados níveis de hormônios produzidos ao final da gestação, inibem a liberação de gonadotropinas e determinam supressão da atividade ovariana. Para ocorrer a primeira ovulação e o retorno dos ciclos estrais, deve ser

restabelecida a secreção de hormônio luteinizante (LH) necessária para maturação final do folículo (Butler, 2006).

O balanço energético negativo (BEN) é um dos principais fatores que influencia no RAOLC (Britt, 1992; De Vries e Veerkamp, 2000; Butler, 2006; Sheldon et al., 2008). Isso se deve ao atraso no aumento dos pulsos de gonadotropinas a partir das condições de hipoglicemia, hipoinsulinemia e altos níveis de ácidos graxos não esterificados (AGNEs). Baixas concentrações de insulina também estão relacionadas com a baixa produção de fator semelhante à insulina tipo 1 (IGF-I), reduzindo a resposta dos ovários às gonadotropinas (Butler, 2006). No estudo de Vries e Veerkamp (2000), verificou-se que o auge do balanço energético negativo coincidiu com o atraso no RAOLC.

Em rebanhos bem manejados, a maioria das vacas apresentam RAOLC entre duas e quatro semanas depois do parto. Vacas que apresentam transtornos no parto e BEN mais grave geralmente demoram mais para retornar à ciclicidade. Portanto, é importante minimizar a ocorrência de transtornos puerperais e favorecer a máxima ingestão de alimentos para obter maior número de animais com RAOLC mais rápido depois do parto (Britt, 1992; Butler, 2006; Sheldon et al., 2008).

Uma das estratégias de manejo utilizadas para estimular o consumo de ingestão de matéria seca pelas vacas paridas consiste em fornecer alimentação fresca várias vezes ao dia. O aumento do consumo implica maior produção de leite e menor intervalo do parto à primeira ovulação (Stevenson, 2006). Porém, é difícil avaliar os efeitos da nutrição na reprodução de vacas leiteiras por causa dos diferentes níveis de produção (Diskin et al., 2003).

A proporção de vacas que apresentaram RAOLC em seis semanas após o parto é um

bom indicador da nutrição adequada de um rebanho. Se essa taxa ultrapassa 25%, a dieta dos animais deve ser examinada com cuidado, visando aumentar a oferta de alimentos frescos, aumento da ingestão de alimentos e minimizar o BEN. Atenção especial deve ser tomada em relação às primíparas, uma vez que esses animais necessitam de mais cuidados que as plúriparas em relação à nutrição após o parto, pois ainda se encontram em fase de crescimento (Britt, 1992).

Em torno de 26% das primíparas e 19% das plúriparas encontravam-se em anestro ao final do período voluntário de espera em um estudo conduzido por Stevenson (2006). Esses animais apresentaram menor taxa de gestação e demoraram mais tempo para se tornarem gestantes que os animais cujo RAOLC ocorreu mais rapidamente.

A extensão do BEN controla o momento da primeira ovulação pós-parto ao influenciar no destino do primeiro folículo dominante (Butler, 2006). As falhas na ovulação do primeiro folículo dominante estão entre os principais fatores responsáveis pelo atraso no RAOLC após o parto (Diskin et al., 2003). O primeiro folículo dominante surge a partir da primeira semana pós-parto e seu destino pode ser: ovulação, atresia, encistamento ou formação de um folículo persistente (Sheldon et al., 2002; Butler, 2006). Nos casos de atresia ou encistamento do primeiro folículo dominante, pode ocorrer um atraso de três a quatro semanas para a primeira ovulação (Butler, 2006).

O volume do corpo lúteo formado após primeira ovulação no pós-parto, geralmente, é menor que o das ovulações subsequentes. A produção de progesterona circulante também é menor, e esse pode ser um dos fatores que contribuem para o atraso no retorno da ciclicidade normal das vacas no pós-parto, uma vez que esse corpo lúteo é destruído mais rapidamente (Kamimura et al., 1993).

Além do RAOLC e da capacidade de apresentar um corpo lúteo apto a secretar progesterona em quantidade suficiente para manter uma nova gestação, o ideal é que as vacas sejam capazes de manifestar o estro (Royal et al., 2000). A incidência de animais que ovulam, mas não manifestam sinais de estro após o parto geralmente é muito elevada. No estudo de Lara (1985), 63,9% das vacas recém-paridas tiveram a primeira ovulação precedida de estro silencioso e 10,3% apresentaram estros de curta duração.

Quando a subfertilidade de um rebanho está relacionada com o atraso no RAOLC, três abordagens terapêuticas podem ser utilizadas, visando minimizar o problema a curto, médio ou longo prazo: tratamentos hormonais, nutrição e seleção dos animais, respectivamente (Royal et al., 2000).

## **2.5. Aspectos patológicos do puerpério**

A ocorrência de doenças puerperais é mais frequente em rebanhos leiteiros de alta produção e geralmente coincide com o período de balanço energético negativo, que tem início algumas semanas antes do parto. Essas afecções podem estar relacionadas com a redução da eficiência reprodutiva (Leite et al. 2001; Butler, 2006).

No estudo de Leite et al. (2001) em rebanhos da raça holandesa, foi observada alta incidência de transtornos puerperais, presentes em 48,1% das gestações avaliadas. As ocorrências mais comuns foram: abortos, natimortos, retenção de placenta, distocias e mastites. Esse achado foi atribuído a falhas de manejo, sendo encontradas dificuldades para alcançar bons índices produtivos e reprodutivos.

### **2.5.1. Retenção de placenta**

A retenção de placenta é um dos distúrbios mais frequentes no pós-parto (Paisley et al., 1986; Fernandes et al., 2001; Leite et al.,

2001; Smith e Risco, 2005) e pode apresentar diferentes definições de acordo com vários estudos realizados (VanWerven et al., 1992; Wiltbank, 2008). A maioria dos autores considera como retenção de placenta a não expulsão dos anexos fetais no intervalo de 12 horas (Lara, 1985; Santos, 1996; Santos et al., 2002; Scheid Filho et al., 2007; García-Ispuerto, 2007) a 24 horas após o parto (Joosten et al., 1987; Gearhart et al., 1990; Kaneko et al., 1997; Koivisto et al., 2001; Drillich et al., 2003; Kim e Kang, 2003; Han e Kim, 2005; Drillich et al., 2006a; Drillich et al., 2006b; Benzaquen et al., 2007).

A maioria dos casos de retenção de placenta em bovinos é decorrente de alterações nos processos de separação/liberação dos anexos fetais, devido ao não reconhecimento dos mesmos como “corpos estranhos” pelo sistema imunológico materno. Somente 2% das vacas apresentam falhas nos mecanismos de expulsão da placenta, como inércia do miométrio após o parto (Grunert, 1980; Horta, 1994).

De acordo com Wiltbank (2008), algumas condições associadas a alterações na liberação normal dos placentomas, são:

- Endocruzamentos ou consanguinidade: semelhança do complexo de histocompatibilidade maior da classe I (MHC-I) entre a mãe e o feto;
- Adiantamento do parto: a indução do parto com prostaglandina F<sub>2α</sub> implica regressão precoce do corpo lúteo e impede a elevação da concentração de cortisol. Como consequência, não ocorre migração de células binucleadas do tecido fetal para o materno, o que interfere no processo de expulsão da placenta;
- Aumento do estresse antes do parto: a elevação dos níveis de cortisol materno pode suprimir a resposta imunológica;
- Baixos níveis de selênio e vitamina E: também estão relacionados com a depressão da resposta imunológica.

Vários fatores de risco podem estar relacionados com o aumento das ocorrências de retenção de placenta, os mais citados são:

- Partos distócicos (Joosten et al., 1987; Correa et al., 1993; Koivisto et al., 2001, Han e Kim, 2005);
- Gestações gemelares (Larson et al., 1985; Joosten et al., 1987; Correa et al., 1993; Laven e Peters, 1996; López-Gatius et al., 2002; Han e Kim, 2005);
- Natimortos (Larson et al., 1985; Joosten et al., 1987; Correa et al., 1993);
- Ordem de parto (Larson et al., 1985; Joosten et al., 1987; Markusfeld et al., 1987; Van Werven et al., 1992; Santos et al., 2002);
- Nutrição inadequada no pré-parto (Laven e Peters, 1996);
- Gestações de curta duração (DuBois e Willians, 1980; Joosten et al., 1987; Laven e Peters, 1996; Königsson et al., 2001; Han e Kim, 2005);
- Abortos (Larson et al., 1985; Joosten et al., 1987);
- Estações mais quentes do ano (DuBois e Willians, 1980; Larson et al., 1985; Joosten et al., 1991; Laven e Peters, 1996).

Alguns fatores, como deficiência de vitamina E e selênio na dieta (Laven e Peters, 1996), sexo da cria (Larson et al., 1985; Joosten et al., 1987) e escore de condição corporal (Markusfeld et al., 1987; Santos, 1996; Santos et al., 2002), são controversos. De acordo com Wiltbank (2008), somente 33% dos casos de retenção de placenta estão relacionados com fatores de risco. Partos normais também podem implicar em altos índices de retenção.

Os fatores responsáveis pela ocorrência de retenção de placenta variam entre propriedades. A significância de cada fator em determinado rebanho é difícil de ser estimada, portanto, a prevenção se limita a medidas gerais como nutrição adequada e diminuição do estresse no periparto (Laven e Peters, 1996).

A taxa de mortalidade resultante dessa patologia é baixa, variando de 1 a 4% (Fernandes et al., 2001). Efeitos prejudiciais como atraso na involução uterina e no retorno da atividade ovariana luteal cíclica, redução acentuada da condição corporal, aumento na incidência de infecções uterinas e no número de serviços por concepção são mais comuns (Van Werven et al., 1992).

A influência sobre o período de involução uterina é decorrente da permanência da placenta no útero por tempo prolongado após o parto, seguida de putrefação e liquefação, favorecendo o aumento da multiplicação bacteriana. Esses fatores interferem na contratilidade uterina e permitem o acúmulo de fluidos (Dohmen et al., 2000; Fernandes et al., 2001; Königsson et al., 2001). O estabelecimento secundário de infecções causa febre, desconforto e redução na ingestão de alimentos. A eliminação de secreções uterinas pelos animais acometidos piora a higiene das instalações, o que é desfavorável para a produção de leite e saúde geral do rebanho (Königsson et al., 2001).

Apesar da retenção de placenta ser considerada como principal fator predisponente para a ocorrência de infecções uterinas, ainda existem controvérsias em relação ao efeito direto dessa enfermidade sobre o desempenho reprodutivo e produtivo (Van Werven et al., 1992; Laven e Peters, 1996; Königsson et al., 2001). A elevada incidência de infecções uterinas em animais com retenção de placenta sugere que a queda do desempenho reprodutivo se deve ao efeito secundário do processo infeccioso (Han e Kim, 2005).

Outra consequência da retenção de placenta é a queda na produção de leite, relacionada com o descarte do leite de animais tratados e à menor produtividade de animais que apresentam a afecção, principalmente quando ocorre o estabelecimento de quadros de metrite moderados ou graves

(Roberts, 1986). A redução na ingestão de alimentos e a queda na produção de leite podem ocorrer em 55 a 65% dos animais acometidos (Fernandes et al., 2001).

A incidência de retenção de placenta pode variar de 1 a 50% entre diferentes propriedades (Wiltbank, 2008). Essas variações são atribuídas aos diversos tipos de sistemas de produção, diferentes definições quanto ao tempo de retenção (Van Werven et al., 1992; Laven e Peters, 1996) e às diferentes faixas de temperatura ambiente entre regiões ou países (Han e Kim, 2005).

A incidência de retenção de placenta em um rebanho normal varia de 2 a 5%, porém essa taxa é maior nos locais onde as incidências de partos gemelares e partos distócicos são elevadas (Sheldon et al., 2008). Dependendo do período considerado como retenção de placenta, a incidência pode variar de 11,9% (maior que 71 horas) a 34,2% (maior que seis horas) (Van Werven et al., 1992). No estudo de Han e Kim (2005), a incidência variou de 8,3 a 28,1% em diferentes rebanhos.

De acordo com Van Werven et al. (1992), a incidência de retenção diminui com o prolongamento do intervalo considerado como limite para expulsão após o parto e aumenta com a ordem de partos:

- Intervalo maior que seis horas: primíparas, 27,1%; vacas de segunda e terceira ordens de parto, 32,9%; animais com mais de três partos, 41,3%;
- Intervalo maior que 12 horas: primíparas, 10,1%; vacas de segunda e terceira ordens de parto, 19,5%; animais com mais de três partos, 28,1%;
- Intervalo maior que 23 horas: primíparas, 7,6%; vacas de segunda e terceira ordens de parto, 17,0%; animais com mais de três partos, 18,3%.

A utilização de antibioticoterapia sistêmica é indicada para todos os animais que

apresentam retenção de placenta, principalmente nos casos seguidos de elevação da temperatura retal (Sheldon e Dobson, 2004; Sheldon et al., 2006; Drillich et al., 2006a; Wiltbank, 2008). Sinais clínicos como febre, indicam associação entre retenção de placenta e metrite puerperal aguda (Laven e Peters, 1996). A utilização de antibioticoterapia não tem efeito direto sobre a liberação da placenta, mas previne a ocorrência de infecções secundárias e permite a manutenção do apetite, minimizando o BEN e o impacto na produção e na reprodução (Königsson et al., 2001).

Outros tipos de tratamento adotados para a retenção de placenta são ineficazes, pois podem retardar a liberação dos placentomas. As infusões intra-uterinas de antibióticos e a remoção manual da placenta são traumatizantes e inibem a fagocitose local, necessária para promover o descolamento da placenta e a remoção da contaminação. Os medicamentos utilizados nas terapias intra-uterinas são ineficazes por causa da natureza do ambiente uterino após o parto, dos tipos de microrganismos presentes e das características das drogas (Paisley et al., 1986).

### **2.5.2. Infecções uterinas**

Infecção uterina é um termo generalista, uma vez que os critérios utilizados para diagnosticar e classificar os diferentes tipos de infecções uterinas variam entre os pesquisadores (Lewis, 1997). Muitos estudos não descrevem os critérios utilizados para diagnosticar e classificar as infecções uterinas, o que dificulta a comparação e a interpretação dos dados (Lewis, 1997; Gautam et al., 2010). Atualmente, as definições dos diversos tipos de infecções uterinas são baseadas nos sinais clínicos apresentados pelos animais e geralmente seguem o modelo proposto por Sheldon et al. (2006).

### *Metrites*

Histologicamente, a metrite implica inflamação de todas as camadas do útero (Lewis, 1997; Bondurant, 1999). Quadros de metrite podem ocorrer até 21 dias após o parto e são divididos em metrite puerperal aguda e metrite clínica.

A metrite puerperal aguda geralmente está associada à retenção de placenta, distocias, natimortos ou gestações gemelares, tem início na primeira semana e pode persistir até o final da segunda semana após o parto. Na maioria das vezes, é caracterizada pelo aumento de volume anormal do útero, presença de secreção cérvico-vaginal com aspecto sanguinopurulento e odor fétido, além da manifestação de sinais sistêmicos, como apatia, desidratação, queda na produção de leite e febre (temperatura retal  $>39,5^{\circ}\text{C}$ ) (Sheldon et al., 2006).

A metrite clínica ocorre, geralmente, entre 14 e 21 dias após o parto, e pode ser detectada pelo aumento de volume anormal do útero, presença de secreção purulenta (conteúdo com mais de 50% de pus) e ausência de sinais sistêmicos (Sheldon et al., 2006).

### *Endometrites*

Em torno de 15% dos animais com infecção uterina prolongada após o parto apresentam sinais clínicos de endometrite devido à persistência de bactérias patogênicas no útero por mais de três semanas após o parto (Sheldon, 2007). Histologicamente, a endometrite é definida como inflamação das camadas superficiais do endométrio, que não se estendem além do estrato esponjoso (Correa et al., 1993; Lewis, 1997; Bondurant, 1999). São observadas alterações na superfície do epitélio uterino, com infiltração de células inflamatórias e congestão vascular, relacionadas com o atraso na involução uterina (Sheldon e Dobson, 2004).

A endometrite pode ocorrer nas formas clínica ou subclínica. No primeiro caso, é caracterizada pela eliminação de secreção cérvico-vaginal purulenta pela vulva além de 21 dias após o parto, ou presença de conteúdo mucopurulento (em torno de 50% de muco e 50% de pus) na vagina além de 26 dias após o parto, sem sinais sistêmicos (Sheldon et al., 2006). Apesar da sua relevância, a endometrite subclínica geralmente não é detectada, devido à ausência de sinais clínicos como eliminação de secreções pela vagina (Sheldon et al., 2008, 2009). A endometrite subclínica pode ser identificada por meio da contagem de neutrófilos presentes no conteúdo uterino a partir da técnica de citologia. Animais com mais de 18% de neutrófilos entre 21 e 33 dias após o parto, ou mais de 10% de neutrófilos entre 34 e 47 dias após o parto, apresentam endometrite subclínica (Sheldon et al., 2006).

Alguns autores classificam a endometrite em diferentes graus de severidade, dependendo do aspecto da secreção observada na vagina a partir de 21 dias após o parto. Gautam et al. (2010), por exemplo, classificou os quadros de endometrite em 1 (muco claro com estriações de pus), 2 (mucopurulento), 3 (secreção purulenta) e 4 (presença de secreção mucopurulenta ou purulenta na vagina e presença de conteúdo uterino perceptível à palpação transretal), sendo que quanto maior o grau de classificação, mais grave foi o processo infeccioso, o que influenciou diretamente na recuperação espontânea ou persistência do quadro.

#### *Piometra*

A piometra implica retenção de conteúdo purulento ou mucopurulento no útero, que pode apresentar ou não aumento de volume, na presença de um corpo lúteo funcional e cérvix fechada (Sheldon et al., 2006), geralmente sem manifestação de sinais sistêmicos (Lewis, 1997).

#### *Etiopatogenia das infecções uterinas*

O ambiente uterino após o parto permite a rápida multiplicação de uma grande variedade de bactérias aeróbicas e anaeróbicas, sendo que a maioria é removida pelos mecanismos de defesa locais. O estabelecimento de um processo infeccioso tem relação com a presença inicial de *Escherichia coli* e posteriormente, com a interação entre *Arcanobacterium pyogenes*, *Fusobacterium necrophorum* e *Prevotella melaninogenica* (Bondurant, 1999; Sheldon, 2007; Sheldon et al., 2008). Essas bactérias são reconhecidamente patogênicas e estão relacionadas com o grau de inflamação do endométrio e gravidade dos quadros de infecção uterina (Willians et al., 2005).

Apesar da gravidade da endometrite depender da patogenicidade das bactérias presentes no útero, o estabelecimento e a persistência da infecção são influenciados pelo ambiente uterino, fatores genéticos, além das imunidades inata e adquirida (Willians et al., 2007). A expressão dos sinais clínicos depende da interação entre resposta imunológica, quantidade e patogenicidade dos agentes microbianos, além da condição do ambiente uterino (Azawi, 2008). Cerca 40% dos animais mantidos em sistemas intensivos de produção de leite podem apresentar metrite nas três primeiras semanas após o parto, sendo que a doença persiste na forma de endometrite clínica em até 20% dos animais (Sheldon et al., 2008, 2009).

#### *Fatores de risco para as infecções uterinas*

Microrganismos patogênicos isolados do conteúdo uterino contaminado geralmente são provenientes do ambiente e são capazes de infectar outros tecidos e órgãos. Portanto, as infecções uterinas são classificadas como inespecíficas. Apesar da inespecificidade, vários artigos científicos associam as infecções a determinados

fatores de risco, que nem sempre são claros (Lewis, 1997).

Os casos de retenção de placenta e distocias são considerados como os principais fatores de risco para o estabelecimento de infecções uterinas (Erb e Martin, 1980; Curtis et al., 1985; Correa et al. 1993; Lewis, 1997; Sheldon et al., 2006; Benzaquen et al., 2007; Bell e Roberts, 2007). Partos gemelares, ordem de parto (pluríparas), abortos e curtos períodos de gestação são também importantes fatores de risco para infecções uterinas (Kim e Kang, 2003; Bell e Roberts, 2007).

As alterações metabólicas e o manejo nutricional deficiente também podem ser associados às infecções uterinas. Já foi relatado que o deslocamento de abomaso (Curtis et al., 1985; Correa et al. 1993), a hipocalcemia e a cetose (Erb e Martin, 1980; Correa et al., 1993; Kim e Kang, 2003; Sheldon, 2007) estão relacionados com o desenvolvimento de processos infecciosos após o parto. No estudo de Bell e Roberts (2007), a baixa ingestão diária de matéria seca durante os primeiros 100 dias de lactação implicaram em aumento da incidência de infecção uterina. Outros fatores relacionados com as infecções uterinas podem ser o ECC (Gearhart et al., 1990) e as estações mais quentes do ano (Gautam et al., 2010).

A persistência da endometrite clínica além do período voluntário de espera pode ser decorrente da presença de estresse calórico e complicações puerperais, que levam à depressão da resposta imunológica e atraso no processo de limpeza do útero. Casos de urovagina e quadros de endometrite graves durante o puerpério também estão relacionados com a persistência da endometrite. Já a ocorrência de novos casos de endometrite além do período voluntário de espera pode ter relação com transtornos puerperais e outros fatores estressantes (Gautam et al., 2010).

### *Incidência das infecções uterinas*

A incidência de infecções uterinas é altamente variável devido à falta de informações quanto aos métodos de diagnóstico, classificação das infecções, período após o parto no qual a doença foi detectada, ordem de parto das vacas, características do rebanho e práticas de manejo (Lewis, 1997; LeBlanc, 2002b; Kim e Kang, 2003).

Em amplo estudo retrospectivo, Bell e Roberts (2007) verificaram incidência de 13,8% de casos de infecção uterina em um rebanho da raça holandesa, sendo que 60% dos casos foram classificados como metrite (ocorrências até 21 após o parto) e 40% como endometrite clínica (depois de 21 dias após o parto).

Gautam et al. (2010) relataram que 23,6% dos animais avaliados apresentaram algum grau de endometrite, sendo que destes, 25,3% tiveram persistência do quadro além de 60 dias após o parto. Em torno de 10,6%, foram considerados novos casos, somente verificados entre 60 e 150 dias após o parto.

### *Diagnóstico das infecções uterinas*

A febre é uma resposta do animal aos processos infecciosos e, portanto, pode estar associada aos quadros de metrite puerperal. Como a temperatura retal é altamente variável, o tratamento para a metrite puerperal deve ser baseado nas condições do útero, e não necessariamente, na presença de temperatura retal elevada (Sheldon et al., 2004).

O procedimento mais acurado de diagnóstico para a endometrite é o exame do conteúdo vaginal, verificando-se a presença de pus (LeBlanc et al., 2002b; Williams et al., 2005; Sheldon et al., 2006; Sheldon, 2007). O aspecto e o odor da secreção cérvico-vaginal podem ser



traduzidos em escores para avaliar o grau de endometrite clínica: 0 (muco cristalino), 1 (muco com estriações de pus), 2 (menos que 50% de pus), 3 (mais que 50% de pus, com presença de sangue ou não), de acordo com Willians et al. (2005).

Os principais métodos de diagnóstico para as infecções uterinas são: palpação transretal, vaginoscopia e ultrassonografia.

A palpação transretal permite avaliar a cérvix, além do tamanho, simetria e consistência dos cornos uterinos (Azawi, 2008). Este método é considerado subjetivo e muitas vezes não possibilita distinguir entre condições normais e anormais relacionadas com a involução uterina (Lewis, 1997).

A vaginoscopia geralmente é mais eficaz que a palpação transretal, sendo considerada uma das técnicas mais importantes para o diagnóstico da endometrite, porém é pouco utilizada na prática pelos veterinários (Lara, 1985; LeBlanc et al.; 2002b; Sheldon, 2007; Barlund et al., 2008). As vantagens relacionadas com a utilização da vaginoscopia são: baixo custo, rapidez e facilidade do exame, além de serem obtidas informações adicionais como origem, volume, aspecto, odor da secreção cérvico-vaginal e detecção de lacerações vaginais (Sheldon e Dobson, 2004; Williams et al., 2005; Sheldon, 2007; Gautam et al., 2010)

A avaliação da secreção cérvico-vaginal é uma das ferramentas mais importantes para diagnosticar e tratar doenças uterinas no pós-parto. Há uma forte correlação entre os achados na observação visual dessa secreção e resultados de cultura bacteriana, histopatologia e citologia uterina (Studer e Morrow, 1978; Sheldon e Dobson, 2004; Williams et al., 2005). A microbiota presente na secreção cérvico-vaginal de bovinos pode refletir o grau de contaminação uterina no pós-parto precoce,

devido à abertura da cérvix nesse período (Rocha et al., 2004; Willians et al., 2005).

O aspecto e o odor do muco podem indicar o grau de comprometimento do endométrio dependendo da densidade de bactérias patogênicas presentes (Studer e Morrow, 1978; Sheldon e Dobson, 2004; Sheldon, 2007; Willians et al., 2005). As principais bactérias encontradas na secreção cérvico-vaginal de animais com puerpério normal são: *E. coli*, *Streptococcus* spp. e *Staphylococcus* coagulase negativa, que são semelhantes aos isolados provenientes do útero (Rocha et al., 2004). Secreção cérvico-vaginal com aspecto purulento está relacionada com a presença de *A. pyogenes*, *F. necrophorum* e *Proteus* sp. no conteúdo uterino (Studer e Morrow, 1978; Willians et al., 2005), enquanto secreções com odor fétido estão associadas à presença de *A. pyogenes*, *E. coli* e *Manheimia haemolytica* (Willians et al., 2005).

Contudo, a vaginoscopia não é considerada um método altamente sensível para o diagnóstico de endometrites. Até 9% das vacas com presença de secreção cérvico-vaginal podem ser ignoradas, principalmente se apresentam pequenas quantidades de secreção na vagina. O aumento da produção de muco e das contrações do miométrio durante o estro pode favorecer a avaliação do aspecto da secreção cérvico-vaginal. Além disso, dependendo do intervalo do parto ao exame, a cérvix pode encontrar-se fechada, impedindo a detecção de secreções. Portanto, recomenda-se a realização de dois exames com duas a quatro semanas de intervalo para confirmar casos de endometrite clínica (Gautam et al., 210).

A ultrassonografia é muito útil no diagnóstico de endometrites. Permite verificar a presença de conteúdo no lúmen uterino, além das características do conteúdo e do aspecto do endométrio (Kasimanickam et al., 2004; Barlund et al.,

2008; Kocamuftuoglu e Vural, 2008). No estudo de Kasimanickam et al. (2004), observou-se que a quantidade de fluido presente no lúmen uterino teve correlação com o grau de contaminação bacteriana. A quantidade de conteúdo uterino foi maior em vacas que tiveram infecções puerperais graves, comparadas ao grupo controle.

Na presença de processos infecciosos, é possível observar por meio da ultrassonografia, diferentes quantidades de fluido no interior dos cornos uterinos, geralmente com material purulento em suspensão. Os fluidos são visualizados como áreas anecogênicas (escuras) e o material purulento, como partículas ecogênicas (claras) em movimento. A parede uterina pode apresentar aumento de espessura por causa da presença de processos inflamatórios (Kähn e Leidl, 1989; Simões et al, 2008).

Outros métodos de diagnóstico compreendem culturas bacterianas, biópsia endometrial e citologia do conteúdo uterino. O isolamento bacteriano a partir de culturas do conteúdo uterino coletado por meio de *swabs* é uma ferramenta essencial para determinar a etiologia da infecção (Studer e Morrow, 1978; Lewis, 1997; Bondurant, 1999; LeBlanc et al., 2002a; Sheldon et al., 2004; Kocamuftuoglu e Vural, 2008), porém, é um método caro e implica um tempo mais prolongado para conclusão do diagnóstico (Lewis, 1997).

A biópsia do endométrio geralmente é utilizada no diagnóstico de endometrites subclínicas. Uma pequena amostra do endométrio é obtida por meio de pinças de biópsia específicas (Bonnett et al., 1991; Azawi, 2008). A partir da histologia do tecido coletado, é possível verificar aumento, focal ou difuso, no número de células inflamatórias, o que caracteriza quadros inflamatórios. Os infiltrados celulares são classificados pelo tipo de célula predominante, sendo que quadros de

inflamações agudas contêm mais neutrófilos (Bonnett et al., 1991).

A citologia também é utilizada no diagnóstico de endometrites subclínicas. A presença de polimorfonucleares, principalmente neutrófilos, é a base dos exames citológicos do útero (LeBlanc et al., 2002a). Células endometriais e inflamatórias podem ser recolhidas por meio de *swabs*, biópsias, lavados uterinos ou escovas genitais adaptadas, denominadas *cytobrush* (Kasimanickam et al., 2005). A partir da avaliação de esfregaços, a proporção de neutrófilos e células endometriais deve ser calculada, podendo ser considerada ou não significativa de acordo com a definição da endometrite subclínica relatada anteriormente (Mateus et al., 2002; LeBlanc et al., 2002a; Sheldon et al., 2006). A citologia a partir de *cytobrush* foi a técnica mais indicada para o diagnóstico de endometrite subclínica de acordo com um estudo que comparou a eficácia da vaginoscopia, da ultrassonografia do endométrio, da ultrassonografia do conteúdo uterino, do lavado e do *cytobrush* para detectar esse tipo de infecção (Barlund et al., 2008).

#### *Consequências das infecções uterinas*

As consequências decorrentes das infecções uterinas diferem consideravelmente entre os animais. A intensidade dos efeitos pode variar de acordo com a gravidade da infecção, do tempo de ocorrência após o parto e da saúde geral do rebanho (Lewis, 1997). Os principais efeitos da infecção uterina estão associados aos gastos com tratamento, à diminuição da ingestão de alimentos, à redução na produção de leite e aos quadros secundários de subfertilidade ou infertilidade, que podem levar ao descarte involuntário dos animais (Lewis, 1997; Bell e Roberts, 2007; Sheldon, 2007; Sheldon et al., 2008).

A diminuição da eficiência reprodutiva após a resolução dos processos infecciosos, geralmente se deve à interferência das respostas inflamatória e imunológica nas funções uterina e ovariana, e no controle do centro superior do eixo hipotálamo-hipófise-ovário (Sheldon e Dobson, 2004; Sheldon, 2007). A presença de infecção uterina após o parto pode promover alterações no controle hormonal das funções endometriais e atrasar a luteólise, visto que a produção de prostaglandina  $F_{2\alpha}$  ocorre primariamente no endométrio. Endotoxinas bacterianas, produzidas pela *E. coli* por exemplo, podem atuar diretamente no epitélio e no estroma endometriais induzindo a produção de prostaglandina  $E_2$ , que é luteotrófica, ou seja, impede a ocorrência da luteólise. A presença de alta concentração de progesterona, devido à persistência do corpo lúteo, pode resultar em imunossupressão, agravando e prolongando o quadro de infecção uterina (Herath et al., 2006; Sheldon, 2007; Herath et al., 2009b; Sheldon et al., 2009). O animal com infecção uterina persistente apresenta baixa taxa de gestação, longo período de serviço e maior chance de ser descartado devido à infertilidade (Sheldon et al., 2007).

Interessantemente, *A. pyogenes* não é capaz de estimular a produção de prostaglandinas. No estudo de Miller et al. (2007) foram comparados os mecanismos de atuação de *A. pyogenes* e *E. coli*, na presença de células endometriais. Somente a *E. coli* foi capaz de estimular a produção de prostaglandinas e promover o aumento da expressão de fatores pró-inflamatórios. Essa diferença foi atribuída à expressão da endotoxina LPS pela *E. coli*, que é reconhecida como um fator altamente imunogênico. A ação de *A. pyogenes* consistiu na secreção de uma exotoxina hemolítica termossensível, frequentemente associada aos danos ao tecido endometrial, que muitas vezes, são irreversíveis.

Nos ovários, a infecção uterina compromete o crescimento folicular e a produção de estrógeno, ao diminuir a resposta ao FSH. As alterações na função ovariana contribuem para reduzir a taxa de gestação e culminam em subfertilidade (Sheldon et al., 2002; Willians et al., 2007; Sheldon, 2007; Sheldon et al., 2009). Os quadros de subfertilidade geralmente são decorrentes do prolongamento dos intervalos do parto ao primeiro serviço e à próxima gestação, da redução da taxa de gestação ao primeiro serviço (Lewis, 1997; LeBlanc et al., 2002a), e do maior número de serviços por concepção (Kim e Kang, 2003).

A maior parte dos gastos com infecções uterinas se deve a efeitos indiretos, tais como subfertilidade e predisposição a outras doenças, o que dificulta a mensuração das consequências dessas afecções. (Lewis, 1997). Já os efeitos na produção são mais fáceis de mensurar. Na maioria das vezes, a redução na produção e o descarte de leite contaminado com resíduos de antibióticos também contribuem para aumentar as perdas econômicas relacionadas a essas afecções (Lewis, 1997; Sheldon e Dobson, 2004).

No estudo de Gautam et al. (2010), somente 40% das vacas diagnosticadas com endometrite persistente haviam se tornado gestantes aos 210 dias após o parto. Das que apresentaram endometrite entre 60 dias e 150 dias após o parto, 53,1% estavam gestantes, enquanto 70,3% dos animais que tiveram recuperação espontânea e 78,3% dos animais que não tiveram endometrite encontravam-se gestantes nessa ocasião.

#### *Prevenção e tratamento das infecções uterinas*

O tempo e a acurácia do diagnóstico são essenciais para a tomada de decisão quanto ao manejo de animais com infecções uterinas (Azawi, 2008). É necessário implementar estratégias de prevenção e

programas para reduzir a incidência de doenças uterinas a partir do conhecimento dos seus fatores de risco e dos seus mecanismos de atuação, que envolvem as respostas imunológica e inflamatória, e a regulação endócrina do ambiente uterino (Sheldon e Dobson, 2004).

Algumas medidas preventivas consistem em controlar a ocorrência de abortos, gestações gemelares, distocias, cesarianas e retenção de placenta, por meio da adoção de critérios ao selecionar os reprodutores e o sêmen que serão utilizados. O fornecimento de dietas adequadas durante o período seco e no início da lactação também contribui para minimizar o risco de ocorrência de doenças metabólicas (Sheldon e Dobson, 2004; Hammon et al., 2006). Cuidados com a sanidade do rebanho, higiene do ambiente durante o parto, conforto dos animais e diminuição da necessidade de assistência ao parto também são métodos de controle recomendados (Lewis, 1997; Bell e Roberts, 2007; Sheldon, 2007).

O diagnóstico rápido e o tratamento das infecções uterinas são essenciais para minimizar os efeitos dessas doenças sobre a eficiência reprodutiva dos animais (Sheldon e Dobson, 2004). O sucesso do tratamento depende da eliminação do conteúdo uterino, da suscetibilidade dos agentes infecciosos aos medicamentos utilizados, da concentração, do número de vezes que o medicamento é utilizado e da exposição do endométrio ao medicamento (Bondurant, 1999; LeBlanc et al., 2002a; Azawi, 2008).

Considerações quanto ao diagnóstico e tratamento da metrite puerperal devem incluir avaliações do comportamento do animal, condição uterina e temperatura retal (Benzaquen et al., 2007). A maioria dos estudos recomenda a antibioticoterapia sistêmica para vacas com metrite puerperal (Drillich et al., 2001; LeBlanc et al., 2002a). A presença de febre é o critério mais utilizado para verificar a eficácia dos

tratamentos, uma vez que sinais clínicos, tais como o aspecto da secreção cérvico-vaginal e o tamanho do útero, são difíceis de serem avaliados (Drillich et al., 2006a).

No caso das endometrites, o tratamento pela via intra-uterina é o mais utilizado, apesar da sua eficácia ser questionável e ser necessário descartar o leite contaminado com resíduos de antibióticos (Sheldon, 2007; Azawi, 2008). Na presença de corpo lúteo, a prostaglandina  $F_{2\alpha}$  deve ser utilizada como tratamento, com o objetivo de promover a luteólise, induzir o estro, aumentar os níveis de estrógeno, regular a função imunológica e aumentar a capacidade do útero combater a infecção (Lewis, 1997; Sheldon, 2007).

É consenso entre os autores que os animais com metrite puerperal necessitam obrigatoriamente de tratamento, porém nos casos de endometrites, o tratamento é questionável, visto que a maioria dos animais apresenta recuperação espontânea (Mateus et al., 2002; Sheldon, 2007; Gautam et al., 2010). O tratamento de animais que apresentam infecção uterina além de três semanas após o parto, pode ser desnecessário, devido às mudanças ocorridas no ambiente uterino ao longo do processo de involução e à regeneração do endométrio (Sheldon, 2007).

Entretanto, parte dos animais com endometrite persistente, que não recebem tratamento adequado, pode apresentar sinais de endometrite somente após o período voluntário de espera, ao apresentar secreção cérvico-vaginal mucopurulenta durante a manifestação do estro (Sheldon et al., 2007). No estudo de Gautam et al. (2010), 74,7% das vacas que tiveram endometrite antes de 60 dias pós-parto recuperaram-se espontaneamente, enquanto 25,3% tiveram persistência do quadro entre 61 e 150 dias após o parto. Os animais que tiveram recuperação espontânea tiveram taxas de gestação semelhantes aos animais que não

tiveram endometrite clínica até 150 dias após o parto.

Contudo, é recomendado identificar e tratar todos os animais que apresentam endometrite clínica, já que nos casos mais graves, os animais não são capazes de combater a infecção uterina e os danos acarretados ao endométrio podem diminuir a capacidade de se tornarem gestantes (Sheldon, 2007; Gautam et al., 2010).

### 2.5.3. Cistos ovarianos

Geralmente compreendem estruturas de origem folicular com diâmetro superior ao de folículos ovulatórios, que falham ao ovular e, portanto, persistem por um longo período e comprometem a fertilidade dos animais acometidos. São estruturas dinâmicas, cujo desenvolvimento e meia-vida estão associadas a alterações no eixo hipotálamo-hipófise-ovário (Hamilton et al., 1995; Garverick, 1997; López-Gatiús, 2002) ou modificações metabólicas (Vanholder et al., 2005).

Para vacas leiteiras, os cistos ovarianos são definidos como estruturas anovulatórias com diâmetro igual ou superior a 25 mm, que persistem por dez dias ou mais na ausência de um corpo lúteo, apesar de que atualmente essa definição não ser a mais apropriada (Garverick, 1997). Para Vanholder et al. (2005) e García-Ispierto et al. (2007), os cistos ovarianos são estruturas com diâmetro maior ou igual a 20 mm, presentes em um ou ambos os ovários, que persistem no mínimo sete dias, na ausência de um corpo lúteo.

Verifica-se que os cistos ovarianos não são estruturas estáticas. Através da ultrassonografia, verificou-se que os cistos podem persistir por um longo período, regredir ou serem substituídos por novas estruturas foliculares que são capazes de ovular ou não, contribuindo para a formação de novos cistos. Os intervalos das

ondas foliculares são maiores nos animais com presença de cistos foliculares, uma vez que estas estruturas podem continuar crescendo mesmo após atingir o diâmetro ovulatório (Hamilton et al., 1995).

O desbalanceamento endócrino decorrente de alterações no eixo hipotálamo-hipófise-ovário é citado como o principal fator de risco para a ocorrência de cistos, principalmente na presença de doenças metabólicas e transtornos comuns no período pós-parto (Hamilton et al., 1995; Garverick, 1997). Hereditariedade, retenção de placenta, infecção uterina, condição corporal, ordem de parto, alterações metabólicas, alta produção de leite e estações mais quentes do ano, também são citados como fatores etiológicos (Garverick, 1997; López-Gatiús, 2002; Vanholder et al., 2005).

Os cistos podem ser foliculares ou luteinizados, sendo os primeiros mais frequentes (Garverick, 1997; García-Ispierto et al., 2007). Por meio da palpação transretal, os cistos foliculares podem ser caracterizados pela presença de uma parede fina, flutuante e suscetível de ruptura à manipulação. Já os cistos luteinizados, têm parede mais firme e são mais difíceis de serem rompidos. Por meio da ultrassonografia, verifica-se que os cistos foliculares apresentam as mesmas características de um folículo, ou seja, são anecogênicos, com forma esférica (presença de apenas um cisto) ou irregular (vários cistos). Os cistos luteinizados apresentam áreas hiperecogênicas devido à presença de tecido luteal (García-Ispierto et al., 2007). Enquanto os cistos foliculares secretam baixa quantidade de progesterona, os cistos luteinizados são capazes de secretar maiores quantidades dependendo da relação tecido folicular/luteal (Garverick, 1997).

A prevalência de cistos em rebanhos leiteiros pode variar de 10 a 13% (Garverick, 1997). A maior incidência de

cistos geralmente ocorre entre o parto e a primeira ovulação, devido a falhas na ovulação do primeiro folículo dominante (Sheldon et al., 2002; Butler, 2006). A persistência de cistos ovarianos compromete a fertilidade e acarreta prejuízos à atividade leiteira (Hamilton et al., 1995; Garverick, 1997).

Os cistos estão relacionados com maior número de serviços por concepção, aumento do intervalo do parto à primeira inseminação artificial, prolongamento do período de serviço e baixa taxa de gestação, o que implica em aumento do descarte involuntário (Erb et al., 1985; Santos et al., 2009).

#### **2.5.4. Distúrbios metabólicos**

A ocorrência de distúrbios metabólicos, como a hipocalcemia e a cetose, é mais comum em animais que apresentam retenção de placenta, apesar de não serem compreendidas as relações entre essas doenças (Han e Kim, 2005). A ordem de parto pode influenciar nessas relações. No estudo de Correa et al. (1993), vacas plúriparas com retenção de placenta apresentaram maior risco de desenvolverem cetose que as primíparas. De acordo com esses autores, animais com retenção de placenta também apresentam maior risco de desenvolver quadros de mastite.

No estudo de Han e Kim (2005), verificou-se que dos animais que apresentaram retenção de placenta, 2% apresentaram hipocalcemia, 4,8% apresentaram cetose e 7,5% apresentaram deslocamento de abomaso, afecção geralmente presente nos casos de distúrbios metabólicos. Esses resultados foram estatisticamente diferentes dos apresentados pelos animais sem retenção de placenta, que foram de 0,2; 1,25 e 2,0%, respectivamente. Portanto, a retenção de placenta é um dos principais fatores de risco associados à ocorrência de doenças metabólicas.

A incidência de doenças metabólicas torna-se alarmante quando ultrapassa 6% de vacas recém-paridas com deslocamento de abomaso à esquerda, 8% de animais com cetose clínica e 14% de animais com mastite ambiental (Overton e Nydam, 2009). O aumento na ingestão de matéria seca e o balanceamento energético e protéico da dieta durante o periparto podem diminuir a incidência de doenças metabólicas e desordens reprodutivas (Curtis et al., 1985).

#### **2.6. Mecanismos de defesa do útero após o parto**

Dentre os principais mecanismos de defesa do útero no período pós-parto, proporcionados por mudanças anatômicas, respostas fisiológicas, fagocitárias e inflamatórias, a imunidade inata é a principal responsável pelo controle da contaminação bacteriana (Sheldon e Dobson, 2004; Azawi, 2008). As barreiras físicas contra bactérias ascendentes do trato genital incluem vulva, vestibulo, vagina e cérvix. O muco secretado durante o estro constitui a principal resposta fisiológica. A principal defesa fagocitária em resposta ao desafio bacteriano é proporcionada por neutrófilos. Além disso, ocorre a atuação de outros mecanismos de defesa não-específicos, com a produção de defensinas, lactoferrinas e proteínas da fase aguda da inflamação (Sheldon e Dobson, 2004).

O sistema imunológico está diretamente relacionado com a suscetibilidade de vacas leiteiras aos transtornos puerperais. Após o parto, parte dos mecanismos de defesa relacionados com as imunidades inata e adquirida encontram-se debilitados. Os impactos decorrentes do estabelecimento de doenças comprometem a eficiência produtiva e reprodutiva. Portanto, as pesquisas têm se esforçado para compreender os fatores que contribuem para a depressão do sistema imunológico nessa fase (Sordillo et al., 2009).

Geralmente, a involução uterina é um processo séptico. Durante o parto, ocorre abertura das barreiras anatômicas da vulva, vagina e cérvix, o que permite a invasão do útero por bactérias ambientais, presentes nas fezes e pele dos animais (Johanns et al., 1967; Leslie, 1983; Sheldon et al., 2002; Sheldon e Dobson, 2004; Földi et al. 2006; Sheldon, 2007). Diversos tipos de bactérias, Gram-positivo e Gram-negativo, aeróbias e anaeróbias podem ser isoladas do útero no pós-parto (Azawi, 2008). As bactérias aeróbicas mais comuns no útero de vacas sadias após o parto são: *E. coli*, *A. pyogenes*, *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* sp.; enquanto as anaeróbicas mais isoladas são: *F. necrophorum* (Bonnet et al., 1991; Vasconcelos et al., 2000; Kask et al., 2003; Lopes, 2007) e *Bacteroides* spp. (Kask et al., 2003).

Alterações nos mecanismos de defesa do útero permitem que bactérias aeróbicas como *E. coli* e *A. pyogenes*, e anaeróbicas, como *F. necrophorum* e *Prevotella* spp. passem a atuar sinergicamente, favorecendo o crescimento e a patogenicidade de ambas (Lewis, 1997; Sheldon e Dobson, 2004; Williams et al., 2005; Sheldon, 2007). Os danos acarretados ao endométrio com o desenvolvimento do quadro de endometrite podem ser permanentes, o que compromete a fertilidade (Sheldon, 2007). A presença de *E. coli* no útero além de 14 dias pós-parto está relacionada com quadros de metrite, sendo que as toxinas liberadas por essas bactérias podem causar sinais sistêmicos e atrasar o processo de involução uterina. O isolamento de *A. pyogenes* ao final da involução uterina está relacionado com subfertilidade (Földi et al, 2008).

No estudo de Williams et al. (2007), *E. coli*, *A. pyogenes* e *Proteus* spp. foram as bactérias mais isoladas a partir do conteúdo uterino. *E. coli*, foi isolada principalmente até sete dias após o parto, e precedeu *A. pyogenes*, isolada principalmente depois de

14 dias pós-parto. Enquanto a concentração de *E. coli* diminuiu à medida que aumentaram os dias pós-parto, a densidade de *A. pyogenes* aumentou, sugerindo que a *E. coli* aumenta a suscetibilidade do útero a infecções por *A. pyogenes*.

A presença de bactérias no útero de vacas da raça holandesa aos 30 dias após o parto é mais frequente nos animais que tiveram retenção de placenta. Nessa ocasião, foi possível isolar bactérias a partir do conteúdo uterino de 48% e 28% das vacas com e sem retenção de placenta, respectivamente. *A. pyogenes* foi a bactéria anaeróbia mais isolada (56% das vacas com RP vs 4% das sem retenção de placenta), indicando que o útero de vacas com retenção de placenta é mais suscetível à infecção por *A. pyogenes* (Kaneko et al., 1997). Aos 60 dias pós-parto, a detecção bacteriana e o isolamento de *A. pyogenes* diminuíram e encontravam-se semelhantes às vacas controle, indicando que a retenção de placenta afeta negativamente o ambiente uterino no pós-parto, mas aos 60 dias o animal pode encontrar-se recuperado (Kaneko et al., 1997).

Vacas com infecção uterina aos sete dias após o parto, na presença de *E. coli* e *A. pyogenes*, apresentam alteração na função ovariana e menor crescimento folicular. Essas alterações estão relacionadas com a menor capacidade de resposta do ovário ao FSH, uma vez que a concentração de FSH é semelhante entre vacas que apresentam ou não contaminação uterina. Após a ovulação, o corpo lúteo de vacas com infecção uterina é menor e secreta menor quantidade de progesterona, devido à alteração da função das células luteais promovida pela endotoxina LPS e outros componentes bacterianos (Williams et al., 2007).

Além disso, sabe-se que a infecção uterina pode estar relacionada com a luteólise precoce ou corpo lúteo persistente (Opsomer et al., 2000). Esses fatores podem

contribuir para a subfertilidade e menor capacidade de gestação dos animais acometidos por infecções bacterianas no pós-parto.

### 2.6.1. Imunidade inata

O sistema imunológico pode ser dividido em duas categorias: imunidade inata e adquirida. A imunidade inata ou inespecífica é formada por mecanismos de resistência contra todos os tipos de antígenos. É responsável pela proteção inicial, quando o hospedeiro é exposto pela primeira vez ao agente infeccioso, ocorre antes da ativação da resposta adquirida. A resposta pode ser localizada nos tecidos atingidos ou pode ocorrer mobilização de agentes de defesa provenientes da circulação (Sordillo et al., 2009).

A imunidade adquirida ou específica pode ser desencadeada por patógenos que resistiram à imunidade inata. Nesse caso, a resposta imunológica é elaborada especificamente para um determinado desafio antigênico. A formação de uma memória imunológica proporciona proteção do hospedeiro quando ele entra em contato com o mesmo antígeno mais de uma vez. Para que a resistência do hospedeiro seja eficiente, as imunidades inata e adquirida devem interagir de forma coordenada e equilibrada. O sistema imunológico deve ser capaz de eliminar o agente patogênico por meio de uma resposta controlada para evitar danos aos tecidos do hospedeiro (Sordillo et al., 2009).

O estudo da imunidade inata teve início há mais de 100 anos, por Pasteur e Koch, após a descoberta da relação entre microrganismos e processos infecciosos. Nessa ocasião, cientistas da área constataram que os complexos eventos observados nas infecções eram causados por componentes moleculares específicos dos microrganismos. Atualmente, as pesquisas acerca da imunidade inata ainda

se preocupam com a etiopatogenia e com a ação dos mecanismos de defesa (Beutler, 2004). A imunidade inata é considerada mais apurada e mais importante, pois evoluiu por um período mais longo que a imunidade adquirida. Está presente nos organismos invertebrados e vertebrados, enquanto a imunidade adquirida está presente somente nos organismos vertebrados (Beutler, 2004; Pasare e Medzhitov, 2004). O sistema imunológico inato é responsável pela primeira linha de defesa do organismo contra a invasão de patógenos e pela ativação da imunidade adquirida (Aderem e Ulevitch, 2000; Pasare e Medzhitov, 2004).

As repostas da imunidade inata dependem de determinadas proteínas e células fagocitárias que reconhecem os patógenos e rapidamente se ativam para destruí-los (Aderem e Ulevitch, 2000). Somente nos casos em que a imunidade inata não é capaz de evitar a infecção, a resposta imunológica adquirida é ativada (Janeway e Medzhitov, 2002). O principal mecanismo de defesa do útero contra a invasão de bactérias é a imunidade inata (King et al., 2003; Sheldon e Dobson, 2004; Herath et al., 2006).

A presença de imunoestimuladores na superfície dos patógenos permite o seu reconhecimento por receptores característicos do hospedeiro, presentes no sangue, como alguns componentes do sistema complemento, ou ligados à superfície de células hospedeiras, como os membros da família receptores tipo *toll* (TLRs). Estes receptores podem desencadear a fagocitose do patógeno e estimular a expressão gênica da célula hospedeira, levando à indução de respostas imunes inatas (Beutler, 2004; Takeda e Akira, 2004) e ativação das respostas inflamatórias a partir da produção de citocinas, quimiocinas e peptídeos microbianos naturais (Akira, 2003; Schaefer et al., 2004).



### *Receptores tipo toll (TLRs)*

Inicialmente, os TLRs foram identificados em *Drosophila*, como proteínas transmembrana compostas por um grande domínio extracelular constituído de repetições ricas em leucina e um domínio citoplasmático semelhante ao da família de receptores de interleucina-1 (TIR), sendo importantes para o estabelecimento do padrão dorso-ventral durante a embriogênese dessas espécies. Descobriu-se depois que os TLRs eram responsáveis pela resistência desses insetos à infecção por fungos (Lemaitre et al., 1996; Akira, 2004; Takeda e Akira, 2004). Estes estudos incentivaram pesquisas que relacionam o sistema imunológico inato com a detecção precoce de patógenos.

Homólogos desses receptores foram identificados nos mamíferos (Takeda e Akira, 2004), expressados por células T efectoras, linfócitos B, células dendríticas, neutrófilos, macrófagos, células “Natural Killer” e células epiteliais (Aderem e Ulevitch, 2000). Essas células são ativadas no início da resposta inflamatória, geralmente associada a sinais de infecção dependendo da patogenicidade do microrganismo invasor (Janeway e Medzhitov, 2002).

Atualmente, sabe-se que os seres humanos expressam basicamente dez tipos de TLRs, enumerados de 1 a 10 (Akira, 2003; Beutler, 2004; Takeda e Akira, 2004; Kumar et al., 2009). Camundongos expressam onze TLRs (Beutler, 2004; Kumar et al., 2009). Em bovinos, foi demonstrada a presença dos TLRs de 1 a 10, por meio de mapeamento genômico (McGuire et al.; 2005).

A função fisiológica dos TLRs foi estudada a partir de análises genéticas, revelando que essas moléculas são essenciais para o reconhecimento dos patógenos (Takeda e Akira, 2004). Os peptidoglicanos que

compõem a parede celular, a flagelina, constituinte do flagelo das bactérias, o lipopolissacarídeo (LPS) de bactérias Gram-negativo e os ácidos teicóicos das bactérias Gram-positivo, são exemplos de substâncias que agem como imunoestimuladores (Medzhitov e Janeway, 1997; Akira, 2004). O principal representante dessas moléculas é a endotoxina ou LPS, que foi o primeiro a ser determinado como sendo reconhecido pelo TLR4 (Medzhitov e Janeway, 1997).

Os termos “reconhecimento por receptores padrão” (PRRs) e “padrões microbianos associados a patógenos” (PAMPs), são usados para designar os receptores que reconhecem os microrganismos causadores de infecção e as moléculas estruturais desses patógenos que são reconhecidas pelo hospedeiro, respectivamente (Janeway e Medzhitov, 2002; Horne et al, 2008). Apesar de serem adotados com frequência, esses termos são questionáveis, já que não se trata do reconhecimento de padrões moleculares, nem da apresentação de unidades repetitivas e sim, da detecção de moléculas individuais pelo sistema imunológico inato (Beutler, 2004).

Cada TLR reconhece um pequeno número de PAMPs (Takeda e Akira, 2004), como é o caso do TLR3, que reconhece ácidos nucléicos virais, e do TLR2, que reconhece peptidoglicanos, lipopeptídeos bacterianos e o ácido lipoteicóico (Aderem e Ulevitch, 2000; Beutler, 2004). Alguns TLRs agem isolados ou em conjunto, por exemplo, o TLR1 e o TLR6, que formam dímeros entre si e com o TLR2 (Akira, 2003; Young et al., 2004; Buwitt-Beckmann et al., 2006). As células endometriais e células de defesa que expressam o TLR4 detectam o LPS, molécula vinculada à patogenicidade da *E. Coli*. O estímulo desse ligante depende de co-receptores, denominados CD14 e MD-2 (Herath et al, 2006; Soboll et al., 2006a). Na Tabela 2, encontram-se os principais ligantes dos TLRs já identificados.

Tabela 2. Principais ligantes dos receptores tipo *toll* 1 a 10

<b>TLR</b>	<b>Origem do ligante</b>	<b>Ligantes</b>
<b>TLR1</b>	Bactérias Gram-positivo	Modulinas, lipopeptídeos
<b>TLR2</b>	Bactérias Gram-positivo <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus</i> <i>Mycoplasma</i> Leveduras <i>Trypanosoma cruzi</i>	Lipoproteínas, peptideoglicanos, ácido lipoteicoico Polímeros de ácido manurônico Modulinas Lipoproteínas, lipopeptídeos <i>Zymosan</i> Proteínas âncoras GPI (glicosilfosfatidilinositol)
<b>TLR3</b>	Vírus	RNA de fita dupla, ácidos nucleicos expressados no endossoma
<b>TLR4</b>	Bactérias Gram-negativo Bactérias Gram-positivo Virus sincicial respiratório Hospedeiro	LPS Ácido lipoteicoico, polímeros de ácido manurônico Proteína F Hsp (proteína do choque térmico) 60, Hsp 70, Fibronectina
<b>TLR5</b>	Bactérias Gram-negativo	Flagelinas
<b>TLR6</b>	Bactérias Gram-positivo	Modulinas, STF (fator solúvel da tuberculose), lipoproteína de <i>Borrelia burgdoferi</i> (OspA-L)
<b>TLR7</b>	Vírus  Bactérias	Alguns componentes antivirais como RNA de fita simples (ssRNA) e ácidos nucleicos cíclicos, expressados no endossoma Componentes cíclicos como o grupamento heme e ácidos nucleicos expressados no endossoma
<b>TLR8</b>	Vírus  Bactérias	Alguns componentes antivirais como ssRNA e ácidos nucleicos cíclicos, quando expressados no endossoma Componentes cíclicos como o grupamento heme e ácidos nucleicos expressados no endossoma
<b>TLR9</b>	Bactérias	Oligonucleotídeos não metilados, grupamento heme e ácidos nucleicos expressados no endossoma
<b>TLR10</b>	Bactérias Gram-positivo Leveduras	Peptideoglicanos <i>Zymosan</i>

(Fonte: Adaptação de Kumar et al., 2009)

Como o epitélio que reveste o endométrio é a primeira camada de células susceptíveis à invasão por patógenos ascendentes do trato reprodutivo feminino, suspeitou-se que havia expressão de receptores TLRs nesse local (Schaefer et al., 2004; Young et al., 2004; Soboll et al., 2006a,b). Os primeiros relatos da expressão *in vitro* de TLRs em células endometriais de mamíferos ocorreram em 2004, utilizando-se a técnica

de PCR. Young et al. (2004) detectaram mRNA para os TLRs 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 9, enquanto Schaefer et al. (2004) verificaram expressão dos TLRs 1 a 9, em células endometriais de humanos.

A demonstração de TLRs em células endometriais sugere que as células epiteliais do endométrio não funcionam apenas como barreiras à infecção, mas elas também

apresentam amplo potencial de defesa contra a invasão de inúmeros tipos de patógenos (Quayle et al., 2002; Schaefer et al., 2004; Wira et al., 2005; Horne et al., 2008). As células epiteliais do endométrio são capazes de produzir vários agentes antimicrobianos, que incluem proteínas do sistema complemento, lisozimas, lactoferrinas, defensinas e inibidores de proteases (Quayle, 2002; King et al., 2003), além de citocinas e quimiocinas que ativam o sistema imunológico inato e adquirido visando prevenção e/ou controle da infecção (Soboll et al., 2006b).

O primeiro estudo que demonstrou a distribuição de TLRs *in vivo* no trato reprodutivo de fêmeas foi realizado por Fazeli et al. (2005). A partir da utilização da técnica de imunohistoquímica, observou-se que a expressão dos TLRs 1, 2, 3, 5 e 6 ocorre em todo o trato reprodutivo da mulher, sendo que o TLR4 encontra-se presente na porção superior da cérvix, no endométrio e nas tubas uterinas, e ausente na porção inferior da cérvix e na vagina.

Utilizando a técnica de RT-PCR (do inglês *Reverse Transcription - Polymerase Chain Reaction*), Soboll et al. (2006a) verificaram a presença de mRNA dos TLRs 1 a 9 nas células epiteliais da vagina e do útero de camundongos, sendo que o TLR4 obteve o maior nível de expressão, principalmente no útero. Nesse mesmo ano, Soboll et al. (2006b) verificaram expressão significativa somente dos TLRs 1 a 6 nas células epiteliais do endométrio de camundongos.

Em bovinos, Herath et al. (2006) foram os primeiros a demonstrarem a relação de TLR4 com quadros de endometrite, obtendo-se progresso considerável sobre a descoberta de TLRs bovinos e seu papel no desenvolvimento de doenças. Em outro estudo (Herath et al., 2009a), esses autores verificaram a expressão dos TLRs 1 a 10 pelas células endometriais nas primeiras semanas após o parto, sendo que animais

posteriormente considerados inférteis, expressaram maior quantidade de TLR4 na primeira semana. O isolamento de maior quantidade de *E. coli* no conteúdo uterino durante a primeira semana após o parto, a partir de culturas bacterianas, foi relacionada com o achado, uma vez que o reconhecimento dessas bactérias ocorre por meio do LPS, principal ligante do TLR4.

Estudando o endométrio de três grupos de animais, antes (G1), durante (G2) e após o parto (G3), Petzl (2007), avaliou os níveis de expressão dos TLRs 2, 3, 4, 6 e 9, e verificou que após o parto houve aumento da expressão desses receptores, principalmente nas áreas carunculares. Observou-se que dependendo da patogênese das bactérias presentes, havia diferenças na expressão gênica dos TLRs.

#### *Defensinas*

Assim como os TLRs, os peptídeos antimicrobianos naturais são importantes mediadores do sistema imunológico inato (Roosen et al., 2004; Wira et al. 2005). As superfícies epiteliais internas são revestidas por camadas de mucina e glicoproteínas, que impedem a adesão de patógenos. Entre as substâncias que compõem o muco, encontram-se peptídeos antimicrobianos como as defensinas, que matam ou inibem o crescimento de patógenos (Lehrer et al., 1993; Roosen et al., 2004).

Estruturalmente as defensinas são constituídas de domínios hidrofóbicos e anfipáticos, contendo de 12 a 50 aminoácidos carregados positivamente. Existem duas famílias de defensinas:  $\alpha$  e  $\beta$ . Essa classificação se deve a diferenças entre os resíduos de cisteína e a conexão das pontes dissulfureto (Lehrer et al., 1993).

Roosen et al. (2004) decoreveram 16 genes de  $\beta$ -defensinas e dois pseudo-genes em tecidos da glândula mamária de bovinos. Esses peptídeos apresentam atividade

antimicrobiana contra *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* e *Candida* ssp. Em 2008, já haviam sido identificados 57 genes de  $\beta$ -defensinas em *Bos taurus*, a maior família desse tipo de gene já codificada em mamíferos. A expressão da maior parte desses genes pode ser constitutiva ou induzida, o que ocorre após a infecção por patógenos específicos (Cormican et al., 2008).

O mecanismo de ação das defensinas não está bem elucidado. Um dos possíveis mecanismos consiste na desintegração da membrana dos patógenos por meio da inserção em seus domínios hidrofóbicos ou anfipáticos. Após a ruptura da membrana, os peptídeos podem interagir com alvos negativamente carregados, como o DNA do patógeno (Ganz, 2003). A atividade microbicida ocorre por meio de interações eletrostáticas, seguidas do controle de canais voltagem-dependentes (Lehrer et al., 1993). As defensinas também podem atuar como opsoninas, inibindo a atividade da proteína quinase C. Além disso, as defensinas são importantes constituintes dos neutrófilos, sendo utilizadas para destruição de patógenos fagocitados por essas células (Lehrer et al., 1993).

As defensinas representam grande parte dos agentes antimicrobianos naturais do endométrio. Em humanos nota-se principalmente a expressão de  $\beta$ -defensinas pelas células endometriais (King et al., 2003). Quayle et al. (1998) relataram a expressão *in vivo* das  $\beta$ -defensinas no endométrio e tubas uterinas. Houve variação na expressão de mRNAs das HDBs ( $\beta$ -defensinas de humanos) de acordo com a fase do ciclo menstrual, sendo que HBD1, HBD3 e HD5 tiveram maior expressão na fase secretória, enquanto HBD2 teve maior expressão na fase proliferativa. Essas diferenças podem ser reguladas por fatores quimiotáticos para leucócitos (Horne et al., 2008).

Em camundongos, Soboll et al. (2006a) verificaram a expressão das  $\beta$ -defensinas 1, 2 e 4 na vagina e endométrio, destacando-se a BD1. Ao estudar a expressão gênica endometrial de imunomediadores no periparto de bovinos, Petzl (2007) detectou a expressão das  $\beta$ -defensinas BNBD5 (do inglês *Bos-taurus neutrophil beta-defensin 5*) e da defensina universal uDef (derivada do produto das defensinas LAP - *lingual antimicrobial peptide*, EDB - *enteric beta-defensin*, BNBD4 e BNBD5), nas áreas carunculares e intercarunculares do endométrio de bovinos durante o periparto. Após o parto, houve maior expressão dessas substâncias, principalmente nas áreas carunculares. Dependendo da patogênese das bactérias presentes, houve diferença na expressão gênica de defensinas. Variações hormonais não influenciaram na expressão das defensinas.

#### *Resposta inflamatória*

A resposta inflamatória é inerente à imunidade inata. A inflamação é uma resposta fisiológica complexa contra a invasão de patógenos ou outros estímulos nocivos, que tem duas funções principais: remover o agente agressor e iniciar a cicatrização dos tecidos. A inflamação aguda é caracterizada por liberação de mediadores solúveis, vasodilatação, aumento do fluxo sanguíneo, extravasamento de líquidos e elevado metabolismo celular. Uma resposta inflamatória eficaz resulta na eliminação rápida dos microrganismos patogênicos e pode não resultar em alterações prejudiciais aos tecidos do hospedeiro (Sordillo et al., 2009). Porém, a exacerbação da resposta inflamatória contra infecções bacterianas na primeira semana após o parto é comum em animais que apresentam quadros de endometrite persistente e posteriormente se tornam subférteis (Herath et al., 2009a).

#### *Defesa física*

A defesa física compreende a contratilidade do miométrio e a drenagem linfática. Vacas com puerpério normal apresentam rápida involução do útero e da cérvix, com consequente eliminação da contaminação bacteriana por meio de descargas promovidas por contrações do miométrio, além de mobilizar defesas naturais como mobilização de células fagocitárias, produção de muco e agentes antimicrobianos (Azawi, 2008).

O útero permanece por mais tempo na cavidade abdominal em vacas com maior número de partos e naquelas com complicações no pós-parto, devido ao relaxamento das fibras musculares e ligamentos de sustentação desse órgão. Esses fatores dificultam a drenagem do conteúdo uterino pelas contrações miométriais, principalmente durante o início da involução, o que favorece o estabelecimento de infecções uterinas (González Sánchez et al., 2008).

#### *Defesa celular*

Neutrófilos e macrófagos são as principais células fagocitárias que atuam na defesa contra microrganismos patogênicos e constituem um dos principais mecanismos de defesa do útero contra o estabelecimento de infecções (Hussain e Daniel, 1992; Lewis, 1997; Sheldon e Dobson, 2004; Hammon et al., 2006; Azawi, 2008).

A atividade neutrofílica diminui no periparto, porém, as carúnculas favorecem a quimiotaxia, promovendo migração celular para a superfície do endométrio e consequente elevação do número de neutrófilos durante o puerpério precoce (Marques Júnior, 1988; Hussain e Daniel, 1992). Na presença de agentes patogênicos, os neutrófilos são as células de defesa recrutadas mais rapidamente pelo útero, provenientes da circulação periférica, e são responsáveis pela fagocitose de bactérias, o que contribui para a formação de pus,

quando os fagócitos são inativados. A reduzida capacidade funcional dos neutrófilos depois do parto pode predispor ao estabelecimento de infecções uterinas. Mais tardiamente, macrófagos também auxiliam na resposta imunológica uterina (Sheldon e Dobson, 2004).

Verifica-se que a atividade neutrofílica durante o periparto em animais com presença posterior de infecção uterina é menor que em vacas com puerpério normal. A presença de altas concentrações sanguíneas de ácidos graxos não esterificados (NEFA), durante o BEN, implicou menor atividade neutrofílica nesse estudo. Portanto, a diminuição da atividade neutrofílica e o BEN podem aumentar a predisposição dos animais ao desenvolvimento de doenças uterinas (Hammon et al., 2006).

#### **2.6.2. Defesa hormonal**

Os principais hormônios envolvidos no mecanismo de defesa hormonal são o estrógeno e a prostaglandina  $F_2\alpha$  ( $PGF_2\alpha$ ), sendo que a progesterona é considerada imunossupressora, uma vez que inibe os mecanismos de defesa do útero, podendo retardar o processo de involução e predispor o útero a infecções (Dhaliwal et al., 2001; Seals et al., 2002; Lewis, 2003; 2004). A função imunológica do útero é aumentada durante o estro, quando o útero encontra-se mais suscetível à invasão de patógenos, e suprimida durante a fase luteal, quando o útero é preparado para receber o concepto (Azawi, 2008).

A  $PGF_2\alpha$  é produzida principalmente pelo endométrio após o parto e tem como funções: promover a destruição do corpo lúteo da gestação, além de estimular a produção de citocinas que ativam a síntese de leucotrieno  $B_4$  ( $LTB_4$ ) pelo útero. Essas substâncias são quimiotáticas, atraem neutrófilos e estimulam a fagocitose e a função dos linfócitos no endométrio

(Lewis, 1997; 2003; 2004; Fernandes e Figueiredo, 2007). A concentração circulante de  $\text{PGF}_2\alpha$  é alta durante os primeiros sete dias após o parto, período que coincide com a maior velocidade da involução uterina. Os níveis mais baixos são atingidos em torno de 15 dias após o parto, quando geralmente há elevação da concentração de  $\text{P}_4$  na corrente sanguínea (Madej et al., 1984; Kozicki, 1998).

A mensuração de 15-ceto-13,14-dihidroprostaglandina  $\text{F}_2\alpha$ , metabólito da  $\text{PGF}_2\alpha$ , (PGFM), na circulação periférica está diretamente relacionada com a liberação de  $\text{PGF}_2\alpha$  pelo útero. Em vacas que apresentam complicações no puerpério, como retenção de placenta e endometrites, observa-se maior concentração de PGFM (Del Vecchio et al., 1994; Nakao et al., 1997; Seals et al., 2002), indicando que há aumento da liberação de  $\text{PGF}_2\alpha$  pelo endométrio, visando conter a infecção (Seals et al., 2002; Kask et al., 2003).

A administração exógena de análogos da  $\text{PGF}_2\alpha$  visando induzir a luteólise é um dos tratamentos de escolha nos casos de infecção uterina na presença de um corpo lúteo, sendo capaz de diminuir a produção de  $\text{P}_4$  e estimular a produção de  $\text{PGF}_2\alpha$  endógena e  $\text{LTB}_4$ , reativando a função leucocitária no ambiente uterino (Lewis, 1997; Nakao et al., 1997; Dhaliwal et al., 2001; Seals et al., 2002).

A  $\text{P}_4$  diminui a síntese de eicosanóides como a  $\text{PGF}_2\alpha$  e o  $\text{LTB}_4$ , substâncias capazes de regular a defesa imunológica uterina (Lewis, 2003; 2004; Fernandes e Figueiredo, 2007). Baixos níveis de  $\text{P}_4$  circulante coincidem com a presença de níveis elevados de PGFM. A concentração de  $\text{P}_4$  permanece basal até aproximadamente doze dias após o parto, período no qual as vacas encontram-se mais resistentes às infecções uterinas. Os quadros de infecção podem piorar a partir da primeira ovulação pós-parto, com o aumento da concentração

de  $\text{P}_4$ , sendo que a infecção persiste até ocorrer a luteólise (Lewis, 1997; Seals et al., 2002). No estudo de Del Vecchio et al. (1994), a infusão intra-uterina de *A. pyogenes* e *E. coli* em vacas com baixa concentração de progesterona circulante não promoveu o estabelecimento de infecções, ao contrário dos animais que receberam a infusão no período luteal.

A partir da primeira ovulação após o parto, as vacas se tornam menos susceptíveis às infecções. O aumento dos níveis de  $\text{E}_2$  durante o estro promove maior fluxo sanguíneo em direção ao útero, atraindo células de defesa e, conseqüentemente promovendo a fagocitose de bactérias presentes na superfície do endométrio. Além disso, o  $\text{E}_2$  facilita a liberação do conteúdo uterino ao aumentar a produção de muco pelas glândulas endometriais e estimular a contração do miométrio, auxiliando na remoção dos agentes patogênicos (Horta, 1995; Sheldon et al., 2004; Fernandes e Figueiredo, 2007).

### 2.6.3. Defesa humoral

A dosagem de imunoglobulinas (Ig) nas secreções uterina e vaginal de animais experimentalmente infectados, por meio da infusão intra-uterina de *A. pyogenes*, revelou aumento dos títulos de IgM, IgG e IgA após o estabelecimento de endometrites, em alguns estudos (Watson et al., 1990; Dhaliwal et al., 2001). Não houve alteração nos títulos sanguíneos desses anticorpos, indicando que ocorre produção de imunoglobulinas no útero e na vagina.

A IgA, encontrada principalmente no muco vaginal, é a principal imunoglobulina que atua na proteção contra os agentes patogênicos nos locais de entrada do organismo. A IgG, encontrada no conteúdo uterino tem como função proteger esse órgão contra a ação de bactérias e toxinas (Watson et al., 1990). Normalmente, a IgG atua após a IgM, que é o primeiro anticorpo

a atuar em processos infecciosos. O processo de inativação dos antígenos por essas imunoglobulinas ocorre em cinco fases: neutralização, aglutinação ou opsonização, precipitação de antígenos solúveis e ativação do sistema do complemento (Tizard, 2002).

## **CAPÍTULO I**

### **PUERPÉRIO NORMAL OU PATOLÓGICO EM VACAS DA RAÇA HOLANDESA**

#### **1. INTRODUÇÃO**

Em bovinos, o período pós-parto é caracterizado por modificações nas funções uterina e ovariana, e pode ser prolongado, caso ocorram falhas no retorno da função normal de um ou ambos os órgãos (Paisley et al., 1986). O conhecimento das mudanças que ocorrem no trato genital durante o processo de involução normal é essencial para diferenciar e avaliar alterações patológicas após o parto (McEntee, 1990).

A involução uterina, a reepitelização do endométrio, a eliminação da contaminação bacteriana adquirida durante o parto e o retorno da atividade ovariana luteal cíclica são eventos que acontecem normalmente no puerpério (Sheldon et al., 2008). Porém, as ocorrências de transtornos, tais como distúrbios metabólicos e doenças uterinas, podem contribuir para o prolongamento do puerpério e consequente redução da eficiência reprodutiva dos animais (Fernandes et al., 2001; Leite et al., 2001; Bellows et al., 2002). A subfertilidade das vacas é um dos maiores desafios para os produtores de leite, uma vez que causa prejuízos financeiros e é difícil de ser tratada (Royal et al., 2000; Fernandes et al., 2001; Leite et al., 2001).

Para promover uma atividade leiteira mais racional e econômica, é necessário

implantar programas de controle das afecções puerperais, principalmente em rebanhos de alta produção. A adoção de procedimentos preventivos, o diagnóstico precoce, a utilização de tratamentos adequados e a análise periódica de parâmetros produtivos e reprodutivos, são imprescindíveis para o sucesso desses programas (Van Saun, 2000; Leite et al., 2001; Sheldon e Dobson, 2004; Smith e Risco, 2005).

Sendo assim, o objetivo deste capítulo foi acompanhar o pós-parto de vacas da raça holandesa mantidas em sistema de confinamento, avaliando a involução uterina, o retorno da atividade ovariana no pós-parto e a ocorrência de transtornos puerperais. Em seguida, foram comparados parâmetros reprodutivos e produtivos dos animais que apresentaram puerpério normal ou patológico.

#### **2. MATERIAL E MÉTODOS**

##### **2.1. Local e animais**

O experimento foi realizado na fazenda Bom Jardim, situada em Oliveira - MG, latitude 20°41'45" S, longitude 44°49'37" W e altitude média de 982 metros. O período experimental foi de 17 de fevereiro a 17 de junho de 2009.

A variação da temperatura ambiente na fazenda foi monitorada diariamente, utilizando-se um termômetro de temperaturas máxima e mínima. A umidade relativa do ar foi calculada a partir da média das temperaturas de bulbo seco (BS) e bulbo úmido (BU) obtidas às 7:00 h, 12:00 h e 18:00 h (Quadro 1, em anexo). O índice de temperatura e umidade (ITU) foi calculado a partir da fórmula sugerida por Pires et al. (1999), na qual:  $ITU = 0,72 \times (BS + BU) + 40,6$ . Obteve-se também a pluviosidade média do local durante o experimento (Tabela 3).

Tabela 3. Parâmetros climáticos obtidos na Fazenda Bom Jardim durante o período experimental

Horário	Parâmetro	Média ± Desvio Padrão
7 horas	Temperatura (°C)	18,3 ± 3,5
	Umidade Relativa (%)	79,2 ± 12,1
	ITU	66 ± 5
12 horas	Temperatura (°C)	25,4 ± 3,0
	Umidade Relativa (%)	57,0 ± 11,0
	ITU	73 ± 4
18 horas	Temperatura (°C)	22,0 ± 2,7
	Umidade Relativa (%)	73,8 ± 11,9
	ITU	70 ± 4
7 horas	Temperatura máxima (°C)	28,4 ± 2,8
7 horas	Temperatura mínima (°C)	14,4 ± 3,9
	Pluviosidade (mm)	4,7 ± 12,4mm

Foram utilizadas 103 vacas da raça holandesa, de primeira (n=25), segunda (n=42) ou terceira (n=36) ordens de lactação, paridas entre 17 de fevereiro e 03 de maio de 2009. A média do peso vivo ao parto foi de  $597,7 \pm 86,8$  kg, o escore de condição corporal médio ao parto foi de  $3,5 \pm 0,6$  (escala de 1 a 5, como proposto por Edmonson et al., 1989) e a produção foi, em média, de  $27,9 \pm 7,3$  litros de leite, obtidos em três ordenhas diárias até 42 dias pós-parto.

Durante o período experimental, os animais foram mantidos em sistema de confinamento tipo *free-stall*, e receberam dieta completa, composta por silagem de milho, Tifton 85 (*Cynodon* spp.), concentrado e sal mineral, conforme o manejo adotado na propriedade.

As vacas que foram submetidas à cesariana ou sofreram aborto não foram incluídas

neste estudo. Onze animais foram descartados antes da primeira inseminação artificial, por motivos diversos (mastite crônica, fraturas, lesões nos cascos, entre outros). Na Tabela 4 é possível verificar o número de animais avaliados ao parto, assim como o número de animais descartados e avaliados durante o puerpério, e até a primeira inseminação artificial (IA), de acordo com a categoria, primíparas ou multíparas.

## 2.2. Acompanhamento dos animais

Antes do parto, as novilhas e as vacas foram confinadas em lotes separados, recebendo a mesma dieta. Ao apresentarem sinais de parto, os animais foram encaminhados para um piquete ao lado do *free-stall* e, quando necessário, receberam auxílio cerca de uma hora após a visualização do rompimento da bolsa amniótica.

Tabela 4. Número de animais avaliados e descartados durante o experimento, em diferentes intervalos do parto à primeira inseminação artificial (IA), de acordo com a categoria

	n	Primíparas	Pluríparas
Vacas paridas	103	25	78
Descartes até 42 dias pós-parto	6	1	5
Animais avaliados até 42 dias pós-parto	97	24	73
Descartes entre 42 dias pós-parto e a primeira IA	5	3	2
Animais avaliados até a primeira IA	92	21	71



As vacas permaneceram com a cria aproximadamente três horas após o parto e em seguida, foram conduzidas até a plataforma de manejo, onde foram aferidos o peso vivo, o escore de condição corporal e a temperatura retal. Os procedimentos adotados nessa ocasião incluíram a administração de 500 mL de cálcio SC, 10 mL de ocitocina IV, além fluidoterapia oral, composta por: 100 g de sulfato de magnésio, 100 g de cloreto de potássio, 100 g de cloreto de cálcio e 300 mL de propilenoglicol, diluídos em 20 ou 30 litros de água, se primíparas ou pluríparas, respectivamente. Nos casos de intervenção ao parto, além desses procedimentos, a vaca foi medicada com oxitetraciclina de longa duração (20 mg/kg de peso vivo, IM). Todos os animais foram vermifugados com levamisol (3,75 mg/kg de peso vivo, SC).

Os animais foram monitorados durante 10 dias após o parto, quanto a temperatura retal, sendo considerados febris quando a temperatura ultrapassou 39,5°C. Na presença de febre e outros sinais clínicos foram medicados a partir do diagnóstico estabelecido, na maioria das vezes, de acordo com protocolos elaborados pelo veterinário da propriedade.

A involução uterina e o retorno da atividade ovariana foram avaliados semanalmente até 42 dias após o parto, verificando-se a ocorrência de patologias como retenção de placenta, metrite e endometrite. Por meio de palpação transretal e ultrassonografia, foram verificadas a posição do útero em relação à pelve, a presença de conteúdo, a simetria e a consistência dos cornos uterinos, além da presença de estruturas como folículos, corpos lúteos e cistos ovarianos. Por meio da vaginoscopia, observaram-se a presença de lesões na vagina, a abertura da cérvix, o aspecto e o odor da secreção cérvico-vaginal.

Considerou-se como retenção de placenta, a não expulsão das membranas fetais até 12 horas pós-parto, porém, só foram medicados os animais que apresentaram retenção por mais de 24 horas pós-parto. Nestes casos, os animais foram tratados com oxitetraciclina de longa duração (20 mg/kg de peso vivo, IM). Como tratamento de suporte, os animais receberam 20 (primíparas) ou 30 (pluríparas) litros de fluidoterapia diária. A solução era composta por 160 g de cloreto de sódio, 20 g de cloreto de potássio, 10 g de cloreto de cálcio e 300 mL de propilenoglicol.

Quadros de infecção uterina ocorridos durante a primeira semana pós-parto foram definidos como metrite puerperal aguda, sendo caracterizados pelo aumento de volume anormal do útero, presença de secreção cérvico-vaginal com aspecto sanguinopurulento e odor fétido, além de sinais sistêmicos como desidratação, queda na produção de leite, apatia e febre. A presença de secreção purulenta na vagina entre 14 e 21 dias após o parto, na ausência de sinais sistêmicos, foi caracterizada como metrite clínica. A presença de secreção purulenta depois de 21 dias, ou a presença de conteúdo mucopurulento depois de 26 dias pós-parto, na ausência de sinais sistêmicos, caracterizaram quadros de endometrite clínica (Sheldon et al., 2006).

Na presença de metrite puerperal, os animais foram tratados primeiramente com oxitetraciclina ou cefalosporina, adotados como antibióticos de eleição para animais com baixa ou alta produção de leite, respectivamente. Tilosina (10 mg/kg de peso vivo), florfenicol (20 mg/kg) e norfloxacina (5 mg/kg) foram também empregados como segunda, terceira e quarta opção de tratamento, nos casos de evolução do quadro de infecção uterina. Os animais que tiveram endometrite foram tratados com antibioticoterapia sistêmica ou local, dependendo da gravidade dos casos.

Considerou-se como involução uterina completa, o retorno do útero à pelve, com tonicidade e consistência normais, ausência de conteúdo, simetria dos cornos uterinos, além da presença ou ausência de muco cristalino na vagina. Nessa ocasião, os animais foram liberados do período voluntário de espera (PVE), podendo ou não ser inseminados no estro subsequente, dependendo da condição corporal e da presença de muco limpo na vagina no momento da inseminação artificial. A observação do estro foi realizada três vezes ao dia (manhã, tarde e noite), principalmente durante o deslocamento dos animais para a sala ordenha.

A partir de 42 dias pós-parto, os animais que não haviam retornado à ciclicidade, apresentavam bom escore corporal e não apresentavam sinais de endometrite foram submetidos a protocolos hormonais para indução da ovulação. Os casos de cistos foliculares foram tratados com gonadorelina (0,125 mg via IM). Na presença de corpo lúteo ou cistos luteinizados, procedeu-se a aplicação de análogos da prostaglandina F<sub>2α</sub>

(cloprostenol sódico; 0,5 mg via IM). Animais com sinais de endometrite foram tratados basicamente com antibioticoterapia local.

Os exames ginecológicos semanais prosseguiram até o diagnóstico de gestação, realizado aos 30 dias após a inseminação artificial e confirmado aos 60 dias, sendo que os dados do controle reprodutivo foram coletados até seis meses depois do final do experimento.

### 2.3. Separação dos grupos experimentais

Os animais foram divididos em grupos de acordo com os seguintes critérios: categoria (primíparas ou pluríparas), ocorrência de retenção de placenta, ocorrência de infecção uterina até 42 dias pós-parto, ocorrência de infecção uterina até o primeiro serviço ou primeira inseminação artificial.

Os números de animais avaliados por grupo de acordo com os critérios adotados estão descritos nas Tabelas 05, 06 e 07.

Tabela 5. Número de animais avaliados de acordo com a ocorrência de retenção de placenta

<b>Categoria</b>	<b>n</b>	<b>Com retenção de placenta</b>	<b>Sem retenção de placenta</b>
<b>Primíparas</b>	25	5	20
<b>Pluríparas</b>	78	35	43
<b>Total</b>	<b>103</b>	<b>40</b>	<b>63</b>

Tabela 6. Número de animais avaliados de acordo com a ocorrência de infecção uterina até 42 dias pós-parto

<b>Categoria</b>	<b>n</b>	<b>Com infecção uterina</b>	<b>Sem infecção uterina</b>
<b>Primíparas</b>	24	18	6
<b>Pluríparas</b>	73	44	29
<b>Total</b>	<b>97</b>	<b>62</b>	<b>35</b>

Tabela 7. Número de animais avaliados de acordo com a ocorrência de infecção uterina até a primeira inseminação artificial

<b>Categoria</b>	<b>n</b>	<b>Com infecção uterina</b>	<b>Sem infecção uterina</b>
<b>Primíparas</b>	21	17	4
<b>Pluríparas</b>	71	52	19
<b>Total</b>	<b>92</b>	<b>69</b>	<b>23</b>

## 2.4. Análises estatísticas

O teste F foi utilizado para comparação das médias do peso vivo ao parto, temperatura retal entre seis e 12 horas após o parto e temperatura retal até dez dias após o parto. Para comparação das médias do escore de condição corporal ao parto foram utilizados os testes de Mann-Whitney e Kruskal-Wallis, dependendo do número de tratamentos avaliados. O nível de significância considerado foi de 5%.

Como **variáveis independentes** foram considerados o nascimento de machos ou fêmeas e as ocorrências de parto normal ou auxiliado, parto simples ou gemelar, presença ou ausência de retenção de placenta e de infecções uterinas durante o puerpério e até o primeiro serviço, além da ocorrência de cistos ovarianos. Para comparar as incidências das variáveis independentes, foi utilizado o teste Exato de Fisher. As **variáveis dependentes** consideradas foram: adiantamento do parto; período de involução uterina; intervalos do parto à detecção do primeiro cisto ovariano, ao primeiro estro observado, à detecção do primeiro corpo lúteo por meio de ultrassonografia e ao primeiro serviço; período de serviço; número de serviços por concepção e produção de leite durante o puerpério (até 42 dias após o parto). As variáveis dependentes foram submetidas à análise de variância para determinação dos

efeitos das variáveis independentes, sendo utilizados os testes F e SNK (Student Newman Keuls), para comparação das médias dependendo do número de tratamentos. Os dados dos intervalos do parto ao primeiro serviço e do parto ao diagnóstico do primeiro cisto sofreram transformação logarítmica para atender à distribuição normal. O nível de significância considerado para todos os testes foi de 5%.

Os programas *GraphPad Instat*, versão 3.05 (Graphpad Software, San Diego, CA, EUA) e SAEG, versão 9.1 (Fundação Arthur Bernardes, Viçosa, MG, Brasil), foram utilizados nas análises estatísticas.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1. Escore de condição corporal e peso vivo ao parto

O escore de condição corporal (ECC) médio ao parto foi de  $3,5 \pm 0,6$ , e não diferiu ( $P > 0,05$ ) entre primíparas e pluríparas. O peso vivo médio ao parto foi de  $597,7 \pm 87,2$  kg, com diferença ( $P < 0,05$ ) entre primíparas e pluríparas, como esperado (Tabela 8). O valor de referência para o peso vivo ao parto de novilhas holandesas é de aproximadamente 500 kg, correspondente a 80% do peso adulto dessa raça (Campos e Lizieire, 1998), o que foi observado no presente estudo.

Tabela 8. Escore de condição corporal (ECC) e peso vivo ao parto de acordo com a categoria

<b>Categoria</b>	<b>n</b>	<b>ECC</b>	<b>Peso vivo (kg)</b>
<b>Primíparas</b>	25	$3,3 \pm 0,6$	$489,4 \pm 48,0A$
<b>Pluríparas</b>	78	$3,6 \pm 0,5$	$632,5 \pm 65,8B$
<b>Total</b>	<b>103</b>	<b><math>3,5 \pm 0,6</math></b>	<b><math>597,7 \pm 87,2</math></b>

Médias na mesma coluna, seguidas de letras maiúsculas distintas, diferem pelo teste F ( $P < 0,001$ ).

O escore de condição corporal (ECC) ao parto variou de 2,0 a 4,5, sendo que a maioria dos animais apresentou ECC entre 3,0 e 4,0 (Figura 1). Para ambas as categorias, recomenda-se que o ECC ao parto seja compreendido entre 3,0 e 3,5,

uma vez que a obesidade pode aumentar o risco de ocorrências de doenças puerperais (Gearhart et al., 1990; Waltner et al., 1993; Jones et al., 1993; Butler, 2006). Na maioria dos rebanhos, a porcentagem de animais obesos ao parto geralmente é baixa

e varia de 5 a 10% (Gearhart et al., 1990; Waltner et al., 1993), o que não ocorreu neste estudo. Como ilustrado na Figura 1,

20% (5/25) das primíparas e 41% (32/78) das pluríparas apresentaram obesidade ao parto (ECC igual a 4,0 ou 4,5).

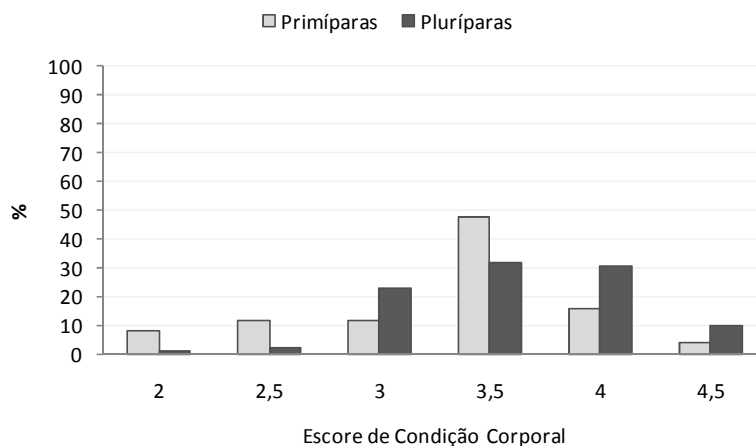


Figura 1. Variação do escore de condição corporal ao parto de acordo com a categoria

Independente do estágio da lactação, vacas com maior número de partos apresentam maior ECC (Edmonson et al.; 1989). O ideal é que as vacas apresentem boa condição corporal ao final da lactação, uma vez que correções da condição corporal durante o período seco podem afetar negativamente a saúde ao parto (Jones et al., 1993; Waltner, 1993). Vacas obesas à secagem, ao parto e no início da lactação apresentam maior percentual de transtornos no periparto, quando comparadas às vacas com bom ECC (Gearhart et al., 1990).

Lactações muito curtas ou aumento do intervalo de partos podem favorecer a obesidade ao parto. Nesses casos, verifica-se aumento da deposição de gordura, uma vez que a maior parte da gestação ocorre no final da lactação ou durante o período seco, que tende a ser mais prolongado. Desde o início do período seco, os animais devem manter o ECC entre 3,0 e 3,5 visando diminuir as ocorrências de cistos ovarianos, transtornos reprodutivos e alterações do aparelho locomotor após o parto, transtornos responsáveis pelo descarte

involuntário (Jones et al., 1993). Em rebanhos de alta produção é importante fazer o acompanhamento constante do ECC, apesar deste não ser o único método que deve ser utilizado para prever alterações relacionadas com doenças e problemas reprodutivos (Gearhart et al., 1990; Waltner et al., 1993; Butler, 2006).

### 3.2. Temperatura retal após o parto

#### 3.2.1. Temperatura retal entre seis e doze horas após o parto

A temperatura retal média entre seis e doze horas após o parto foi de  $39,2 \pm 0,6^{\circ}\text{C}$ , e não houve diferença ( $P > 0,05$ ) entre primíparas e pluríparas, que apresentaram temperatura retal média ao parto de  $39,0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  e  $39,2 \pm 0,6^{\circ}\text{C}$ , respectivamente. O mesmo ocorreu entre os animais com ou sem retenção de placenta, que apresentaram temperatura retal média ao parto de  $39,1 \pm 0,6^{\circ}\text{C}$  e  $39,3 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , respectivamente. Ao associar a categoria dos animais e a retenção de placenta, também não foram detectadas diferenças (Tabela 9).

Tabela 9. Temperatura retal entre seis e doze horas após o parto de acordo com a categoria e a ocorrência de retenção de placenta

<b>Categoria</b>	<b>n</b>	<b>Temperatura retal (°C)</b>
<b>Primíparas sem retenção de placenta</b>	20	39,1 ± 0,5
<b>Primíparas com retenção de placenta</b>	5	38,8 ± 0,4
<b>Pluríparas sem retenção de placenta</b>	43	39,3 ± 0,5
<b>Pluríparas com retenção de placenta</b>	35	39,1 ± 0,6
<b>Total</b>	<b>103</b>	<b>39,2 ± 0,6</b>

A maioria dos autores considera a temperatura de 39,5°C, como limite superior para animais sadios (Van Saun, 2000). Sendo assim, as médias de temperaturas retais encontradas no presente estudo, foram consideradas normais, apesar de serem mais elevadas que as médias relatadas por Sheldon et al. (2004) e Drillich et al (2006b), para vacas leiteiras recém-paridas, que foram de 38,7°C e 38,6°C, respectivamente. De acordo com Smith e Risco (2005), os valores de referência para o intervalo de temperatura considerada como normal, dependem do horário do dia, estação do ano, idade, raça, estado de saúde dos animais, entre outros.

Em torno de 19% (20/103) dos animais apresentaram febre (temperatura retal maior que 39,5°C) entre seis e doze horas após o parto, o que ocorreu em 15,0% (6/40) dos animais com retenção de placenta e 22,3%

(14/63) dos animais sem retenção de placenta. Não houve diferença ( $P>0,05$ ) entre os grupos. O mesmo ocorreu entre animais que tiveram partos normais ou auxiliados, sendo que 20,7% (17/82) e 14,3% (3/21) apresentaram febre após o parto, respectivamente. As distribuições da temperatura retal, de acordo com a ocorrência de retenção de placenta e o tipo de parto, encontram-se ilustradas nas Figuras 2 e 3, respectivamente.

A relação entre a elevação da temperatura retal e as ocorrências de retenção de placenta e partos auxiliados é decorrente da ocorrência de febre em animais com retenção de placenta ou distocias, nos casos de infecções uterinas secundárias (Sheldon et al., 2004). Como no presente estudo a temperatura foi aferida entre seis e doze horas após o parto, já era esperada a ausência de relação entre esses fatores.

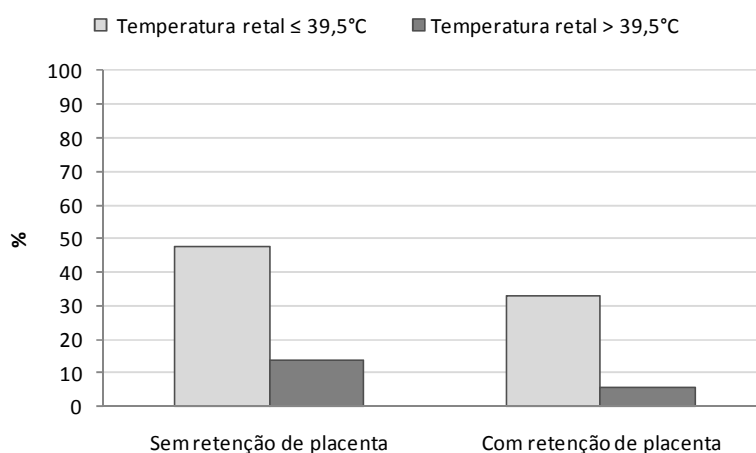


Figura 2. Temperatura retal entre seis e doze horas após o parto de acordo com ocorrência de retenção de placenta

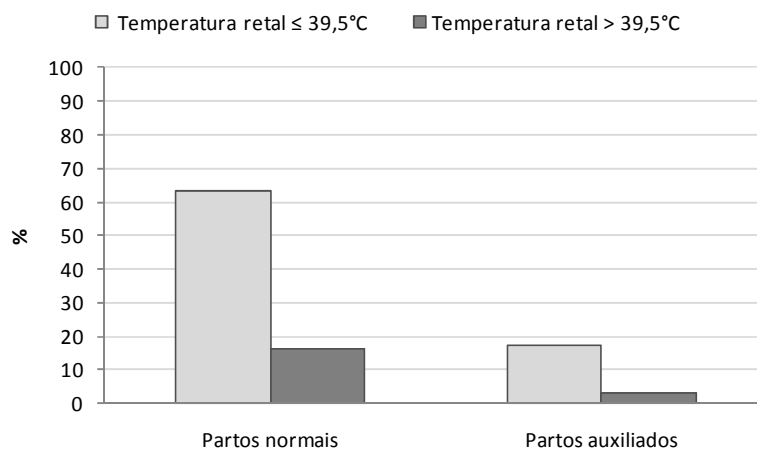


Figura 3. Temperatura retal entre seis e doze horas após o parto de acordo com o tipo de parto, normal ou auxiliado

No estudo de Koivisto et al. (2001), também não foi encontrada associação entre febre, retenção de placenta e parto auxiliado. Esses autores verificaram que 21,4% dos animais com retenção de placenta e 20,5% dos animais sem retenção apresentaram febre. Das fêmeas com parto normal ou auxiliado, 18,9% e 27,0% apresentaram febre, respectivamente, resultados semelhantes aos deste estudo.

### 3.2.2. Temperatura retal até dez dias após o parto

A média da temperatura retal, aferida após a ordenha da manhã, durante os dez primeiros dias após o parto, foi de  $39,1 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ , sendo verificada diferença ( $P < 0,05$ ) entre os animais que apresentaram retenção de placenta seguida ou não de metrite puerperal aguda (Tabela 10).

Tabela 10. Temperatura retal média durante os dez primeiros dias após o parto de acordo com a ocorrência de retenção de placenta e metrite puerperal

	<i>n</i>	Temperatura retal ( $^{\circ}\text{C}$ )
<b>Animais sem retenção de placenta e sem metrite</b>	36	$39,0 \pm 0,1\text{AB}$
<b>Animais sem retenção de placenta e com metrite</b>	20	$39,1 \pm 0,1\text{AC}$
<b>Animais com retenção de placenta e sem metrite</b>	7	$38,9 \pm 0,2\text{B}$
<b>Animais com retenção de placenta e com metrite</b>	29	$39,2 \pm 0,1\text{C}$
<b>Total</b>	<b>92</b>	<b><math>39,1 \pm 0,2</math></b>

Médias na mesma coluna, seguidas de letras maiúsculas distintas, diferem pelo teste F ( $P = 0,00000$ )

Durante a maior parte do período de avaliação dos animais após o parto, a porcentagem de animais com retenção de placenta e temperatura retal elevada, foi superior à porcentagem de animais sem retenção de placenta com febre, sendo detectada diferença significativa ( $P < 0,05$ ) nos dias 4 e 5 após o parto (Figura 4). Ao associar a presença de temperatura retal elevada com as ocorrências ou não, de

retenção de placenta e metrite puerperal até os dez dias após o parto, verificou-se que a maior porcentagem de animais febris ocorreu no grupo que apresentou retenção de placenta seguida de metrite, principalmente nos dias quatro, cinco e seis após o parto. Durante esses dias, foram detectados 44%, 46% e 41% de animais com febre, respectivamente, no grupo em questão (Figura 5).

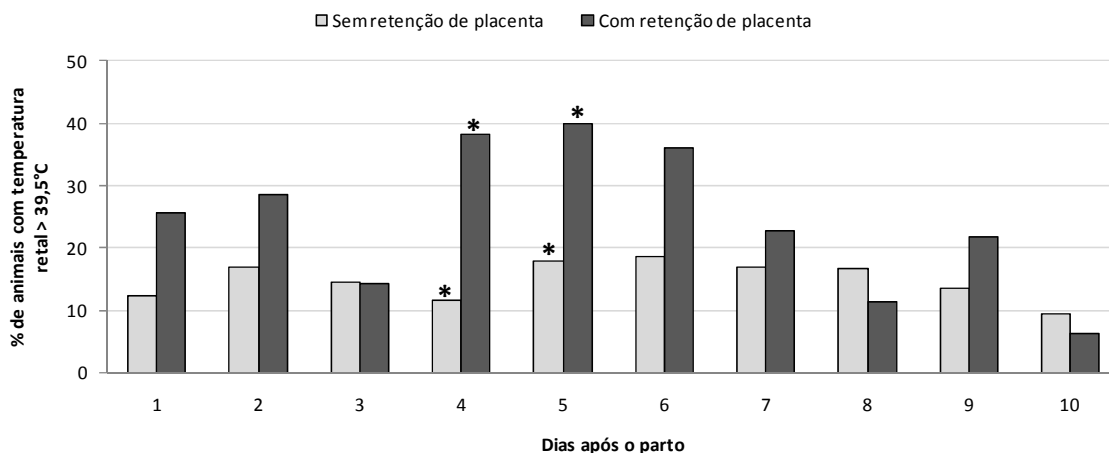


Figura 4. Animais com febre até dez dias pós-parto, de acordo com a ocorrência de retenção de placenta. (\*) Diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre os grupos

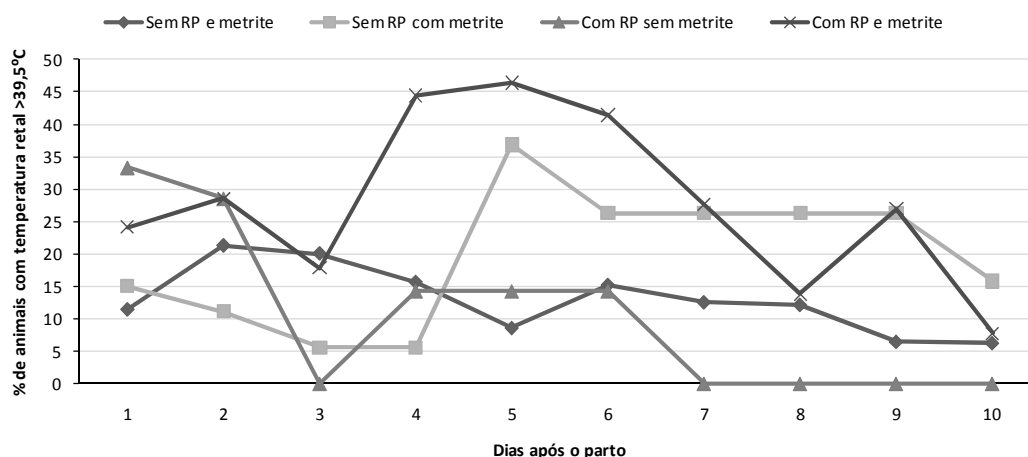


Figura 5. Animais com febre durante os dez primeiros dias pós-parto, de acordo com as ocorrências de retenção de placenta e/ou metrite puerperal.

A retenção de placenta é o fator de risco mais importante para o estabelecimento de metrites puerperais. A placenta retida interfere na contratilidade uterina e fornecer substrato para multiplicação bacteriana. A infecção causada por bactérias pode causar febre e desconforto para os animais, com consequente redução da ingestão de alimentos (Königsson et al., 2001). A temperatura retal é um indicador da temperatura corporal, amplamente utilizada como método de diagnóstico para determinar se a vaca está com febre. A elevação da temperatura retal durante os

primeiros dias após o parto é associada à observação das características da secreção cérvico-vaginal, auxiliando no diagnóstico da metrite puerperal aguda (Van Saun, 2000; Sheldon et al., 2004; Smith e Risco, 2005; Drillich et al., 2003; 2006a; 2006b; Benzaquen et al., 2007).

Os achados do presente estudo são semelhantes aos relatados por Drillich et al. (2003), que verificaram maior porcentagem de animais com retenção de placenta e metrite puerperal, apresentando elevação da temperatura corporal a partir do terceiro dia

após o parto. Em outro estudo, esses autores verificaram que a temperatura retal de vacas com metrite puerperal aguda começa a aumentar dois dias antes do diagnóstico dessa afecção. Após a adoção de antibioticoterapia sistêmica, a temperatura retal tende a diminuir, atingindo média semelhante aos animais sem infecção uterina (Drillich et al., 2006b).

A presença de metrite puerperal, sem a ocorrência prévia de retenção de placenta, também implicou aumento da porcentagem de animais febris, a partir do quarto dia após o parto. No quinto dia, 37% dos animais dessa categoria apresentaram febre (Figura 5). Esses achados são semelhantes aos obtidos por Benzaquen et al. (2007), que detectaram presença de febre em 41,4% das vacas com metrite puerperal.

No presente estudo, dos animais com retenção de placenta sem metrite puerperal, 33% e 29% tiveram febre no primeiro e segundo dias após o parto, respectivamente. A partir do terceiro dia após o parto, essa porcentagem diminuiu consideravelmente (Figura 5). Já no grupo sem retenção de placenta, nem metrite, as porcentagens de animais com febre até dez dias após o parto, mantiveram maior estabilidade, quando comparadas aos outros grupos (Figura 5).

No estudo de Drillich et al. (2006a), as proporções encontradas de animais com ou sem febre, até os dez dias após o parto, foram superiores às do presente estudo. Cerca de 80% das vacas recém-paridas apresentaram febre pelo menos uma vez

nesse período. Dos animais que tiveram retenção de placenta, foram detectados 65,5 a 92,1% com febre.

Entre outros fatores, diferenças quanto ao horário do dia no qual a temperatura dos animais foi aferida, fatores climáticos, estações do ano e conforto térmico das instalações, podem interferir na variação da temperatura corporal (Smith e Risco, 2005), o que pode ser relacionado com a menor proporção de animais febris verificada no presente estudo. Recomenda-se averiguar a presença de febre dois dias consecutivos, antes de confirmar o diagnóstico de metrite puerperal e estabelecer o tratamento. Grande parte das vacas com metrite puerperal não apresenta febre, indicando que essa afecção nem sempre é acompanhada de elevação da temperatura corporal (Drillich et al., 2006b).

### 3.3. Sexo da cria

Foram registrados os nascimentos de 115 crias, sendo 91 provenientes de partos simples e 24, de partos gemelares. Dos animais nascidos, 57,4% (66/115) eram fêmeas e 42,6% (49/115) eram machos. Houve diferença ( $P < 0,05$ ) nos percentuais de nascimentos de machos e fêmeas de acordo com a categoria dos animais que tiveram partos simples (Tabela 11). A diferença na proporção dos nascimentos de machos e fêmeas foi considerada casual, uma vez que ambas as categorias foram inseminadas com sêmen convencional, o que deveria implicar em proporções iguais de machos e fêmeas.

Tabela 11. Nascimento de machos ou fêmeas de acordo com a categoria dos animais que tiveram parto simples

<b>Categoria</b>	<b>Machos</b>	<b>Fêmeas</b>	<b>Total</b>
<b>Primíparas</b>	13 (59,1%)	9 (40,9%)	22
<b>Pluríparas</b>	23 (33,3%)	46 (66,7%)	69
<b>Total</b>	<b>36 (39,6%)</b>	<b>55 (60,4%)</b>	<b>91</b>

Os percentuais de machos e fêmeas de acordo com a categoria dos animais diferiram entre si pelo teste Exato de Fisher ( $P < 0,05$ ).



### 3.4. Ocorrências de partos simples ou gemelares

De 103 partos avaliados, 11,7% (12/103) foram gemelares, não sendo observada diferença ( $P>0,05$ ) entre primíparas e pluríparas (Tabela 12). Na literatura, as porcentagens de partos gemelares verificadas em diferentes estudos são

menores que a observada no presente estudo. Joosten et al. (1987), Correa et al. (1993) e López-Gatius et al. (2002) verificaram ocorrências de 3% a 4% de partos gemelares em rebanhos leiteiros de alta produção, enquanto García-Ispuerto et al. (2007) observaram a ocorrência de 6,0%. No estudo de Kinsel et al. (1998), as incidências variaram de 0 a 9,6%.

Tabela 12. Ocorrência de partos simples ou gemelares de acordo com a categoria

<b>Categoria</b>	<b>Partos simples</b>	<b>Partos gemelares</b>	<b>Total</b>
<b>Primíparas</b>	22 (88,0%)	3 (12,0%)	25
<b>Pluríparas</b>	69 (88,5%)	9 (11,5%)	78
<b>Total</b>	<b>91 (88,3%)</b>	<b>12 (11,7%)</b>	<b>103</b>

As gestações gemelares são indesejáveis, principalmente em rebanhos leiteiros, por causa do maior risco de ocorrer aborto, adiantamento do parto, distocia, retenção de placenta e metrite puerperal, com consequente subfertilidade e aumento do intervalo de partos. Os prejuízos são decorrentes de gastos com medicamentos, redução na produção de leite, descarte de leite contaminado com resíduos de antibiótico e maior taxa de mortalidade das crias (Beerepoot et al., 1992; Fricke, 2000).

A ocorrência de gestações gemelares em rebanhos leiteiros geralmente é associada a duplas ovulações. Os principais fatores de risco para a ocorrência de duplas ovulações são ordem de parto e produção de leite, sendo mais frequentes em pluríparas de alta produção (Fricke e Wiltbank, 1998; Wiltbank et al., 2000; Fricke, 2000). A ocorrência de cistos ovarianos e a utilização de hormônios como análogos da prostaglandina, GnRH e rbST (Somatotropina bovina recombinante), também estão relacionadas com a maior incidência de gestações gemelares (Kinsel et al.; 1998). Esses fatores ocorrem simultaneamente em uma propriedade, juntamente com o fator genético. Gestações gemelares são mais comuns em vacas da raça holandesa (Fricke, 2000).

Os mecanismos que associam os fatores citados acima às duplas ovulações ainda não estão bem elucidados, mas acredita-se que estejam relacionados com alterações ocorridas no momento da divergência de uma onda folicular, que podem permitir a co-dominância e consequente dupla ovulação. Esse fenômeno é mais comum em vacas de alta produção, devido ao desbalanceamento endócrino promovido pelo maior metabolismo hepático de hormônios esteróides e pela elevação dos níveis de FSH circulantes, o que favorece a co-dominância (Fricke e Wiltbank, 1998; Wiltbank et al., 2000; Fricke, 2000). A semelhança das incidências de partos gemelares entre primíparas e pluríparas no presente estudo, sugere a ocorrência de outros fatores de risco, ainda não estão esclarecidos na literatura.

### 3.5. Ocorrências de partos normais ou auxiliados

Dos 103 partos avaliados, 20,4% (21/103) necessitaram de algum grau de intervenção, sendo classificados como auxiliados. As ocorrências de partos normais e auxiliados não diferiram ( $P>0,05$ ) entre primíparas e pluríparas (Tabela 13).

Tabela 13. Ocorrência de partos normais ou auxiliados de acordo com a categoria

<b>Categoria</b>	<b>Partos normais</b>	<b>Partos auxiliados</b>	<b>Total</b>
<b>Primíparas</b>	18 (72,0%)	7 (28,0%)	25
<b>Pluríparas</b>	64 (82,1%)	14 (17,9%)	78
<b>Total</b>	<b>82 (79,6%)</b>	<b>21 (20,4%)</b>	<b>103</b>

A ocorrência de partos auxiliados encontrada no presente estudo foi semelhante à encontrada por Koivisto et al. (2001), que verificaram incidência de 20,6%. Porém, na maioria das vezes, a ocorrência de partos auxiliados em rebanhos leiteiros é inferior à observada no presente estudo: 15,5% (Erb et al., 1985); 14,6% (Etherington et al., 1985); 9,9% (Gearhart et al.; 1990); 8,9% (Correa et al., 1993); 5,3% (Leite et al., 2001); e 7,2% a 8,4% (Tillard et al., 2008).

O auxílio ao parto geralmente é decorrente de distocia, devido à incompatibilidade entre as medidas do feto e o canal do parto ou apresentação fetal incorreta. A intervenção no trabalho de parto deve ser feita de forma cuidadosa para evitar a ocorrência de lacerações vaginais (Bell e Roberts, 2007; Oliveira e Gheller, 2009). No presente estudo, verificou-se por meio de vaginoscopia, que 44,0% (11/25) das primíparas avaliadas apresentavam algum grau de laceração vaginal após o parto. Em relação às pluríparas, em apenas 6,4% (5/78) foi detectada a presença de lesões na vagina após o parto. Esses achados são decorrentes da incompatibilidade entre as medidas fetais e maternas e menor abertura do canal vaginal das primíparas, quando comparadas às pluríparas.

Não foi observada diferença entre a ordem de partos e a ocorrência de partos auxiliados, apesar das primíparas apresentarem maior incidência dessa afecção, como reportado em outros estudos (Erb et al., 1985; Bell e Roberts, 2007). Além da ordem de parto, outros fatores de risco são associados às distocias: ocorrência de partos gemelares (Joosten et al., 1987; Correa et al., 1993; Bell e Roberts, 2007), nascimento de machos (Correa et al., 1993; Bell e Roberts, 2007) e peso elevado da cria (Bell e Roberts, 2007). A alta incidência de partos auxiliados no presente estudo pode estar relacionada com a presença desses fatores de risco.

Quanto ao tipo de parto, simples ou gemelar, verificou-se que a ocorrência de partos auxiliados foi semelhante ( $P>0,05$ ) entre os grupos, sendo que 18,7% (17/91) dos partos simples e 33,3% (4/12) dos partos gemelares foram auxiliados. Ao considerar a categoria e o tipo de parto, simples ou gemelar, também não foi detectada diferença ( $P>0,05$ ) quanto à ocorrência de partos auxiliados. Primíparas e pluríparas que tiveram partos simples ou gemelares apresentaram necessidades semelhantes de auxílio ao parto, como verificado na Tabela 14.

Tabela 14. Ocorrência de partos auxiliados de acordo com a categoria dos animais que tiveram parto simples ou gemelar

<b>Categoria</b>	<b>Partos simples</b>	<b>Partos gemelares</b>	<b>Total</b>
<b>Primíparas</b>	18,2% (4/22)	0,0% (0/3)	16,0% (4/25)
<b>Pluríparas</b>	18,9% (13/69)	44,4% (4/9)	21,8% (17/78)
<b>Total</b>	<b>18,7% (17/91)</b>	<b>33,3% (4/12)</b>	<b>20,4% (21/103)</b>

O sexo da cria também não influenciou ( $P>0,05$ ) nas ocorrências de partos simples auxiliados no presente estudo. O nascimento de machos ou fêmeas implicou necessidade de intervenção semelhante. Ao relacionar o nascimento de machos e a ocorrência de partos simples, normais ou

auxiliados, também não foi verificada diferença ( $P>0,05$ ) entre as categorias. Primíparas e pluríparas com parto normal tiveram a mesma probabilidade de parir machos ou fêmeas. O mesmo ocorreu entre primíparas e pluríparas que tiveram parto auxiliado (Tabela 15).

Tabela 15. Nascimento de machos de acordo com a categoria dos animais que tiveram parto normal ou auxiliado simples

<b>Categoria</b>	<b>Partos normais</b>	<b>Partos auxiliados</b>	<b>Total</b>
<b>Primíparas</b>	53,3% (8/15)	71,4% (5/7)	59,1% (13/22)
<b>Pluríparas</b>	33,9% (20/59)	30,0% (3/10)	33,3% (23/69)
<b>Total</b>	<b>37,8% (28/74)</b>	<b>47,1% (8/17)</b>	<b>39,6% (36/91)</b>

A ausência de relação entre a alta incidência de partos auxiliados e os fatores de risco considerados, como ordem de parto, ocorrências de partos gemelares e nascimento de machos, sugere que nem sempre o auxílio ao parto foi relacionado com a ocorrência de distocias. A intervenção precoce no trabalho de parto pode ter sido um dos fatores que contribuiu para a elevada incidência de partos auxiliados no presente estudo. Na prática, recomenda-se aguardar no mínimo 90 minutos para intervir no trabalho de parto, no caso das primíparas, e 60 minutos, para as pluríparas, o que não foi observado na maioria das vezes no presente estudo.

A ocorrência de partos auxiliados pode implicar em perdas econômicas consideráveis, devido à influência na

produção de leite e na fertilidade, além de descarte involuntário dos animais acometidos, uma vez que constitui um dos principais fatores de risco para a ocorrência de retenção de placenta, e conseqüentemente, para o estabelecimento de doenças uterinas (Bell e Roberts, 2007; Oliveira e Gheller, 2009).

### 3.6. Ocorrência de retenção de placenta

#### 3.6.1. Ocorrência de retenção de placenta de acordo com a categoria

Verificou-se que 38,8% (40/103) dos animais tiveram retenção de placenta até doze horas após o parto. A ocorrência dessa afecção foi mais frequente ( $P< 0,05$ ) em primíparas, quando comparadas às pluríparas (Tabela 16).

Tabela 16. Ocorrência de retenção de placenta de acordo com a categoria

<b>Categoria</b>	<b>Retenção de placenta</b>		<b>Total</b>
	<b>Presente</b>	<b>Ausente</b>	
<b>Primíparas</b>	5 (20,0%)	20 (80,0%)	25
<b>Pluríparas</b>	35 (44,9%)	43 (55,1%)	78
<b>Total</b>	<b>40 (38,8%)</b>	<b>63 (61,2%)</b>	<b>103</b>

Os percentuais de primíparas e pluríparas sem e com retenção de placenta diferiram entre si pelo teste Exato de Fisher ( $P<0,05$ )

As ocorrências de retenção de placenta podem variar de 1 a 50% por causa da presença de fatores inerentes a determinadas propriedades, regiões e países (Van Werven et al., 1992; Laven e Peters, 1996; Han e Kim, 2005; Wiltbank, 2008). Incidências semelhantes às do presente estudo foram relatadas por Larson et al. (1985), 28% e 42% de retenção de placenta em vacas holandesas de primeira e segunda lactação, respectivamente. Outros autores reportaram incidências inferiores em vacas leiteiras: 17,5% (DuBois e Williams, 1980); 13,3% (Etherington et al., 1985); 19,9% (Lara, 1985); 10,3% (Gearhart et al., 1990); 9,5% (Correa et al., 1993); 16,7% (Santos, 1996); 10,5% (Leite et al., 2001; Fernandes et al., 2001); 12,9% (López-Gatius et al., 2002); 19,5% (Santos et al., 2002); 4,7% (Drillich et al., 2003); 8,3 a 28,1% (Han e Kim, 2005); 8,7% (Drillich et al., 2006b); 10,5% (Scheid Filho et al., 2007); 17,2% (García-Ispuerto et al., 2007) e 15,5% (Tillard et al., 2008).

A ordem de partos é um dos principais fatores de risco associados à retenção de placenta, verificando-se maior incidência em pluríparas (Larson et al., 1985; Joosten et al., 1987; Markusfeld et al., 1987; Van Werven et al., 1992; Santos et al., 2002). À medida que aumenta a ordem de partos, aumenta a incidência de retenção de placenta (Santos et al., 2002; VanWerven et al., 1992). As primíparas expulsam a placenta mais rapidamente e, nos casos de retenção, são menos afetadas. Melhores condições do endométrio, involução uterina mais rápida e sistema imunológico mais eficiente favorecem a liberação da placenta nesses animais (VanWerven et al., 1992).

O maior número de pluríparas (78 animais) avaliadas em relação às primíparas (25 animais) pode estar relacionado com a elevada incidência de retenção de placenta no presente estudo. Além da ordem de parto, a presença de outros fatores de risco pode estar relacionada com a retenção de placenta, como será discutido a seguir: alto índice de partos gemelares e auxiliados, adiantamento do parto e estresse calórico. Esses fatores podem favorecer alterações metabólicas e neuro-endócrinas que interferem nos mecanismos de separação e liberação dos anexos fetais, favorecendo a retenção da placenta no útero por tempo prolongado após o parto (Grunert, 1980; Horta, 1994; Wiltbank, 2008).

### 3.6.2. Ocorrência de retenção de placenta de acordo com o escore de condição corporal (ECC) e peso vivo ao parto

Não foi verificada diferença ( $P > 0,05$ ) entre as médias de ECC e peso vivo dos animais com ou sem retenção de placenta (Tabela 17). Ao relacionar ECC e peso vivo ao parto com a categoria, verificou-se diferença ( $P < 0,0001$ ) entre os grupos somente para peso vivo.

As primíparas sem retenção de placenta encontravam-se mais leves que as primíparas com retenção de placenta, tendo ocorrido o contrário entre as pluríparas (Tabela 18). Não foi encontrada associação ( $P > 0,05$ ) entre o ECC ao parto e a incidência de retenção de placenta. Animais com condição corporal baixa (2,0 a 2,5), média (3,0 a 3,5) ou alta (4,0 a 4,5) tiveram incidências de retenção de placenta semelhantes (Figura 6).

Tabela 17. Escore de condição corporal (ECC) e peso vivo ao parto de acordo com a ocorrência de retenção de placenta

	<i>n</i>	ECC (1 a 5)	Peso vivo (Kg)
<b>Animais sem retenção de placenta</b>	63	3,6 ± 0,5	596,3 ± 97,0
<b>Animais com retenção de placenta</b>	40	3,5 ± 0,6	600,1 ± 70,1
<b>Total</b>	<b>103</b>	<b>3,5 ± 0,6</b>	<b>597,7 ± 87,2</b>

Tabela 18. Escore de condição corporal (ECC) e peso vivo ao parto de acordo com a categoria dos animais e a ocorrência de retenção de placenta

<b>Categoria</b>	<b>n</b>	<b>ECC (1 a 5)</b>	<b>Peso vivo (Kg)</b>
<b>Primíparas sem retenção de placenta</b>	20	3,4 ± 0,6	484,3 ± 39,1A
<b>Primíparas com retenção de placenta</b>	5	3,1 ± 0,8	509,8 ± 77,0B
<b>Pluríparas sem retenção de placenta</b>	43	3,7 ± 0,5	648,3 ± 66,9C
<b>Pluríparas com retenção de placenta</b>	35	3,5 ± 0,6	613,0 ± 59,7D
<b>Total</b>	<b>103</b>	<b>3,5 ± 0,6</b>	<b>597,7 ± 87,2</b>

Médias na mesma coluna, seguidas de letras maiúsculas distintas, diferem pelo teste F ( $P < 0,0001$ ).

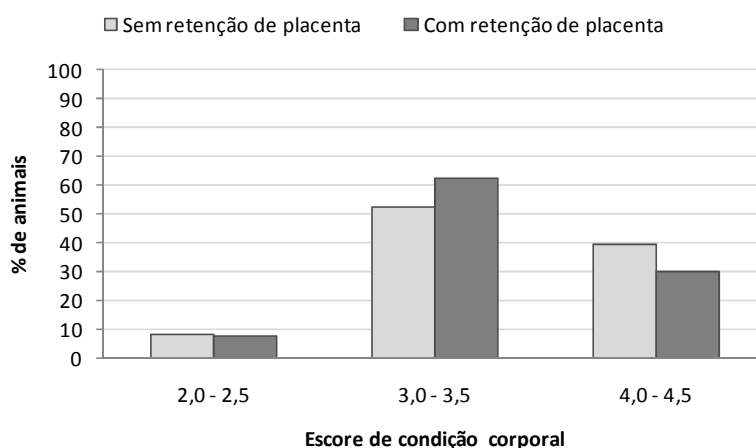


Figura 6. Ausência ou presença de retenção de placenta de acordo com o intervalo do escore de condição corporal ao parto

Alguns autores notaram relação entre retenção de placenta e ECC ao parto, como Santos et al. (2002), que observaram maior incidência dessa patologia em vacas obesas. No estudo de Markusfeld et al. (1987), foi encontrado maior risco de retenção de placenta em vacas com baixo ECC ao parto. Esses achados indicam que animais com condição corporal inadequada ao parto têm maior probabilidade de apresentar retenção de placenta.

Contudo, outros autores não encontraram relação entre a ocorrência de retenção de placenta e a condição corporal ao parto (Waltner et al., 1993; Santos, 1996; Fernandes et al., 2001), concordando com os achados do presente estudo.

### 3.6.3. Ocorrência de retenção de placenta de acordo com o tipo de parto, simples ou gemelar

Quanto à relação entre a ocorrência de retenção de placenta e o tipo de parto, simples ou gemelar, verificou-se que os animais com parto gemelar tiveram maior incidência de retenção de placenta que os animais com parto simples ( $P < 0,05$ ). Ao associar a categoria e o tipo de parto, verificou-se que as primíparas com parto simples tiveram menor ( $P < 0,05$ ) incidência de retenção de placenta, quando comparadas às pluríparas na mesma condição. Entre primíparas e pluríparas que tiveram parto gemelar, as ocorrências de retenção de placenta foram semelhantes ( $P > 0,05$ ) (Tabela 19).

Tabela 19. Ocorrência de retenção de placenta de acordo com a categoria dos animais que tiveram partos simples ou gemelares

<b>Categoria</b>	<b>Partos simples</b>	<b>Partos gemelares</b>	<b>Total</b>
<b>Primíparas</b>	9,1% (2/22) <sup>2</sup>	66,7% (2/3)	4/25 (20,0%)
<b>Pluríparas</b>	40,6% (28/69) <sup>2</sup>	88,9% (8/9)	36/78 (44,9%)
<b>Total</b>	<b>33,0% (30/91)<sup>1</sup></b>	<b>83,3% (10/12)<sup>1</sup></b>	<b>40/103 (38,8%)</b>

1. Os percentuais de partos simples e gemelares com retenção de placenta diferiram entre si pelo teste Exato de Fisher (P<0,05)

2. Os percentuais de partos simples com retenção de placenta diferiram entre primíparas e pluríparas pelo teste Exato de Fisher (P<0,05)

A associação entre partos gemelares e a retenção de placenta também foi verificada em outros estudos (Larson et al., 1985; Joosten et al., 1987; Correa et al., 1993; Laven e Peters, 1996; López-Gatius et al., 2002; Han e Kim, 2005). As gestações gemelares são mais curtas que as gestações simples (Beerepoot et al., 1992; Fricke, 2000). No presente estudo, os animais com parto gemelar adiantaram o parto em torno de 18 dias em relação ao previsto (285 dias de gestação). Nesses casos, ocorre interrupção do mecanismo fisiológico de maturação da placenta, o que implica em falhas na separação e liberação dos anexos fetais (Wiltbank, 2008).

### 3.6.4. Ocorrência de retenção de placenta de acordo com o tipo de parto, normal ou auxiliado

A ocorrência de partos auxiliados não foi relacionada com a retenção de placenta. Animais com parto auxiliado tiveram maior ocorrência de retenção de placenta que os animais com parto normal, porém a diferença não foi significativa (P>0,05). Em relação às categorias, primíparas e pluríparas com parto normal tiveram incidências semelhantes de retenção de placenta. O mesmo ocorreu entre primíparas e pluríparas que tiveram partos auxiliados (Tabela 20).

Tabela 20. Ocorrência de retenção de placenta de acordo com a categoria dos animais que tiveram partos normais ou auxiliados

<b>Categoria</b>	<b>Partos normais</b>	<b>Partos auxiliados</b>	<b>Total</b>
<b>Primíparas</b>	17,7% (3/18)	28,6% (2/7)	20,0% (5/25)
<b>Pluríparas</b>	39,1% (25/64)	71,4% (10/14)	44,9% (35/78)
<b>Total</b>	<b>34,1% (28/82)</b>	<b>57,1% (12/21)</b>	<b>38,8% (40/103)</b>

Geralmente há relação entre parto auxiliado e retenção de placenta (Joosten et al., 1987; Correa et al., 1993; Koivisto et al., 2001; Han e Kim, 2005). No estudo de Koivisto et al. (2001), 21,6% animais com distocia e 4,2% dos animais sem distocia tiveram retenção de placenta. Como no presente estudo, Santos et al. (2002) não encontraram relação entre essas afecções, verificando retenção em 13,5% dos partos auxiliados e 17% dos partos normais.

### 3.6.5. Ocorrência de retenção de placenta de acordo com o adiantamento do parto

Foi verificada diferença (P<0,001) entre o número de dias de adiantamento do parto de animais que tiveram ou não retenção de placenta. Os animais que apresentaram retenção de placenta tiveram em torno de cinco dias a mais de adiantamento do parto em relação aos animais que não apresentaram essa patologia (Tabela 21).

Tabela 21. Número de dias de adiantamento do parto de acordo com a ocorrência de retenção de placenta

	<i>n</i>	Adiantamento do parto (dias)
<b>Animais sem retenção de placenta</b>	60	7,8 ± 4,8A
<b>Animais com retenção de placenta</b>	36	13,1 ± 9,2B
<b>Total</b>	<b>96</b>	<b>9,8 ± 7,2</b>

As médias de dias de adiantamento do parto diferiram entre si pelo teste F ( $P < 0,001$ )

O adiantamento do parto até duas semanas antes do previsto, que é de 285 dias de gestação, está relacionado com a ocorrência de retenção de placenta (DuBois e Willians, 1980; Joosten et al., 1987; Laven e Peters, 1996; Königsson et al., 2001; Han e Kim, 2005). Verifica-se maior incidência dessa afecção nas estações mais quentes do ano, e esse achado é atribuído ao adiantamento do parto, mais frequente na presença de estresse calórico (Dubois e Willians, 1980; Larson et al., 1985; Joosten et al., 1987).

Valores de ITU (Índice de temperatura e umidade) maiores que 72, encontram-se na zona de estresse calórico para vacas leiteiras de alta produção (Ver Quadro 2, em anexo). Verificou-se que durante a maior parte do período de ocorrência dos partos (17 de fevereiro a 03 de maio de 2009), os valores diários de ITU encontravam-se na zona de estresse térmico, principalmente em torno das 12 horas. Nesse horário, o ITU foi maior que 72 em 89% dos dias (Figura 7).

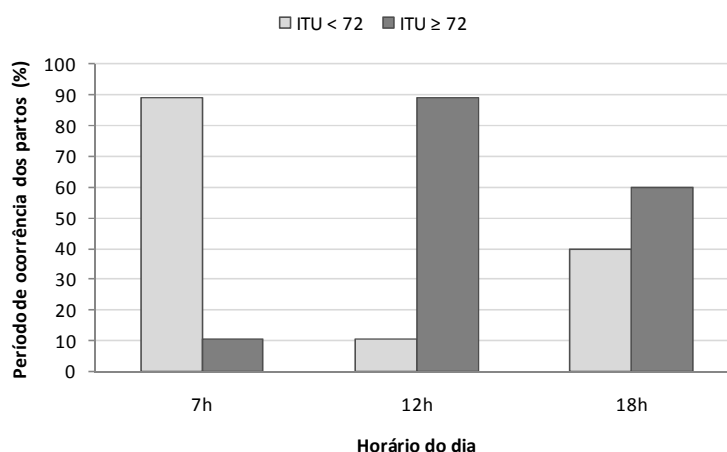


Figura 7. ITU (Índice de Temperatura e Umidade) abaixo ou acima do limite considerado como estresse térmico (72), em diferentes horários do dia (7, 12 e 18 horas), durante o período de ocorrência dos partos

A presença de estresse calórico antes do parto implica em elevação dos níveis de cortisol materno e conseqüente supressão da resposta imunológica, influenciando diretamente no processo de liberação dos anexos fetais. Como já foi comentado anteriormente, o estresse calórico é um dos principais fatores de risco relacionados com a ocorrência de retenção de placenta (Larson et al., 1985; Wiltbank, 2008).

### 3.6.6. Ocorrência de retenção de placenta de acordo com o sexo da cria

Não houve influência ( $P > 0,05$ ) do sexo da cria na ocorrência de retenção de placenta entre as categorias. Primíparas e pluríparas com partos simples e de machos tiveram incidências de retenção de placenta semelhantes. O mesmo ocorreu entre animais que pariram fêmeas (Tabela 22).

Tabela 22. Nascimento de machos ou fêmeas de acordo com a categoria dos animais que apresentaram retenção de placenta e parto simples

<b>Categoria</b>	<b>Machos</b>	<b>Fêmeas</b>	<b>Total</b>
<b>Primíparas com retenção de placenta</b>	2 (66,7%)	1 (33,3%)	3
<b>Pluríparas com retenção de placenta</b>	12 (44,4%)	15 (55,6%)	27
<b>Total</b>	<b>14 (46,7%)</b>	<b>16 (53,3%)</b>	<b>30</b>

Como no presente estudo, outros autores não verificaram influência do sexo da cria na incidência de retenção de placenta (Santos et al., 2002). A associação entre o sexo da cria e a retenção de placenta está relacionada com o maior tamanho dos machos em relação às fêmeas, aumentando a probabilidade de ocorrência de distocias, auxílio ao parto e conseqüentemente, retenção dos anexos fetais (Larson et al., 1985; Joosten et al., 1987). Como já foi discutido anteriormente, neste estudo não houve relação entre partos auxiliados, presença de distocias e retenção de placenta, o que justifica a ausência de relação entre o nascimento de machos e retenção de placenta.

### **3.7. Incidências de infecções uterinas durante o puerpério**

#### **3.7.1. Incidência de metrite puerperal aguda de acordo com a categoria**

Dos animais avaliados no presente estudo, 41,2% (40/97) apresentaram infecção uterina nas duas primeiras semanas após o parto, sendo que esses casos foram classificados como metrite puerperal aguda, de acordo com as definições propostas por Sheldon et al. (2006). Não houve diferença significativa ( $P > 0,05$ ) na incidência de metrite puerperal entre as categorias avaliadas (Tabela 23).

Tabela 23. Incidência de metrite puerperal aguda de acordo com a categoria

<b>Categoria</b>	<b>Metrite puerperal aguda</b>		<b>Total</b>
	<b>Presente</b>	<b>Ausente</b>	
<b>Primíparas</b>	6 (25,0%)	18 (75,0%)	24
<b>Pluríparas</b>	34 (46,6%)	39 (53,4%)	73
<b>Total</b>	<b>40 (41,2%)</b>	<b>57 (58,8%)</b>	<b>97</b>

A alta incidência de metrite puerperal aguda no presente estudo foi relacionada com a elevada ocorrência de fatores de risco para essa afecção, tais como retenção de placenta, partos auxiliados, gestações gemelares, além da presença de estresse calórico e outros fatores discutidos a seguir.

#### **3.7.2. Incidência de metrite puerperal aguda de acordo com a presença de retenção de placenta**

No presente estudo, a presença de retenção de placenta foi significativamente relacionada ( $P < 0,0001$ ) com o estabelecimento de quadros secundários de metrite puerperal aguda. Mais de 80% dos animais que tiveram retenção de placenta até 12 horas após o parto apresentou metrite puerperal aguda, enquanto poucos animais que não tiveram retenção de placenta apresentaram essa afecção, como verificado na Tabela 24.



Tabela 24. Incidência de metrite puerperal aguda de acordo com a ocorrência de retenção de placenta

	Metrite puerperal aguda		
	Presente	Ausente	Total
<b>Animais com retenção de placenta</b>	30 (81,1%)	7 (18,9%)	37
<b>Animais sem retenção de placenta</b>	10 (16,7%)	50 (83,3%)	60
<b>Total</b>	<b>40 (41,2%)</b>	<b>57 (58,8%)</b>	<b>97</b>

Os percentuais de presença ou ausência de metrite puerperal aguda de acordo com a retenção de placenta diferiram entre si pelo teste Exato de Fischer ( $P < 0,0001$ ).

A retenção de placenta é o principal fator de risco relacionado com o estabelecimento de metrites (Curtis et al., 1985; Erb et al., 1985; Van Werven, 1992; Correa et al. 1993; Laven e Peters, 1996; Lewis, 1997; Fernandes et al., 2001; Königsson et al., 2001; Han e Kim, 2005; Sheldon et al., 2006; Benzaquen et al., 2007; Bell e Roberts, 2007). A permanência da placenta no útero interfere na contratilidade do miométrio, altera os mecanismos de defesa locais, favorece o acúmulo de secreções e permite o aumento da multiplicação de patógenos, resultando em metrite puerperal aguda (Dohmen et al., 2000; Fernandes et al., 2001; Königsson et al., 2001).

A utilização de antibioticoterapia sistêmica e a fluidoterapia são indicadas para todos os animais que apresentam retenção de placenta, principalmente nos casos seguidos de elevação da temperatura retal, visando minimizar a ocorrência de metrites secundárias (Königsson et al., 2001; Sheldon e Dobson, 2004; Sheldon et al., 2006; Drillich et al., 2006a; Scheid Filho et al., 2007; Wiltbank, 2008). Mesmo

adotando esses procedimentos, a maioria dos animais com retenção de placenta neste estudo apresentou sinais clínicos de infecção uterina nas duas primeiras semanas após o parto.

### 3.7.3. Incidência de metrite puerperal aguda de acordo com o tipo de parto, simples ou gemelar

No presente estudo foi verificada diferença ( $P < 0,001$ ) entre o tipo de parto e a ocorrência de metrite puerperal aguda, sendo que a maioria dos animais que tiveram parto gemelar apresentaram metrite puerperal aguda (Tabela 25).

A ocorrência de partos gemelares é considerada um dos principais fatores de risco para o estabelecimento de metrite puerperal (Curtis et al., 1985; Erb et al., 1985; Lewis, 1997; Sheldon et al., 2006; Benzaquen et al., 2007). No presente estudo, houve relação entre a incidência de retenção e o tipo de parto, simples ou gemelar, assim como entre a incidência de metrite puerperal aguda e o tipo de parto.

Tabela 25. Incidência de metrite puerperal aguda de acordo com o tipo de parto, simples ou gemelar

Tipos de partos	Metrite puerperal aguda		
	Presente	Ausente	Total
<b>Partos simples</b>	29 (34,1%)	56 (65,9%)	85
<b>Partos gemelares</b>	11 (91,7%)	1 (8,3%)	12
<b>Total</b>	<b>40 (41,2%)</b>	<b>57 (58,8%)</b>	<b>97</b>

Os percentuais de presença ou ausência de metrite puerperal aguda de acordo com o tipo de parto diferiram entre si pelo teste Exato de Fischer ( $P < 0,001$ ).

Portanto, pode-se inferir que a ocorrência de partos gemelares contribuiu para aumentar a incidência de metrite puerperal aguda, de forma direta (danos acarretados ao endométrio no momento do parto devido à presença de dois fetos) e indireta, ao favorecer a retenção de placenta, principal fator de risco para o estabelecimento de metrite puerperal aguda.

#### **3.7.4. Incidência de metrite puerperal aguda de acordo com o tipo de parto, normal ou auxiliado**

Verificou-se que 57,1% (12/21) dos animais com parto auxiliado apresentaram metrite puerperal aguda, sem diferença ( $P>0,05$ ) em relação aos partos normais (Tabela 26).

Tabela 26. Incidência de metrite puerperal aguda de acordo com o tipo de parto, normal ou auxiliado

Tipos de partos	Metrite puerperal aguda		
	Presente	Ausente	Total
Partos normais	28 (36,8%)	48 (63,2%)	76
Partos auxiliados	12 (57,1%)	9(42,9%)	21
<b>Total</b>	<b>40 (41,2%)</b>	<b>57 (58,8%)</b>	<b>97</b>

#### **3.7.5. Incidências de infecções uterinas em diferentes intervalos até o primeiro serviço após o parto**

Foram diagnosticadas 12 (13,0%) novas ocorrências de infecção uterina entre 14 e 21 dias após o parto, sendo esses casos foram definidos como metrite clínica, de acordo com Sheldon et al. (2006). Somados aos casos de metrite puerperal aguda, 53,6% (52/97) dos animais avaliados apresentaram sinais clínicos de metrite até 21 dias após o parto (Tabela 27).

Dez (9,2%) novos casos de infecção uterina foram verificados entre 21 e 42 dias após o parto, sendo classificados como endometrite clínica (Sheldon et al.; 2006). Sendo assim, 63,9% (62/97) dos animais

A ocorrência de partos gemelares é considerada um dos principais fatores de risco para o estabelecimento de metrite puerperal (Curtis et al., 1985; Erb et al., 1985; Lewis, 1997; Sheldon et al., 2006; Benzaquen et al., 2007). No presente estudo, houve relação entre a incidência de retenção e o tipo de parto, simples ou gemelar, assim como entre a incidência de metrite puerperal aguda e o tipo de parto. Portanto, pode-se inferir que a ocorrência de partos gemelares contribuiu para aumentar a incidência de metrite puerperal aguda, de forma direta (danos acarretados ao endométrio no momento do parto devido à presença de dois fetos) e indireta, ao favorecer a retenção de placenta, principal fator de risco para essa patologia.

apresentaram sinais clínicos de doenças uterinas durante o puerpério, ou seja, até 42 dias após o parto (Tabela 27).

O presente estudo considerou-se também os casos de infecção uterina ocorridos até a primeira inseminação artificial, sendo que 12 (13,0%) novos eventos foram detectados. No total, 75% (60/92) dos animais avaliados apresentaram algum tipo de infecção uterina até o primeiro serviço (Tabela 27).

Em todos os intervalos considerados, do parto à primeira inseminação artificial, não foram verificadas diferenças ( $P>0,05$ ) entre primíparas e pluríparas quanto à incidência dos diferentes tipos de infecções uterinas (Tabela 27).

Tabela 27. Incidências de infecção uterina em diferentes intervalos do parto à primeira inseminação artificial (1ª IA) de acordo com a categoria dos animais

Categoria	Infecção uterina		
	Até 21 dias pós-parto	Até 42 dias pós-parto	Até a 1ª IA pós-parto
<b>Primíparas</b>	62,5% (15/24)	75,0% (18/24)	81,0% (17/21)
<b>Pluríparas</b>	50,7% (37/73)	60,3% (44/73)	73,2% (52/71)
<b>Total</b>	<b>53,6% (52/97)</b>	<b>63,9% (62/97)</b>	<b>75,0% (69/92)</b>

Até 100% das vacas leiteiras, mantidas em sistemas de produção intensivos, apresentam contaminação uterina durante as três primeiras semanas após o parto, porém, as bactérias são eliminadas ao longo do processo de involução uterina normal (Olson et al., 1986; McEntee, 1990; Sheldon e Dobson, 2004; Sheldon, 2007; Sheldon et al., 2008, 2009). Alterações nos mecanismos de defesa uterina, na presença de bactérias patogênicas, permitem o estabelecimento de infecções (Studer e Morrow, 1978; Olson et al., 1986; Horta, 1995; Sheldon e Dobson, 2004, Sheldon et al., 2006). Nesses casos, a involução uterina séptica normal evolui para uma involução séptica anormal, sendo que até 40% das vacas de alta produção, mantidas em sistema de confinamento total, podem apresentar sinais clínicos de infecção até três semanas após o parto (Sheldon et al., 2008, 2009). As causas do estabelecimento de infecções uterinas nesse período estão relacionadas com a ocorrência de alterações no endométrio e à presença de fluidos e debris celulares no lúmen uterino por um período prolongado, que favorecem a rápida multiplicação bacteriana (Azawi, 2008).

Contudo, verifica-se, que a incidência de metrite no presente estudo é superior a 40% e à relatada por outros autores: 21,0% (Benzaquen et al., 2007); 21,7% (Hammon et al., 2006); 23,0% (Etherington et al., 1985) e 36,1% (Markusfeld, 1987). De acordo com Lewis (1997), muitas vezes a presença de fatores de risco é menor que a ocorrência de metrites. Vacas normais também podem ser afetadas, o que sugere a

atuação de diferenças individuais, que nem sempre podem ser controladas. A competência do sistema imunológico após o parto pode estar relacionada com essas diferenças individuais (Lewis et al., 1997, Sordillo et al., 2009).

Vacas que apresentam metrite puerperal aguda ou clínica são mais suscetíveis ao estabelecimento de endometrite clínica. Em torno de 20 a 40% dos casos de metrite puerperal evoluem para quadros de endometrite clínica (Benzaquen et al., 2007; Sheldon et al., 2008, 2009). Os fatores de risco presentes neste estudo e relacionados com a ocorrência de endometrite clínica são semelhantes aos citados para a metrite: retenção de placenta (Paisley, 1986; Van Werven, 1992; Kim e Kang, 2003; Sheldon, 2007; Gautam et al., 2010), partos auxiliados (Benzaquen et al., 2007; Sheldon, 2007; Gautam et al., 2010), estresse térmico (Sheldon et al., 2007; Gautam et al., 2010), gestações gemelares e alterações no ambiente uterino nos casos de falhas nos mecanismos de defesa e presença de patógenos (Sheldon et al., 2007).

A incidência de infecções uterinas durante o puerpério foi semelhante à relatada por outros autores: 61,6% (Gilbert et al., 1998) e 67,5% (Hammon et al., 2006). Contudo, foi superior à detectada pela maioria dos autores para rebanhos de alta produção. Lara (1985), Nakao et al. (1992) e Benzaquen et al., (2007) detectaram em torno de 45% de casos de metrites e endometrites durante o puerpério, enquanto Kim e Kang (2003) verificaram a

ocorrência de 36,6% casos de infecções uterinas até 28 dias após o parto.

Como no presente estudo, alguns autores não observaram efeito da ordem de parto sobre a incidência de infecções uterinas (Gilbert, 1998). No estudo de Bell e Roberts (2007), as primíparas apresentaram maior incidência de infecção uterina que as pluríparas, porém, a maioria dos autores considera que as pluríparas são mais susceptíveis ao estabelecimento de infecções uterinas (Kim e Kang, 2003).

Os novos casos de endometrite relatados incluíram as vacas que somente apresentaram sinais de infecção uterina após serem liberadas do período voluntário de espera. Durante a manifestação do estro, esses animais eliminaram secreção mucopurulenta ou muco com estriações de pus pela vulva, o que caracterizou a presença de endometrite clínica (Sheldon et al., 2006; Sheldon, 2007; Gautam et al., 2010). A ocorrência de novos casos de endometrite entre o final do puerpério e o primeiro serviço foi semelhante à encontrada por Gautam et al. (2010), em torno de 11%. De acordo com esses autores,

esses casos podem estar relacionados com a presença de endometrite subclínica, não diagnosticada anteriormente. Devido à presença de estresse térmico, depressão da resposta imunológica e alterações nos sistemas de defesa do útero decorrentes de complicações puerperais, o processo infeccioso pode ter persistido e os sinais clínicos se tornaram aparentes durante a manifestação do estro.

Recomenda-se tratar todos os animais identificados com endometrite clínica, já que nos casos mais graves os animais não são capazes de combater a infecção uterina, e os danos acarretados ao endométrio podem diminuir a probabilidade de se tornarem gestantes posteriormente (Sheldon, 2007; Gautam et al., 2010).

### 3.8. Involução uterina

#### 3.8.1. Período de involução uterina de acordo com a categoria

O período de involução uterina foi de  $33,5 \pm 11,1$  dias, não sendo observada diferença ( $P > 0,05$ ) entre primíparas e pluríparas (Tabela 28).

Tabela 28. Período de involução uterina de acordo com a categoria

<b>Categoria</b>	<b>n</b>	<b>Involução uterina (dias)</b>
<b>Primíparas</b>	21	$34,7 \pm 7,7$
<b>Pluríparas</b>	71	$33,2 \pm 11,9$
<b>Total</b>	<b>92</b>	<b><math>33,5 \pm 11,1</math></b>

O período de involução uterina encontrado no presente estudo foi semelhante aos relatados por diversos autores. Dentre outros, citam-se períodos de:  $32,61 \pm 0,49$  e  $36,94 \pm 0,52$  dias (Jana e Mishra, 1978);  $28,2 \pm 5,2$  e  $31,7 \pm 5,7$  dias (Lara, 1985);  $30,8 \pm 0,8$  e  $35,5 \pm 0,9$  dias (Zain et al., 1995), para primíparas e pluríparas, respectivamente. Porém, ao contrário dos resultados desses trabalhos, não foi encontrada diferença no período de involução uterina ( $P > 0,05$ ) de primíparas e pluríparas no presente estudo. Na maioria

das vezes, as primíparas apresentam regressão uterina mais rápida que as pluríparas (Buch et al., 1955; Araújo et al., 1974; Jana e Mishra, 1978; Lara, 1985; Zain et al., 1995).

É necessário considerar que as pluríparas avaliadas na maioria dos estudos citados apresentavam entre dois a nove partos, ou seja, uma diferença de idade muito grande. Araújo et al. (1974) reportaram que quanto maior é a idade e o número de partições das vacas pluríparas, mais lenta é a involução

uterina em relação às primíparas, sendo que a involução uterina é mais lenta nos animais com mais de seis anos de idade. No presente estudo, foram consideradas nas avaliações realizadas, somente pluríparas de segunda e terceira ordens de lactação. A pequena diferença de idade quando comparadas às primíparas, e o menor número de parições desses animais, podem ter sido responsáveis pela semelhança verificada nos períodos de involução uterina entre as categorias.

### 3.8.2. Período de involução uterina de acordo com a ocorrência de retenção de placenta e/ou infecção uterina

Não foi verificada diferença ( $P>0,05$ ) no período de involução uterina entre animais com ou sem de retenção de placenta (Tabela 29). Ao relacionar a categoria e a presença ou ausência de retenção de placenta, também não foi verificada diferença entre os grupos quanto ao período de involução uterina ( $P>0,05$ ) (Tabela 30).

Tabela 29. Período de involução uterina de acordo com a ocorrência de retenção de placenta

	<i>n</i>	Involução uterina (dias)
<b>Animais sem retenção de placenta</b>	56	32,9 ± 11,6
<b>Animais com retenção de placenta</b>	36	34,5 ± 10,2
<b>Total</b>	<b>92</b>	<b>33,5 ± 11,1</b>

Tabela 30. Período de involução uterina de acordo com a categoria e a ocorrência de retenção de placenta

Categoria	<i>n</i>	Involução uterina (dias)
<b>Primíparas sem retenção de placenta</b>	16	33,7 ± 5,4
<b>Primíparas com retenção de placenta</b>	05	37,8 ± 13,1
<b>Pluríparas sem retenção de placenta</b>	40	32,6 ± 13,4
<b>Pluríparas com retenção de placenta</b>	31	33,9 ± 9,8
<b>Total</b>	<b>92</b>	<b>33,5 ± 11,1</b>

Contudo, verificou-se atraso no período de involução uterina de animais que apresentaram infecção uterina durante o puerpério, em relação aos animais que não apresentaram essa patologia ( $P<0,001$ ). O mesmo ocorreu entre os animais que apresentaram ou não quadros de infecção uterina até o primeiro serviço ( $P<0,01$ ) (Tabela 31). Ao relacionar a categoria e a presença ou ausência de infecção uterina até

42 dias após o parto, verificou-se que os animais que apresentaram infecção tiveram períodos de involução uterina semelhantes ( $P>0,05$ ) e mais prolongados, independente da categoria. A involução uterina ocorreu mais rapidamente ( $P<0,05$ ) em pluríparas que não apresentaram infecção uterina. Achados semelhantes foram verificados entre aos animais com ou sem infecção uterina até o primeiro serviço (Tabela 32).

Tabela 31. Período de involução uterina de acordo com a ocorrência de infecção uterina até 42 dias pós-parto (dpp) ou até a primeira inseminação artificial (1ª IA)

	Infecção uterina até 42dpp		Infecção uterina até a 1ª IA	
	<i>n</i>	Involução uterina (dias) <sup>1</sup>	<i>n</i>	Involução uterina (dias) <sup>2</sup>
<b>Animais sem infecção uterina</b>	35	28,1 ± 5,7A	23	27,5 ± 5,3A
<b>Animais com infecção uterina</b>	57	36,7 ± 12,2B	69	35,4 ± 11,7B
<b>Total</b>	<b>92</b>	<b>33,5 ± 11,1</b>	<b>92</b>	<b>33,5 ± 11,1</b>

<sup>1</sup> Médias na mesma coluna, seguidas de letras maiúsculas distintas, diferem entre si pelo teste F ( $P<0,001$ ).

<sup>2</sup> Médias na mesma coluna, seguidas de letras maiúsculas distintas, diferem entre si pelo teste F ( $P<0,01$ ).

Tabela 32. Período de involução uterina de acordo com a categoria e a ocorrência de infecção uterina até 42 dias pós-parto (dpp) ou até a primeira inseminação artificial (1ª IA)

Categoria	Infecção uterina até 42dpp		Infecção uterina até a 1ª IA	
	n	Involução uterina (dias)	n	Involução uterina (dias)
<b>Primíparas sem infecção uterina</b>	06	31,2 ± 4,1AB	04	31,5 ± 4,8AB
<b>Primíparas com infecção uterina</b>	15	36,1 ± 8,4A	17	35,4 ± 8,2A
<b>Pluríparas sem infecção uterina</b>	29	27,5 ± 5,9B	19	26,7 ± 5,1B
<b>Pluríparas com infecção uterina</b>	42	37,0 ± 13,4A	52	35,4 ± 12,7A
<b>Total</b>	<b>92</b>	<b>33,5 ± 11,1</b>	<b>92</b>	<b>33,5 ± 11,1</b>

Médias na mesma coluna, seguidas de letras maiúsculas distintas, diferem entre si pelo teste de Student Newman Keuls ( $P < 0,05$ ).

A presença isolada de retenção de placenta, não influenciou no período de involução uterina. Observações semelhantes foram relatadas por outros autores (Lara, 1985; Scheid Filho et al., 2007). O diagnóstico precoce e o sucesso do tratamento foram atribuídos ao achado, o que também pode ter ocorrido neste estudo. Ao considerar a ocorrência de infecções uterinas, o útero de vacas acometidas involuiu mais lentamente. O efeito prejudicial de infecções sobre a involução uterina ocorre nas primeiras semanas pós-parto, devido às alterações nos mecanismos de defesa, persistência de patógenos e danos ao endométrio, decorrentes da exacerbação e persistência da resposta inflamatória (Lewis, 1997; Bondurant, 1999; Sheldon e Dobson, 2004; Sheldon, 2007, 2008, 2009; Herath et al., 2009a; Sordillo et al., 2009).

### 3.8.3. Avaliação da involução uterina

Os gráficos a seguir ilustram a evolução dos principais parâmetros adotados como critérios para avaliar a involução uterina no presente estudo, sendo que serão considerados inicialmente, aspectos gerais da involução de todos os animais avaliados. Em seguida, serão considerados aspectos comparativos em relação à presença ou ausência de infecção uterina, uma vez que foi encontrada diferença no período de involução uterina desses grupos, como relatado anteriormente.

#### 3.8.3.1. Posição do útero

Aos sete dias após o parto, a maioria dos animais (93%) apresentava o útero na posição abdominal baixo (Figura 8).

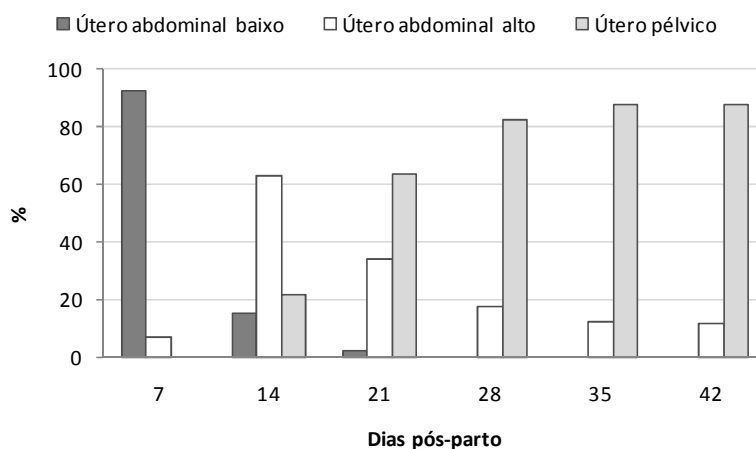


Figura 8. Evolução da posição do útero durante o puerpério

Aos 14 dias, o útero se encontrava na posição abdominal alto em 63% dos animais. Aos 28 dias, 82% dos animais apresentavam o útero pélvico. A partir de 35 dias pós-parto, período que coincide com a involução uterina completa, 12% dos animais ainda apresentava o útero na posição abdominal alto (Figura 8).

O posicionamento do útero após o parto depende da velocidade da involução uterina que é mais rápida durante as duas primeiras semanas. A partir da terceira semana torna-se mais lenta e é praticamente imperceptível a partir da quinta semana (Gier e Marion, 1968; Araújo et al., 1974; Kocamuftuoglu e Vural, 2008). Geralmente o útero de vacas taurinas permanece na cavidade abdominal até duas semanas após o parto e não é possível contorná-lo. Somente a partir da segunda semana é possível contornar toda sua superfície, devido à redução de volume. Entre 30 e 40 dias após o parto, o útero encontra-se completamente regredido

(Buch et al., 1955; Jana e Mishra, 1978; Lara, 1985; Zain et al., 1995; Lopes, 2007). A detecção de animais com útero na posição abdominal alto, a partir de 35 dias após o parto, sugere que mesmo após a involução uterina completa, alguns animais mantêm o útero no abdômen (Albuquerque, 1985). Esse achado também sugere que a involução uterina de alguns animais ainda não havia se completado nessa ocasião, o que pode estar relacionado com a ordem de parto e presença de infecção uterina (González Sánchez et al., 2008).

### 3.8.3.2. Presença de conteúdo no útero

Até os 14 dias após o parto, 100% dos animais apresentavam remanescentes da gestação no lúmen uterino (Figura 9). Aos 35 dias após o parto, 86% dos animais já não apresentavam conteúdo no útero, e aos 42 dias após o parto, 8% dos animais ainda apresentavam conteúdo uterino, perceptível à palpação transretal.

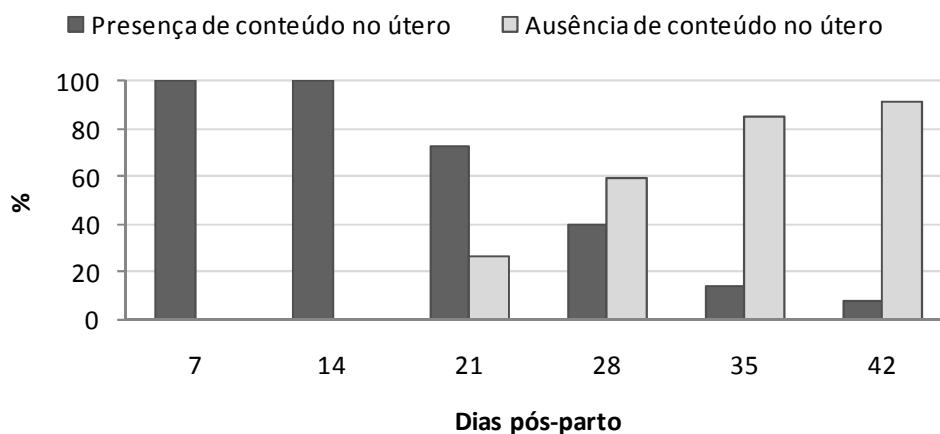


Figura 9. Presença ou ausência de conteúdo no útero durante o puerpério

Em um processo de involução uterina normal, a observação da presença de conteúdo no útero até o final da terceira semana é fisiológica, uma vez que pode ocorrer eliminação do lóquio pela vulva até 18 dias após o parto (Gier e Marion, 1968; Morrow, 1980; McEntee, 1990).

Normalmente pode ser observada pequena quantidade de líquido no interior do útero no período entre a fase final de eliminação do lóquio até o final do processo de involução uterina, em torno de quatro semanas após o parto (Kahn e Leidl, 1989). A presença de conteúdo uterino além da

quarta semana após o parto em alguns animais do presente estudo sugere ocorrência de infecção e atraso no processo de involução uterina (Morrow, 1980; Mateus et al., 2002; Kocamuftuoglu e Vural; 2008; Senosy et al., 2009).

Mateus et al. (2002) verificaram presença de conteúdo no útero de vacas com puerpério normal até a quarta semana após o parto. Vacas com processos infecciosos graves ainda apresentavam conteúdo no útero aos 42 dias após o parto e atraso no processo de involução. Senosy et al. (2009) reportaram que a presença de conteúdo no útero além de 35 dias após o parto indica presença de endometrite. No estudo de García-Ispierto et al. (2007), 6,2% dos animais de alta produção apresentavam conteúdo no útero até a quinta semana após o parto, resultado semelhante ao encontrado no presente estudo (8% aos 42 dias pós-parto). Porém, esse achado foi inferior ao relatado por Kocamuftuoglu e Vural (2008), que verificaram acúmulo de líquido no útero aos 40 dias pós-parto em 46% e 36% dos animais com ou sem retenção de placenta e infecção uterina, respectivamente. A presença de conteúdo no útero pode estar relacionada com o seu posicionamento na cavidade abdominal e consequente dificuldade para drenagem dos

fluidos. González Sánchez et al. (2008) demonstraram a importância do posicionamento e da higidez do útero para a eliminação do seu conteúdo no pós-parto.

### 3.8.3.3. Simetria dos cornos uterinos

Aos sete dias após o parto, não foi possível contornar o útero de 93% dos animais devido ao volume aumentado e sua localização na cavidade abdominal (Figura 10). Até os 21 dias após o parto, 68% dos animais apresentavam assimetria dos cornos uterinos. Aos 42 dias, 6% dos animais ainda apresentavam cornos assimétricos. A assimetria dos cornos uterinos é decorrente da menor velocidade do processo de involução do corno previamente gestante. Mesmo após a involução completa do útero, este corno pode permanecer assimétrico em relação ao não gestante em alguns animais (Gier e Marion, 1968; Jana e Mishra, 1978; Caravajal, 1989; Sheldon et al., 2002). A regressão completa dos cornos uterinos geralmente ocorre entre 30 e 40 dias após o parto, de acordo com a maioria dos relatos da literatura (Buch et al., 1955; Jana e Mishra, 1978; Lara, 1985; Zain et al., 1995; Lopes, 2007). É necessário considerar também que alguns casos podem estar associados ao atraso na involução uterina, devido à presença de infecção.

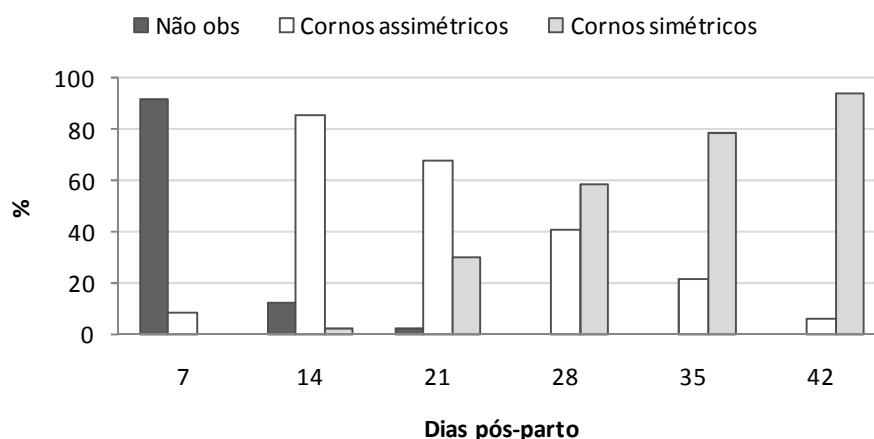


Figura 10. Evolução da simetria dos cornos uterinos durante o puerpério



### 3.8.3.4. Condição da cérvix

Por meio da vaginoscopia, verificou-se abertura da cérvix durante as duas primeiras semanas após o parto, em 86% dos animais (Figura 11). Aos 42 dias após o parto, 79% das vacas se encontravam nessa condição.

A abertura da cérvix nas três primeiras semanas coincide com o período de eliminação do lóquio (Gier e Marion, 1968; Morrow, 1980; Marques Júnior, 1988; McEntee, 1990). Após esse período, a presença de cérvix aberta é atribuída à endometrite e atraso na involução uterina.

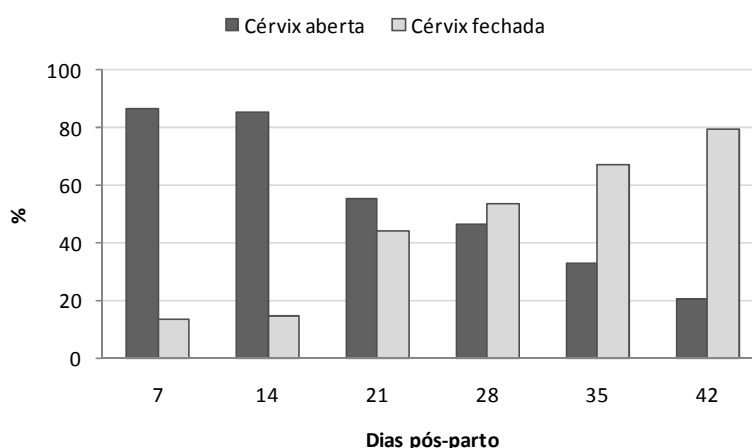


Figura 11. Evolução da condição da cérvix durante o puerpério

### 3.8.3.5. Aspecto e odor da secreção cérvico-vaginal

Por meio da vaginoscopia, observou-se presença de secreção cérvico-vaginal em mais de 80% dos animais até 28 dias após o

parto (Figura 12). Aos 42 dias, ainda foi possível detectar a presença de secreção cérvico-vaginal em 45% dos animais, sendo que nessa ocasião seu aspecto era mucopurulento, com presença de estriações de pus ou muco cristalino (Figura 13), e em todos os casos, sem cheiro (Figura 14).

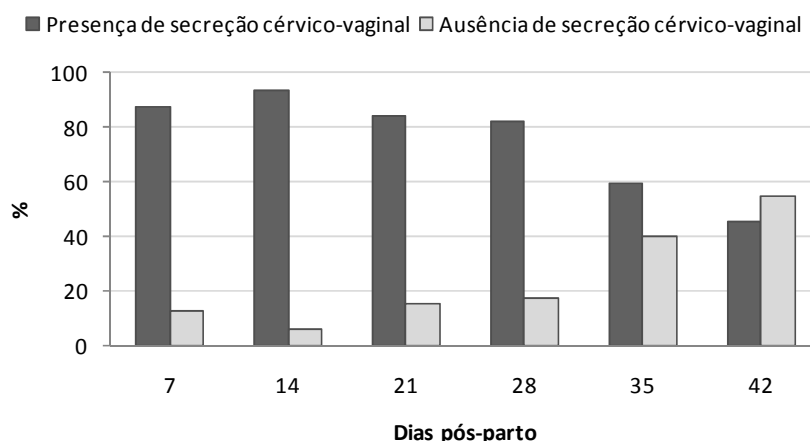


Figura 12. Observação de secreção cérvico-vaginal durante o puerpério

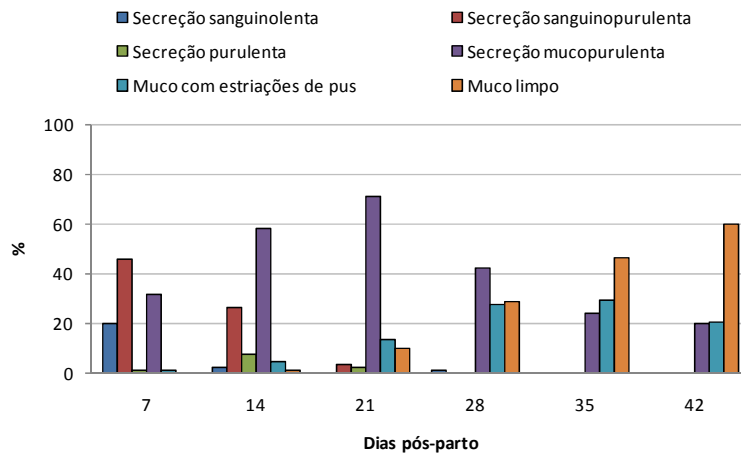


Figura 13. Evolução do aspecto da secreção cérvico-vaginal durante o puerpério

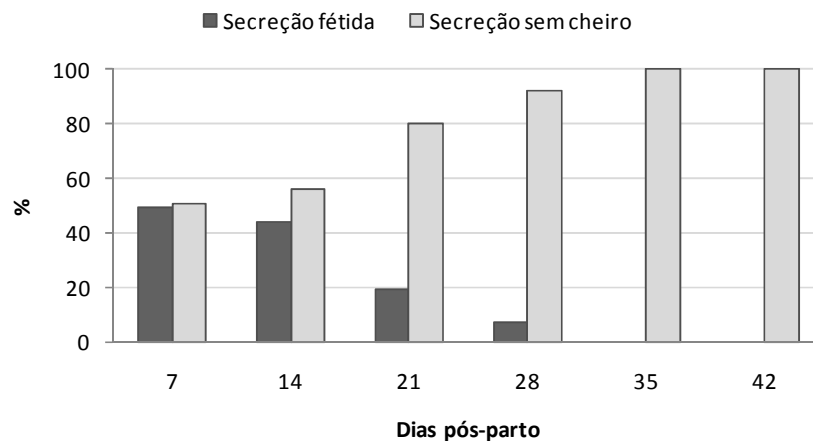


Figura 14. Evolução do odor da secreção vaginal durante o puerpério

A presença de secreção na vagina durante o puerpério, associada ao seu aspecto e odor, indicam o grau de comprometimento do endométrio, a densidade de patógenos presentes no útero, e o estágio da involução uterina (Studer e Morrow, 1978; Sheldon e Dobson, 2004; Willians et al., 2005). Até três semanas pós-parto, a secreção é constituída de fluidos remanescentes da gestação, sendo denominada lóquio (Morrow, 1980; Marques Júnior, 1988). Suas características estão relacionadas com a ocorrência ou não de infecção uterina (Studer e Morrow, 1978; LeBlanc et al., 2002a; Sheldon e Dobson, 2004; Willians et al., 2005; Sheldon et al., 2006). O fluido

uterino no pós-parto de vacas sadias apresenta aspecto sanguinolento e sem odor (Morrow, 1980). Aos sete dias após o parto, no presente estudo, foi detectada a presença 20% dos animais com secreção sanguinolenta, enquanto 32% já tinham secreção mucopurulenta, a qual está associada à involução normal nessa fase do pós-parto. Nessa ocasião, 51% dos animais apresentavam secreção sem odor.

Durante as primeiras semanas após o parto, se a involução estiver atrasada, observa-se a eliminação de secreção sanguinopurulenta com odor fétido (Morrow, 1980, McEntee, 1990; LeBlanc et al., 2002a; Sheldon e

Dobson, 2004). No presente estudo, a presença de 46% dos animais com secreção sanguinopurulenta e 49% com odor fétido, na primeira semana após o parto, está diretamente relacionada com a presença de metrite puerperal aguda (41,2%), uma vez que esses sinais, aliados a outros sinais sistêmicos, são característicos dessa afecção (Sheldon et al., 2006). Aos 21 dias após o parto, foi verificado que 71% dos animais apresentavam secreção mucopurulenta, o que é comum nos casos de involução uterina normal, devido ao processo de limpeza do útero promovido principalmente pelos neutrófilos. Os neutrófilos são as principais células de defesa uterina, sendo responsáveis pela fagocitose das bactérias, o que contribui para a formação de pus, quando os fagócitos são inativados (Marques Júnior, 1988; Hussain e Daniel, 1992; Lewis, 1997; Sheldon e Dobson, 2004; Hammon et al., 2006; Azawi, 2008).

A limpeza do ambiente uterino no pós-parto, promovida pelos neutrófilos, pode variar entre animais que apresentam ou não transtornos puerperais, o que está diretamente relacionado com a velocidade da involução uterina e, conseqüentemente, com as características da secreção cérvico-vaginal. Hussain e Daniel (1992) verificaram que a porcentagem de neutrófilos no útero diminui mais

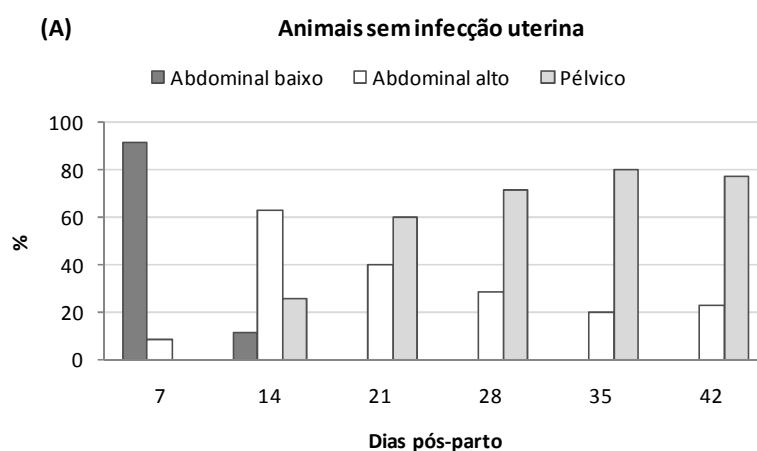
rapidamente até 20 dias após o parto em animais com involução uterina normal, quando comparados aos animais que apresentaram retenção de placenta.

A partir da quarta semana após o parto, a presença de secreção mucopurulenta na vagina está associada com a presença de endometrite (LeBlanc et al., 2002; Willians et al., 2005; Sheldon et al., 2006). No presente estudo, foi verificado que 43% e 24% dos animais se encontravam nessa condição, aos 28 e 35 dias após o parto, respectivamente. A presença de animais com mucopurulento ou com estriações de pus aos 42 dias também está relacionada com a presença de endometrite clínica.

### 3.8.4. Involução uterina de acordo com a ocorrência de infecção

#### 3.8.4.1. Posição do útero

A evolução da posição uterina, durante todo o puerpério, foi semelhante entre os animais que tiveram ou não infecção (Figura 15). Curiosamente, o número de animais sem infecção uterina com útero pélvico aos 42 dias após o parto foi menor (77%) que os animais com infecção uterina (92%), sugerindo que a posição abdominal do útero nessa fase, nem sempre esteve relacionada com a presença de infecção.



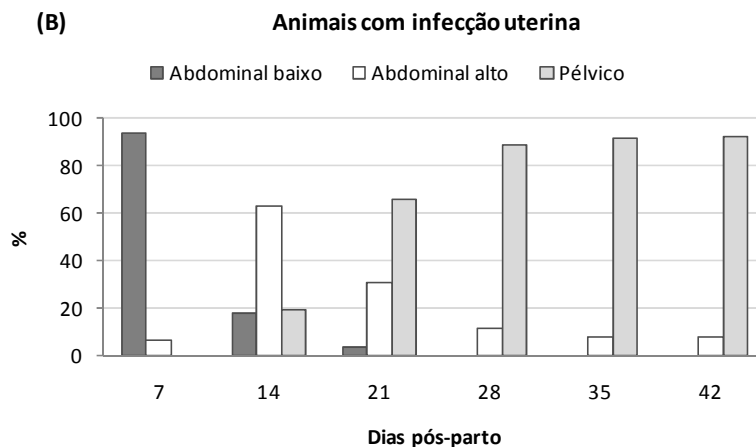


Figura 15. Evolução da posição do útero durante o puerpério de acordo com a ausência (A) ou presença (B) de infecção uterina até 42 dias após o parto

### 3.8.4.2. Presença de conteúdo no útero

Somente aos 28 dias após o parto foi detectada diferença quanto à presença de conteúdo no útero em animais com ou sem infecção uterina (Figura 16). Nessa ocasião, verificou-se presença de conteúdo uterino em 48% e 26% dos animais com e sem infecção uterina, respectivamente. Aos 42

dias após o parto, nenhum dos animais sem infecção uterina apresentavam conteúdo uterino, enquanto 13% dos animais que apresentaram infecção uterina ainda tinham conteúdo no útero, o que é compatível com a presença de endometrite clínica e atraso na involução uterina (Mateus et al., 2002; Sheldon et al., 2006; Kocamuftuoglu e Vural; 2008; Senosy et al., 2009).

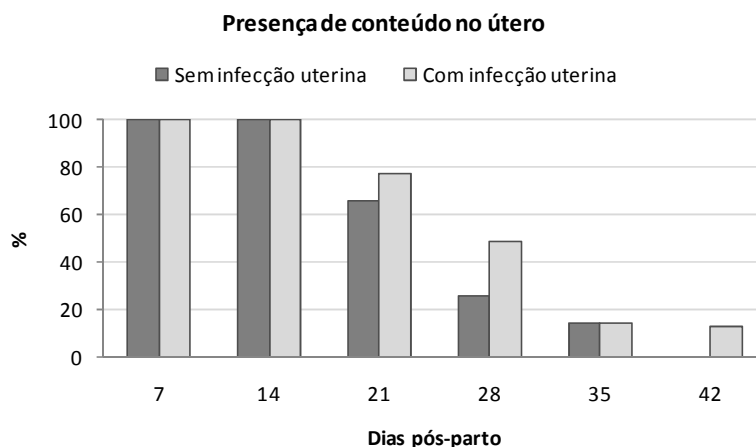


Figura 16. Presença de conteúdo no útero durante o puerpério de acordo com a ocorrência de infecção uterina até 42 dias após o parto

### 3.8.4.3. Simetria dos cornos uterinos

A diferença mais clara entre animais com ou sem infecção uterina, quanto à simetria

dos cornos uterinos, ocorreu na quarta semana de avaliação (Figura 17). Nessa ocasião, 45% e 34% desses animais apresentaram assimetria dos cornos

uterinos, respectivamente. Aos 42 dias, 8% dos animais tinham cornos assimétricos em ambos os grupos, sendo que a regressão completa do útero geralmente ocorre entre 30 e 40 dias após o parto (Buch et al., 1955; Jana e Mishra, 1978; Lara, 1985; Zain et al.,

1995; Lopes, 2007). Devido à diferença na velocidade da involução dos cornos uterinos, ainda é possível notar assimetria entre eles até os 60 dias após o parto, principalmente em animais com infecção uterina (Albuquerque, 1985).

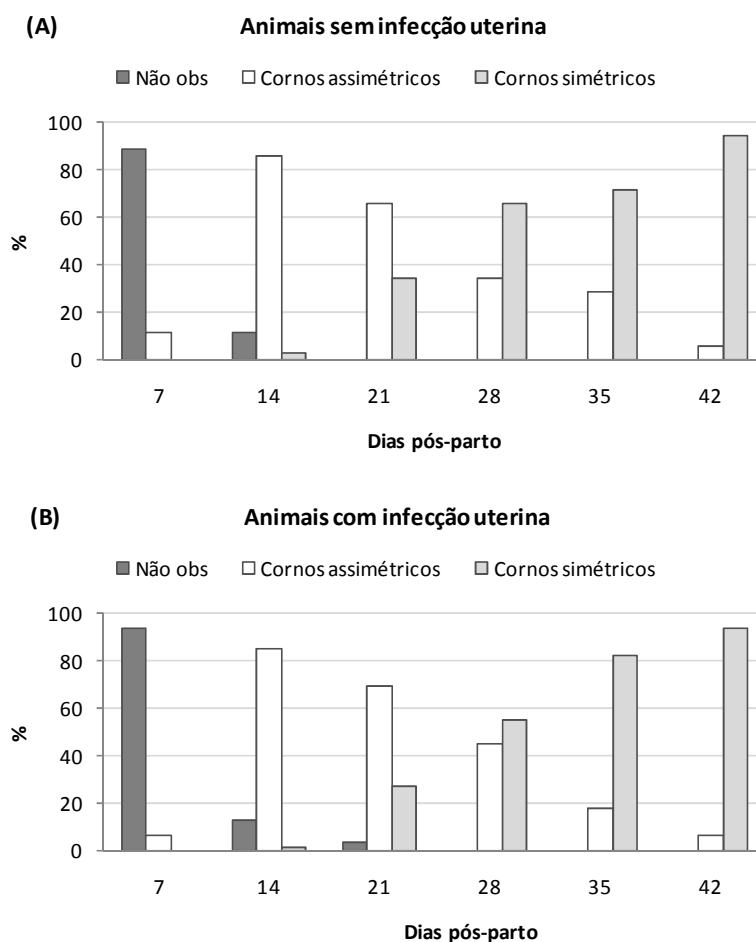


Figura 17. Evolução da simetria dos cornos uterinos durante o puerpério de acordo com a ausência (A) ou presença (B) de infecção uterina até 42 dias após o parto

#### 3.8.4.4. Condição da cérvix

Somente a partir dos 28 dias após o parto foi verificada diferença na condição da cérvix entre os animais que apresentaram ou não algum tipo de infecção uterina (Figura 18). Nessa ocasião, 58% dos animais com infecção e 26% dos animais sem infecção uterina apresentavam a cérvix aberta. Aos 42 dias, verificou-se cérvix

aberta em 27% e 9% dos animais com ou sem infecção uterina, respectivamente. A detecção de cérvix aberta aos 28 dias pós-parto pode indicar presença endometrite e atraso na involução uterina, uma vez que já foi verificada correlação entre a involução da cérvix e a dos cornos uterinos. Em animais com puerpério normal, a cérvix encontra-se fechada a partir da terceira semana pós-parto (Caravajal, 1989).

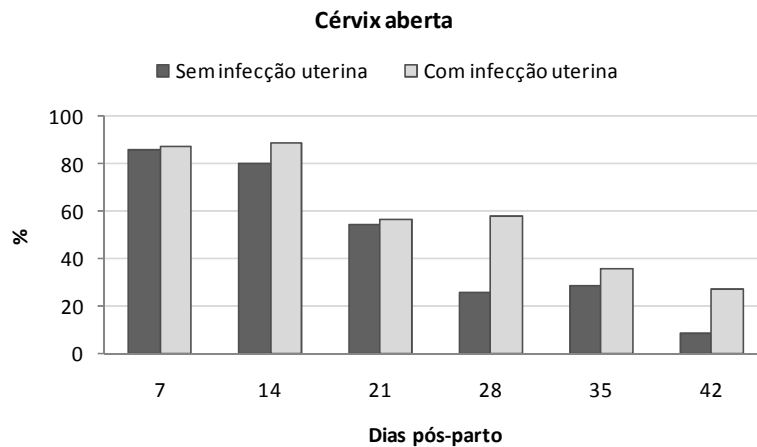


Figura 18. Evolução da condição da cérvix durante o puerpério de acordo com a ocorrência de infecção uterina até 42 dias após o parto

#### 3.8.4.5. Aspecto e odor da secreção cérvico-vaginal

Até os 35 dias pós-parto, a presença de secreção cérvico-vaginal foi semelhante entre animais com ou sem infecção uterina (Figura 19). Aos 42 dias pós-parto, foi detectada secreção em 55% e 29% dos animais com ou sem infecção uterina, respectivamente, ou seja, nem sempre essa ocorrência esteve associada à endometrite clínica, já que a maior parte dos animais apresentava secreção cristalina (Figura 20). Aos 14 dias pós-parto, 81% dos animais

sem infecção uterina e 46% dos animais com infecção apresentava secreção mucopurulenta. Aos 42 dias, 23% dos animais do grupo com infecção, ainda apresentava secreção mucopurulenta, sendo que esse achado indica presença de endometrite clínica (Sheldon et al., 2006; Gautam et al., 2010). Quanto ao odor, aos sete dias pós-parto, 60% dos animais com infecção uterina e 30% dos animais sem infecção apresentavam secreção fétida (Figura 21). Aos 28 dias, ainda foram detectados 11% de animais com secreção fétida no grupo com infecção uterina.

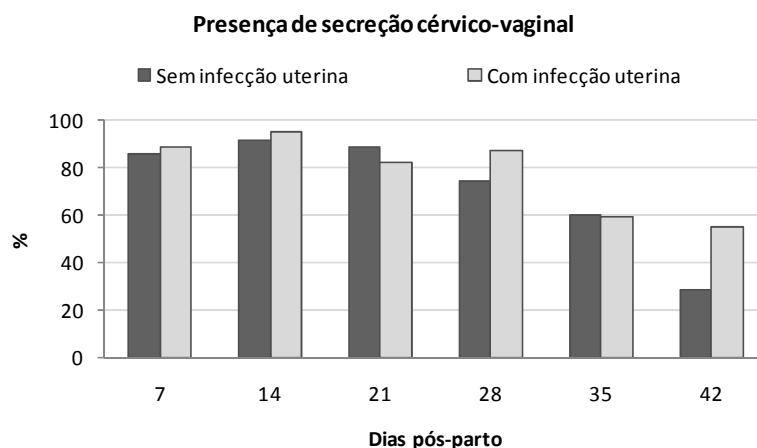


Figura 19. Observação de secreção cérvico-vaginal durante o puerpério de acordo com a ocorrência de infecção uterina até 42 dias após o parto

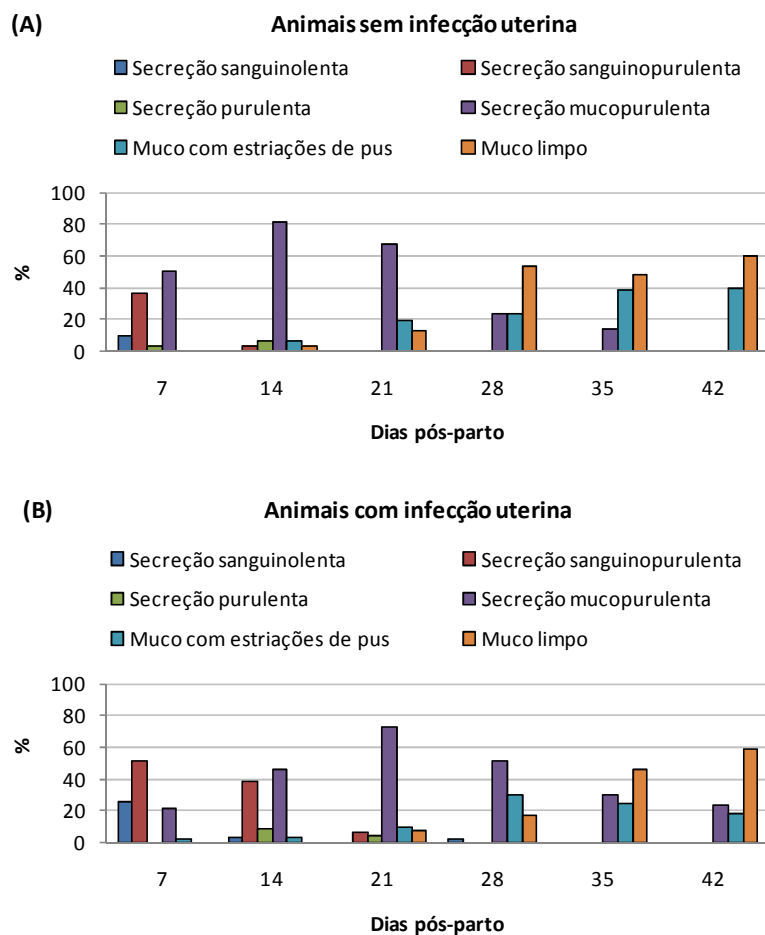


Figura 20. Evolução do aspecto da secreção cérvico-vaginal durante o puerpério de acordo com a ausência (A) ou presença (B) de retenção de placenta

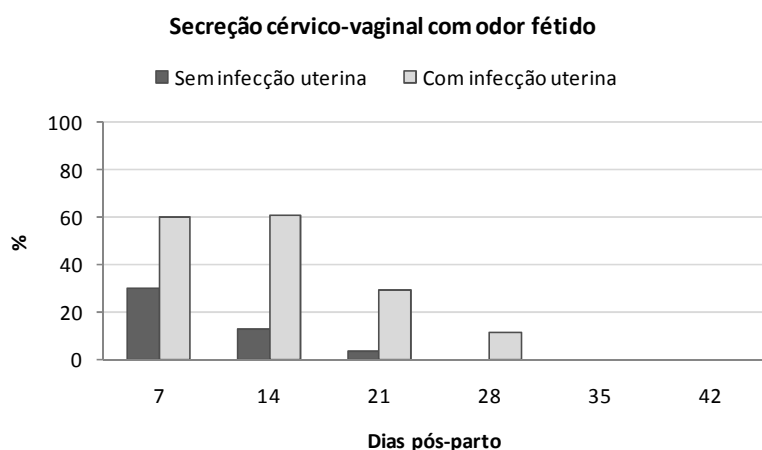


Figura 21. Evolução do odor da secreção cérvico-vaginal durante o puerpério de acordo com a ocorrência de infecção uterina até 42 dias após o parto

### 3.9. Cistos ovarianos

A incidência de cistos ovarianos, foliculares ou luteinizados, do parto ao primeiro serviço, foi de 31,5% (29/92). Não foi verificada diferença ( $P>0,05$ ) na incidência entre categorias, nem entre animais com ou sem retenção de placenta. O mesmo ocorreu com os intervalos do parto ao diagnóstico do primeiro cisto. Ao relacionar a categoria

e a ocorrência de retenção de placenta, também não foram verificadas diferenças ( $P>0,05$ ) entre os grupos (Tabelas 33, 34, 35). A incidência de cistos e o intervalo do parto ao diagnóstico foram semelhantes entre animais com ou sem infecção uterina no puerpério ou até o primeiro serviço. Também não foram encontradas diferenças ao relacionar a categoria e a ocorrência de infecção uterina (Tabelas 36 e 37).

Tabela 33. Incidência de cistos ovarianos até o primeiro serviço e intervalo do parto à detecção de acordo com a categoria

<b>Categoria</b>	<b>n</b>	<b>Primeiro cisto (dias)</b>
<b>Primíparas</b>	23,8% (05/21)	71,2 ± 22,2
<b>Pluríparas</b>	33,8% (24/71)	52,8 ± 21,8
<b>Total</b>	<b>31,5% (29/92)</b>	<b>56,0 ± 22,6</b>

Tabela 34. Incidência de cistos ovarianos até o primeiro serviço e intervalo do parto à detecção de acordo com a ocorrência de retenção de placenta

	<b>n</b>	<b>Primeiro cisto (dias)</b>
<b>Animais sem retenção de placenta</b>	28,6% (16/56)	59,6 ± 28,1
<b>Animais com retenção de placenta</b>	36,1% (13/36)	51,5 ± 12,7
<b>Total</b>	<b>31,5% (29/92)</b>	<b>56,0 ± 22,6</b>

Tabela 35. Incidência de cistos ovarianos até o primeiro serviço e intervalo do parto à detecção de acordo com a categoria e a ocorrência de retenção de placenta

<b>Categoria</b>	<b>n</b>	<b>Primeiro cisto (dias)</b>
<b>Primíparas sem retenção de placenta</b>	15,0% (03/20)	84,0 ± 17,6
<b>Primíparas com retenção de placenta</b>	40,0% (02/05)	52,0 ± 11,3
<b>Pluríparas sem retenção de placenta</b>	30,2% (13/43)	54,0 ± 27,5
<b>Pluríparas com retenção de placenta</b>	31,4% (11/35)	51,5 ± 13,5
<b>Total</b>	<b>31,5% (29/92)</b>	<b>56,0 ± 22,6</b>

Tabela 36. Incidências de cistos ovarianos e intervalo do parto à detecção de acordo com a ocorrência de infecção uterina até 42 dias pós-parto (dpp) ou até a primeira inseminação artificial (1ª IA)

	<b>Infecção uterina até 42 dpp</b>		<b>Infecção uterina até a 1ª IA</b>	
	<b>n</b>	<b>Primeiro cisto (dias)</b>	<b>n</b>	<b>Primeiro cisto (dias)</b>
<b>Animais s/ inf.</b>	28,6% (10/35)	49,4 ± 19,5	21,7% (05/23)	50,2 ± 24,0
<b>Animais c/ inf.</b>	30,6% (19/62)	59,5 ± 23,8	34,8% (24/69)	57,2 ± 22,6
<b>Total</b>	<b>31,5% (29/92)</b>	<b>56,0 ± 22,6</b>	<b>31,5% (29/92)</b>	<b>56,0 ± 22,6</b>

Tabela 37. Incidência de cistos ovarianos e intervalo do parto à detecção de acordo com a categoria e a ocorrência de infecção uterina até 42 dias pós-parto (dpp) ou até a primeira inseminação artificial (1ª IA)

<b>Categoria</b>	<b>Infecção uterina até 42 dpp</b>		<b>Infecção uterina até a 1ª IA</b>	
	<b>n</b>	<b>Primeiro cisto (dias)</b>	<b>n</b>	<b>Primeiro cisto (dias)</b>
<b>Primíparas s/ inf.</b>	-	-	-	-
<b>Primíparas c/ inf.</b>	27,7% (05/18)	71,2 ± 22,2	29,4% (05/17)	71,2 ± 22,2
<b>Pluríparas s/ inf.</b>	34,5% (10/29)	49,4 ± 19,5	26,3% (05/19)	50,2 ± 24,0
<b>Pluríparas c/ inf.</b>	31,8% (14/44)	55,3 ± 23,7	36,5% (19/52)	53,5 ± 21,8
<b>Total</b>	<b>31,5% (29/92)</b>	<b>56,0 ± 22,6</b>	<b>31,5% (29/92)</b>	<b>56,0 ± 22,6</b>



A incidência de cistos ovarianos do parto à primeira inseminação artificial foi superior aos relatos de outros autores, porém, verifica-se período de avaliação menor que o do presente estudo: 15,9%, até a terceira ovulação após o parto (Lara, 1985); 9,3% durante o puerpério (Gearhart et al., 1990); 10 a 13% de prevalência em um rebanho normal (Garverick, 1997); 13,1% entre 43 e 49 dias após o parto e 11,2% entre 57 a 63 dias (López Gátius et al., 2002); 8,8% e 5,6% durante o puerpério, em animais com e sem retenção de placenta, respectivamente (Han e Kim, 2005). Quanto ao intervalo do parto à detecção do primeiro cisto, a média de  $56,0 \pm 22,6$  dias, é superior à relatada no estudo de Vanholder et al. (2005), que foi de  $27,5 \pm 4,7$  dias. Porém o número de animais avaliados por esses autores foi bem menor (12/34) que o do presente estudo (29/92) e o período de avaliação foi restrito a 60 dias após o parto.

A maior incidência de cistos ocorre, geralmente, entre o parto e a primeira ovulação, principalmente devido a falhas na ovulação do primeiro folículo dominante (Sheldon et al., 2002; Butler, 2006). Neste estudo, observou-se que 41,4% (12/29) dos casos de cistos ovarianos ocorreram antes da primeira observação do estro, achado inferior ao relatado por Lara (1985), que verificou 58,3% das ocorrências entre o parto e a primeira ovulação.

A elevada incidência de cistos no presente estudo pode ser decorrente do maior período de avaliação da patologia (do parto à primeira inseminação artificial) em relação aos dados da literatura, que consideraram menores períodos de observação. Apesar da ordem de parto, casos de retenção de placenta e infecção uterina não terem sido associados à ocorrência de cistos ovarianos neste estudo, é necessário considerar a presença de outros fatores de risco. Entre estes podemos citar a ocorrência de doenças metabólicas e a

presença de estresse térmico no período de ocorrência dos partos, que estão associados a maiores incidências de cistos ovarianos (Garverick, 1997; López-Gátius et al., 2002; Santos et al., 2009). Outros autores não verificaram relação entre a presença de afecções puerperais e a ocorrência de cistos, como é o caso dos estudos de Gearhart et al. (1990) e Han e Kim (2005), nos quais não foram relatadas associações entre a ocorrência de cistos ovarianos e a presença de retenção de placenta e infecção uterina.

### **3.10. Outros transtornos puerperais**

Além das doenças citadas anteriormente, também foram verificadas incidências de outras afecções puerperais: 7,2% (7/97) de natimortos; 6,2% (6/97) dos animais sofreram cirurgias de correção para deslocamento de abomaso à esquerda; 15,5% (15/97) tiveram mastite ambiental; e, 17,5% (17/97) dos animais apresentaram sinais clínicos de cetose.

A ocorrência de deslocamento de abomaso no presente estudo foi superior à verificada por outros autores em rebanhos de alta produção, 1,4% (Curtis et al., 1985; Markusfeld, 1987); enquanto a incidência de natimortos foi semelhante ao verificado no estudo de Markusfeld (1987), 6,3%. Já os casos de cetose foram inferiores aos relatados por estes autores (30,4%) e semelhantes aos verificados por Curtis et al. (1985), 23,6%. A incidência de mastite ambiental foi três vezes superior à verificada por Curtis et al. (1985), que foi de 5,4%, porém semelhante ao estudo de Erb et al. (1985), 16,8%.

As ocorrências de natimortos encontram-se dentro dos valores de referência (menor que 8%) de acordo com Overton e Nydan (2009). Os casos de deslocamento de abomaso encontram-se dentro dos valores considerados ideais e preocupantes (entre 3 e 7%). Os relatos de mastite ambiental

apresentaram-se superiores aos valores considerados como preocupantes (maior ou igual a 14%). Já as ocorrências de cetose ultrapassaram o dobro dos valores considerados preocupantes ( $\geq 8\%$ ).

No estudo de Han e Kim (2005), verificou-se que dos animais que apresentaram retenção de placenta, 7,5% tiveram deslocamento de abomaso e 4,8% apresentaram cetose no pós-parto. Esses resultados foram estatisticamente diferentes dos animais sem retenção de placenta, que foram de 2,0% e 1,25%, respectivamente. Portanto, a alta incidência de doenças metabólicas no presente estudo pode estar relacionada com a elevada ocorrência de retenção de placenta. De acordo com Overton e Nydan (2009), na maioria das vezes, quando a incidência de deslocamento de abomaso ultrapassa 6%, verifica-se que as ocorrências de metrite e cetose são elevadas, como verificado no estudo atual.

### 3.11. Parâmetros reprodutivos

Os parâmetros utilizados para analisar a eficiência reprodutiva no presente estudo,

foram: intervalos do parto à manifestação do primeiro estro, à detecção do primeiro corpo lúteo e ao primeiro serviço ou primeira IA; taxa de gestação ao primeiro serviço; número de serviços por concepção e período de serviço.

#### 3.11.1. Intervalo do parto ao primeiro estro observado

O intervalo do parto à observação do primeiro estro variou de 10 a 129 dias. A média foi de  $49,1 \pm 24,9$  dias e não houve diferença ( $P > 0,05$ ), entre as categorias (Tabela 38). Ao considerar como média, o intervalo de 50 dias após o parto, foram observadas em estro, 57,1% das primíparas e 60,6% das pluríparas. Não foi verificada diferença ( $P > 0,05$ ) do intervalo do parto à manifestação do primeiro estro, entre animais com ou sem retenção de placenta (Tabela 39). Foram detectados em estro até 50 dias após o parto, 51,8% dos animais sem retenção de placenta e 72,2% com retenção. Ao considerar a categoria e a ocorrência de retenção de placenta, também não foi detectada diferença ( $P > 0,05$ ) entre os grupos (Tabela 40).

Tabela 38. Intervalo do parto ao primeiro estro de acordo com a categoria

<b>Categoria</b>	<b>n</b>	<b>Primeiro estro (dias pós-parto)</b>	<b>Intervalo (dias pós-parto)</b>
<b>Primíparas</b>	21	$46,7 \pm 26,5$	10 - 104
<b>Pluríparas</b>	71	$49,8 \pm 24,5$	11 - 129
<b>Total</b>	<b>92</b>	<b><math>49,1 \pm 24,9</math></b>	<b>10 - 129</b>

Tabela 39. Intervalo do parto ao primeiro estro de acordo com a ocorrência de retenção de placenta

	<b>n</b>	<b>Primeiro estro (dias pós-parto)</b>	<b>Intervalo (dias pós-parto)</b>
<b>Animais sem retenção de placenta</b>	56	$52,4 \pm 27,2$	10 - 129
<b>Animais com retenção de placenta</b>	36	$43,9 \pm 20,1$	12 - 104
<b>Total</b>	<b>92</b>	<b><math>49,1 \pm 24,9</math></b>	<b>10 - 129</b>

Tabela 40. Intervalo do parto ao primeiro estro de acordo com a categoria e a ocorrência de retenção de placenta

<b>Categoria</b>	<b>n</b>	<b>Primeiro estro (dias pós-parto)</b>
<b>Primíparas sem retenção de placenta</b>	16	$45,6 \pm 28,1$
<b>Primíparas com retenção de placenta</b>	05	$50,2 \pm 22,9$
<b>Pluríparas sem retenção de placenta</b>	40	$55,3 \pm 26,6$
<b>Pluríparas com retenção de placenta</b>	31	$42,9 \pm 19,9$
<b>Total</b>	<b>92</b>	<b><math>49,1 \pm 24,9</math></b>

Também não foi verificada diferença ( $P>0,05$ ) no intervalo do parto ao primeiro estro observado entre animais com ou sem infecção uterina durante o puerpério. Achados semelhantes foram verificados entre animais com ou sem infecção até a primeira IA (Tabela 41). Observou-se que 57,1% dos animais sem infecção uterina e

61,4% dos animais com algum tipo de infecção durante o puerpério, foram detectados em estro até 50 dias após o parto. Ao considerar a categoria dos animais e a ocorrência de infecção uterina até 42 dias pós-parto ou até a primeira IA, não foram detectadas diferenças ( $P>0,05$ ) entre os grupos (Tabela 42).

Tabela 41. Intervalo do parto ao primeiro estro de acordo com a ocorrência de infecção uterina até 42 dias pós-parto (dpp) ou até a primeira inseminação artificial (1ª IA)

	Infecção uterina até 42 dias pós-parto			Infecção uterina até a 1ª IA		
	<i>n</i>	Primeiro estro (dpp)	Intervalo (dpp)	<i>n</i>	Primeiro estro (dpp)	Intervalo (dpp)
<b>Animais s/ infecção</b>	35	46,8 ± 22,2	10 - 106	23	47,5 ± 24,8	10 - 106
<b>Animais c/ infecção</b>	57	50,4 ± 26,4	12 - 129	69	49,6 ± 25,0	12 - 129
<b>Total</b>	<b>92</b>	<b>49,1 ± 24,9</b>	<b>10 - 129</b>	<b>92</b>	<b>49,1 ± 24,9</b>	<b>10 - 129</b>

Tabela 42. Intervalo do parto ao primeiro estro de acordo com a categoria e a ocorrência de infecção uterina até 42 dias pós-parto ou até a primeira inseminação artificial (1ª IA)

Categoria	Infecção uterina até 42 dias pós-parto			Infecção uterina até a 1ª IA		
	<i>n</i>	Primeiro estro (dias pós-parto)		<i>n</i>	Primeiro estro (dias pós-parto)	
<b>Primíparas sem infecção</b>	06	37,5 ± 26,5		04	42,5 ± 31,8	
<b>Primíparas com infecção</b>	15	50,3 ± 26,5		17	47,6 ± 26,1	
<b>Pluríparas sem infecção</b>	29	48,8 ± 21,2		19	48,6 ± 23,9	
<b>Pluríparas com infecção</b>	42	50,4 ± 26,7		52	50,2 ± 24,9	
<b>Total</b>	<b>92</b>	<b>49,1 ± 24,9</b>		<b>92</b>	<b>49,1 ± 24,9</b>	

A média do intervalo do parto ao primeiro estro (49,1 ± 24,9 dias) do presente estudo foi superior à relatada por Kozicki et al. (1998), que observaram intervalo de 28,5 ± 9,7 dias, para animais com ou sem transtornos puerperais. Porém, foi inferior à reportada por Fernandes et al. (2001), que verificaram intervalo de 110,46 ± 7,91 dias para vacas com retenção de placenta e 85,63 ± 6,54 dias para animais sem retenção. A grande variação no intervalo do parto ao primeiro estro observado (10 a 129 dias) pode ser decorrente de falhas na manifestação (Lara, 1985) e na observação visual do estro (Leite et al., 2001), ou anestro prolongado (Stevenson, 2006).

Como ilustrado na Figura 22, o primeiro estro observado ocorreu de forma natural em 74% (68/92) dos animais, sendo que no

restante, o primeiro estro somente foi observado após a sua indução, por meio da aplicação de hormônios, como análogos da prostaglandina  $F_{2\alpha}$ , a qual também é utilizada no protocolo *Ovsynhc*. Como a adoção desses procedimentos implica a presença prévia de um corpo lúteo no ovário, pode-se inferir que nem sempre a primeira ovulação coincidiu com o primeiro estro observado, o que sugere falhas na detecção e/ou manifestação dos estros.

A detecção correta do estro é um dos principais componentes que determinam o retorno mais rápido dos animais à reprodução após o parto, uma vez que determina o momento ideal para o momento da inseminação artificial. A atual diminuição da eficiência reprodutiva de vacas leiteiras de alta produção está

relacionada com falhas na expressão e detecção do estro. Recomenda-se adotar períodos mais prolongados e mais frequentes durante o dia, para melhorar a detecção do estro (Lucy, 2001).

Nota-se que no presente estudo, o intervalo do parto ao primeiro estro observado, não é

um parâmetro confiável para analisar a influência ou não da retenção de placenta e da infecção uterina, no retorno da atividade ovariana luteal cíclica. Portanto, para discutir as questões relacionadas com esse assunto, será considerado o intervalo do parto à detecção do primeiro corpo lúteo, por meio de ultrassonografia.

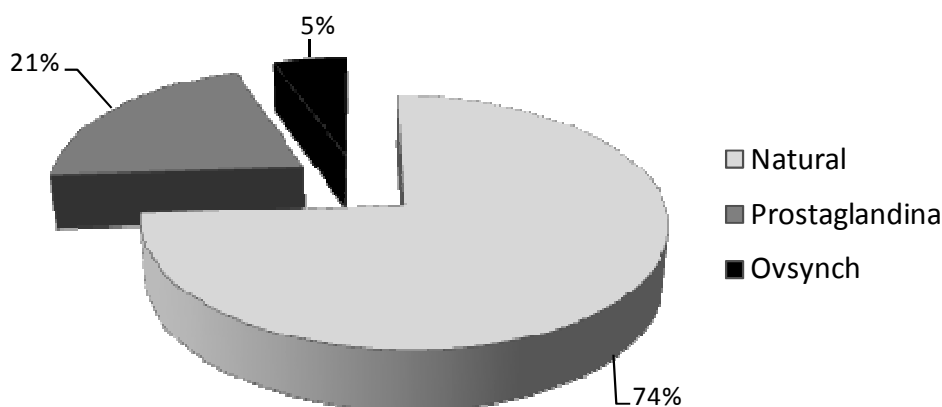


Figura 22. Características do primeiro estro observado

### 3.11.2. Intervalo do parto à detecção do primeiro corpo lúteo

O intervalo do parto à detecção do primeiro corpo lúteo, por meio da ultrassonografia, variou de 16 a 114 dias, e foi mais longo ( $P < 0,05$ ) para as primíparas em relação às pluríparas (Tabela 43). Verificou-se que 52,4% das primíparas e 62,0% das pluríparas haviam ovulado pela primeira vez até 50 dias após o parto.

Em relação aos animais que apresentaram ou não retenção de placenta, verificou-se que a ocorrência dessa patologia implicou atraso ( $P < 0,05$ ) na detecção do primeiro corpo lúteo (Tabela 44). Aos 50 dias após o

parto, 69,6% dos animais que não tiveram retenção de placenta haviam ovulado, enquanto 44,4% dos animais sem retenção encontravam-se nessa condição. Ao considerar a categoria e a presença ou ausência de retenção de placenta, verificou-se que as primíparas com retenção de placenta apresentaram o maior intervalo do parto à detecção do primeiro corpo lúteo ( $P < 0,01$ ). O menor intervalo foi observado para pluríparas sem retenção de placenta ( $P < 0,01$ ). As primíparas sem retenção de placenta e as pluríparas com retenção de placenta apresentaram intervalos intermediários, os quais foram estatisticamente semelhantes ( $P > 0,05$ ) aos outros grupos (Tabela 45).

Tabela 43. Intervalo do parto à detecção do primeiro corpo lúteo de acordo com a categoria

Categoria	n	Primeiro corpo lúteo (dias pós-parto)	Intervalo (dias pós-parto)
Primíparas	19	52,3 ± 29,1A	22 – 114
Pluríparas	60	40,9 ± 17,9B	16 – 97
<b>Total</b>	<b>79</b>	<b>43,6 ± 21,5</b>	<b>16 – 114</b>

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste F ( $P < 0,05$ )

Tabela 44. Intervalo do parto à detecção do primeiro corpo lúteo de acordo com a ocorrência de retenção de placenta

	<i>n</i>	Primeiro corpo lúteo (dias pós-parto)	Intervalo (dias pós-parto)
<b>Animais sem retenção de placenta</b>	49	39,2 ± 20,3A	16 – 97
<b>Animais com retenção de placenta</b>	30	50,7 ± 21,7B	18 – 114
<b>Total</b>	<b>79</b>	<b>43,6 ± 21,5</b>	<b>16 – 114</b>

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste F (P<0,05)

Tabela 45. Intervalo do parto à detecção do primeiro corpo lúteo de acordo com a categoria e a ocorrência de retenção de placenta

<b>Categoria</b>	<i>n</i>	Primeiro corpo lúteo (dias pós-parto)
<b>Primíparas sem retenção de placenta</b>	15	47,1 ± 25,4AB
<b>Primíparas com retenção de placenta</b>	04	71,5 ± 37,8 <sup>a</sup>
<b>Pluríparas sem retenção de placenta</b>	34	35,8 ± 16,9B
<b>Pluríparas com retenção de placenta</b>	26	47,5 ± 17,1AB
<b>Total</b>	<b>79</b>	<b>43,6 ± 21,5</b>

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Student Newman Keuls (P<0,01)

Em relação aos animais que apresentaram ou não infecção uterina durante o puerpério, também houve diferença (P<0,001) entre os grupos quanto ao intervalo do parto à detecção do primeiro corpo lúteo. Nos casos de presença ou ausência de infecção

uterina até o primeiro serviço, não foi verificada diferença (P>0,05) entre os grupos (Tabela 46). Verificou-se que 77,1% dos animais sem infecção uterina e 49,1% dos animais com infecção haviam ovulado até 50 dias após o parto.

Tabela 46. Intervalo do parto à detecção do primeiro corpo lúteo de acordo com a ocorrência de infecção uterina até 42 dias pós-parto (dpp) ou até a primeira inseminação artificial (1ª IA)

	Inf. uterina até 42 dpp		Inf. uterina até a 1ª IA		Intervalo (dias pós-parto)
	<i>n</i>	Primeiro corpo lúteo (dias pós-parto)*	<i>n</i>	Primeiro corpo lúteo (dias pós-parto)	
<b>Animais sem infecção</b>	32	35,0 ± 18,3A	21	36,6 ± 19,2	18 – 97
<b>Animais com infecção</b>	47	49,4 ± 21,7B	58	46,1 ± 21,8	16 – 114
<b>Total</b>	<b>79</b>	<b>43,6 ± 21,5</b>	<b>79</b>	<b>43,6 ± 21,5</b>	<b>16 – 114</b>

\*Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste F (P<0,001)

Ao considerar a categoria e a presença ou não de infecção uterina até 42 dias após o parto, verificou-se que o intervalo do parto à detecção do primeiro corpo lúteo apresentou características semelhantes às relatadas para presença ou ausência de retenção de placenta. As pluríparas sem infecção uterina apresentaram o menor intervalo (P<0,01), enquanto as primíparas com infecção uterina tiveram o intervalo mais prolongado (P<0,01). Nos casos de presença ou ausência de infecção uterina até o primeiro serviço, também não foi

verificada diferença (P>0,05) entre os grupos (Tabela 47).

Em rebanhos leiteiros bem manejados, a maioria das vacas ovula até quatro semanas após o parto, contudo é necessário observar as características do sistema de produção. Vacas de alta produção geralmente apresentam BEN mais grave e maior ocorrência de transtornos puerperais, o que implica em atraso no RAOLC (Britt, 1992; Butler, 2006; Stevenson et al., 2006; Sheldon et al., 2008).

Tabela 47. Intervalo do parto à detecção do primeiro corpo lúteo de acordo com a categoria e a ocorrência de infecção uterina até 42 dias pós-parto

Categoria	Infecção uterina até 42 dias pós-parto		Infecção uterina até a 1ª IA	
	<i>n</i>	Primeiro corpo lúteo (dias pós-parto)*	<i>n</i>	Primeiro corpo lúteo (dias pós-parto)
<b>Primíparas sem infecção</b>	05	41,6 ± 31,3AB	04	43,8 ± 35,8
<b>Primíparas com infecção</b>	14	56,1 ± 28,4A	15	54,5 ± 28,0
<b>Pluríparas sem infecção</b>	27	33,8 ± 15,4B	17	34,9 ± 14,4
<b>Pluríparas com infecção</b>	33	46,6 ± 17,9AB	43	43,2 ± 18,7
<b>Total</b>	<b>79</b>	<b>43,6 ± 21,5</b>	<b>79</b>	<b>43,6 ± 21,5</b>

\*Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Student Newman Keuls (P<0,01)

Em um estudo comparativo, observou-se que vacas leiteiras de alta produção atuais apresentam maior intervalo do parto à primeira ovulação que as vacas de leite de baixa produção de estudos anteriores a 1970, tendo sido encontradas médias de 43 ± 5 dias e 29 ± 3 dias, respectivamente. Aos 60 dias após o parto, as porcentagens de vacas em anestro foram de 38% e 0%, respectivamente (Lucy, 2001).

Em ordem de prioridade, os seguintes gastos energéticos têm prioridade para uma vaca recém-parida: manutenção corporal, ganho de peso, produção de leite e reprodução, o que inclui manifestação do estro e RAOLC (Stevenson et al., 2006). Geralmente, verifica-se BEN mais grave e maior atraso no retorno da atividade ovariana luteal cíclica na categoria das primíparas, pois esses animais ainda se encontram em fase de crescimento após o parto (Britt, 1992). A extensão do BEN controla o momento da primeira ovulação pós-parto ao influenciar no destino do primeiro folículo dominante (Butler, 2006). Na presença de BEN, observa-se redução na pulsatilidade do LH, sendo que falhas na ovulação estão entre os principais fatores responsáveis pelo atraso no RAOLC após o parto (Diskin et al., 2003). Verifica-se atraso de três a quatro semanas para detecção do primeiro corpo lúteo, nos casos de falhas de ovulação dos primeiros folículos dominantes (Butler, 2006).

No presente estudo, 47,6% das primíparas ainda não haviam ovulado até 50 dias após o parto, média superior à relatada por Stevenson (2006), que detectou 26% de primíparas em anestro até essa ocasião, sendo que esses animais apresentaram menor taxa de gestação e demoraram mais tempo para se tornarem gestantes que os animais cujo RAOLC ocorreu mais rapidamente. De acordo com Britt (1992), é necessário adotar dietas diferenciadas para as primíparas no pós-parto, visando minimizar a influência do BEN no RAOLC.

A média de dias para a primeira ovulação encontrada no presente estudo, 43,6 ± 21,5 dias após o parto, foi superior à relatada por outros autores, que verificaram ocorrência da primeira ovulação entre 20 e 30 dias após o parto, como são os casos de: Lara (1985): 27,3 ± 10,9 dias; Kamimura et al. (1993): 21,2 ± 9,6 dias; Kozicki et al. (1998): 28,5 ± 9,7 dias; de Vries e Veerkamp (2000): 29,7 dias; Senosy et al. (2009): 31,6 ± 7,0 dias. Porém, foi semelhante ao relatado por Nakao et al. (1992), que acompanharam rebanhos de alta produção durante três anos, e verificaram que o RAOLC foi de 38 ± 17 dias após o parto para vacas que não tiveram infecção uterina durante o puerpério e mais tardio, 44 ± 22 dias, para animais que apresentaram essa afecção. No presente estudo, esses valores foram de 35,0 ± 18,3 dias e 49,4 ± 21,7 dias, respectivamente.

As porcentagens de vacas que não tiveram transtornos reprodutivos, como retenção de placenta ou infecção uterina e haviam ovulado até a sétima semana após o parto (69,6% e 77,1%, respectivamente), foram semelhantes a outros relatos: Santos et al. (2009) encontraram 74,5% desses animais ciclando na sétima semana após o parto, enquanto 78% das vacas com puerpério normal do estudo de Senosy et al. (2009), já haviam ovulado nessa ocasião. Valores intermediários para esses achados foram encontrados por outros autores por meio das técnicas de ultrassonografia e dosagem dos níveis de progesterona. Nakao et al. (1992), detectaram 63,4% dos animais ciclando normalmente até 50 dias após o parto, enquanto Vanholder et al. (2005), verificaram que 64,7% dos animais haviam ovulado até 60 dias pós-parto.

Além de favorecer a máxima ingestão de alimentos após o parto, para minimizar o BEN, é necessário controlar a ocorrência de transtornos puerperais, tais como retenção de placenta e infecções uterinas, para obter maior número de animais com RAOLC em menor intervalo após o parto (Britt, 1992; Butler, 2006; Sheldon et al., 2008). Os índices reprodutivos de vacas que apresentam retenção de placenta geralmente são inferiores àqueles observados em vacas sem retenção de placenta. O atraso no RAOLC implica aumento do período de serviço e consequentes prejuízos para o produtor (Fernandes et al., 2001).

O atraso no RAOLC em vacas que apresentam transtornos puerperais pode estar relacionado com a contaminação bacteriana do ambiente uterino (Sheldon et al., 2002). Por meio de *swabs* uterinos, realizados entre sete e 28 dias após o parto, esses autores observaram relação da contaminação uterina com o destino do primeiro folículo dominante. Animais com maior nível de contaminação bacteriana aos sete dias após o parto apresentaram folículo dominante com menor diâmetro e menor

concentração de estradiol circulante, na maioria das vezes contra-lateral ao corno previamente gestante. Esses achados indicaram que a alta contaminação bacteriana influencia na seleção, na taxa de crescimento e na função do primeiro folículo dominante, ao promover alterações no eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal.

A partir do útero, as endotoxinas bacterianas alcançam a circulação sanguínea, e juntamente com citocinas pró-inflamatórias, podem suprimir a liberação de GnRH pelo hipotálamo e a secreção de LH pela hipófise. As consequências da alteração do controle do eixo hipotálamo-hipófise-ovário implicam em atraso no retorno da atividade ovariana luteal cíclica, maior incidência de cistos ovarianos e prolongamento do anestro após o parto (Sheldon, 2007; Sheldon et al., 2009).

A involução uterina completa pode ocorrer na ausência do restabelecimento do eixo hipotálamo-hipófise-ovário, mas o RAOLC depende da taxa de involução do útero. Se a involução uterina atrasa, o retorno da atividade ovariana é afetado. As doenças uterinas estão diretamente relacionadas com o atraso no RAOLC (Johanns, 1968; Paisley et al., 1986; Mateus et al., 2002; Sheldon et al., 2002, 2008; Senosy et al., 2009). Nesses casos, até 50% das vacas podem permanecer sem ovular até 50 dias após o parto (Opsomer, 2000), como foi observado no presente estudo (Figura 37).

### **3.11.3. Intervalo do parto ao primeiro serviço**

A duração do intervalo do parto ao primeiro serviço foi de  $75,9 \pm 31,0$  dias, não sendo verificada diferença ( $P > 0,05$ ) entre as categorias (Tabela 48), nem entre animais com ou sem de retenção de placenta (Tabela 49). Ao relacionar a categoria e a ocorrência de retenção de placenta, também não houve diferença ( $P > 0,05$ ) entre os grupos (Tabela 50).

Tabela 48. Intervalo do parto ao primeiro serviço de acordo com a categoria

<b>Categoria</b>	<b><i>n</i></b>	<b>Primeiro serviço (dias pós-parto)</b>
<b>Primíparas</b>	21	77,1 ± 33,8
<b>Pluríparas</b>	71	75,5 ± 30,4
<b>Total</b>	<b>92</b>	<b>75,9 ± 31,0</b>

Tabela 49. Intervalo do parto ao primeiro serviço de acordo com a ocorrência de retenção de placenta

	<b><i>n</i></b>	<b>Primeiro serviço (dias pós-parto)</b>
<b>Animais sem retenção de placenta</b>	56	78,6 ± 35,2
<b>Animais com retenção de placenta</b>	36	71,7 ± 23,0
<b>Total</b>	<b>92</b>	<b>75,9 ± 31,0</b>

Tabela 50. Intervalo do parto ao primeiro serviço de acordo com a categoria e a ocorrência de retenção de placenta

<b>Categoria</b>	<b><i>n</i></b>	<b>Primeiro serviço (dias pós-parto)</b>
<b>Primíparas sem retenção de placenta</b>	16	79,3 ± 38,1
<b>Primíparas com retenção de placenta</b>	05	70,4 ± 14,0
<b>Pluríparas sem retenção de placenta</b>	40	78,4 ± 34,5
<b>Pluríparas com retenção de placenta</b>	31	71,9 ± 24,3
<b>Total</b>	<b>92</b>	<b>75,9 ± 31,0</b>

O intervalo do parto ao primeiro serviço foi semelhante ( $P>0,05$ ) entre os animais com ou sem infecção uterina até 42 dias pós-parto, e diferente ( $P<0,05$ ), ao considerar

infecções uterinas até a primeira IA (Tabela 51). Ao associar categoria e ocorrência de infecção uterina, não houve diferença ( $P>0,05$ ) entre os grupos (Tabela 52).

Tabela 51. Intervalo do parto ao primeiro serviço de acordo com a ocorrência de infecção uterina até 42 dias pós-parto ou até a primeira inseminação artificial (1ª IA)

	<b>Infecção uterina até 42 dias pós-parto</b>		<b>Infecção uterina até a 1ª IA</b>	
	<b><i>n</i></b>	<b>Primeiro serviço (dias pós-parto)</b>	<b><i>n</i></b>	<b>Primeiro serviço (dias pós-parto)*</b>
<b>Animais sem infecção</b>	35	71,8 ± 27,6	23	63,5 ± 17,8 <sup>a</sup>
<b>Animais com infecção</b>	57	78,4 ± 32,9	69	79,9 ± 33,3 <sup>B</sup>
<b>Total</b>	<b>92</b>	<b>75,9 ± 31,0</b>	<b>92</b>	<b>75,9 ± 31,0</b>

\*Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste F ( $P<0,05$ )

Tabela 52. Intervalo do parto ao primeiro serviço de acordo com a categoria e a ocorrência de infecção uterina até 42 dias pós-parto ou até a primeira inseminação artificial (1ª IA)

<b>Categoria</b>	<b>Infecção uterina até 42 dias pós-parto</b>		<b>Infecção uterina até a 1ª IA</b>	
	<b><i>n</i></b>	<b>Primeiro serviço (dias pós-parto)</b>	<b><i>n</i></b>	<b>Primeiro serviço (dias pós-parto)</b>
<b>Primíparas sem infecção</b>	06	58,2 ± 11,4	04	58,3 ± 14,6
<b>Primíparas com infecção</b>	15	84,7 ± 37,0	17	81,6 ± 35,8
<b>Pluríparas sem infecção</b>	29	74,7 ± 29,2	19	64,6 ± 18,6
<b>Pluríparas com infecção</b>	42	76,1 ± 31,5	52	79,3 ± 32,8
<b>Total</b>	<b>92</b>	<b>75,9 ± 31,0</b>	<b>92</b>	<b>75,9 ± 31,0</b>



Como no presente estudo, outros autores não encontraram relação entre retenção de placenta e intervalo do parto à primeira IA (Van Werven et al., 1992; Kaneko et al., 1997). No estudo de Van Werven et al. (1992), foram verificados intervalos do parto ao primeiro serviço de 78 e 75 dias para primíparas e vacas de dois ou três partos, que retiveram ou não a placenta por mais de 12 horas, respectivamente, resultados semelhantes aos do presente estudo. Já Kaneko et al. (1997), verificaram intervalos do parto à primeira IA de  $90,0 \pm 28,5$  e  $83,0 \pm 32,2$  dias para animais com e sem retenção de placenta, respectivamente. No estudo de Drillich et al. (2003), foram encontrados intervalos do parto ao primeiro serviço de  $75,2 \pm 21$  dias e  $81,0 \pm 25,8$  dias, para animais que receberam diferentes tratamentos para retenção de placenta. Em outro estudo desses autores, o intervalo do parto ao primeiro serviço foi de 75 dias (Drillich et al., 2006). Esses intervalos são semelhantes aos encontrados neste estudo.

O intervalo do parto ao primeiro serviço foi semelhante ( $P < 0,05$ ) entre os animais com ou sem infecção uterina durante o puerpério, como no estudo de Nakao et al. (1992). Os intervalos observados por esses autores foram de  $68 \pm 18$  dias e  $72 \pm 21$  dias, respectivamente. No trabalho de Gillbert et al. (1998) também não houve diferença no intervalo do parto à primeira IA entre animais com e sem endometrite.

Transtornos puerperais como distocias, retenção de placenta e doenças metabólicas são responsáveis pelo prolongamento do intervalo do parto ao primeiro serviço, ao favorecerem o estabelecimento de infecções uterinas persistentes (Lewis, 1997). Nesses casos, verifica-se prolongamento do período de serviço e redução da taxa de gestação ao primeiro serviço (LeBlanc et al., 2002a). No estudo de Kim e Kang (2003), o intervalo do parto ao primeiro serviço foi maior ( $100,9 \pm 4,1$ ) para animais com infecção uterina em relação aos

animais sem infecção ( $77,6 \pm 2,5$  dias), resultados superiores aos do presente estudo. Observações semelhantes foram verificadas por Kocamuftuoglu e Vural (2008), sendo que os intervalos do parto ao primeiro serviço foram de  $117,0 \pm 33,54$  e  $91,66 \pm 17,81$  dias, para animais com ou sem transtornos puerperais, respectivamente.

A utilização de terapias hormonais para antecipar a inseminação dos animais, pode ter influenciado nos resultados verificados acima. No presente estudo, 72% (76/92) dos primeiros serviços foram precedidos de estros induzidos por protocolos hormonais, o que favoreceu a antecipação da primeira IA para animais com ou sem retenção de placenta e infecção uterina, exceto nos casos de persistência da infecção uterina até essa ocasião (Figura 23).

#### **3.11.4. Taxa de gestação ao primeiro serviço**

A taxa de gestação ao primeiro serviço foi de 20,7% (19/92), sendo que dos 19 animais que se tornaram gestantes após a primeira inseminação artificial, 84,2% (16/19) eram animais que não tiveram retenção de placenta e somente 15,8% (3/19) haviam apresentado retenção.

Em rebanhos leiteiros de alta produção, a taxa de gestação ao primeiro serviço geralmente é inferior a 40%, sendo necessárias mais de duas doses de sêmen para tornar a vaca gestante (Royal et al., 2000). No estudo de Tillard et al. (2008), foi encontrada uma taxa de gestação ao primeiro serviço de aproximadamente 27%, e esse resultado foi atribuído à influência de fatores inerentes ao início da lactação ou a deficiências nutricionais. De acordo com esses autores, a presença de retenção de placenta é negativamente relacionada com a taxa de gestação ao primeiro serviço, devido à maior predisposição dos animais a doenças uterinas persistentes.

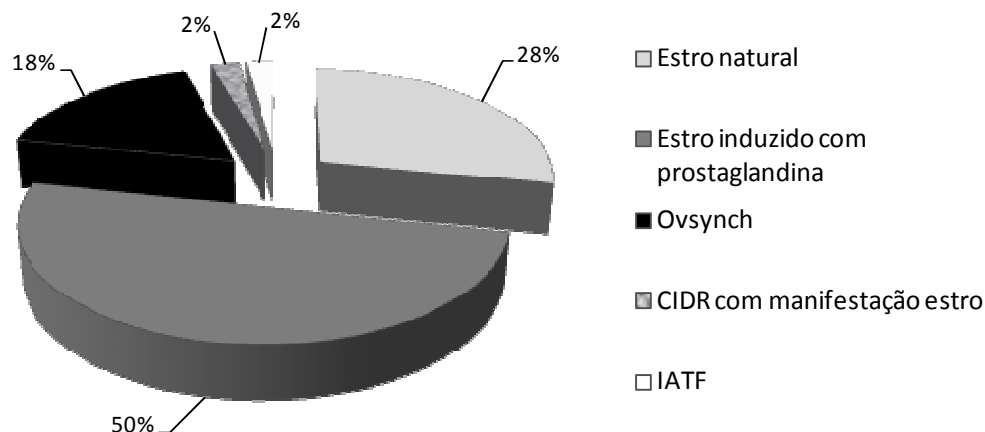


Figura 23. Tipos de estros que antecederam a primeira inseminação artificial

Baixas taxas de gestação ao primeiro serviço para animais com retenção de placenta, também foram verificadas por outros autores. Drillich et al. (2003) relataram que a alta porcentagem de animais que ainda apresentavam infecção uterina além de 30 dias após o parto, contribuiu para a ocorrência de taxas de gestação ao primeiro serviço de 34,5% a 37,9%, dependendo do tipo de tratamento adotado. Em outro estudo desses autores, as taxas de gestação em diferentes rebanhos variaram de 25,5% a 37,3%, mesmo após a adoção de diferentes tratamentos (Drillich et al., 2006). No estudo de Kocamuftuoglu e Vural (2008), as taxas de gestação na primeira inseminação artificial foram de 20% e 33,3% para animais com ou sem transtornos puerperais, tais como distocia, retenção de placenta, doenças metabólicas e infecção uterina, respectivamente. Vacas com endometrite persistente no experimento de Barlund et al. (2008), confirmada por meio de citologia, tiveram menor probabilidade de se tornarem gestantes na primeira inseminação em relação aos animais do grupo controle. A menor taxa de gestação ao primeiro serviço e o maior intervalo do parto à primeira IA implicam em aumento do descarte

involuntário dos animais, causando prejuízos ao produtor (Erb et al., 1985; Lewis, 1997).

Porém, Kaneko et al. (1997) não verificou diferença na taxa de gestação ao primeiro serviço entre animais com ou sem retenção de placenta. O mesmo foi relatado por Van Werven et al. (1992). Primíparas que retiveram a placenta por mais de 12 horas apresentaram 45,5% de taxa de gestação ao primeiro serviço, semelhante a pluríparas de dois ou três partos (42,9%). O sucesso do tratamento dos animais com retenção de placenta foi atribuído a esse achado.

### 3.11.5. Número de serviços por concepção

Seis meses depois do final do presente estudo, 51,1% das vacas encontravam-se gestantes, sendo que destas, 37,8% tiveram retenção de placenta, enquanto 62,2% não apresentaram essa patologia. A média do número de serviços por concepção para esses animais foi de  $1,9 \pm 0,9$  doses de sêmen, sendo necessárias  $1,6 \pm 0,9$  doses de sêmen para vacas sem retenção de placenta e  $2,4 \pm 0,8$  doses para vacas com retenção, com diferença ( $P < 0,05$ ) entre os grupos.

A média de serviços por gestação foi semelhante à reportada por Lara (1985), que foi de  $1,7 \pm 1$  inseminações por gestação, e superior à verificada no estudo de Kamimura et al. (1993), que foi de  $1,45 \pm 1,0$  inseminações por gestação. O maior número de serviços por concepção em animais com retenção de placenta é decorrente da presença de ambiente uterino inadequado após a instalação de processos infecciosos graves, o que influencia na implantação e manutenção da gestação (Larson et al., 1985; Fernandes et al., 2001; Kim e Kang, 2003). No estudo de Fernandes et al. (2001), foram necessários  $1,87 \pm 0,41$  serviços por gestação para animais com retenção de placenta e  $1,45 \pm 0,37$  serviços para animais sem retenção. Já no estudo de Kim e Kang (2003), os casos de retenção de placenta seguidos de infecção uterina necessitaram, em média, de 1,9 doses de sêmen por concepção, enquanto os animais do grupo controle precisaram de 1,6 doses de sêmen.

### 3.11.6. Período de serviço

Para os animais gestantes até seis meses depois do final do experimento (51,1%), o período de serviço foi de  $103,5 \pm 40,7$  dias, com média de  $90,8 \pm 35,6$  dias para os animais sem retenção de placenta e  $124,5 \pm 40,7$  dias para aqueles com retenção, sendo verificada diferença ( $P < 0,01$ ), entre os grupos. Nessa ocasião, os animais gestantes ou não, encontravam-se, em média, com 270 dias de lactação.

Verificou-se que a utilização de hormonioterapia após o período voluntário de espera, adotada como rotina na propriedade, antecipou o intervalo do parto ao primeiro serviço, contudo não foi capaz de diminuir o intervalo do parto à nova gestação. De acordo com De Vries (2007), o retorno econômico da atividade leiteira é maximizado quando o período de serviço é de 105 dias para primíparas e 63 dias para pluríparas. Quando vacas e novilhas não se

tornam gestantes ao primeiro serviço, ocorre um aumento substancial nos custos da atividade leiteira (Bellows et al., 2002).

Geralmente os intervalos do parto ao primeiro serviço e do parto à gestação são mais prolongados para vacas com retenção de placenta (Han e Kim, 2005). Vacas com retenção de placenta e metrite tiveram período de serviço 31,7 dias mais longo em relação às vacas com puerpério normal no estudo de DuBois e Williams (1980), sendo relatadas médias de 140,5 e 108,0 dias, respectivamente. Van Werven et al. (1992) verificaram período de serviço de 112 dias para primíparas e pluríparas com retenção de placenta. Kamimura et al. (1993) relataram intervalo do parto à gestação de  $74,0 \pm 13,9$  dias para vacas livres de transtornos puerperais, enquanto Drillich et al. (2006) verificaram períodos de serviço de 93 a 108 dias para animais que tiveram retenção de placenta, em diferentes rebanhos. No estudo de Kocamuftuoglu e Vural (2008), o período de serviço foi de  $144,15 \pm 36,93$  dias para os animais com transtornos puerperais, e de  $112,6 \pm 26,58$  dias para os animais com puerpério normal.

Ao contrário do presente estudo, outros autores não verificaram influência da retenção de placenta no período de serviço. Lara (1985) relatou período de serviço médio de  $98,1 \pm 43,4$  dias para vacas que tiveram ou não retenção de placenta. No estudo de Kaneko et al. (1997), também não foi verificada diferença entre os grupos com e sem retenção de placenta. Os períodos de serviço encontrados foram de  $131,2 \pm 66,0$  e  $124,7 \pm 56,4$  dias, respectivamente. Leite et al. (2001) verificaram períodos de serviço de  $149,5 \pm 119,5$  e  $150,9 \pm 104,5$  dias, para animais com e sem retenção de placenta, respectivamente. Já no estudo de Scheid Filho et al. (2001), os animais com retenção de placenta tiveram período de serviço em média 24,1 dias mais curto que os animais sem retenção de placenta. Esses autores verificaram que os períodos de

serviço variaram de 147,7 dias a 184,3 dias em quatro rebanhos leiteiros avaliados, não sendo detectada diferença entre animais com e sem retenção de placenta. O sucesso do tratamento adotado nos casos de infecções uterinas foi atribuído aos achados.

Os principais fatores que interferem no prolongamento do período de serviço são o atraso no RAOLC, manifestação do estro pelos animais em tempo hábil após o PVE, falhas na detecção do estro e baixa taxa de gestação (Peters, 1984). De acordo com esses autores, a baixa taxa de gestação por serviço é a principal causa da ineficiência reprodutiva de um rebanho, visto que os outros fatores podem ser controlados. Mesmo após serem tratados, animais acometidos por doenças uterinas apresentam cerca de 20% de redução na taxa de gestação, prolongamento de 30 dias no período de serviço e maior chance de descarte, em relação aos animais sem infecção uterina (Sheldon, 2007).

No experimento de Barlund et al. (2008), vacas que apresentaram endometrite além do período voluntário de espera, tiveram maior período de serviço (145 dias) que os animais sem infecção uterina (121 dias), apesar da média do intervalo do parto ao

primeiro serviço ter sido semelhante (77,7 dias vs 79,6 dias, respectivamente) e não ter sido verificada diferença significativa no número de doses de sêmen por gestação (2,9 vs 2,3 doses, respectivamente).

### 3.12. Parâmetros produtivos

#### 3.12.1. Produção de leite no puerpério de acordo com a ocorrência de retenção de placenta e/ou infecção uterina

A média da produção de leite durante o puerpério foi de  $27,9 \pm 7,3$  litros por dia, sendo observada diferença ( $P < 0,05$ ) entre os animais com ou sem retenção de placenta. Animais que não tiveram retenção de placenta produziram maior quantidade de leite que os animais acometidos por essa patologia (Tabela 53). Entre os animais que apresentaram ou não infecção uterina até os 42 dias após o parto, foi verificada diferença ( $P < 0,01$ ), sendo que os animais sem infecção uterina produziram mais leite (Tabela 54). Ao associar a presença ou ausência de retenção de placenta e infecção uterina, verificou-se que os animais com retenção de placenta e infecção uterina produziram menor quantidade de leite durante o puerpério ( $P < 0,05$ ) (Tabela 55).

Tabela 53. Produção de leite durante o puerpério de acordo com a ocorrência de retenção de placenta

	<i>n</i>	Produção de leite (litros/dia)
<b>Animais sem retenção de placenta</b>	60	$29,1 \pm 7,3A$
<b>Animais com retenção de placenta</b>	37	$25,8 \pm 7,1B$
<b>Total</b>	<b>97</b>	<b><math>27,9 \pm 7,3</math></b>

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste F ( $P < 0,05$ )

Tabela 54. Produção de leite de acordo com a ocorrência de infecção uterina até 42 dias após o parto

	<i>n</i>	Produção de leite (litros/dia)
<b>Animais sem infecção uterina</b>	35	$30,8 \pm 6,7A$
<b>Animais com infecção uterina</b>	62	$26,2 \pm 7,3B$
<b>Total</b>	<b>97</b>	<b><math>27,9 \pm 7,3</math></b>

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste F ( $P < 0,05$ )

Tabela 55. Produção de leite de acordo com a ocorrência de retenção de placenta e infecção uterina até 42 dias após o parto

	<i>n</i>	Produção de leite (litros/dia)
<b>Animais sem retenção de placenta e sem infecção</b>	29	30,9 ± 6,3A
<b>Animais sem retenção de placenta e com infecção</b>	31	27,7 ± 7,7AB
<b>Animais com retenção de placenta e sem infecção</b>	06	30,5 ± 8,7AB
<b>Animais com retenção de placenta e com infecção</b>	31	25,0 ± 6,5B
<b>Total</b>	<b>97</b>	<b>27,9 ± 7,3</b>

Médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Student Newman Keuls (P<0,05)

No presente estudo, a redução na produção de leite foi associada à ocorrência de infecções uterinas, como verificado por outros autores (Deluyker et al., 1990; Van Werven, 1992). Nem todas as vacas com retenção de placenta apresentam redução na produção de leite (Laven e Peters, 1996). A ocorrência desse fator isoladamente, sem a presença de infecção uterina, não implicou menor produção de leite no presente estudo. A ocorrência de retenção de placenta está relacionada com queda na produção de leite somente até cinco dias após o parto, enquanto vacas com retenção seguida de metrite apresentam redução na produção durante todo o puerpério (Deluyker et al., 1990). No estudo de Van Werven et al. (1992) verificou-se que animais com retenção de placenta seguida de infecção uterina apresentaram menor produção de leite até os 100 dias de lactação.

Além de influenciar na fertilidade, as infecções uterinas estão associadas à menor produção de leite (Sheldon et al., 2004), como foi confirmado no presente estudo. A retenção de placenta é o fator de risco mais

importante para a metrite. Quadros secundários de infecção, decorrentes da persistência de bactérias patogênicas no útero, podem causar febre e desconforto para os animais, que apresentam redução na ingestão de alimentos e na produção de leite (Königsson et al, 2001; Fernandes et al., 2001; Bell e Roberts, 2007).

### 3.12.2. Estimativa das perdas financeiras relacionadas com a redução na produção de leite durante o puerpério

Houve redução na produtividade de 5,9 litros ao dia durante o puerpério, ao comparar a média da produção de leite diária de animais que tiveram retenção de placenta e infecção uterina, com animais sem retenção de placenta e sem infecção uterina. Portanto, houve uma redução de 247,8 litros de leite (5,9 litros x 42 dias) por animal com retenção de placenta e infecção uterina. Considerando que o preço médio do litro de leite recebido pelo produtor nessa ocasião foi de R\$ 0,84, verifica-se perda total de R\$ 208,15 (247,8 litros x R\$ 0,84) por animal acometido (Tabela 56).

Tabela 56. Redução na produção de leite de acordo com a ocorrência de retenção de placenta e infecção uterina até 42 dias após o parto

	Produção leite (litros/dia)	Produção leite (42 dias)	Perda financeira (R\$/animal)
<b>Animais s/ retenção de placenta e infecção</b>	30,9	1.297,8	1.090,15
<b>Animais c/ retenção de placenta e infecção</b>	25,0	1.050,0	882,00
<b>Total</b>	<b>5,9</b>	<b>247,8</b>	<b>208,15</b>

Além da menor produtividade, as perdas na produção de leite decorrentes de animais que tiveram retenção de placenta, também estão relacionadas com o descarte do leite contaminado com resíduos de antibióticos, principalmente se ocorrer o estabelecimento de infecções uterinas secundárias (Roberts, 1986; Lewis, 1997; Bellows et al., 2002; Sheldon e Dobson, 2004; Sheldon et al., 2006). Considerando que no presente estudo, os animais acometidos por essas patologias encontraram-se em tratamento em média dez dias após o parto, e que o descarte do leite contaminado é recomendado por quatro dias após o tratamento, verifica-se que o leite desses animais foi descartado durante 14 dias. Portanto, foram descartados 350 litros de leite (25 litros x 14 dias) por animal. Considerando R\$ 0,84 como média para o preço do litro de leite, verifica-se perda de R\$ 294,00 (350 litros x R\$ 0,84) por animal que apresentou retenção de placenta e infecção uterina, quantia bastante considerável. O prejuízo até 42 dias após o parto foi de R\$ 502,15 por animal acometido por essas afecções (R\$ 208,15 + R\$ 294,00), o que equivale a 597,8 litros de leite. Como 31 animais encontravam-se nessa condição, as perdas totais foram de R\$ 15.566,65.

Como a redução na produção de leite corresponde a apenas 33,3% das perdas com transtornos reprodutivos e suas consequências (Bellows et al., 2002), pode-se inferir que as dimensões do prejuízo para o produtor são maiores que o valor estimado. Vale ressaltar, por exemplo, que os gastos com medicamentos (basicamente antibióticos) para tratamento de todos os animais do estudo que tiveram retenção de placenta e/ou infecções uterinas, até 42 dias após o parto, foram estimados em aproximadamente R\$ 4.000,00, valor equivalente a 4.762 litros de leite.

#### 4. CONCLUSÕES

A condição do ambiente uterino durante o puerpério é um dos principais fatores influenciam na fertilidade das vacas. O acompanhamento da involução uterina e do retorno da atividade ovariana foi fundamental para diferenciar o puerpério normal do patológico. A detecção precoce de anormalidades permitiu a tomada de decisões mais rápidas quanto ao tratamento a ser adotado, contudo, observou-se menor eficiência reprodutiva dos animais com puerpério patológico, principalmente aqueles que tiveram retenção de placenta seguida de infecção uterina. Nesses casos, verificaram-se atraso na involução uterina e no retorno da atividade ovariana, maior intervalo do parto à primeira inseminação artificial e aumento do número de serviços por concepção, o que implicou em longo período de serviço. Foram observadas baixas taxas de gestação, ao primeiro serviço e seis meses depois do final do estudo, sendo esses achados atribuídos à alta incidência de infecções uterinas.

Além da redução da fertilidade, a menor produção de leite dos animais acometidos por infecções uterinas e o descarte do leite contaminado com resíduos de antibiótico, contribuíram para aumentar os prejuízos financeiros desse sistema de produção. A estimativa das perdas causadas pela redução na produção, até 42 dias pós-parto, foi equivalente a 597,8 litros de leite por animal. Sendo assim, é necessário revisar os protocolos de tratamento para retenção de placenta e doenças uterinas utilizados na propriedade, além de controlar os fatores de risco para essas afecções. Recomenda-se adotar estratégias para diminuir a necessidade de auxílio ao parto, além de controlar a temperatura das instalações para favorecer o conforto térmico dos animais nas épocas mais quentes do ano.

## CAPÍTULO II

### EXPRESSÃO GÊNICA DE RECEPTORES TIPO *TOLL* E $\beta$ -DEFENSINA 5 NO ENDOMÉTRIO APÓS O PARTO

#### 1. INTRODUÇÃO

Além dos efeitos negativos que as infecções uterinas exercem sobre a fertilidade dos animais, os altos custos com tratamentos contribuem para que essas doenças sejam um desafio para os sistemas de produção (Sheldon et al., 2008). A importância econômica da bovinocultura para a agropecuária e a alta incidência de doenças uterinas no pós-parto estimula a realização de estudos que visam compreender os mecanismos moleculares envolvidos na imunidade do aparelho reprodutivo desses animais (Werling e Jungi, 2003; Herath et al., 2006, 2009).

A detecção precoce de patógenos e a ativação da resposta imune adquirida são funções da imunidade inata, o que a torna essencial para a proteção do hospedeiro (Werling e Coffey, 2007; Horne et al., 2008). Como em outros locais do organismo, suscetíveis à colonização por microrganismos, o sistema imunológico inato é responsável pela primeira linha de defesa do endométrio contra infecções (King et al., 2003). A resposta imunológica inata é desencadeada pela interação de receptores específicos das células do hospedeiro e substâncias imunoestimuladoras, que são componentes conservados de determinados microrganismos, muitas vezes essenciais para sua patogenicidade, denominados padrões moleculares associados a patógenos - PAMPs (Medzhitov e Janeway, 1997; Horne et al., 2008).

Os PAMPs são reconhecidos por receptores celulares, como os membros da família dos receptores tipo *toll* - TLRs (Medzhitov e Janeway, 1997; Takeda e Akira, 2004). Essa interação permite o desencadeamento de respostas inflamatórias que levam à produção de citocinas, quimiocinas e peptídeos antimicrobianos (Akira, 2003; Schaefer et al., 2004; Werling e Coffey, 2007). Em bovinos, foram demonstrados 10 tipos de TLRs, por meio de um mapeamento genômico (McGuire et al., 2005). A expressão desses receptores foi posteriormente confirmada em um estudo feito a partir da biópsia da pele desses animais (Menzies e Ingham, 2006).

Cada TLR reconhece um restrito número de PAMPs (Takeda e Akira, 2004). Entre outros, lipopeptídeos são imunoestimuladores dos TLRs 1, 2 e 6, que atuam isolados ou como heterodímeros. Peptídeoglicanos, constituintes da parede celular de bactérias Gram-positivo, também são ligantes do TLR2. O TLR4 reconhece o lipossacarídeo (LPS), presente em bactérias Gram-negativo, como a *Escherichia coli*. A flagelina, constituinte do flagelo de bactérias, é reconhecida pelo TLR5. Oligonucleotídeos bacterianos não metilados estimulam o TLR9, o qual reconhece também alguns ligantes virais (Medzhitov e Janeway, 1997; Akira, 2003; Kumar et al., 2009).

Peptídeos antimicrobianos naturais, juntamente com os TLRs, são importantes mediadores da imunidade inata (King et al., 2003; Werling e Jungi, 2003). Entre os principais agentes antimicrobianos expressos na superfície de células epiteliais encontram-se as  $\beta$ -defensinas, que possuem atividade anti-viral, antibacteriana e anti-fúngica (Lehrer et al., 1993; King et al., 2003). Como a maioria dos peptídeos antimicrobianos, as  $\beta$ -defensinas são

catiônicas e anfipáticas, e seu mecanismo de ação consiste em alterar a estrutura das membranas microbianas (Ganz, 2003).

O objetivo deste capítulo foi avaliar os níveis de expressão gênica de alguns TLRs e da  $\beta$ -defensina 5 no endométrio de vacas da raça holandesa logo após o parto, visando correlacioná-los com o estabelecimento de infecções uterinas durante o puerpério. Foram considerados os TLRs 1, 2, 4, 5 e 6, que estão diretamente relacionados com o reconhecimento de PAMPs bacterianos, principais contaminantes do útero no pós-parto; além da  $\beta$ -defensina 5, escolhida como representante da ampla família de  $\beta$ -defensinas de bovinos.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Biópsia endometrial**

No intervalo de seis a 12 horas após a expulsão do feto, foram coletadas duas amostras de tecido endometrial de todos os animais (n=103), com o auxílio de uma pinça de biópsia (Hauptner®, Solingen, NRW, Alemanha), protegida por camisa sanitária. A parede do útero foi levemente tracionada visando a coleta de duas amostras do endométrio, biopsadas exclusivamente de áreas intercarunculares. Ao ser retirada do útero, a pinça foi novamente envolvida pela camisa sanitária, evitando-se a contaminação do material coletado pelo conteúdo cérvico-vaginal.

As amostras obtidas foram imediatamente acondicionadas em tubos criogênicos livres de RNAses e armazenadas em botijão contendo nitrogênio líquido. Em seguida, foram encaminhadas ao Laboratório de Patologia Molecular da Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas

Gerais, onde foram mantidas a  $-80^{\circ}\text{C}$  até o processamento do material.

Todos os procedimentos adotados foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Minas Gerais, MG, Brasil (Protocolo nº 93/2009).

### **2.2. Separação dos grupos experimentais**

Para análise da expressão gênica dos TLRs considerados e da  $\beta$ -defensina 5 no endométrio, foram selecionados 20 animais, de segunda ou terceira ordem de parto e ECC ao parto maior ou igual a 3,0. Os animais foram divididos em dois grupos de acordo com os seguintes critérios:

- Grupo 01 (Controle): dez animais que não apresentaram retenção de placenta, nem sinais clínicos de infecção uterina até 42 dias pós-parto;

- Grupo 02 (Problema): dez animais que tiveram ou não parto auxiliado e apresentaram retenção de placenta, seguida de metrite puerperal e endometrite clínica.

### **2.3. Extração do RNA e obtenção do cDNA**

O RNA total das amostras de tecido endometrial foi isolado utilizando-se a metodologia recomendada no protocolo do produto comercial TRIZOL® LS (Invitrogen Corporation, Carlsbad, CA, USA). As amostras previamente congeladas foram homogeneizadas em 500  $\mu\text{L}$  de Trizol com o auxílio de um homogeneizador manual. Em seguida foi adicionado mais 500  $\mu\text{L}$  de Trizol e a mistura permaneceu na temperatura ambiente por cinco minutos. Após a adição de 200  $\mu\text{L}$  de clorofórmio, a solução foi agitada vigorosamente durante 15 segundos e, posteriormente, incubada em temperatura ambiente por dois minutos. Em seguida, a



solução foi centrifugada a 12000 g por 15 minutos, a 5°C. A fase aquosa foi retirada e transferida para um tubo limpo, no qual foi adicionado 500 µL de álcool isopropílico. Após incubação à temperatura ambiente por dez minutos, a solução foi centrifugada a 12000 g durante dez minutos, a 5°C. O sobrenadante foi descartado e o sedimento foi ressuspenso em 1 mL de álcool etílico 75%. A solução foi centrifugada novamente a 7500 g por cinco minutos a 5°C, o sobrenadante foi descartado e o sedimento foi mantido em temperatura ambiente para secar. Logo depois, foi ressuspenso em 30 µL de água livre de RNase e incubado por 10 minutos em banho-maria a 56°C. O RNA isolado foi armazenado a -80°C.

A pureza e a concentração do RNA obtido foram verificadas por espectrofotometria. Para obtenção do cDNA (DNA complementar), o RNA total foi diluído em água livre de RNase para a concentração de 500 ng/µL. Em gelo, foi preparado uma mistura, que continha: 15 µL de 2X RT (*Reverse Transcriptase Reaction Mix*), 3 µL da enzima RT, 3 µL do RNA diluído e 9 µL de água livre de RNase. A mistura foi acondicionada em um termociclador (Cepheid, Sunnyvale, CA, USA), de acordo com o protocolo do Kit *SuperScript III Platinum Two-Step qRT-PCR Kit with SYBR Green* (Invitrogen), onde as amostras permaneceram incubadas a 25°C por 10 minutos, 42°C por 50 minutos, 85°C por cinco minutos e 4°C durante cinco minutos. Em seguida foi adicionado 1 µL de RNase H em cada amostra, que foi incubada em banho-maria a 37°C durante 20 minutos. O cDNA obtido foi armazenado a -20°C.

#### **2.4. Delineamento dos primers e realização da técnica de qRT-PCR (*Quantitative Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction*)**

Os *primers* utilizados (Tabela 57) foram delineados com o auxílio do programa *Primer 3* (Rozen e Skaletsky, 2000), a partir de sequências de RNA mensageiros obtidas no NCBI/GenBank, *National Center for Biotechnology Information* - (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/index.html>). Os *primers* foram sintetizados comercialmente ( $\beta$ -actina e TLRs 1/6, 4 e 5): Invitrogen Brasil Ltda; TLR 2 e  $\beta$ -defensina 5: Sigma-Aldrich Brasil Ltda). O *primer* obtido para os TLRs 1 e 6 era proveniente de uma região comum entre os RNA mensageiros desses dois receptores, sendo, portanto, capaz de amplificar ambos. Com exceção do TLR5, os *primers* apresentavam pelo menos um intron entre as sequências *forward* e *reverse* para evitar a amplificação de DNA genômico. O *primer* do TLR5 foi submetido a amplificação do RNA por meio de qRT-PCR e os resultados indicaram ausência de contaminação com DNA genômico.

Para cada TLR e para a  $\beta$ -defensina 5, foi preparada uma solução contendo 12,5 µL de *Platinum SYBR Green qPCR SuperMix-UDG* (Invitrogen), 1 µL do seu respectivo *primer forward* (10µM), 1 µL do *primer reverse* (10 µM), 8 µL de água livre de RNase e 2,5 µL de cDNA. As amostras foram centrifugadas e em seguida, acondicionadas no termociclador (Cepheid), para amplificação do cDNA, sendo submetidas a 50°C por dois minutos (incubação) e 95°C por 10 minutos (ativação da reação), seguidas de 40 ciclos de 95°C por 15 segundos e 60°C por um minuto (desnaturação, anelamento e extensão das fitas de DNA, respectivamente). Os resultados foram obtidos em valores de Ct (*Cycle threshold*), que correspondem ao limiar de detecção do nível de expressão gênica na reação de qRT-PCR.

Tabela 57. Sequências dos *primers* de receptores tipo *toll* (TLR),  $\beta$ -defensina 5 (BDEF 5) e beta-actina

Gene	Primer	Sequência	Produto (pb)	Referência (GenBank)
TLRs 1 e 6	Forward	GGCAAGAGCATTGTGGAAAA	102	NM_001001159.1
	Reverse	ATAATGGCACCACCTCGCTCT		
TLR2	Forward	AAATTCTGCTGCGTTGGTTT	96	NM_174197.2
	Reverse	GGCATTGTCCAGTGATTGA		
TLR4	Forward	GACCCTTGCGTACAGGTTGT	103	NM_174198.6
	Reverse	GGTCCAGCATCTTGGTTGAT		
TLR5	Forward	TCAATGGGAGCCAGATTTTC	104	NM_001040501.1
	Reverse	CCCAGCAAAGGTGTGGTAGT		
BDEF 5	Forward	TCCTCGTGCTCCTCTTCTTA	86	NM_001130761.1
	Reverse	CATATTCCAACGGCAGCTTT		
Beta actina	Forward	TCAAGGAGAAGCTCTGCTACGTG	121	NM_173979.3
	Reverse	TTGCCGATGGTGATGACCT		

## 2.5. Análises estatísticas

Os resultados obtidos foram analisados com base nos valores de Ct, conforme o método  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  (Livak e Schmittgen, 2001). O teste de Mann-Whitney foi utilizado para comparação das médias de “delta Ct”. A expressão gênica de cada imunomediador foi relacionada com a expressão de  $\beta$ -actina. Cada 3,3 Cts (n) de diferença entre a expressão do gene alvo e da  $\beta$ -actina, corresponderam a  $10^n$  vezes menor número de cópias do gene. O teste F foi utilizado para comparação das médias dos parâmetros clínicos e reprodutivos, exceto para o escore de condição corporal, para o qual foi utilizado o teste de Mann-Whitney. Correlações não-paramétricas de Spearman foram utilizadas para verificar a associação entre expressão de TLRs e  $\beta$ -defensina 5, parâmetros clínicos e reprodutivos. Foram utilizados os programas *GraphPad InStat*, versão 3.05 (Graphpad Software, San Diego, EUA) e SAEG, versão 9.1 (Fundação Arthur Bernardes, Viçosa, Brasil), para execução das análises estatísticas, com significância de 5%.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1. Parâmetros clínicos e reprodutivos

Na Tabela 58, é possível verificar semelhança ( $P > 0,05$ ) entre os animais dos grupos 01 (controle) e 02 (acometidos por infecções uterinas) quanto aos parâmetros clínicos considerados, tais como, escore de condição corporal ao parto, peso vivo ao parto e temperatura retal no momento da biópsia (entre seis e doze horas pós-parto). Em relação aos parâmetros reprodutivos, verificou-se que a involução uterina dos animais do grupo 01 ocorreu, em média, sete dias antes dos animais do grupo 2, com diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre os grupos. Os animais do grupo 01 tiveram retorno da atividade ovariana luteal cíclica mais rápido que os animais do grupo 02 ( $P < 0,05$ ), por conseguinte, eles foram inseminados mais rapidamente ( $P < 0,05$ ). Portanto, os animais acometidos por infecções uterinas atrasaram o retorno à reprodução, quando comparados aos animais com puerpério normal.

Tabela 58. Dados (média  $\pm$  desvio-padrão) de parâmetros clínicos e reprodutivos, referentes aos animais selecionados para análise da expressão gênica de TLRs e  $\beta$ -defensina 5

<b>Parâmetros avaliados</b>	<b>GRUPO 1 n = 10 (Controle)</b>	<b>GRUPO 2 n = 10 (Problema)</b>
<b>Escore de condição corporal ao parto</b>	3,7 $\pm$ 0,5A	3,6 $\pm$ 0,6A
<b>Peso vivo ao parto (kg)</b>	644,2 $\pm$ 64,2A	625,0 $\pm$ 68,4A
<b>Temperatura retal no momento da biópsia (°C)</b>	39,3 $\pm$ 0,4A	39,0 $\pm$ 0,7A
<b>Involução uterina (dias)</b>	26,5 $\pm$ 5,1A	33,9 $\pm$ 8,0B
<b>Intervalo do parto à detecção do 1º corpo lúteo (dias)</b>	29,3 $\pm$ 12,4A	54,6 $\pm$ 13,1B
<b>Intervalo do parto ao primeiro serviço (dias)</b>	53,8 $\pm$ 9,4A	74,5 $\pm$ 28,7B

Nota: Na mesma linha, valores seguidos de letras distintas são estatisticamente diferentes ( $P < 0,05$ )

Após serem igualmente expostos à contaminação bacteriana durante o parto, alguns animais são capazes de combatê-la rapidamente, enquanto outros desenvolvem infecção persistente, que pode evoluir para doenças uterinas e subfertilidade (Herath et al., 2009a). Apesar das terapias para doenças uterinas encontrarem-se bem estabelecidas e razoavelmente eficazes, na maioria das vezes observa-se redução da eficiência reprodutiva dos animais acometidos mesmo após a resolução dos sinais clínicos (Sheldon et al., 2008; Chapwanya et al., 2009).

### 3.2. Expressão gênica endometrial dos TLRs 1/6, 2, 4 e 5 e da $\beta$ -defensina 5

A compreensão dos mecanismos moleculares que regulam a resposta imunológica uterina é essencial para esclarecer a associação entre doenças uterinas e fertilidade no pós-parto. A habilidade do útero em solucionar os quadros de infecção depende da sua capacidade de atrair células de defesa, detectar e responder a presença de patógenos, tornando essencial a expressão de TLRs e peptídeos antimicrobianos nesse local (Sheldon et al., 2008; Chapwanya et al., 2009). Variações genéticas podem

explicar diferenças nas respostas individuais do hospedeiro na presença de patógenos. A resposta imune inata inadequada resulta em ambiente permissivo para a colonização de patógenos, enquanto a resposta exacerbada causa inflamação e danos ao tecido (Horne, 2008).

No presente estudo, foi verificada a expressão gênica endometrial dos TLRs 1/6, 2, 4, 5 e 6, e da  $\beta$ -defensina 5, no intervalo de seis a 12 horas depois do parto, em animais com ou sem infecção uterina durante o puerpério. Os resultados encontram-se ilustrados na Figura 24. Observou-se que não houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) dos níveis de expressão desses imunomediadores entre os animais dos grupos 1 e 2.

Apesar desses achados indicarem que as expressões endometriais de TLRs e  $\beta$ -defensina 5, imediatamente após o parto, não são preditivas para a suscetibilidade ou não a infecções uterinas, os resultados não excluem a possibilidade de ocorrer alta variabilidade na expressão de genes associados à imunidade inata em um momento mais tardio após o parto, o que pode favorecer o estabelecimento de infecções uterinas.

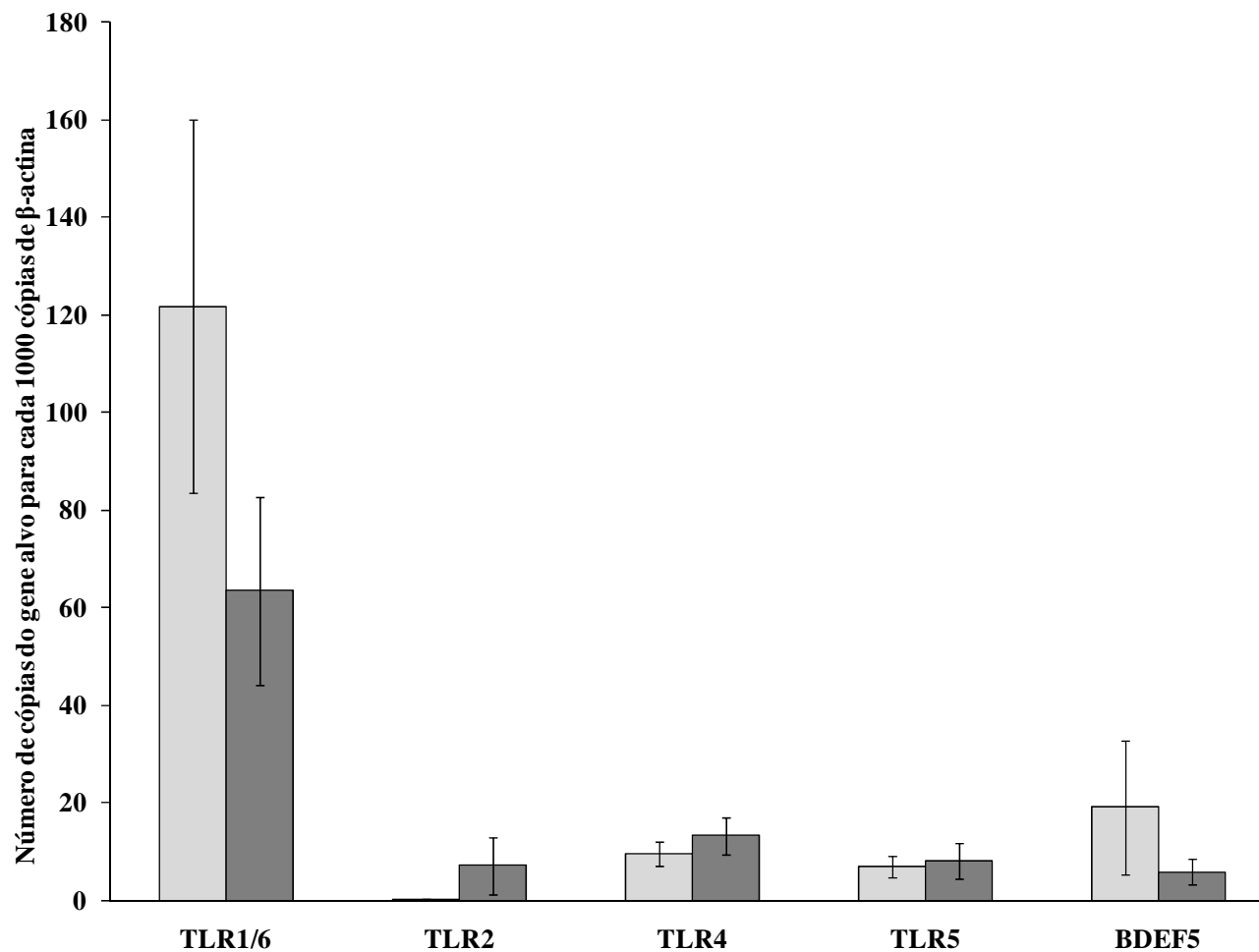


Figura 24. Expressão gênica dos receptores tipo *toll* (TLR) 1/6, 2, 4 e 5, e da  $\beta$ -defensina 5, no endométrio de vacas da raça holandesa, entre seis e 12 horas pós-parto (média  $\pm$  erro padrão). As barras claras e escuras correspondem aos animais sem e com infecção uterina, respectivamente

Verifica-se que os TLRs e a  $\beta$ -defensina 5 são expressos de forma constitutiva no endométrio, após o parto (Figura 24). Esses achados são semelhantes aos de outros estudos, que demonstraram a expressão de TLRs e  $\beta$ -defensinas pelas células endometriais e adjacentes, sugerindo que elas apresentam amplo potencial de defesa contra a invasão de patógenos. Entre outros, citam-se estudos realizados a partir da análise de células endometriais de humanos (Schaefer et al., 2004; Young et al., 2004; Pioli et al., 2004; Fazeli et al., 2005), camundongos (Soboll et al., 2006a,b), e bovinos (Herath et al., 2006; Petzl, 2007; Davies et al., 2008; Chapwanya et al., 2009; Herath et al., 2009a,b).

Diversos tipos de células estão presentes na superfície do endométrio, por exemplo, células de defesa, endoteliais e sanguíneas. Juntamente com o epitélio e o estroma endometriais, essas células constituem a primeira barreira do animal contra a atuação de microrganismos patogênicos (Davies et al., 2008; Sheldon et al., 2008; Herath et al., 2009a). A expressão gênica de TLRs no endométrio de bovinos foi verificada pela primeira vez por Herath et al. (2006), ao observarem que células do epitélio e do estroma deste tecido são capazes de expressar TLR4 após serem incubadas por 24 horas na presença de diferentes concentrações de LPS, uma das endotoxinas responsáveis pela patogenicidade da *E. coli*, bactéria patogênica mais isolada do útero de bovinos no pós-parto (Dohmen et al., 2000; Willians et al., 2005). Em resposta ao estímulo por LPS, as células endometriais produzem maior quantidade de prostaglandina  $E_2$  em relação à  $F_{2\alpha}$ , ao contrário da resposta natural dessas células à ocitocina. Como a  $PGE_2$  é luteotrófica e a  $PGF_{2\alpha}$  é luteolítica, as alterações interferem na luteólise e alteram a regulação endócrina do útero (Herath et al., 2006).

A expressão endometrial de diversos TLRs e peptídeos antimicrobianos, incluindo a  $\beta$ -

defensina 5, foi verificada em vacas cíclicas (Davies et al., 2008). Neste estudo, células cultivadas a partir do epitélio endometrial expressaram os TLRs 1 a 9, exceto o TLR8, além de diversas defensinas, inclusive a  $\beta$ -defensina 5, enquanto as células do estroma expressaram os TLRs 1 a 4, 6, 7, 9 e 10. As células epiteliais do endométrio produziram maior quantidade de  $PGE_2$  quando cultivadas por 24 horas com PAMPs de bactérias patogênicas como a lipoproteína Pam3CSK4, o ácido lipoteicoico, proveniente de *S. aureus*, e LPS, ligantes dos TLRs 1, 2 e 4, respectivamente, demonstrando sua capacidade de detectar e responder à presença de patógenos. Observou-se também maior expressão de  $\beta$ -defensina 5 e outros peptídeos microbianos pelas células epiteliais cultivadas com LPS.

No presente estudo, acredita-se que a semelhança da expressão gênica endometrial dos TLRs e  $\beta$ -defensina 5, após o parto, entre os animais que apresentaram ou não infecção uterina, foi proporcionada pela realização de uma biópsia pontual, no intervalo de seis a 12 horas pós-parto. Como todos os animais pariram no mesmo ambiente, é provável que tenham sido submetidos a níveis de contaminação semelhantes. Apesar de alguns animais ainda apresentarem a placenta retida no momento da coleta, esse fator não foi determinante para que a ativação da resposta imune inata endometrial fosse diferente entre eles. A permanência da placenta no útero pode ter proporcionado maior multiplicação de patógenos, alteração dos mecanismos de defesa e estabelecimento de infecções uterinas (Dohmen et al., 2000).

Variações nos níveis de expressão de alguns TLRs (2, 3, 4, 6 e 9) e defensinas, inclusive  $\beta$ -defensina 5, já foram detectadas no endométrio de bovinos antes e após o parto (Petzl, 2007). Amostras de áreas carunculares e intercarunculares foram coletadas, sendo detectadas diferenças na

modulação da resposta imune nessas duas áreas, entre os intervalos de coleta após o parto e entre amostras comprovadamente contaminadas ou não. Entre quatro e seis horas após o parto, intervalo que mais se assemelha com o presente estudo, os níveis de expressão gênica dos imunomediadores foram semelhantes entre as amostras de tecido contaminadas ou não, coletadas de áreas intercarunculares. O aumento do nível de expressão gênica de TLRs (exceto TLR9) e defensinas de amostras contaminadas foi observado a partir da realização de biópsias das áreas intercarunculares no intervalo de 24 a 30 horas após o parto. Esses resultados indicam que podem ocorrer diferenças nos níveis de expressão dos imunomediadores dependendo do tempo de coleta após o parto, sendo necessária a ocorrência de interação prévia com seus respectivos ligantes. Além disso, a expressão desses imunomediadores depende da patogenicidade e da concentração de PAMPs presentes no sítio da infecção. Alguns estudos *in vitro* e *in vivo*, demonstraram que quanto maior a quantidade de imunostimuladores, maior o nível de expressão de TLRs e/ou defensinas (Goldammer et al., 2004; Schaefer et al., 2004; Ibeagha-Awemu et al., 2007).

Herath et al. (2009a), demonstraram a expressão gênica dos TLRs de 1 a 7, 9 e 10 no endométrio de bovinos, a partir de biópsias realizadas na primeira, terceira, quinta e sétima semana após o parto. Houve maior expressão do TLR4 na primeira semana pós-parto em animais considerados subférteis (com metrite e endometrite, não gestantes após três IAs consecutivas), quando comparados a animais férteis (sem sinais de doenças uterinas, gestantes após a primeira IA). Não foi possível relacionar a expressão dos outros TLRs e imunomediadores com a fertilidade.

Outro estudo (Chapwanya et al., 2009) comparou a expressão de genes pró-

inflamatórios em vacas que tiveram diferentes graus de inflamação do endométrio até duas semanas após o parto, com vacas cíclicas sem sinais clínicos de doença uterina, não gestantes nove semanas após o parto. Alguns TLRs (4, 5, 6 e 10) e peptídeos antimicrobianos, inclusive a  $\beta$ -defensina 5 encontravam-se aumentados no primeiro grupo. Dentre os TLRs estudados, somente o TLR2 não apresentou diferença significativa. O aumento na expressão gênica dos TLRs 4, 6 e 10 e  $\beta$ -defensina 5 refletiram a severidade das inflamações. Segundo esses autores, a relação direta entre o aumento da expressão endometrial de determinados TLRs e peptídeos antimicrobianos, com a gravidade da inflamação, indica que estes podem ser considerados fortes candidatos à resistência contra doenças uterinas.

No presente estudo, os dados obtidos não permitiram esclarecer os mecanismos relacionados com a imunidade inata no pós-parto imediato, que podem diferenciar animais suscetíveis ou não a infecções uterinas posteriores. É provável que outros componentes genéticos, metabólicos e mediadores da resposta imunes não investigados, inclusive a quantidade e patogenicidade das bactérias presentes no útero após o parto, estão envolvidos nessa diferença. Contudo, acredita-se que a resposta inflamatória exacerbada durante a primeira semana pós-parto está associada com a persistência de endometrite e com a redução da fertilidade (Herath et al., 2009a).

### **3.3. Correlações entre expressão gênica de TLRs e $\beta$ -defensina 5, parâmetros clínicos e reprodutivos**

Verificou-se correlação positiva, significativa e médio-alta entre o TLR 4 e a involução uterina nos grupos controle e com infecção uterina. Essa correlação sugere que o aumento da expressão do TLR4 pode ser importante nos estágios

iniciais da involução uterina. O mesmo ocorreu entre a temperatura retal no momento da biópsia e o nível de expressão do TLR5, no grupo problema (Tabela 59). Correlações positivas e significativas ( $r > 0,60$  e  $P < 0,05$ ) foram encontradas entre

TLRs e  $\beta$ -defensina 5. A correlação mais relevante ocorreu entre os TLRs 4 e 5 ( $r = 0,70$ ), somente no grupo problema. Não foram encontradas explicações na literatura para a ocorrência dessas correlações (Tabela 60).

Tabela 59. Correlações dos níveis de expressão gênica (valores normalizados de Ct) de receptores tipo *toll* (TLR) e  $\beta$ -defensina 5 (BDEF5), com parâmetros clínicos e reprodutivos

<b>GRUPO 1 (CONTROLE)</b>					
	<b>TLR1/6</b>	<b>TLR2</b>	<b>TLR4</b>	<b>TLR5</b>	<b>BDEF 5</b>
<b>Escore de condição corporal ao parto</b>	-0,46	-0,33	-0,57	-0,80	-0,21
<b>Peso vivo ao parto ( kg)</b>	0,13	0,45	0,13	-0,23	0,44
<b>Temperatura retal no momento da biópsia (°C)</b>	0,20	-0,14	-0,43	-0,23	0,01
<b>Involução uterina (dias)</b>	-0,09	-0,04	0,68*	0,43	0,42
<b>Intervalo do parto ao primeiro corpo lúteo (dias)</b>	0,40	0,55	0,20	0,35	0,03
<b>Intervalo do parto ao primeiro serviço (dias)</b>	0,09	-0,37	-0,24	0,23	-0,18
<b>GRUPO 2 (ANIMAIS COM INFECÇÃO UTERINA)</b>					
	<b>TLR1/6</b>	<b>TLR2</b>	<b>TLR4</b>	<b>TLR5</b>	<b>BDEF5</b>
<b>Escore de condição corporal ao parto</b>	-0,08	0,12	0,21	0,30	0,38
<b>Peso vivo ao parto ( kg)</b>	0,05	0,01	0,15	-0,03	0,33
<b>Temperatura retal no momento da biópsia (°C)</b>	0,47	0,30	0,41	0,66*	0,08
<b>Involução uterina (dias)</b>	-0,17	0,58	0,63*	0,32	-0,33
<b>Intervalo do parto ao primeiro corpo lúteo (dias)</b>	0,12	-0,24	-0,19	0,05	-0,10
<b>Intervalo do parto ao primeiro serviço (dias)</b>	-0,16	-0,16	0,01	0,11	-0,56

(\*) Correlação de Spearman: valores significativos, nível médio a alto ( $P < 0,05$ ;  $0,60 < r < 0,70$ )

Tabela 60. Correlações entre os níveis de expressão gênica (valores normalizados de Ct) de receptores tipo *toll* (TLR) e  $\beta$ -defensina 5 (BDEF5)

<b>GRUPO 1 (CONTROLE)</b>				
	<b>TLR2</b>	<b>TLR4</b>	<b>TLR5</b>	<b>BDEF5</b>
<b>TLR1/6</b>	0,56	0,41	0,64*	0,44
<b>TLR2</b>		0,60*	0,52	0,28
<b>TLR4</b>			0,62*	0,52
<b>TLR5</b>				0,48
<b>GRUPO 2 (ANIMAIS COM INFECÇÃO UTERINA)</b>				
	<b>TLR2</b>	<b>TLR4</b>	<b>TLR5</b>	<b>BDEF5</b>
<b>TLR1/6</b>	0,15	0,61*	0,50	-0,19
<b>TLR2</b>		0,54	0,28	0,16
<b>TLR4</b>			0,70*	-0,42
<b>TLR5</b>				-0,21

(\*) Correlação de Spearman significativa ( $P < 0,05$ ), níveis médio a alto ( $0,60 < r < 0,70$ ) ou alto ( $r \geq 0,70$ )

#### 4. CONCLUSÕES

O presente estudo revelou que os níveis de expressão gênica endometriais dos receptores tipo *toll* 1/6, 2, 4 e 5, e da  $\beta$ -defensina 5, no intervalo de seis a 12 horas após o parto, foram semelhantes entre animais que apresentaram puerpério normal e aqueles que desenvolveram quadros de infecção uterina prolongados. A expressão gênica do TLR4 foi correlacionada positivamente com o período de involução uterina em ambos os grupos, enquanto a expressão do TLR 5 foi correlacionada com a temperatura retal no momento da biópsia, somente no grupo de animais que apresentou infecção uterina. Foram verificadas algumas correlações relevantes entre os níveis de expressão gênica de TLRs e  $\beta$ -defensina 5.

Os resultados obtidos não permitiram esclarecer a relação da expressão gênica endometrial dos imunomediadores avaliados com o estabelecimento de infecções uterinas. O elevado valor econômico das vacas leiteiras de alta produção, os gastos com tratamentos de doenças uterinas, a redução da eficiência reprodutiva e as altas taxas de descarte involuntário de animais subfêrteis, indicam que é necessário realizar mais estudos para explicar possíveis diferenças nos mecanismos de regulação e expressão endometrial de imunomediadores no pós-parto, entre animais resistentes ou suscetíveis a infecções uterinas.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADEREM, A.; ULEVITCH, R. Toll-like receptors in the induction of the innate immune response. *Nature*, v. 406, p. 782-787, 2000.

AKIRA, S. Mammalian Toll-like receptors. *Curr. Opin. Immunol.*, v. 15, p. 5-11, 2003.

AKIRA, S. Editorial - Toll receptor families: structure and function. *Semin. Immunol.*, v. 16, p. 1-2, 2004.

ALBUQUERQUE, F. T. *Efeito do cloprostenol (ICI-80.996) sobre o período de involução uterina em vacas mestiças holandês-zebu*. 1985. 32 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

ARAÚJO, P. G.; PIZELLI, G. N.; CARVALHO, M. R. et al. Involução uterina e atividade ovariana na vaca leiteira após o parto. *Pesq. Agropec. Bras.*, v. 9, p. 1-6, 1974.

ARMSTRONG, D. V. Heat stress interaction with shade and cooling. *J. Dairy Sci.*, v. 77, p. 2044-2050, 1994.

AZAWI, O. I. Postpartum uterine infection in cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, v. 105, p. 187-208, 2008.

BARLUND, C. S.; CARRUTHERS, T. D.; WALDNER, C. L. et al. A comparison of diagnostic techniques for postpartum endometritis in dairy cattle. *Theriogenology*, v. 69, p. 714-723, 2008.

BEEREPOOT, G. M. Y.; DYKHUIZEN, A. A.; NIELEN, Y. et al. The economics of naturally occurring twinning in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, v. 75, p. 1044-1051, 1992.

BELL, M. J.; ROBERTS, D. J. The impact of uterine infection on a dairy cow's performance. *Theriogenology*, v. 68, p. 1074-1079, 2007.

BELLOWS, D. S.; OTT, S. L.; BELLOWS, R. A. Review: Cost of reproductive diseases and conditions in cattle. *Profess. Anim. Sci.*, v. 18, p. 26-32, 2002.

BENZAQUEN, M. E.; RISCO, C. A.; ARCHBALD, L. F. et al. Rectal



- temperature, calving-related factors, and the incidence of puerperal metritis in postpartum dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v. 90, p. 2804-2814, 2007.
- BEUTLER, B. Innate immunity: an overview. *Mol. Immunol.*, v. 40, p. 845-859, 2004.
- BONDURANT, R. H. Inflammation in the bovine female reproductive tract. *J. Anim. Sci.*, v. 77, p. 101-110, 1999.
- BONNET, B. N.; MARTIN, S. W.; GANNON, V. P. J. et al. Endometrial biopsy in Holstein-Friesian dairy cows III. Bacteriological analysis and correlations with histological findings. *Can. J. Vet. Res.*, v. 55, p. 168-173, 1991.
- BRITT, J. H. Reproductive performance as affected by nutrition and environment. In: III FLORIDA RUMINANT NUTRITION SYMPOSIUM, 1992, Gainesville. *Anais...* Gainesville, 1992. p. 93-102.
- BUCH, N. C.; TYLER, W. J.; CASIDA, L. E. Postpartum estrus and involution in an experimental herd of Holstein Friesian cows. *J. Dairy Sci.*, v. 38, p. 73-79, 1955.
- BUTLER, W. R. Efeito do balanço energético negativo na fertilidade de vacas leiteiras. In: X CURSO NOVOS ENFOQUES NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS, 2006, Uberlândia. *Anais...*Uberlândia, 2006.
- BUWITT-BECKMANN, U.; HEINE, H.; WIESMULLER, K. H. et al. TLR1 and TLR6 independent recognition of bacterial lipopeptides. *J. Biol. Chem.*, v. 281, p. 9049-9057, 2006.
- CAMPOS, O. F.; LIZIEIRE, R. S. Alimentação de Novilhas. In: *Estratégias para obtenção de fêmeas de reposição em rebanhos leiteiros*. Juiz de Fora: EMBRAPA, 1998. p. 1-15.
- CARAVAJAL, F. D. *Efeito da aplicação de prostaglandina durante o puerpério na vaca*. 1989. 78 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- CHAPWANYA, A.; MEADE, K. G.; DOHERTY, M. L. et al. Histopathological and molecular evaluation of Holstein-Friesian cows postpartum: Toward an improved understanding of uterine innate immunity. *Theriogenology*, v. 71; p. 1396-1407, 2009.
- CORMICAM, P.; MEADE, G.; CAHALANE, S. et al. Evolution, expression and effectiveness in a cluster of novel bovine  $\beta$ -defensins. *Immunogenetics*, v. 60, p. 147-156, 2008.
- CORREA, M. T.; ERB, H.; SCARLETTZ J. Path analysis for seven postpartum disorders of Holstein cows. *J. Dairy Sci.*, v. 76, p. 1305-1312, 1993.
- CURTIS, C.; ERB, H.; SNIFFEN, C. et al. Path analysis of dry period nutrition, postpartum metabolic and reproductive disorders, and mastitis in Holstein cows. *J. Dairy Sci.*, v. 68, p. 2347-2360, 1985.
- DAVIES, D; MEADE, K. G.; HERATH, S. et al. Toll-like receptor and antimicrobial peptide expression in the bovine endometrium. *Reprod. Biol. Endocrinol.*, v. 6, p. 1-12, 2008.
- DEJARNETTE, J. M.; SATTLER, C. G.; MARSHALL, C. E. et al. Voluntary waiting period management practices in dairy herds participating in a progeny test program. *J. Dairy Sci.*, v. 90, p.1073-1079, 2007.
- DELUYKER, H. A.; GAY, J. M.; WEAVER, L. D. et al. Change of milk yield with clinical diseases for a high

- producing dairy herd. *J. Dairy Sci.*, v. 74, p. 436-445, 1990.
- DEL VECCHIO, R. P.; MATASAS, D. J.; FORTÍN, S. et al. Spontaneous uterine infections are associated with elevated prostaglandin F<sub>2α</sub> metabolite concentrations in postpartum dairy cows. *Theriogenology*, v. 41, p. 413-421, 1994.
- DE VRIES, M. J.; VEERKAMP, R. F. Energy balance of dairy cattle in relation to milk production variables and fertility. *J. Dairy Sci.*, v. 83, p. 62-69, 2000.
- DE VRIES, A. Economics of the voluntary waiting period and value of a pregnant. In: DAIRY CATTLE REPRODUCTIVE CONFERENCE DENVER, 2007, Denver. *Anais...* Denver: CO, 2007. p. 1-10.
- DHALIWAL, G. S.; MURRAY, R. D.; WOLDEHIWET. Some aspects of immunology of the bovine uterus related to treatments for endometritis. *Anim. Reprod. Sci.*, v. 67, p.135-152, 2001.
- DISKIN, M. G.; MACKEY, D. R.; ROCHE, J. F. et al. Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, v. 78, p. 345-370, 2003.
- DOHMEN, M. J. W.; JOOP, K.; STURK, A. et al. Relationship between intra-uterine bacterial contamination, endotoxin levels and the development of endometritis in postpartum cows with dystocia or retained placenta. *Theriogenology*, v. 54, p. 1019-1032, 2000.
- DRILLICH, M.; BEETZ, O.; PFUTZNER, A. et al. Evaluation of a systemic antibiotic treatment of toxic puerperal metritis in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v. 84, p. 2010-2017, 2001.
- DRILLICH, M.; PFUTZNER, A.; SABIN, H. J. et al. Comparison of two protocols of retained fetal membranes in dairy cattle. *Theriogenology*, v. 59, p. 951-960, 2003.
- DRILLICH, M.; MAHLSTEDT, M.; REICHERT, U. et al. Strategies to improve the therapy of retained fetal membranes in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v. 89, p. 627-635, 2006a.
- DRILLICH, M.; REICHERT, U.; MAHLSTEDT, M. et al. Comparison of two strategies for systemic antibiotic treatment of dairy cows with retained fetal membranes: preventive vs. selective treatment., *J. Dairy Sci.*, v. 89; p. 1502-1508, 2006b.
- DUBOIS, P. R.; WILLIAMS, D. J. Increased incidence of retained placenta associated with heat stress in dairy cows. *Theriogenology*, v. 13, p. 115-121, 1980.
- EDMONSON, A. J.; LEAN, I.; WEAVER, L. D. et al. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v. 72, p. 68-78, 1989.
- ERB, H. N.; MARTIN, S. W. Interrelationships between production and reproductive diseases in Holstein cows. *J. Dairy Sci.*, v. 63, p. 1911-1917, 1980.
- ERB, H. N.; SMITH, R. D.; OLTENACU, P. A. et al. Path model of reproductive disorders and performance, milk fever, mastitis, milk yield, and culling in Holstein cows. *J. Dairy. Sci.*, v. 68, p. 3337-3349, 1985.
- ETHERINGTON, W. G.; MARTIN, S. W.; DOHOO, I. R. et al. Interrelationships between postpartum events, hormonal therapy, reproductive abnormalities and reproductive performance in dairy cows: a path analysis. *Can. J. Comp. Med.*, v. 49, p. 261-267, 1985.
- FAZELI, A.; BRUCE, C.; ANUMBA, D. O. Characterization of Toll-like receptors in

- the female reproductive tract in humans. *Hum. Reprod.*, v. 20, p. 1372-1378, 2005.
- FERNANDES, C. A. C.; FIGUEIREDO, A. C. S. Avanços na utilização de prostaglandinas na reprodução de bovinos. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, v. 31, p. 406-414, 2007.
- FERNANDES, C. A. C.; COSTA, D. S.; VIANA, J. H. M. Impacto da retenção de placenta sobre a performance reprodutiva de vacas leiteiras. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, v. 25, p. 26-30, 2001.
- FÖLDI, J.; KULCSÁR, A.; PÉCSI, A. et al. Bacterial complications of postpartum uterine involution in cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, v. 96, p. 265-281, 2006.
- FÖLDI, J.; PÉCSI, A.; SZABÓ, J. et al. The pathogens and cause of uterine diseases. In: 16<sup>th</sup> INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION, 2008, Hungary. *Work abst.*, Hungary: 2008. p. 5.
- FRICKE, P.M; WILTBANK, M.C. Effect of milk production on the incidence of double ovulation in dairy cows. *Theriogenology*, v.52, p. 1133-1143, 1999.
- FRICKE, P. M. Review: Twinning in dairy cattle. *Prof. Anim. Sci.*, v. 17, p. 61-67, 2000.
- GANZ, T. The role of antimicrobial peptides in innate immunity. *Integr. Comp. Biol.*, v. 43, p. 300-304, 2003.
- GARCÍA-ISPIERTO, I.; LOPEZ-GATIUS, F.; SANTOLARIA, P. et al. Factors affecting the fertility of high producing dairy herds in northeastern Spain. *Theriogenology*, v. 67, p. 632-638, 2007.
- GARVERICK, H. A. Ovarian follicular cysts in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v. 80, p. 995-1004, 1997.
- GAUTAM, G.; NAKAO, T.; KOIKE, K. et al. Spontaneous recovery or persistence of postpartum endometritis and risk factors for its persistence in Holstein cows. *Theriogenology.*, v. 73, p. 168-179, 2010.
- GEARHART, M. A.; CURTIS, C. R.; ERB, H. N. et al. Relationship of changes in condition score to cow health in Holsteins. *J. Dairy Sci.*, v. 73, p. 3132-3140, 1990.
- GIER, H. T.; MARION, G. B. Uterus of the cow after parturition involucional changes. *Am. J. Vet. Res.*, v. 29, p. 83-96, 1968.
- GILBERT, R. O.; SHIN, S. T.; GUARD, C. L., et al. Incidence of endometritis and effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology*, v. 49, p. 251, 1998.
- GOLDAMMER, T.; ZERBE, H.; MOLENAAR, A. et al. Mastitis increases mammary mRNA abundance of  $\beta$ -defensin 5, Toll-like-receptor 2 (TLR2), and TLR4 but not TLR9 in cattle. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, v. 11, p. 174-185, 2004.
- GONZÁLEZ SANCHÉZ, J. P.; EURIDES, D.; SILVA, L. A. F. et al. Posição do útero e calibre da artéria uterina no puerpério em vacas Gir leiteiras relacionadas com metrites e anestro. *Pubvet*, v. 2, p. 1-9, 2008.
- GRIMM, A. M. Meteorologia básica - Medidas de umidade. Universidade Federal do Paraná, 1999. Disponível em: <http://fisica.ufpr.br/grimm/aposmeteo/cap5/tab5-2.html>> Acesso em: 01 out. 2009.
- GRUNERT, E. Etiology of retained bovine placenta. In: Morrow, D. A. *Current therapy in theriogenology: diagnosis, treatment and prevention of reproductive diseases in animals*. Philadelphia: W.B. Saunders, 1980. p. 180-186.

- HAMILTON, S. A.; GARVERICK, D. H.; KEISLER, D. H. et al. Characterization of ovarian follicular cysts and associated endocrine profiles in dairy cows. *Biol. Reprod.*, v.53, 890-898, 1995.
- HAMMON, D. S.; EVJEN, I. M.; DHIMAN, T. R. et al. Neutrophil function and energy status in Holstein cows with uterine health disorders. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, v. 113, p. 21-29, 2006.
- HAN, Y. K.; KIM, I.H. Risk factors for retained placenta and the effect of retained placenta on the occurrence of postpartum diseases and subsequent reproductive performance in dairy cows. *J. Vet. Sci.*, v. 6, p. 53-59, 2005.
- HERATH, S.; FISCHER, D. P.; WERLING, D. et al. Expression and function of Toll-like receptor 4 in the endometrial cells of the uterus. *Endocrinology*, v. 147, p. 562-570, 2006.
- HERATH, S.; LILLY, S. T.; SANTOS, N. R. et al. Expression of genes associated with immunity in the endometrium of cattle with disparate postpartum uterine disease and fertility. *Reprod. Biol. Endocrinol.*, v. 7:55, p. 1-13, 2009a.
- HERATH, S.; LILLY, S. T.; FISCHER, D. P. et al. Bacterial lipopolysaccharide induces an endocrine switch from prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$  to prostaglandin E<sub>2</sub> in bovine endometrium. *Endocrinology*, v. 150, p. 1912-1920, 2009b.
- HORNE, A., W.; STOCK, S. J.; KING, A. E. Innate immunity and disorders of the female reproductive tract. *Reproduction*, v. 135, p. 739-749, 2008.
- HORTA, A. E. M. Etiopatogenia e terapêutica da retenção placentária nos bovinos. In: PROC. VII JORNADAS INTERNACIONALES DE REPRODUCCIÓN ANIMAL, 1994, Murcia. *Anais...* Murcia: 1994. p. 181-192.
- HORTA, A. E. M. Fisiologia do puerpério na vaca. In: VIII JORNADAS INTERNACIONALES DE REPRODUCCIÓN ANIMAL, 1995, Santander. *Anais...* Santander: AERA, 1995. p. 73-84.
- HUSSAIN, A. M.; DANIEL, R. C. W. Phagocytosis fluid and blood neutrophils and hematological changes in postpartum cows following normal and abnormal parturition. *Theriogenology*, v. 37, p. 1253-1267, 1992.
- IBEAGHA-AWEMU, E. M.; LEE, J. W.; IBEAGHA, A. E. et al. Bacterial lipopolysaccharide induces increased expression of Toll-like receptor (TLR) 4 and downstream TLR signaling molecules in bovine mammary epithelial cells. *Vet. Res.*, v. 39, p. 1-12, 2007.
- JANA, D.; MISHRA, R. R. Studies on uterine involution and postpartum in dairy cow. *Indian. J. Dairy Sci.*, v. 31, p. 145-149, 1978.
- JANEWAY, C. A.; MEDZHITOV, R. Innate immune recognition *Annu. Rev. Immunol.*, v. 20, p. 197-216, 2002.
- JOHANNIS, C. J.; CLARCK, T. L.; HERRICK, J. B. Factors affecting calving interval. *J. Am. Vet. Med.*, v. 151, p. 1692-1704, 1967.
- JONES, G. M. Body condition for evaluation of nutritional status. In: FEEDING AND NUTRITION, 1993, Virginia. *Anais...* Virginia: 1993. p. 1-4.
- JOOSTEN, I.; VAN ELDIK, P.; VAN DER MEY, G. J. W. et al. Factors related to the etiology of retained placenta in dairy cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, v. 14, p. 251-262, 1987.

- KÄHN, W.; LEIDL, W. Ultrasonic characteristics of pathological conditions of the bovine uterus and ovaries. In: *Diagnostic Ultrasound and Animal Reproduction*. Munique: Springer, 1989. p. 53-66.
- KAMIMURA, S.; OHGI, T.; TAKAHASHI, M. et al. Postpartum resumption of ovarian activity and uterine involution monitored by ultrasonography in Holstein cows. *J. Vet. Med. Sci.*, v. 55, p. 643-647, 1993.
- KANEKO, K.; KAWAKAMI, S., MIYOSHI, M. et al. Effect of retained placenta on subsequent bacteriological and cytological intrauterine environment and reproduction in Holstein dairy cows. *Theriogenology*, v. 48, p. 617-624, 1997.
- KASK, K.; KURYKIN, J.; LINDJÄRV, R. et al. Assessment of early postpartum reproductive performance in two high estonian dairy herds. *Acta. Vet. Scand.*, v. 44, p. 131-143, 2003.
- KASIMANICKAM, R.; DUFFIELD, T. F.; FOSTER, R. A. et al. Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. *Theriogenology*, v. 62, p. 9-23, 2004.
- KASIMANICKAM, R.; DUFFIELD, T. F.; FOSTER, R. A. et al. A comparison of the cytobrush and uterine lavage techniques to evaluate endometrial cytology in clinically normal postpartum dairy cows. *Can. Vet. J.*, v. 46, p. 255-259, 2005.
- KIM, I. H.; KANG, H. G. Risk factors for postpartum endometritis and the effect on reproductive performance in dairy cows in Korea. *J. Reprod. Develop.*, v. 49, p. 485-491, 2003.
- KING, A. E.; CRITCHLEY, H. O. D.; KELLY, R. W. Innate immune defences in the human endometrium. *Reprod. Biol. Endocrin.*, v. 1, p. 1-8, 2003.
- KINSEL, M. L.; MARSH, W. E.; RUEGG, P. L. et al. Risk factors for twinning in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v. 81, p. 989-993, 1998.
- KOCAMUFTUOGLU, M.; VURAL, R. The evaluation of postpartum period in dairy cows with normal and abnormal periparturient problems. *Acta Vet. (Beograd)*, v. 58, p. 75-87, 2008.
- KOIVISTO, M. B.; BRESCIANI, K. D.; ESPER, C. et al. Avaliação da temperatura retal em vacas leiteiras no pós-parto. *Rev. Cienc. Agr.*, v. 22, p. 99-103, 2001.
- KÖNIGSSON, K.; GUSTAFSSON, H.; GUNNARSSON, A. et al. Clinical and bacteriological aspects on the use of oxytetracycline and flunixinin in primiparous cows with induced retained placenta and post-partum endometritis. *Reprod. Domest. Anim.*, v. 36, p. 247-256, 2001.
- KOZICKI, L. E. Contribuição ao estudo do puerpério de vacas leiteiras através do acompanhamento clínico reprodutivo e determinação de progesterona pelo radioimunoensaio. *Braz. J. Res. Anim. Sci.*, v. 35, p. 225-228, 1998.
- KUMAR, H.; KAWAI, T.; AKIRA, S. Toll-like receptors and innate immunity. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, v. 388, p. 621-625, 2009.
- LARA, J. R. L. *Alguns aspectos reprodutivos de um rebanho leiteiro no período pós-parto*. 1985. 58f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- LARSON, L. L.; ISHAK, M. A.; OWEN, F. G. et al. Relationship of physiological

- factors to placental retention in dairy cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, v. 9, p. 31-43, 1985.
- LAVEN, R. A.; PETERS, A. R. Bovine retained placenta; etiology, pathogenesis and economic loss. *Vet. Rec.*, v. 9, p. 465-471, 1996.
- LEBLANC, M. M.; JOHNSON, R. D.; CALDERWOOD MAYS, M. B. et al. Lymphatic clearance of India ink in reproductively normal mares and mares susceptible to endometritis. *Biol. Reprod.*, v. 1, p. 501-506, 1995.
- LEBLANC, M. M.; NEUWIRTH, L.; JONES L. et al. Differences in uterine position of reproductively normal mares and those with delayed uterine clearance detected by scintigraphy. *Theriogenology*, v. 50, p. 49-54, 1998.
- LEBLANC, S. J.; DUFFIELD, T. F.; LESLIE, K. E. et al. The effect of treatment of clinical endometritis on reproductive performance in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v. 85, p. 2237-2249, 2002a.
- LEBLANC, S. J.; DUFFIELD, T. F.; LESLIE, K. E. et al. Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v. 85, p. 2223-2236, 2002b.
- LEHRER, R. L.; LICHTESTEIN, A. K.; GANZ, T. et al. Defensins: antimicrobial and cytotoxic peptides of mammalian cells. *Annu. Rev. Immunol.*, v. 11, p. 105-128, 1993.
- LEITE, T. E.; MORAES, J. C. F.; PIMENTEL, C. A. Eficiência produtiva e reprodutiva em vacas leiteiras. *Cienc. Rural*, v. 31, p. 467-472, 2001.
- LESLIE, K. E. The events of normal and abnormal postpartum reproductive endocrinology and uterine involution in dairy cows: a review. *Can. Vet. J.*, v. 24, p. 67-71, 1983.
- LEMAITRE, B.; NICOLAS, E.; MICHAUT, L. et al. The dorsoventral regulatory gene cassette *spa''tzle/toll/cactus* controls the potent antifungal response in drosophila adults. *Cell.*, v. 86, p. 973-983, 1996.
- LEWIS, G. S. Uterine health and disorders. *J. Dairy Sci.*, v. 80, p. 984-994, 1997.
- LEWIS, G. S. Steroidal regulation of uterine resistance to bacterial infection in livestock. *Reprod. Biol. End.*, v.1, p. 1-8, 2003.
- LEWIS, G. S. Steroidal regulation of uterine immune defenses. *Anim. Reprod. Sci.*, v. 82-83, p. 281-294, 2004.
- LIVAK, K. J.; SCHMITTGEN, T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2<sup>-ΔΔCt</sup> Method. *Methods*. v. 25, p. 402-408, 2001.
- LOPES, D. T. *Efeitos da utilização de prostaglandina F2α durante o puerpério precoce sobre a eficiência produtiva de vacas leiteiras*. 2007. 60 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.
- LÓPEZ-GATIUS, F.; SANTOLARIA, P.; YÁÑIZ, J. et al. Risk factors postpartum ovarian cysts and their spontaneous recovery or persistence in lactating dairy cows. *Theriogenology*, v. 58, p. 1623-1632, 2002.
- LUCY, M. C. Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? *J. Dairy Sci.*, v. 84, p. 1277-1293, 2001.
- MADEJ, A.; KINDAHL, H.; WOYNO, W. et al. Blood levels of 15-ceto-13,14-dihidro-

- prostaglandin F2 $\alpha$  during the postpartum period in primiparous cows. *Theriogenology*, v. 21, p. 279-287, 1984.
- MARKUSFELD, O. Periparturient traits in seven dairy herds. Incidence rates association with parity, and interrelationship among traits. *J. Dairy Sci.*, v. 70, 158-166, 1987.
- MARQUES JÚNIOR, A.P. *Leucocyte chemotaxis activity by cotiledons of dairy cows with normal delivery and retained placenta*. 1988. 182f. Thesis (PhD) - University of Illinois, Urbana-Champaign, Illinois.
- MARQUES JÚNIOR, A.P. Fisiologia do puerpério na vaca. *Rev. Bras. Reprod. Anim. Supl.*, p. 58-69, 1993.
- MATEUS, L.; COSTA, L. L.; BERNARDO, F. et al. Influence of puerperal uterine infection on uterine involution and postpartum ovarian activity in dairy cows. *Reprod. Domest. Anim.*, v. 37, p. 31-35, 2002.
- McENTEE, K. *Reproductive pathology of domestic mammals*. Philadelphia: Lea & Febiger, 1990. p. 125-131.
- McGUIRE, K.; JONES, M.; WERLING, D. et al. Radiation hybrid mapping of all 10 characterized bovine Toll-like receptors. *Anim. Genet.*, v. 37, p. 47-50, 2005.
- MEDZHITOV, R; JANEWAY, C. A. Jr. Innate immunity: impact on the adaptive immune response. *Curr. Opin. Immunol.*, v. 9, p. 4-9, 1997.
- MENGE, A. C.; MARES, S. E.; TYLER, W. J. et al. Variation and association among postpartum reproduction in production characteristics in Holstein-Friesian cattle. *J. Dairy Sci.*, v. 45, p. 233-241, 1962.
- MENZIES, M.; INGHAM, A. Identification and expression of Toll-like receptors 1-10 in selected bovine and ovine tissues. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, v. 109, p. 23-30, 2006.
- MILLER, A. N. A.; WILLIAMS, E. J.; SIBLEY, K. et al. The effects of *Arcanobacterium pyogenes* on endometrial function in vitro, and on uterine and ovarian function in vivo. *Theriogenology*, v. 68, p. 972-980, 2007.
- MORROW, D. A.; ROBERTS, S. J.; McENTEE, K. A review of postpartum ovarian activity and involution of the uterus and cervix in cattle. *Cornell Vet.*, v. 59, p. 134-154, 1969.
- MORROW, D. A. *Current therapy in theriogenology: diagnosis, treatment and prevention of reproductive diseases in animals*. Philadelphia: Saunders Company W.B., 1980. 1287p.
- NAKAO, T.; MORIYOSHI, M; KAWATA, K. The effect of postpartum ovarian dysfunction and endometritis on subsequent reproductive performance in high and medium producing dairy cows. *Theriogenology*, v. 37, p. 341-349, 1992.
- NAKAO, T.; GAMAL, A.; OSAWA, T. et al. Postpartum plasma PGF metabolite profile in cows with dystocia and/or retained placenta, and effect of fenprostalene on uterine involution and reproductive performance. *J. Vet. Med. Sci.*, v. 51, p. 791-794, 1997.
- OLIVEIRA, L.; GHELLER, V. A. Avaliação de medidas pélvicas internas de vacas holandesas do estado de Minas Gerais, Brasil. In: VIII CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA, 2009, Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte: Ciência Animal Brasileira, 2009, Supl. 1. p. 802, 2009.

- OLSON, J. D.; BRETZALAFF, K. N.; MORTIMER, R. G. et al. The metritis-pyometra complex. In: Morrow, D.A. *Current Therapy in Theriogenology*, Philadelphia: Saunders, 1986. p. 227-236.
- OPSOMER, G.; GROHN, Y. T.; HERTL, J. et al. Risk factors for post partum ovarian dysfunction in high producing dairy cows in Belgium: a field study. *Theriogenology*, v. 53, p. 841-857, 2000.
- OVERTON, T. R.; NYDAN, D. V. Como identificar oportunidades no manejo de vacas periparto. In: XIII CURSO NOVOS ENFOQUES NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS, 2009, Uberlândia. *Anais...Uberlândia*: 2009. p. 285-289.
- PASARE, C.; RUSLAN MEDZHITOV, E. Toll-like receptors and acquired immunity. *Semin. Immunol.*, v. 16, p. 23-26, 2004.
- PAISLEY, L. G.; MICKELSEN, W. D.; ANDERSON, P. B. Mechanisms and therapy for retained fetal membranes and uterine infection of cows. *Theriogenology*, v. 25, p.353-381, 1986.
- PETZL, N. Peripartal expression of endometrial Toll-like receptors and  $\beta$ -defensins in cattle (*Abstract*). 2007. 168p. Tesis (Doctor of Veterinary Medicine) - Hannover School of Veterinary Medicine, Hannover.
- PETERS, A. R. Reproductive activity of the cow in the post-partum period. I. Factors affecting the length of the post-partum acyclic period. *Bras. Vet. J.*, v. 140, p. 76-84, 1984.
- PIRES, M. A.; FERREIRA, A. M.; COELHO, S. G. Estresse calórico em bovinos de leite. *Cad. Tec. Vet. Zootec.*, n. 29, p. 23-37, 1999.
- QUAYLE, A. J.; MARTIN-PORTER, E.; NUSSBAUM, A. A. et al. Gene expression, immunolocalization, and secretion of human defensin-5 in human female reproductive tract. *Am. J. Pathol.*, v. 152, p. 1247-1258, 1998.
- QUAYLE, A. J. The innate and early immune response to pathogen challenge in the female genital tract and pivotal role of epithelial cells. *J. Reprod. Immunol.*, v. 57, p. 61-79, 2002.
- RAJAMAHENDRAN, R.; AMBROSE, D. J., BURTON, B. Clinical and research applications of real-time ultrasonography in bovine reproduction. *Can. Vet. J.*, v. 35, p. 563-572, 1994.
- RASBECK, N. O. The normal involution of the uterus in the cow. *Nord. Vet. Med.*, v. 2, p. 655-687, 1950.
- ROBERTS, S.J. *Veterinary obstetrics and genital diseases (Theriogenology)*. Michigan: Ed. Na Arbor Edwards Brothers, 1986. 981p.
- ROCHA, A.; CARVALHEIRA J. Parâmetros reprodutivos e eficiência de inseminadores em explorações de bovinos de leite em Portugal. In: CONGRESSO DE CIÊNCIAS VETERINÁRIAS, 2002, Oeiras. *Anais... Oeiras*: SPCV, 2002. p. 129-138.
- ROCHA, A. A.; GAMBARINI, M. L.; ANDRADE, M. A. et al. Microbiota cérvico-vaginal durante o final de gestação e puerpério em vacas Girolando. *Cienc. Anim. Bras.*, v. 5, p. 215-220, 2004.
- ROOSEN, S.; EXNER, K.; PAUL, S. et al. Bovine  $\beta$ -defensins: identification and characterization of novel bovine  $\beta$ -defensin genes and their expression in mammary gland tissue. *Mamm. Gen.*, v. 15, p. 834-842, 2004.



- ROZEN, S.; SKALETSKY, H. *Primer3* on the www for general users and for biologist programmers. *Methods*, v. 132, p. 365-386, 2000.
- ROYAL, M.; MANN, G. E.; FLINT, A. P. F. Strategies for reversing the trend towards subfertility in dairy cattle. *Vet. J.*, v. 160, p. 53-60, 2000.
- SANTOS, R. L. Condição corporal ao parto e tempo requerido para liberação da placenta em vacas leiteiras. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v. 48, p. 235-238, 1996.
- SANTOS, R. M.; VASCONCELOS, J. L. M.; SOUZA, A. H. et al. Efeito da aplicação de prostaglandina (PGF2alfa) no pós-parto imediato sobre a incidência de retenção de placenta em vacas de leite. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v. 54, p. 29-34, 2002.
- SANTOS, R. M.; DÉMETRIO, D. G. B.; VASCONCELOS, J. L. M. Cisto ovariano em vacas de leite: incidência, resposta à aplicação de GnRH e desempenho reprodutivo. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v. 61, p. 527-532, 2009.
- SARTORI, R. Manejo reprodutivo da fêmea leiteira. *Reprod. Anim.*, v. 31, p. 153-159, 2007.
- SCHAEFER, T. M.; SOUZA, K.; FAHEY, J. V. et al. Toll-like receptor (TLR) expression and TLR-mediated cytokine/chemokine production by human uterine epithelial cells. *Immunology*, v. 112, p. 428-436, 2004.
- SCHEID FILHO, V. B.; SCHIAVON, R. S.; GASTAL, G. D. A. Intervalo parto-gestação em função da ocorrência de retenção de membranas fetais em vacas leiteiras In: V JORNADAS TÉCNICAS DE VETERINARIA, 2007, Montevidéu. *Anais...* Montevidéu, 2007. p. 1-5.
- SEALS, R. C.; MATAMOROS, I.; LEWIS, G. S. Relationship between postpartum changes in 13, 14-dihydro-15-keto-PGF2 concentrations in Holstein cows and their susceptibility to endometritis. *J. Anim. Sci.*, v. 80, p. 1068-1073, 2002.
- SENOZY, W. S.; UCHIZA, M.; TAMEOKA, N. et al. Association between evaluation of the reproductive tract by various diagnostic tests and restoration of ovarian cyclicity in high-producing dairy cows. *Theriogenology*, v. 72, p. 1153-1162, 2009.
- SHELDON, I. M.; NOAKES, D. E.; RYCROFT, A. N. et al. Influence of uterine bacterial contamination after parturition on ovarian dominant follicle selection and follicle growth and function in cattle. *Reproduction*, v. 123, p. 837-845, 2002.
- SHELDON, I. M.; NOAKES, D. E.; RYCROFT, A. N. et al. The effect of intrauterine administration of estradiol on postpartum uterine involution in cattle. *Theriogenology*, v. 59, p. 1357-1371, 2003.
- SHELDON, I. M.; DOBSON, H. Postpartum uterine health in cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, v. 82-83, p. 295-306, 2004.
- SHELDON, I. M.; NOAKES, D. E.; RYCROFT, A. N. et al. The effect of intrauterine administration of estradiol on postpartum uterine bacterial infection in cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, v. 81, p. 13-23, 2004.
- SHELDON, I. M.; LEWIS, G.; LEBLANC, S. et al. Defining postpartum uterine disease in dairy cattle. *Theriogenology*, v. 65, p. 1516-1530, 2006.
- SHELDON, M. Endometritis in cattle: pathogenesis, consequences for fertility, diagnosis and therapeutic recommendations. *Part. Reprod.*, v. 2, 2007.

- SHELDON, I. M.; WILLIAMS, E. J.; MILLER, A. N. A. et al. Uterine diseases in cattle after parturition. *Vet. J.*, v. 176, p. 115-121, 2008.
- SHELDON, I. M.; PRICE, S. B.; CRONIN, J. et al. Mechanisms of infertility associated with clinical and subclinical endometritis in high producing dairy cattle. *Reprod. Domest. Anim.*, v. 44, p. 1-9, 2009.
- SIMÕES, P.; FONTES, P.; ALMEIDA, J. C. Diagnóstico de gestação e de patologias uterinas por ecografia em ruminantes, equinos e suínos. *SDE-UTAD*, versão on-line 2004. 71p.
- SMITH, B. I.; RISCO, C. A. Management of periparturient disorders in dairy cattle. *Vet. Clin. Food. Anim.*, v. 21, p. 503-521, 2005.
- SOBOLL, G.; SCHAEFER, T. M.; WIRA, C. R. Effect of Toll-like receptor (TLR) agonists on TLR and microbicide expression in uterine and vaginal tissues of the mouse. *Am. J. Reprod. Immunol.*, v. 55, p. 434-446, 2006a.
- SOBOLL, G.; SHEN, L.; WIRA, C. R. Expression of Toll-Like receptors (TLR) and responsiveness to TLR agonists by polarized mouse uterine epithelial cells in culture. *Biol. Reprod.*, v. 75, p. 131-139, 2006b.
- SORDILLO, L. M.; CONTRERAS, G. A.; AITKEN, S. L. Metabolic factors affecting the inflammatory response of periparturient dairy cows. *Anim. Health Res. Rev.*, v. 10, p. 53-63, 2009.
- STEVENSON, J. S. Relationships among luteinizing hormone, estradiol, progesterone, glucocorticoids, milk yield, body weight and postpartum ovarian activity in Holstein cows. *J. Anim. Sci.*, v. 48, p. 570-577, 2006.
- STUDER, E.; MORROW, D.A. Relationships of post-partum genital tract examination per rectum to endometrial biopsy and uterine culture results. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v. 172, p. 489-494, 1978.
- TAKEDA, K.; AKIRA, S. TLR signaling pathways. *Sem. Immunol.*, v. 16, p. 3-9, 2004.
- TILLARD, E.; HUMBLLOT, P.; FAYE, B. et al. Postcalving factors affecting conception risk in Holstein dairy cows in tropical and sub-tropical conditions. *Theriogenology*, v. 69, p. 443-457, 2008.
- TIZARD, I. *Imunologia Veterinária*. 6ed. São Paulo, Roca, 2002. 532p
- VASCONCELOS, J. L. M.; ESPER, C. R.; SANTOS, R. M. et al. Detecção de subfertilidade em vacas leiteiras por meio de medidas anatômicas da região pélvica e do aparelho genital. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v. 52, p. 468-474, 2000.
- VANHOLDER, T.; LEROY, J. L. M. R.; DEWULF, J. et al. Hormonal and metabolic profiles of high-yielding dairy cows prior to ovarian cyst formation or first ovulation post-partum. *Reprod. Domest. Anim.*, v. 40, p. 460-467, 2005.
- VAN SAUN, R. J. Transition cow nutrition and management: the key to herd reproductive performance. Penn State University, 2000: Disponível em: <http://vbs.psu.edu/ext/resources/pdf/transiti-on-cow-health-and-nutrition>> Acesso em: 28 dez. 2009.
- VAN WERVEN, T.; SCHUKKEN, Y. H.; LLOYD, J. et al. The effects of duration of retained placenta on reproduction, milk production, postpartum disease and culling rate. *Theriogenology*, v. 37, 1191-1203, 1992.

- ZAIN, A. E.; NAKAO, T.; RAOUF, M. A.; et al. Factors in the resumption of ovarian activity and uterine involution in postpartum dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.*, v. 38, p. 203-214, 1995.
- WALTNER, S. S.; McNAMARA, J. P.; HILLERS, J. K. Relationships of body condition score to production variables in high producing Holstein dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, p. 76, p. 3410-3419, 1993.
- WATSON, E. D., DIEHL, N. K., EVANS, J. F. Antibody response in the bovine genital tract to intrauterine infusion of *A. pyogenes*. *Res. Vet. Sci.*, v. 48, p. 70-75, 1990.
- WERLING, D.; JUNGI, T. W. Toll-like receptors linking innate and adaptive immune response. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, v. 91, p. 1-12, 2003.
- WERLING, D.; COFFEY, T. J. Pattern recognition receptors in companion and farm animals - The key to unlocking the door to animal disease? *Vet. J.*, v. 174, p. 240-251, 2007.
- WIRA, C.; FAHEY, J. V., SENTMAN, C. L. et al. Innate and adaptive immunity in female genital tract: cellular responses and interactions. *Immunol. Rev.*, v. 206, p. 306-335, 2005.
- WILLIAMS, E. L.; FISHER, D. P.; PFEIFFER, D. U.; et al. Clinical evaluation of postpartum vaginal mucus reflects uterine bacterial infection and the immune response in cattle. *Theriogenology*, v. 63, p. 102-117, 2005.
- WILLIAMS, E. J.; FISCHER, D. P.; NOAKES, D. E. et al. The relationship between uterine pathogen growth density and ovarian function in the postpartum dairy cow. *Theriogenology*, v. 68, p. 549-559, 2007.
- WILTBANK, M. C.; FRICKE, P. M.; SANGSRITAVONG, S. et al. Mechanisms that prevent and produce double ovulations in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, v. 83, p. 2998-3007, 2000.
- WILTBANK, M. W. Prevenção e tratamento da retenção de placenta. In: XI CURSO NOVOS ENFOQUES NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS, 2008, Uberlândia. *Anais...Uberlândia*: 2008. p. 61-70.
- YOUNG S. L.; LYDON, T. D.; JORGENSON, R. L. et al. Expression of Toll-like receptors in human epithelial cells and cell lines. *Am. J. Reprod. Immunol.*, v. 52, p. 67-73, 2004.

## ANEXOS

Quadro 1. Temperaturas de bulbo seco (BS) e bulbo úmido (BU) para cálculo da umidade relativa do ar

		DEPRESSÃO DE BULBO ÚMIDO ( $T_{BS} - T_{BU}$ )																			
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
<b>TEMPERATURA DE BULBO SECO (° C)</b>	-20	28																			
	-18	40																			
	-16	48	0																		
	-14	55	11																		
	-12	61	23																		
	-10	66	33	0																	
	-8	71	41	13																	
	-6	73	48	20	0																
	-4	77	54	32	11																
	-2	79	58	37	20	1															
	0	81	63	45	28	11															
	2	83	67	51	36	20	6														
	4	85	70	56	42	27	14														
	6	86	72	59	46	35	22	10	0												
	8	87	74	62	51	39	28	17	6												
	10	88	76	65	54	43	33	24	13	4											
	12	88	78	67	57	48	38	28	19	10	2										
	14	89	79	69	60	50	41	33	25	16	8	1									
	16	90	80	71	62	54	45	37	29	21	14	7	1								
	18	91	81	72	64	56	48	40	33	26	19	12	6	0							
	20	91	82	74	66	58	51	44	36	30	23	17	11	5	0						
22	92	83	75	68	60	53	46	40	33	27	21	15	10	4	0						
24	92	84	76	69	62	55	49	42	36	30	25	20	14	9	4	0					
26	92	85	77	70	64	57	51	45	39	34	28	23	18	13	9	5					
28	93	86	78	71	65	59	53	47	42	36	31	26	21	17	12	8	4				
30	93	86	79	72	66	61	55	49	44	39	34	29	25	20	16	12	8	4			
32	93	86	80	73	68	62	56	55	46	41	36	32	27	22	19	14	11	8	4		
34	93	86	81	74	69	63	58	52	48	43	38	34	30	26	22	18	14	11	8	5	
36	94	87	81	75	69	64	59	54	50	44	40	36	32	28	24	21	17	13	10	7	
38	94	87	82	76	70	66	60	55	51	46	42	38	34	30	26	23	20	16	13	10	
40	94	89	82	76	71	67	61	57	52	48	44	40	36	33	29	25	22	19	16	13	

(Fonte: Adaptação de Grimm, 1999)

Quadro 2. Índice de Temperatura e Umidade para gado de leite (em branco: ausência de estresse; em verde, estresse leve; em amarelo: estresse moderado; em rosa: estresse severo; em cinza: morte dos animais)

T (°C)	Umidade relativa do ar (%)											
	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	
22,2											72	72
22,8											73	73
23,3									72	73	74	74
23,9								72	73	74	75	75
24,4							72	73	74	75	76	76
25,0					72	73	74	75	76	77	78	78
25,6					73	74	75	76	77	78	79	79
26,1				72	73	74	75	76	77	78	79	80
26,7				72	73	74	75	76	77	78	79	81
27,2				72	73	74	75	76	77	78	79	81
28,3			72	73	74	75	77	78	78	80	82	82
28,9			73	73	75	76	78	79	80	82	83	83
29,4		72	73	74	75	77	78	80	81	83	84	84
30,0		72	74	75	76	78	79	81	82	84	85	85
30,6	72	73	74	75	77	78	80	81	83	84	86	86
31,1	72	73	75	76	77	79	81	82	84	85	87	87
31,7	72	74	75	76	78	80	81	83	85	86	88	88
32,2	73	75	76	77	79	80	82	84	86	87	89	89
32,8	73	75	76	78	79	81	83	85	86	88	90	90
33,3	74	75	77	78	80	82	84	85	87	89	91	91
33,9	74	76	78	79	81	83	85	86	88	90	92	92
34,4	75	76	78	80	81	83	85	87	89	91	93	93
35,0	75	77	79	80	82	84	86	88	90	92	94	94
35,6	76	77	79	81	83	85	87	88	91	93	95	95
36,1	76	78	80	81	83	85	88	89	92	94	96	96
36,7	76	78	80	82	84	86	88	90	93	95	97	97
37,2	77	79	80	83	85	87	89	91	94	96	98	98
37,8	77	79	82	83	85	88	90	92	94	97		
38,3	78	80	82	84	86	88	91	92	95	98		
38,9	78	80	83	84	87	89	92	93	96			
39,4	79	81	83	85	87	90	92	94	96			
40,0	79	81	84	86	88	91	93	94	97			
40,6	80	82	84	86	89	91	94	95				
41,1	80	82	85	87	89	92	94	96				
41,7	81	83	85	88	90	93	95	97				
42,2	81	83	86	88	91	94	96					
42,8	81	84	87	89	92	94	97					
43,3	82	84	87	89	92	95						
43,9	82	85	88	90	93	96						
44,4	83	85	88	91	94	96						
45,0	83	86	89	91	94	97						
45,6	84	86	89	92	95							
46,1	84	87	90	92	96							
46,7	85	87	90	93	98							
47,2	85	88	91	94								
47,8	85	88	92	94								
48,3	86	89	92	96								

(Fonte: Adaptação de Armstrong, 1994)

## TABELAS ESTATÍSTICAS

As tabelas seguem a ordem das análises estatísticas apresentadas no trabalho.

### CAPÍTULO I

**Tabela 8**

Escore de condição corporal (ECC) de acordo com a categoria

Teste de Mann-Whitney		
Tratamento	<i>n</i>	P
Primíparas	25	0,0839
Múltiparas	78	

Peso vivo ao parto de acordo com a categoria

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	P
Tratamento	1	386499,8	386499,8	99,479	0,00002
Resíduo	100	3885,52	3885,252		
Coeficiente de Variação	10,433				

#### Item 3.2.1

Temperatura retal entre seis e doze horas após o parto de acordo com a categoria

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	P
Tratamento	1	0,9584031	0,9584031	3,043	0,08419
Resíduo	100	31,49807	0,3149807		
Coeficiente de Variação	1,432				

Temperatura retal entre seis e doze horas após o parto de acordo com a ocorrência de retenção de placenta

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	P
Tratamento	1	0,7352832	0,7352832	2,287	0,13382
Resíduo	93	29,89419	0,3214429		
Coeficiente de Variação	1,447				

**Tabela 9**

Temperatura retal entre seis e doze horas após o parto de acordo com a categoria e a ocorrência de retenção de placenta

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	P
Tratamento	3	1,946228	0,6487428	2,084	0,10729
Resíduo	98	30,51024	0,3113290		
Coeficiente de Variação	1,424				

**Cont. item 3.2.1**

Presença de febre entre seis e doze horas após o parto de acordo ocorrência de retenção de placenta

	Temperatura retal		Total
	$\leq 39,5\text{ }^{\circ}\text{C}$	$> 39,5\text{ }^{\circ}\text{C}$	
Animais sem retenção de placenta	49	14	63
Animais com retenção de placenta	34	6	40
Teste estatístico		GL	P
Exato de Fisher		1	0,4487

Presença de febre entre seis e doze horas após o parto de acordo com o tipo de parto, normal ou auxiliado

Tipo de parto	Temperatura retal		Total
	$\leq 39,5\text{ }^{\circ}\text{C}$	$> 39,5\text{ }^{\circ}\text{C}$	
Parto normal	65	17	82
Parto auxiliado	18	3	21
Teste estatístico		GL	P
Exato de Fisher		1	0,7579

**Tabela 10**

Temperatura retal média durante os dez primeiros dias após o parto de acordo com a ocorrência de retenção de placenta e metrite puerperal

Fonte de variação	GL	Análise de variância			
		Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	P
Tratamento	3	0,7036218	0,2345406	14,498	0,00000
Resíduo	36	0,5823830	0,1617730E-01		
Coefficiente de Variação	0,326				

**Figura 4**

Presença de febre no primeiro dia pós-parto de acordo com a ocorrência de retenção de placenta

Grupo	Temperatura retal		Total
	$\leq 39,5\text{ }^{\circ}\text{C}$	$> 39,5\text{ }^{\circ}\text{C}$	
Animais sem retenção de placenta	50	7	57
Animais com retenção de placenta	26	9	35
Teste estatístico		GL	P
Exato de Fisher		1	0,1550

Presença de febre dois dias após o parto de acordo com a ocorrência de retenção de placenta

Grupo	Temperatura retal		Total
	$\leq 39,5\text{ }^{\circ}\text{C}$	$> 39,5\text{ }^{\circ}\text{C}$	
Animais sem retenção de placenta	44	9	53
Animais com retenção de placenta	25	10	35
Teste estatístico		GL	P
Exato de Fisher		1	0,2895

Presença de febre três dias após o parto de acordo com a ocorrência de retenção de placenta

Grupo	Temperatura retal		Total
	$\leq 39,5\text{ }^{\circ}\text{C}$	$> 39,5\text{ }^{\circ}\text{C}$	
Animais sem retenção de placenta	47	8	53
Animais com retenção de placenta	30	5	35
Teste estatístico		GL	P
Exato de Fisher		1	1,0000

Presença de febre quatro dias após o parto de acordo com a ocorrência de retenção de placenta

Grupo	Temperatura retal		Total
	$\leq 39,5\text{ }^{\circ}\text{C}$	$> 39,5\text{ }^{\circ}\text{C}$	
Animais sem retenção de placenta	46	6	52
Animais com retenção de placenta	21	13	34
Teste estatístico		GL	P
Exato de Fisher		1	0,0068

Presença de febre cinco dias após o parto de acordo com a ocorrência de retenção de placenta

Grupo	Temperatura retal		Total
	$\leq 39,5\text{ }^{\circ}\text{C}$	$> 39,5\text{ }^{\circ}\text{C}$	
Animais sem retenção de placenta	46	10	56
Animais com retenção de placenta	21	14	35
Teste estatístico		GL	P
Exato de Fisher		1	0,0277

Presença de febre seis dias após o parto de acordo com a ocorrência de retenção de placenta

Grupo	Temperatura retal		Total
	$\leq 39,5\text{ }^{\circ}\text{C}$	$> 39,5\text{ }^{\circ}\text{C}$	
Animais sem retenção de placenta	44	10	54
Animais com retenção de placenta	23	13	36
Teste estatístico		GL	P
Exato de Fisher		1	0,0840

Presença de febre sete dias após o parto de acordo com a ocorrência de retenção de placenta

Grupo	Temperatura retal		Total
	$\leq 39,5\text{ }^{\circ}\text{C}$	$> 39,5\text{ }^{\circ}\text{C}$	
Animais sem retenção de placenta	44	9	53
Animais com retenção de placenta	27	8	35
Teste estatístico		GL	P
Exato de Fisher		1	0,5844

Presença de febre oito dias após o parto de acordo com a ocorrência de retenção de placenta

Grupo	Temperatura retal		Total
	$\leq 39,5\text{ }^{\circ}\text{C}$	$> 39,5\text{ }^{\circ}\text{C}$	
Animais sem retenção de placenta	45	9	54
Animais com retenção de placenta	31	4	35
Teste estatístico		GL	P
Exato de Fisher		1	0,5553

Presença de febre nove dias após o parto de acordo com a ocorrência de retenção de placenta

Grupo	Temperatura retal		Total
	$\leq 39,5\text{ }^{\circ}\text{C}$	$> 39,5\text{ }^{\circ}\text{C}$	
Animais sem retenção de placenta	45	7	52
Animais com retenção de placenta	25	7	32
Teste estatístico		GL	P
Exato de Fisher		1	0,3724



Presença de febre dez dias após o parto de acordo com a ocorrência de retenção de placenta

Grupo	Temperatura retal		Total
	$\leq 39,5^{\circ}\text{C}$	$> 39,5^{\circ}\text{C}$	
Animais sem retenção de placenta	48	5	53
Animais com retenção de placenta	30	2	32
Teste estatístico		GL	P
Exato de Fisher		1	0,7057

**Tabela 11**

Nascimentos de machos e fêmeas de acordo com a categoria dos animais que tiveram partos simples

Categoria	Macho	Fêmea	Total
Primíparas	13	9	22
Múltiparas	23	46	69
Teste estatístico		GL	P
Exato de Fisher		1	0,0449

**Tabela 12**

Ocorrência de partos simples ou gemelares de acordo com a categoria

Categoria	Parto simples	Parto gemelar	Total
Primíparas	22	3	25
Múltiparas	69	9	78
Teste estatístico		GL	P
Exato de Fisher		1	1,0000

**Tabela 13**

Ocorrência de partos normais ou auxiliados de acordo com a categoria

Categoria	Parto normal	Parto auxiliado	Total
Primíparas	18	7	25
Múltiparas	64	14	78
Teste estatístico		GL	P
Exato de Fisher		1	0,3916

**Tabela 14**

Ocorrência de partos normais e auxiliados de acordo com o tipo de parto, simples ou gemelar

Tipo de parto	Parto normal	Parto auxiliado	Total
Parto simples	74	17	91
Parto gemelar	8	4	12
Teste estatístico		GL	P
Exato de Fisher		1	0,2590

Ocorrência de partos normais e auxiliados de acordo com a categoria dos animais que tiveram partos simples

Categoria	Parto normal	Parto auxiliado	Total
Primípara com parto simples	18	4	22
Múltipara com parto simples	56	13	69
Teste estatístico		GL	P
Exato de Fisher		1	1,0000

Ocorrência de partos normais e auxiliados de acordo com a categoria dos animais que tiveram parto gemelar

Categoria	Parto normal	Parto auxiliado	Total
Primípara com parto gemelar	3	0	3
Multípara com parto gemelar	5	4	9
Teste estatístico		GL	P
Exato de Fisher		1	0,4909

**Tabela 15**

Nascimentos de machos e fêmeas de acordo com a categoria dos animais que tiveram partos normais ou auxiliados simples

Tipo de parto	Sexo da cria		Total
	Macho	Fêmea	
Parto normal simples	28	46	74
Parto auxiliado simples	8	9	17
Teste estatístico		GL	P
Exato de Fisher		1	0,5847

Nascimentos de machos e fêmeas de acordo com a categoria dos animais que tiveram parto normal simples

Categoria	Sexo da cria		Total
	Macho	Fêmea	
Primíparas	8	7	15
Multíparas	20	39	59
Teste estatístico		GL	P
Exato de Fisher		1	0,2337

Nascimentos de machos e fêmeas de acordo com a categoria dos animais que tiveram parto auxiliado simples

Categoria	Sexo da cria		Total
	Macho	Fêmea	
Primíparas	5	2	7
Multíparas	3	7	10
Teste estatístico		GL	P
Exato de Fisher		1	0,1534

**Tabela 16**

Ocorrência de retenção de placenta de acordo com a categoria

Categoria	Retenção de placenta		Total
	Presente	Ausente	
Primípara	5	20	25
Multípara	35	43	78
Teste estatístico		GL	P
Exato de Fisher		1	0,0338

**Tabela 17**

Score de condição corporal (ECC) ao parto de acordo com a ocorrência de retenção de placenta

Tratamento	Teste de Mann-Whitney	
	n	P
Animais sem retenção de placenta	63	0,2116
Animais com retenção de placenta	40	

Peso vivo ao parto de acordo com a ocorrência de retenção de placenta

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	P
Tratamento	1	349,9049	349,9049	0,046	*****
Resíduo	93	711984,6	7655,749		
Coefficiente de Variação	14,772				

**Tabela 18**

Escore de condição corporal (ECC) ao parto de acordo com a categoria dos animais e a ocorrência de retenção de placenta

Teste de Kruskal-Wallis			
Tratamento	n		P
Primíparas sem retenção de placenta	20		0,0999
Primíparas com retenção de placenta	5		
Múltiparas sem retenção de placenta	43		
Múltiparas com retenção de placenta	35		

Peso vivo ao parto de acordo com a categoria dos animais e a ocorrência de retenção de placenta

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	P
Tratamento	3	413470,1	137823,4	37,357	0,00000
Resíduo	98	361554,9	3689,336		
Coefficiente de Variação	10,167				

**Tabela 19**

Ocorrência de retenção de placenta de acordo com o tipo de parto, simples ou gemelar

Retenção de placenta			
Tipo de parto	Ausente	Presente	Total
Parto simples	61	30	91
Parto gemelar	2	10	12
Teste estatístico		GL	P
Exato de Fisher		1	0,0012

Ocorrência de retenção de placenta de acordo com a categoria dos animais que tiveram partos simples

Retenção de placenta			
Categoria	Ausente	Presente	Total
Primíparas com parto simples	20	2	22
Múltiparas com parto simples	41	28	69
Teste estatístico		GL	P
Exato de Fisher		1	0,0081

Ocorrência de retenção de placenta de acordo com a categoria dos animais que tiveram parto gemelar

Retenção de placenta			
Categoria	Ausente	Presente	Total
Primíparas com parto gemelar	1	2	3
Múltiparas com parto gemelar	1	8	9
Teste estatístico		GL	P
Exato de Fisher		1	0,4545

Ocorrência de partos simples e gemelares de acordo com a categoria dos animais que apresentaram retenção de placenta

Categoria	Tipo de parto		Total
	Simple	Gemelar	
Primíparas	3	2	5
Múltiparas	27	8	35
Teste estatístico		GL	P
Exato de Fisher		1	0,5835

**Tabela 20**

Ocorrência de retenção de placenta de acordo com o tipo de parto, normal ou auxiliado

Tipo de parto	Retenção de placenta		Total
	Ausente	Presente	
Parto normal	54	28	82
Parto auxiliado	9	12	21
Teste estatístico		GL	P
Exato de Fisher		1	0,0781

Ocorrência de retenção de placenta de acordo com a categoria dos animais que tiveram parto normal

Categoria	Retenção de placenta		Total
	Ausente	Presente	
Primípara com parto normal	15	3	18
Múltipara com parto normal	39	25	64
Teste estatístico		GL	P
Exato de Fisher		1	0,0959

Ocorrência de retenção de placenta de acordo com a categoria dos animais que tiveram parto auxiliado

Categoria	Retenção de placenta		Total
	Ausente	Presente	
Primípara com parto auxiliado	5	2	7
Múltipara com parto auxiliado	4	10	14
Teste estatístico		GL	P
Exato de Fisher		1	0,1588

Ocorrência de partos normais e auxiliados de acordo com a categoria dos animais que apresentaram retenção de placenta

Categoria	Partos		Total
	normais	auxiliados	
Primíparas com retenção de placenta	3	2	5
Múltiparas com retenção de placenta	25	10	35
Teste estatístico		GL	P
Exato de Fisher		1	0,6266

**Tabela 21**

Número de dias de adiantamento do parto de acordo com a ausência ou presença de retenção de placenta

Fonte de variação	GL	Análise de variância			P
		Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	
Tratamento	1	593,9009	593,9009	12,765	0,00056
Resíduo	98	4326,983	46,52670		
Coefficiente de Variação	70,130				

**Tabela 22**

Nascimentos de machos e fêmeas de acordo com a categoria dos animais que apresentaram retenção de placenta e parto simples

Categoria	Sexo da cria		Total
	Macho	Fêmea	
Primípara com retenção de placenta	2	1	3
Múltipara com retenção de placenta	12	15	27
Teste estatístico		GL	P
Exato de Fisher		1	0,5862

**Tabela 23**

Incidência de metrite puerperal aguda de acordo com a categoria

Categoria	Metrite puerperal aguda		Total
	Presente	Ausente	
Primípara	6	18	24
Múltipara	34	39	73
Teste estatístico		GL	P
Exato de Fisher		1	0,0934

**Tabela 24**

Incidência de metrite puerperal aguda de acordo com a ocorrência de retenção de placenta

	Metrite puerperal aguda		Total
	Presente	Ausente	
Animais com retenção de placenta	30	7	37
Animais sem retenção de placenta	10	50	60
Teste estatístico		GL	P
Exato de Fisher		1	<0,0001

**Tabela 25**

Incidência de metrite puerperal aguda de acordo com o tipo de parto, simples ou gemelar

Tipo de parto	Metrite puerperal aguda		Total
	Presente	Ausente	
Partos simples	29	56	85
Partos gêmeos	11	1	12
Teste estatístico		GL	P
Exato de Fisher		1	0,0002

**Tabela 26**

Incidência de metrite puerperal aguda de acordo com o tipo de parto, normal ou auxiliado

Tipo de parto	Metrite puerperal aguda		Total
	Presente	Ausente	
Partos normais	28	48	76
Partos auxiliados	12	9	21
Teste estatístico		GL	P
Exato de Fisher		1	0,1327

**Tabela 27**

Incidência de metrite até os 21 dias após o parto de acordo com a categoria dos animais

Metrite puerperal aguda e metrite clínica			
Categoria	Presente	Ausente	Total
Primípara	15	9	24
Múltipara	37	36	73
Teste estatístico		GL	P
Exato de Fisher		1	0,3532

Incidência de infecção uterina até 42 dias pós-parto de acordo com a categoria dos animais

Infecção uterina até 42 dias pós-parto			
Categoria	Presente	Ausente	Total
Primípara	18	6	24
Múltipara	44	29	73
Teste estatístico		GL	P
Exato de Fisher		1	0,2278

Incidência de infecção uterina até a primeira IA de acordo com a categoria dos animais

Infecção uterina até o primeiro serviço			
Categoria	Presente	Ausente	Total
Primípara	17	4	21
Múltipara	52	19	71
Teste estatístico		GL	P
Exato de Fisher		1	0,5752

**Tabela 28**

Período de involução uterina de acordo com a categoria

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	P
Tratamento	1	36,11575	36,11575	0,293	*****
Resíduo	89	10962,61	123,1754		
Coefficiente de Variação	33,113				

**Tabela 29**

Período de involução uterina de acordo com a ocorrência de retenção de placenta

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	P
Tratamento	1	54,40760	54,40760	0,442	*****
Resíduo	89	10944,32	122,9699		
Coefficiente de Variação	33,086				

**Tabela 30**

Período de involução uterina de acordo com a categoria e a ocorrência de retenção de placenta

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	P
Tratamento	3	146,9002	48,96674	0,395	*****
Resíduo	89	10907,71	123,9512		
Coefficiente de Variação	33,299				

**Tabela 31**

Período de involução uterina de acordo com a ocorrência de infecção uterina até 42 dias pós-parto

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	P
Tratamento	1	1564,952	1564,952	14,764	0,00023
Resíduo	89	9433,773	105,9975		
Coefficiente de Variação	30,718				

Período de involução uterina de acordo com a ocorrência de infecção uterina até a primeira IA

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	P
Tratamento	1	1034,459	1034,459	9,240	0,00311
Resíduo	89	9964,266	111,9580		
Coefficiente de Variação	31,570				

**Tabela 32**

Período de involução uterina de acordo com a categoria e a ocorrência de infecção uterina até 42 dias pós-parto

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	P
Tratamentos	3	1640,054	546,6846	5,082	0,00273
Resíduo	87	9358,671	107,5709		
Coefficiente de Variação	30,945				

Período de involução uterina de acordo com a categoria e a ocorrência de infecção uterina até a 1ª IA

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	P
Tratamentos	3	1110,915	370,3051	3,258	0,02537
Resíduo	87	9887,810	113,6530		
Coefficiente de Variação	31,808				

**Tabela 33**

Incidência de cistos ovarianos até o primeiro serviço de acordo com a categoria

Cisto ovariano até o primeiro serviço			
Categoria	Presente	Ausente	Total
Primíparas	5	16	21
Multíparas	24	47	71
Teste estatístico	GL		P
Exato de Fisher	1		0,6490

Intervalo do parto à detecção do primeiro cisto de acordo com a categoria

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	P
Tratamento	1	0,8177795E-01	0,8177795E-01	3,443	0,07447
Resíduo	27	0,6413096	0,2375221E-01		
Coefficiente de Variação	8,969				

**Tabela 34**

Incidência de cistos ovarianos até o primeiro serviço de acordo com a ocorrência de retenção de placenta

	Cisto ovariano até o primeiro serviço		
	Presente	Ausente	Total
Animais sem retenção de placenta	16	40	56
Animais com retenção de placenta	13	23	36
Teste estatístico		GL	P
Exato de Fisher		1	0,6490

Intervalo do parto à detecção do primeiro cisto de acordo com a ocorrência de retenção de placenta

Fonte de variação	GL	Análise de variância			
		Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	P
Tratamento	1	0,8261358E-02	0,8261358E-02	0,312	*****
Resíduo	27	0,7148262	0,2647505E-01		
Coefficiente de Variação	9,469				

**Tabela 35**

Intervalo do parto à detecção do primeiro cisto de acordo com a categoria e a ocorrência de retenção de placenta

Fonte de variação	GL	Análise de variância			
		Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	P
Tratamento	3	0,1332099	0,4440328E-01	1,882	0,15849
Resíduo	25	0,5898777	0,2359511E-01		
Coefficiente de Variação	8,939				

**Tabela 36**

Incidência de cistos ovarianos de acordo com a ocorrência de infecção uterina até 42 dias pós-parto

	Cisto ovariano até o primeiro serviço		
	Presente	Ausente	Total
Animais sem infecção uterina até 42 dias pós-parto	10	13	23
Animais com infecção uterina até 42 dias pós-parto	19	50	69
Teste estatístico		GL	P
Exato de Fisher		1	0,1965

Intervalo do parto à detecção do primeiro cisto de acordo com a ocorrência de infecção uterina até 42 dias pós-parto

Fonte de variação	GL	Análise de variância			
		Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	P
Tratamento	1	0,4484522E-01	0,4484522E-01	1,785	0,19266
Resíduo	27	0,6782424	0,2512009E-01		
Coefficiente de Variação	9,223				

Incidência de cistos ovarianos de acordo com a ocorrência de infecção uterina até o primeiro serviço

	Cisto ovariano até o primeiro serviço		
	Presente	Ausente	Total
Animais sem infecção uterina até o primeiro serviço	5	17	22
Animais com infecção uterina até o primeiro serviço	24	45	69
Teste estatístico		GL	P
Exato de Fisher		1	0,4311



Intervalo do parto à detecção do primeiro cisto de acordo com a ocorrência de infecção uterina até o primeiro serviço

Fonte de variação	GL	Análise de variância			
		Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	P
Tratamento	1	0,1807069E-01	0,1807069E-01	0,692	*****
Resíduo	27	0,7050169	0,2611174E-01		
Coeficiente de Variação	9,404				

**Tabela 37**

Intervalo do parto à detecção do primeiro cisto de acordo com a categoria e a ocorrência de infecção uterina até 42 dias pós-parto

Fonte de variação	GL	Análise de variância			
		Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	P
Tratamento	2	0,9717205E-01	0,4858602E-01	2,018	0,15319
Resíduo	26	0,6259155	0,2407367E-01		
Coeficiente de Variação	9,029				

Intervalo do parto à detecção do primeiro cisto de acordo com a categoria e a ocorrência de infecção uterina até o primeiro serviço

Fonte de variação	GL	Análise de variância			
		Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	P
Tratamento	2	0,8763474E-01	0,4381737E-01	1,793	0,18647
Resíduo	26	0,6354528	0,2444049E-01		
Coeficiente de Variação	9,098				

**Tabela 38**

Intervalo do parto ao primeiro estro de acordo com a categoria

Fonte de variação	GL	Análise de variância			
		Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	P
Tratamento	1	155,7158	155,7158	0,250	*****
Resíduo	89	55461,01	623,1574		
Coeficiente de Variação	50,888				

**Tabela 39**

Intervalo do parto ao primeiro estro de acordo com a ocorrência de retenção de placenta

Fonte de variação	GL	Análise de variância			
		Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	P
Tratamento	1	1589,642	1589,642	2,619	0,10915
Resíduo	89	54027,08	607,0459		
Coeficiente de Variação	50,226				

**Tabela 40**

Intervalo do parto ao primeiro estro de acordo com a categoria e a ocorrência de retenção de placenta

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	P
Tratamento	3	4066,230	1355,410	1,997	0,12027
Resíduo	87	59731,60	678,7681		
Coefficiente de Variação	52,061				

**Tabela 41**

Intervalo do parto ao primeiro estro de acordo com a ocorrência de infecção uterina até 42 dias pós-parto

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	P
Tratamento	1	277,4472	277,4472	0,446	*****
Resíduo	89	55339,28	621,7896		
Coefficiente de Variação	50,832				

Intervalo do parto ao primeiro estro de acordo com a ocorrência de infecção uterina até a primeira IA

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	P
Tratamento	1	70,15281	70,15281	0,112	*****
Resíduo	89	55546,57	624,1188		
Coefficiente de Variação	50,927				

**Tabela 42**

Intervalo do parto ao primeiro estro de acordo com a categoria e a ocorrência de inf. uterina até 42 dpp

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	P
Tratamento	3	906,8919	302,2973	0,481	*****
Resíduo	87	54709,83	628,8487		
Coefficiente de Variação	51,120				

Intervalo do parto ao primeiro estro de acordo com a categoria e a ocorrência de infecção uterina até a primeira IA

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	P
Tratamento	3	274,1228	91,37428	0,144	*****
Resíduo	87	55342,60	636,1219		
Coefficiente de Variação	51,415				

**Tabela 43**

Intervalo do parto à detecção do primeiro corpo lúteo de acordo com a categoria

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	P
Tratamento	1	1879,704	1879,704	4,252	0,04257
Resíduo	77	34037,33	442,0433		
Coefficiente de Variação	48,228				

**Tabela 44**

Intervalo do parto à detecção do primeiro corpo lúteo de acordo com a ocorrência de retenção de placenta

Fonte de variação	GL	Análise de variância			
		Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	P
Tratamento	1	2441,677	2441,677	5,616	0,02029
Resíduo	77	33475,36	434,7450		
Coefficiente de Variação	47,828				

**Tabela 45**

Intervalo do parto à detecção do primeiro corpo lúteo de acordo com a categoria e a ocorrência de retenção de placenta

Fonte de variação	GL	Análise de variância			
		Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	P
Tratamento	3	4431,174	1477,058	2,786	0,04639
Resíduo	75	40286,78	530,0892		
Coefficiente de Variação	51,421				

**Tabela 46**

Intervalo do parto à detecção do primeiro corpo lúteo de acordo com a ocorrência de infecção uterina até 42 dias pós-parto

Fonte de variação	GL	Análise de variância			
		Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	P
Tratamento	1	3973,421	3973,421	9,578	0,00274
Resíduo	77	31943,62	414,8522		
Coefficiente de Variação	46,721				

Intervalo do parto à detecção do primeiro corpo lúteo de acordo com a ocorrência de infecção uterina até a 1ª IA

Fonte de variação	GL	Análise de variância			
		Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	P
Tratamento	1	1391,930	1391,930	3,104	0,08205
Resíduo	77	34525,11	448,3780		
Coefficiente de Variação	48,572				

**Tabela 47**

Intervalo do parto à detecção do primeiro corpo lúteo de acordo com a categoria e a ocorrência de infecção uterina até 42 dias pós-parto

Fonte de variação	GL	Análise de variância			
		Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	P
Tratamento	3	5106,606	1702,202	4,144	0,00899
Resíduo	75	30810,43	410,8058		
Coefficiente de Variação	46,492				

Intervalo do parto à detecção do primeiro corpo lúteo de acordo com a categoria e a ocorrência de infecção uterina até a 1ª IA

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	P
Tratamento	3	3075,102	1025,034	2,341	0,08006
Resíduo	75	32841,94	437,8925		
Coeficiente de Variação	48,001				

**Tabela 48**

Intervalo do parto ao primeiro serviço de acordo com a categoria

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	P
Tratamento	1	0,1112759E-02	0,1112759E-02	0,047	*****
Resíduo	89	2,121501	0,2383708E-01		
Coeficiente de Variação	8,583				

**Tabela 49**

Intervalo do parto ao primeiro serviço de acordo com a ocorrência de retenção de placenta

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	P
Tratamento	1	0,1082036E-01	0,1082036E-01	0,456	*****
Resíduo	89	2,111793	0,2372801E-01		
Coeficiente de Variação	8,323				

**Tabela 50**

Intervalo do parto ao primeiro serviço de acordo com a categoria e a ocorrência de retenção de placenta

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	P
Tratamento	3	0,1810248E-01	0,6034161E-02	0,238	*****
Resíduo	87	2,229846	0,2533916E-01		
Coeficiente de Variação	8,583				

**Tabela 51**

Intervalo do parto ao primeiro serviço de acordo com a ocorrência de inf. uterina até 42 dias pós-parto

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	P
Tratamento	1	0,1465682E-01	0,1465682E-01	0,577	*****
Resíduo	89	2,261435	0,2540938E-01		
Coeficiente de Variação	8,600				

Intervalo do parto ao primeiro serviço de acordo com a ocorrência de infecção uterina até a primeira IA

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	P
Tratamento	1	0,1141282	0,1141282	5,057	0,02699
Resíduo	89	2,008485	0,2256725E-01		
Coeficiente de Variação	8,116				

**Tabela 52**

Intervalo do parto ao primeiro serviço de acordo com a categoria e a ocorrência de infecção uterina até 42 dias pós-parto

Fonte de variação	GL	Análise de variância			
		Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	P
Tratamento	3	0,8427821E-01	0,2809274E-01	1,199	0,31499
Resíduo	87	2,038335	0,2342914E-01		
Coefficiente de Variação	8,270				

Intervalo do parto ao 1º serviço de acordo com a categoria e a ocorrência de infecção uterina até a 1ª IA

Fonte de variação	GL	Análise de variância			
		Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	P
Tratamento	3	0,1216970	0,4056568E-01	1,764	0,16004
Resíduo	87	2,000916	0,2299904E-01		
Coefficiente de Variação	8,194				

**Item 3.11.5**

Número de serviços por concepção de acordo com a ocorrência de retenção de placenta

Fonte de variação	GL	Análise de variância			
		Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	P
Tratamento	1	5,333520	5,333520	7,566	0,00866
Resíduo	43	30,31092	0,7049052		
Coefficiente de Variação	43,932				

**Item 3.11.6.**

Período de serviço de acordo com a ocorrência de retenção de placenta

Fonte de variação	GL	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	P
Tratamento	1	11976,86	11976,86	8,464	0,00571
Resíduo	43	60844,34	1414,985		
Coefficiente de Variação	36,333				

**Tabela 53**

Produção de leite durante o puerpério de acordo com a ocorrência de retenção de placenta

Fonte de variação	GL	Análise de variância			
		Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	P
Tratamento	1	245,1737	245,1737	4,685	0,03294
Resíduo	95	4971,863	52,33540		
Coefficiente de Variação	25,971				

**Tabela 54**

Produção de leite de acordo com a ocorrência de infecção uterina até 42 dias após o parto

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	P
Tratamento	1	481,1988	481,1988	9,640	0,00251
Resíduo	95	4741,997	49,91576		
Coefficiente de Variação	25,369				

**Tabela 55**

Produção de leite de acordo com a ocorrência de retenção de placenta e inf. uterina até 42 dias pós-parto

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	P
Tratamento	3	550,8897	183,6299	3,747	0,01367
Resíduo	93	4557,378	49,00406		
Coefficiente de Variação	25,029				

**CAPÍTULO II****Tabela 58**Parâmetros clínicos e reprodutivos dos animais selecionados para avaliação de TLRs e  $\beta$ -defensina 5

Escore de condição corporal (ECC)

Teste de Mann-Whitney		
Tratamento	n	P
ECC grupo 1	10	0,4359
ECC grupo 2	10	

Peso vivo ao parto

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	P
Tratamento	1	4678,471	4678,471	1,061	0,31934
Resíduo	15	66149,76	4409,984		
Coefficiente de Variação	10,483				

Temperatura retal no momento da biópsia

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	P
Tratamento	1	0,1862827	0,1862827	0,597	*****
Resíduo	15	4,684306	0,3122870		
Coefficiente de Variação	1,425				

Involução uterina

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	P
Tratamento	1	154,5956	154,5956	2,485	0,0234
Resíduo	15	675,8750	45,05833		
Coefficiente de Variação	23,007				

Intervalo do parto à detecção do primeiro corpo lúteo

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	P
Tratamento	1	2709,184	2709,184	16,724	0,00097
Resíduo	15	2429,875	161,9917		
Coeficiente de Variação		30,866			

Intervalo do parto ao primeiro serviço

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F	P
Tratamento	1	2372,235	2372,235	4,688	0,04690
Resíduo	15	7590,000	506,0000		
Coeficiente de Variação		34,358			

**Figura 24**

Expressão gênica dos receptores tipo *toll* (TLR) 1/6, 2, 4 e 5, e da  $\beta$ -defensina 5, no endométrio de vacas da raça holandesa, entre seis e 12 horas pós-parto

Teste de Mann-Whitney		
Tratamento 1	<i>n</i>	P
Delta Ct TLR1/6 grupo 1 (controle)	10	0,0892
Delta Ct TLR1/6 grupo 2 (problema)	10	
Tratamento 2	<i>n</i>	P
Delta Ct TLR2 grupo 1 (controle)	10	0,1431
Delta Ct TLR2 grupo 2 (problema)	10	
Tratamento 3	<i>n</i>	P
Delta Ct TLR4 grupo 1 (controle)	10	0,4813
Delta Ct TLR4 grupo 2 (problema)	10	
Tratamento 4	<i>n</i>	P
Delta Ct TLR5 grupo 1 (controle)	10	0,9397
Delta Ct TLR5 grupo 2 (problema)	10	
Tratamento 5	<i>n</i>	P
Delta Ct $\beta$ -defensina 5 grupo 1	10	0,4359
Delta Ct $\beta$ -defensina 5 grupo 2	10	

**Tabela 59**

Correlações dos níveis de expressão gênica (valores normalizados de Ct) de receptores tipo *toll* (TLR) e  $\beta$ -defensina 5 (BDEF5), com parâmetros clínicos e reprodutivos

Valores de P, níveis de significância					
Grupo 1	TLR1/6	TLR2	TLR4	TLR5	BDEF5
Escore de condição corporal	0,083	0,162	0,043	0,008	0,263
Peso vivo ao parto	0,351	0,089	0,344	0,249	0,095
Temperatura retal no momento da biópsia	0,273	0,343	0,099	0,242	0,485
Involução uterina	0,399	0,456	0,021	0,097	0,104
Intervalo do parto à detecção do 1º corpo lúteo	0,291	0,133	0,613	0,359	0,948
Intervalo do parto ao primeiro serviço	0,391	0,131	0,236	0,247	0,297
Grupo 2	TLR6	TLR2	TLR4	TLR5	BDEF5
Escore de condição corporal	0,404	0,361	0,268	0,184	0,13
Peso vivo ao parto	0,435	0,493	0,325	0,464	0,159
Temperatura retal no momento da biópsia	0,077	0,181	0,108	0,024	0,406
Involução uterina	0,305	0,042	0,030	0,172	0,162
Intervalo do parto à detecção do 1º corpo lúteo	0,793	0,582	0,665	0,935	0,840
Intervalo do parto ao primeiro serviço	0,312	0,312	0,493	0,365	0,045

**Tabela 60**

Correlações entre os níveis de expressão gênica (valores normalizados de Ct) de receptores tipo *toll* (TLR) e  $\beta$ -defensina 5 (BDEF5)

Valores de P, níveis de significância				
Grupo 1	TLR2	TLR4	TLR5	BDEF5
TLR1/6	0,045	0,112	0,006	0,096
TLR2		0,036	0,058	0,196
TLR4			0,031	0,061
TLR5				0,240
Grupo 2	TLR2	TLR4	TLR5	BDEF5
TLR1/6	0,325	0,033	0,066	0,287
TLR2		0,053	0,196	0,312
TLR4			0,018	0,105
TLR5				0,262



