

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E ENGENHARIAS - CCAE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

MARIANA PAGANINI LOURENCINI

**INFLUÊNCIA DE INFECÇÕES UTERINAS E MASTITE NOS ÍNDICES
REPRODUTIVOS DE VACAS LEITEIRAS CRUZADAS GIR X HOLANDÊS NO
PERIPARTO**

ALEGRE-ES

2018

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Setorial Sul, Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

L892i Lourencini, Mariana Paganini, 1994
Influência de infecções uterinas e mastite nos índices reprodutivos de vacas leiteiras cruzadas gir X holândes no periparto / Mariana Paganini Lourencini. – 2018.
52 f. : il.

Orientador: Carla Braga Martins.
Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias.

1. Bovinos - Doenças. 2. Bovino - Infecção. 3. Mastite. 4. Reprodução animal. I. Martins, Carla Borges. II. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Agrárias e Engenharias. III. Título.

CDU: 619

Bibliotecário: Felício Gomes Corteletti – CRB-6 ES-000646/O

MARIANA PAGANINI LOURENCINI

**INFLUÊNCIA DE INFECÇÕES UTERINAS E MASTITE NOS ÍNDICES
REPRODUTIVOS DE VACAS LEITEIRAS CRUZADAS GIR X HOLANDÊS NO
PERIPARTO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito final para a obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias, linha de pesquisa em Nutrição e Reprodução Animal.
Orientadora: Profa. Dra. Carla Braga Martins.

ALEGRE-ES
2018

MARIANA PAGANINI LOURENCINI

**INFLUÊNCIA DE INFECÇÕES UTERINAS E MASTITE NOS ÍNDICES
REPRODUTIVOS DE VACAS LEITEIRAS CRUZADAS GIR X HOLANDÊS NO
PERIPARTO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito final para obtenção do Título de Mestre em Ciências Veterinárias, Linha de Pesquisa em Nutrição e Reprodução Animal.

Aprovado em 20 de abril 2018.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dra. Carla Braga Martins
Universidade Federal do Espírito Santo
Orientadora

Prof. Dr. José de Oliveira Carvalho
Universidade Federal do Espírito Santo

Prof. Dra. Graziela Barioni
Universidade Federal do Espírito Santo

Ao meu avô Jaime Aldino Paganini, *in memoriam*.

AGRADECIMENTOS

A Deus, o grande autor e Mestre de todas as obras e criaturas. Sem Deus e seu Santo Espírito para me iluminar e dar paciência não teria chegado até aqui.

A minha Família e amigos por todo apoio e compreensão.

Ao meu marido por estar ao meu lado em todos os momentos.

A minha amiga Jacymara, por ser parceira em todos os momentos deste experimento.

Aos Médicos Veterinários do Hospital Veterinário da Universidade Federal do Espírito Santo, obrigada a cada um, pela contribuição.

A professora Ana Paula Madureira por ceder seu tempo para me ajudar nas análises e resultados.

A professora Graziela Barioni por sempre dar boas idéias e estar disposta a ouvir e ajudar.

Ao professor Dirlei Molinari Donatele pela paciência com minhas dúvidas e pela ajuda e dicas no experimento.

Aos proprietários dos animais acompanhados durante o experimento e seus funcionários, por abrirem as portas e me permitir aprender ainda mais.

A minha orientadora Carla Braga Martins, pela dedicação à pesquisa.

A Universidade Federal do Espírito Santo e ao Centro de Ciências Agrárias e Engenharias.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias pela oportunidade de realização do mestrado e todos os seus professores e funcionários.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Espírito Santo (FAPES) por subsidiar esse estudo com bolsa de estudos e recursos para material de apoio.

A todos não citados aqui, que de alguma forma contribuíram, muito obrigada.

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê.”

Arthur Schopenhauer

RESUMO

PAGANINI LOURENCINI, MARIANA. **Influência de infecções uterinas e mastite nos índices reprodutivos de vacas leiteiras cruzadas Gir x Holandês no periparto**. 2018. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES, 2018.

Infecções uterinas e mastite são afecções que possuem em comum a invasão e o crescimento de microrganismos durante o curso da doença, dificultando sua resolução e acarretando em perdas tanto reprodutivas, quanto na produção. Neste estudo objetivou-se verificar a influência de infecções uterinas e mastite nos índices reprodutivos: tempo para involução uterina; retorno à atividade ovariana luteal cíclica (RAOLC); números de inseminações artificiais (IA) e taxa de prenhez em vacas leiteiras primíparas (P) e múltíparas (M). Foram utilizadas 55 vacas cruzadas Gir x Holandês de aptidão leiteira em idade reprodutiva, agrupadas de acordo com a categoria em, Primíparas (n=20) e Múltíparas (n=35) e distribuídas em quatro grupos quanto ao diagnóstico de afecções como sadias; com infecções uterinas; com mastites; e com as duas afecções concomitantes (infecção uterina e mastite). As fêmeas foram avaliadas com intervalo de 15 dias, a partir de 15 dias após o parto (dpp), até 90 dpp, por meio de exames físico, ginecológico e teste de CMT. Para comparar as diferentes categorias nos diferentes momentos e os grupos de afecções, foram realizados testes de Mann-Whitney e para verificar influência das afecções nos índices reprodutivos foi realizado o cálculo do coeficiente de correlação de Spearman, todos a um nível de significância de 5% ($p < 0,05$). Não houve influência da presença de infecções uterinas e mastites nos índices reprodutivos em vacas múltíparas. A presença de mastite e das duas afecções concomitantes atrasou o retorno a atividade ovariana luteal cíclica em vacas primíparas ($p = 0,04$ e $0,02$, respectivamente). Observou-se que 83,54% (46/55) das vacas tiveram RAOLC até 90 dpp. Foram realizadas 20 inseminações em 15 vacas (3 P e 12 M). A taxa de prenhez no estudo foi de 28,3% (13/46). Concluiu-se que a presença de infecções uterinas e mastites não influenciaram nos índices reprodutivos.

Palavras-chave: bovinos, infecção uterina, mastite

ABSTRACT

PAGANINI LOURENCINI, MARIANA. **Influence of uterine infections and mastitis on the reproductive indexes of crossbred Gir x Holstein cows in the peripartum.** 2018. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES, 2018.

Uterine infections and mastitis are affections that have in common the invasion and growth of microorganisms during the course of the disease, making it difficult to resolve and leading to both reproductive and production losses. This study proposed to verify the influence of uterine infections and mastitis on the reproductive indexes: time for uterine involution; return to cyclic luteal ovarian activity (RAOLC); numbers of artificial inseminations (AI) and pregnancy rate in primiparous and multiparous dairy cows. Fifty-five crossbred Gir x Holstein dairy cows of reproductive age, grouped according to the category in Primiparous (n = 20) and Multiparous (n = 35) were used and distributed into four groups according to the diagnosis of affections as healthy; with uterine infections; with mastitis; and with the two concomitant affections (uterine infection and mastitis). Females were evaluated at intervals of 15 days, from 15 days postpartum (dpp), to 90 dpp, by means of physical, gynecological and CMT tests. Mann-Whitney tests were performed to compare the different categories at different times and groups of affections, and to verify the influence of affections on the reproductive indexes, the Spearman correlation coefficient was calculated, all at a significance level of 5% ($p < 0.05$). There was no influence of the presence of uterine infections and mastitis in the reproductive indexes in multiparous cows. There was no influence of the presence of uterine infections and mastitis in the reproductive indexes in multiparous cows. The presence of mastitis and the two concomitant conditions delayed the return to cyclic luteal ovarian activity in primiparous cows ($p = 0.04$ and 0.02 , respectively). It was observed that 83.54% (46/55) cows had RAOLC up to 90 dpp. Twenty inseminations were performed on 15 cows (3 P and 12 M). The pregnancy rate in the study was 28.3% (13/46). It was concluded that the presence of uterine infections and mastitis did not influence the reproductive indexes.

Key-words: bovine, mastitis, uterine infection

LISTA DE SIGLAS

AOLC – Atividade Ovariana Luteal Cíclica

BPM – Batimentos Por Minuto

CCS – Contagem de Células Somáticas

CEUA – Comitê de Ética no Uso de Animais

CL – Corpo Lúteo

CMT – California Mastite Teste

DG – Diagnóstico de Gestação

DPP – dias pós-parto

ECC – Escore de Condição Corporal

FSH – Hormônio Folículo Estimulante

GnRH – Hormônio Liberador de Gonadotrofina

IA – Inseminação Artificial

IFN – Interferon

IL - Interleucina

LH – Hormônio Luteinizante

MR – Movimento Ruminal

MPM - Movimentos Por Minuto

PGF2- α - Prostaglandina F2 - α

PMN – Polimorfonucleares

RAOLC – Retorno à atividade ovariana luteal cíclica

TNF- Fator de Necrose Tumoral

WMT – Winsconsin Mastite Teste

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1. Fisiologia do Puerpério.....	13
2.1.1. Delivramento.....	13
2.1.2. Involução Uterina	14
2.1.3. Restabelecimento da Atividade Ovariana	16
2.2. Infecção Uterina e suas Classificações.....	17
2.2.1. Métodos Diagnósticos para Infecção Uterina.....	19
2.2.2. Infecção Uterina e sua Influência na Eficiência Reprodutiva	21
2.3. Mastite e suas Classificações	22
2.3.1. Métodos Diagnósticos para Mastite Bovina	23
2.4. Ocorrência de Mastite e sua Influência na Eficiência Reprodutiva.....	24
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	26
3.1. Obtenção dos animais e propriedades.....	26
3.2. Exame Físico	27
3.3. Exame Ginecológico	27
3.4. Citologia endometrial	28
3.5. Diagnóstico de Mastite.....	28
3.6. Análise estatística	29
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
4.1. Influência da Infecção Uterina e Mastite nos Índices Reprodutivos	30
5. CONCLUSÕES	43
6. REFERENCIAS	44

1. INTRODUÇÃO

A produção leiteira está intimamente relacionada com os parâmetros de eficiência reprodutiva das fêmeas bovinas e o desempenho reprodutivo é o fator de maior relevância em um sistema de produção (CORASSIN, 2004).

Desta forma, eficiência reprodutiva é o parâmetro que, isoladamente, mais afeta a produtividade e a lucratividade de um rebanho. Nesse contexto, a saúde da vaca no período periparto é um dos determinantes do sucesso reprodutivo (CORASSIN, 2004; SANTOS et al., 2010).

Entretanto, as fazendas de leite têm vivenciado um contraste entre o aumento da produção leiteira e a redução da fertilidade em vacas de alta produção (SANTOS et al., 2010).

Esse contraste provavelmente ocorre devido à seleção genética, que focou em produção de leite, visto que, a produção é negativamente correlacionada com a duração do cio. Segundo Diskin (2008), vacas de alta produção apresentam em torno de 12 horas a menos de expressão de estro em comparação com vacas de média lactação que apresentam duração de estro de 14,7 horas em média.

Dessa forma, um grande desafio tem sido imposto aos pesquisadores que precisam melhorar os índices reprodutivos de vacas leiteiras com a manutenção ou elevação da produção de leite. Uma boa performance reprodutiva diminui o período para uma vaca primípara se tornar múltípara, aumenta a produção leiteira e a produtividade do rebanho (DISKIN, 2008).

Nesse contexto, distúrbios relacionados ao parto e doenças que afetam o trato reprodutivo, como infecções uterinas, contribuem significativamente para a diminuição da fertilidade. Santos et al. (2010) observaram que vacas que apresentaram distocia, metrite e endometrite tiveram atraso no retorno à ciclicidade, diminuição da taxa de prenhez por inseminação e aumento da perda gestacional, quando comparadas com vacas saudáveis.

O risco de infecção uterina aumenta em vacas com partos gemelares, natimortos, abortamentos, distocia e retenção de placenta. No entanto, a contaminação uterina no parto ou pós-parto é comum, pois, de 80 a 100% dos animais apresentam bactérias no lúmen uterino nas primeiras duas semanas pós-

parto, sendo capazes de debelar a infecção sem a necessidade de tratamento (SHELDON et al., 2006; LEBLANC, 2008).

Sheldon et al. (2009) observaram que vacas com doenças reprodutivas no pós-parto apresentaram maior intervalo parto/concepção e menores índices de prenhez. Importante ressaltar ainda que, vacas que produzem mais leite são mais predispostas a apresentar imunodeficiência, sendo mais susceptíveis a enfermidades, principalmente infecções uterinas e a mastite (INGVARTSEN; DEWHURST; FRIGGENS, 2003; SORDILLO; AITKEN, 2009).

A mastite é a doença de maior importância nos rebanhos leiteiros e ocorre em média em 20 a 40% das fêmeas em lactação, provocando as maiores perdas econômicas para a indústria láctea. Na grande maioria das vezes são mensurados apenas os prejuízos diretos como a redução da produção de leite, descarte de leite e de animais, custo com medicamentos e funcionários. Entretanto, existem ainda os prejuízos indiretos, que são aqueles associados aos efeitos negativos que a mastite é capaz de provocar na fertilidade das fêmeas (NIELSEN et al., 2009; RAMÍREZ et al., 2014).

Estudos têm demonstrado que vacas com mastite apresentam atraso no início do estro e maior número de serviços por concepção. Vacas que apresentaram mastite antes da primeira inseminação artificial (IA) obtiveram maior intervalo do parto à primeira IA comparadas com vacas saudáveis. Ainda, vacas com mastite clínica têm menor taxa de concepção e maior perda gestacional do que vacas sem sinais clínicos de mastite (AHMADZADEH et al., 2009; CHEBEL et al., 2004).

Essa redução da eficiência reprodutiva não está relacionada somente à forma clínica da mastite, mas também à subclínica (SCHRICK et al., 2001). Foram relatadas menor pulsatilidade de LH, com consequente redução na produção de estradiol, menor expressão de estro, atraso na ovulação e alteração da sensibilidade endometrial à prostaglandina e ocitocina em vacas com mastite subclínica (Rahman et al., 2012).

Com isso, se torna importante implantar um programa de controle de mastite para reduzir os reflexos negativos na reprodução das fêmeas. Portanto, é necessário trabalhar a reprodução e a sanidade da glândula mamária simultaneamente para obter sinergismo entre as ações e garantir adequado desempenho produtivo nas propriedades leiteiras.

Sabe-se ainda que, infecções uterinas e a mastite são afecções que possuem em comum, na maioria dos casos, a invasão e o crescimento de microrganismos durante o curso da doença, dificultando sua resolução e acarretando em perdas tanto reprodutivas, quanto na produção (LEBLANC, 2008).

Considerando a importância dessas afecções, este estudo objetivou verificar a influência de infecções uterinas e mastite nos índices reprodutivos: tempo para involução uterina, retorno à atividade ovariana luteal cíclica, número de inseminações artificiais e taxa de prenhez em vacas leiteiras primíparas e multíparas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Fisiologia do Puerpério

O puerpério é definido como o período que se estende desde o nascimento da cria até que o organismo materno retorne à condição normal de não-prenhe. Considerando atualmente a realização de coberturas precoces em vacas, o puerpério pode ser melhor definido como o intervalo entre o parto e a ocorrência do primeiro estro em que se possa ocorrer nova concepção (HAFEZ, HAFEZ, 2004).

Durante esse período ocorrem processos fisiológicos de modificações no trato reprodutivo da fêmea, após o parto, com o intuito de retornar as estruturas reprodutivas ao seu formato, volume, tamanho e posição normais. Com isso, a fêmea adquire nova capacidade reprodutiva com início de um novo ciclo reprodutivo e futura gestação (MORAES et al., 2014; VIEIRA, 2014).

O período puerperal pode variar quanto à duração, sendo influenciado por fatores genéticos, nutricionais, idade animal, distúrbios no parto ou pós-parto e doenças associadas (MORAES et al., 2014).

Conforme descrito por Emerick et al. (2009), para que uma fêmea possa estabelecer uma nova gestação é necessário que ocorra alterações fisiológicas importantes, como a limpeza e a involução uterina, acompanhadas do retorno à ciclicidade.

Prestes e Landim-Alvarenga (2017) relataram que o puerpério fisiológico ocorre em duas fases: na eliminação das secundinas ou *delivramento* e na fase do puerpério propriamente dito com a involução uterina e preparação do útero para uma nova gestação.

2.1.1. Delivramento

Este período compreende o final do parto até a eliminação das membranas fetais. Dois mecanismos estão ligados à eliminação das secundinas: o processo de contração miometrial e a perda da aderência materno-fetal. A duração média

considerada fisiológica para essa etapa é de seis a doze horas após o parto (HAFEZ, HAFEZ, 2004).

Em consequência das contrações uterinas, as fibras musculares lisas do miométrio diminuem de comprimento, observando-se um espessamento da parede do útero originando numerosas pregas na mucosa uterina. Com isso, o útero apresenta-se com metade do volume atingido durante o parto (HAFEZ, HAFEZ, 2004; PRESTES; LANDIM-ALVARENGA, 2017).

A contração do órgão e esvaziamento dos vasos carunculares resulta em condições alternadas de isquemia e hiperemia sobre as vilosidades coriônicas, culminando com a perda da aderência placentária e parto (PRESTES; LANDIM-ALVARENGA, 2017).

Posteriormente, por meio da ação de antígenos da classe MHC-1, o sistema imune maternal acaba atacando e rejeitando o tecido placentário, induzidos pela ação do cortisol. A separação placentária ocorre devido à resposta do sistema imune maternal e pela produção de fatores ativadores dos neutrófilos dentro do epitélio caruncular (EMERICK et al., 2009; MORAES et al., 2014).

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 JUNIOR; MARTINS; BORGES, 2011).

2.1.2. Involução Uterina

A involução uterina é necessária antes de a vaca poder conceber novamente. Essa restauração ao tamanho normal vazio e função após o parto depende de contrações da musculatura uterina, regeneração endometrial e eliminação de agentes bacterianos (PRESTES; LANDIM-ALVARENGA, 2017).

A involução inicial do útero é relativamente lenta e se deve à vasoconstrição e contrações miométriais 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 (ARAUJO et al., 1974; MORAES et al., 2014; PRESTES; LANDIM-ALVARENGA, 2017).

Esse tempo para involução pode variar quanto à raça, sendo de 30 a 60 dias em taurinos e de 10 a 120 dias em zebuínos (PRESTES; LANDIM-ALVARENGA, 2017).

O processo de involução também consiste na ação de enzimas proteolíticas liberadas pelos lisossomos responsáveis pela digestão do tecido caruncular necrosado que, juntamente com restos de fluidos fetais e sangue formam o lóquio na primeira semana pós-parto (EMERICK et al., 2009; HAFEZ; HAFEZ, 2004).

O lóquio é eliminado por até 30 dias após o parto sendo que, até o oitavo dia, há eliminação de cerca de 500 mL da secreção, e quanto mais clara for sua coloração, melhor o diagnóstico reprodutivo (EMERICK et al., 2009).

Com o desaparecimento do lóquio, considera-se que o tecido endometrial está totalmente restabelecido (EMERICK et al., 2009; PRESTES; LANDIM-ALVARENGA, 2017).

Dentre os fatores envolvidos na eliminação do lóquio e redução do diâmetro uterino, destaca-se a liberação de prostaglandinas (PGF2- α) (BALL; PETERS, 2006).

A concentração circulante de PGF2- α é alta durante os primeiros sete dias após o parto, período que coincide com a maior velocidade da involução uterina. Além disso, em vacas que apresentam retenção de placenta e endometrites observa-se aumento da liberação de PGF2- α pelo endométrio, visando conter a infecção (HAFEZ; HAFEZ, 2004; LEWIS, 2004).

Estudos afirmam que animais com elevada concentração de PGF2- α no pós-parto possuem menor período de involução uterina e menor persistência da colonização bacteriana. Dado seu reconhecido efeito, formulações comerciais desse hormônio são comumente empregadas com sucesso nos tratamentos de vacas com problemas uterinos (BERISHA; SCHAMS, 2005; EMERICK et al., 2009).

Este processo de involução uterina pode ser influenciado negativamente pela inadequada nutrição durante o período seco e no pós-parto, resultando em distúrbios reprodutivos como retenção de placenta e metrite puerperal (ROCHE, 2006).

Desta forma, a involução uterina é mais rápida em animais que amamentam e em primíparas e mais lenta após distocia, retenção placentária e em múltiparas (BALL; PETERS, 2006; PRESTES; LANDIM-ALVARENGA, 2017).

2.1.3. Restabelecimento da Atividade Ovariana

O crescimento folicular ovariano tem retorno logo após o parto com a regressão do corpo lúteo da gestação anterior (PRESTES; LANDIM-ALVARENGA, 2017).

A ciclicidade reprodutiva depende das interações endócrinas, parácrinas e autócrinas. O hipotálamo e a hipófise são os principais responsáveis pela secreção dos hormônios que deverão promover o recrutamento, crescimento, diferenciação, seleção, ovulação ou atresia dos folículos (EMERICK et al., 2009).

O retorno à atividade ovariana no pós-parto normalmente culmina com a primeira ovulação silenciosa e de ciclo curto (até 10 dias) devido à baixa disponibilidade do hormônio luteinizante (LH) na hipófise anterior, possivelmente devido a alta concentração de estrógeno circulante no final da gestação, exercendo *feedback* negativo ao hipotálamo frente à secreção de GnRH (HAFEZ; HAFEZ, 2004; MORAES et al, 2014).

Porém, alguns autores sugerem que essa depleção do estoque de LH está relacionada com o efeito negativo e prolongado da progesterona sobre o hipotálamo, diminuindo a liberação de GnRH e o estímulo à hipófise anterior. O impedimento da liberação de GnRH, FSH e LH podem bloquear a atividade ovariana, influenciando no momento da ovulação (MORAES et al., 2014; SHRESTA et al., 2004; WILLIANS, 2005).

Após o parto, a concentração da progesterona declina a níveis indetectáveis e isso permite a síntese e acúmulo de LH na hipófise anterior, com liberação pulsátil desse hormônio pela hipófise, permitindo a ovulação e sinais de estro antes dos 45 dias pós-parto, caracterizando uma atividade cíclica normal (MORAES et al., 2014; SHRESTA et al., 2004; WILLIANS, 2005)

A incidência da primeira ovulação pós-parto sem manifestação de cio é relativamente alta (50-95%) e o primeiro cio detectável ocorre por volta dos 35 dias após o parto na maioria das vacas leiteiras. Quanto à fertilidade da primeira ovulação, Hafez e Hafez (2004) consideram que a taxa de concepção em vacas leiteiras é mais baixa no primeiro cio pós-parto e que nem sempre o primeiro cio pode representar o retorno da ciclicidade ovariana.

Em rebanhos bem manejados, a maioria das vacas apresenta retorno à atividade ovariana entre duas e quatro semanas depois do parto. Entretanto, existem fatores que podem afetar o desenvolvimento folicular pós-parto e a ovulação. Em vacas leiteiras esses fatores são: a amamentação, o escore de condição corporal (ECC) e as enfermidades reprodutivas e metabólicas (EMERICK et al., 2009).

Portanto, é importante minimizar a ocorrência de transtornos puerperais e favorecer uma boa condição nutricional para obter maior número de animais com RAOC mais rápido depois do parto (SHELDON et al., 2008).

2.2. Infecção Uterina e suas Classificações

As condições estéreis do útero que prevalecem durante a gestação são rompidas no parto. Desta forma, tanto bactérias patogênicas e não-patogênicas penetram pela cérvix dilatada, multiplicando-se rapidamente no ambiente favorável do útero (LEWIS, 2004).

Nas três primeiras semanas após o parto, a quase totalidade dos animais apresenta contaminação por bactérias. Mas a maioria dos animais controla a disseminação da infecção desenvolvendo apenas infecção uterina leve e auto limitante (AHMADI et al., 2005).

Na presença de agentes patogênicos, os neutrófilos são as células de defesa recrutadas mais rapidamente pelo útero, provenientes da circulação periférica. São responsáveis pela fagocitose de bactérias, o que contribui para a formação de pus, quando os fagócitos são ativados (SHELDON; DOBSON, 2004).

Contudo, devido à condição de imunodeficiência em que se encontram as vacas leiteiras no periparto, os neutrófilos apresentam reduzida capacidade funcional, podendo predispor o estabelecimento de infecções uterinas (SHELDON; DOBSON, 2004).

As infecções uterinas ocorrem com mais frequência no período pós-parto e representam um dos principais fatores de subfertilidade em fêmeas bovinas. Seja pela ação direta dos microrganismos sobre os espermatozoides no momento da inseminação ou cobertura, ou impedindo a sobrevivência do embrião que não encontra no útero as condições favoráveis à sua implantação e nutrição (POTHMANN et al. 2015).

A maior parte das infecções uterinas relatadas afeta a vaca leiteira criando um ambiente uterino desfavorável, e dentre as bactérias potencialmente patogênicas envolvidas, *Arcanobacterium pyogenes* e/ou anaeróbios Gram-negativos, como a *Escherichia coli*, frequentemente são encontradas (LEWIS, 2004; SHELDON; DOBSON, 2004; MOURA et al., 2012).

Além da ação do agente infeccioso, o processo inflamatório colabora para o comprometimento do desempenho reprodutivo, liberando citocinas pró-inflamatórias, como por exemplo, o fator de necrose tumoral α (TNF α). Este desempenha um importante papel na regulação da produção de PGF2- α , desencadeando a luteólise e, conseqüentemente, a perda de embriões (SHELDON et al., 2009).

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).

Quanto à classificação, as infecções uterinas podem ser classificadas mais comumente como metrites (puerperal e clínica), endometrites (clínica, subclínica e crônica) e piometras sendo distinguidas de acordo com a camada uterina afetada pelo processo inflamatório (MARTINS; BORGES, 2011).

De acordo com Sheldon et al. (2006), a metrite puerperal tem início na primeira semana pós-parto e normalmente está associada à retenção de placenta, distocias ou abortamentos. Observa-se secreção vaginal sanguinopurulenta com odor fétido e sinais sistêmicos, como febre, desidratação e anorexia.

Os mesmos autores caracterizaram a metrite clínica devido à presença de volume anormal do útero à palpação transretal, secreção vaginal contendo mais de 50% de secreção purulenta, ausência de sinais sistêmicos e ocorrência entre 14 e 21 dias pós-parto.

Já a endometrite clínica é caracterizada pela presença de secreção purulenta, após os 21 dias pós-parto, muitas vezes associada à involução uterina atrasada (SHELDON et al., 2006).

Conforme descrito por Sheldon et al. (2006), a endometrite subclínica consiste em inflamação crônica, com infiltração do endométrio por leucócitos, principalmente neutrófilos, podendo ser diagnosticada apenas por exames citológicos e histopatológicos.

Segundo Lewis (2004), nas formas crônicas de endometrite, o tecido fibroso pode substituir o endométrio funcional, resultando em fibrose periglandular, degeneração cística e/ou atrofia das glândulas uterinas.

Devido a diferentes interpretações para definição de endometrite subclínica referente ao momento pós-parto e a porcentagem de neutrófilos, esta continua a ser controversa quanto ao seu diagnóstico, assim como a avaliação do seu impacto sobre o desempenho reprodutivo (BARANSKI; ZDUNCZYK; JANOWSKI, 2013).

Segundo os mesmos autores, a ocorrência de endometrite subclínica está negativamente relacionada com o aumento no número de inseminações, aumento do intervalo entre partos e da taxa geral de partos.

Por fim, a piometra é definida pelo acúmulo de material purulento no interior no lúmen uterino, na presença de um corpo lúteo persistente e um colo do útero fechado. Embora haja fechamento do colo do útero, nem sempre o lúmen é completamente ocluído, podendo-se ou não observar eliminação de pus no lúmen vaginal (SHELDON et al., 2006).

2.2.1. Métodos Diagnósticos para Infecção Uterina

A realização de exames ginecológicos no puerpério é uma das medidas recomendadas para a identificação de infecções uterinas. Os métodos mais comuns de diagnóstico das infecções uterinas são: palpação transretal, vaginoscopia e ultrassonografia. Além de poderem ser realizados exames complementares, destacando-se a análise citológica, histopatológica e cultura bacteriana (FERREIRA et al., 1992).

Por meio da palpação transretal, avalia-se o tamanho, a simetria e a consistência dos cornos uterinos. Esse, porém, é considerado um método subjetivo, e muitas vezes não possibilita a distinção entre a involução uterina normal e a anormal (BARLUND et al., 2008).

Já a vaginoscopia, geralmente é mais eficaz que a palpação transretal. Além de ser um exame de baixo custo, seguro e não invasivo, permite a avaliação de secreções uterinas. Essa técnica possui grande utilidade, fornecendo informações como volume, aspecto e odor da secreção uterina, além de possibilitar o diagnóstico

de vaginites, cervicites e lacerações. Contudo, não possibilita o diagnóstico de alguns casos de endometrites, visto que até 9% das vacas com endometrite podem apresentar pequena quantidade de secreção na vagina e não ser diagnosticada pela vaginoscopia (LEUTERT et al., 2012; MARQUES JUNIOR; MARTINS; BORGES, 2011).

Nesse último caso, a ultrassonografia supera a vaginoscopia, sendo muito útil no diagnóstico de endometrites, possibilitando a avaliação da presença de líquido no lúmen uterino e espessura da parede uterina. Quanto maior o grau de infecção uterina, maior a quantidade de líquido presente no lúmen uterino (KASIMANICKAN et al., 2004; MATEUS et al., 2002).

Mesmo que as técnicas anteriores permitam o diagnóstico eficaz das infecções uterinas, existem outros métodos de maior acurácia para o diagnóstico, dentre eles destacam-se a citologia endometrial e a análise histopatológica. Ambas as técnicas avaliam a presença de infiltrados de células inflamatórias, utilizadas para o diagnóstico de infecções uterinas subclínicas. No entanto, apresentam desvantagens, como a dificuldade de realização e a necessidade de mão de obra qualificada (BARLUND et al., 2008; PASCOTTINI et al., 2016).

A citologia pode ser realizada com material obtido mediante técnica de lavagem uterina, por meio de *swab* estéril ou com auxílio de escovas genitais adaptadas, técnica denominada *cytobrush* (KASIMANICKAN et al., 2005). Essa técnica consiste na coleta de material celular, posterior deposição do material coletado em uma lâmina de microscopia e coloração do material para análise microscópica. A interpretação do resultado é realizada com base no percentual de neutrófilos e outras células inflamatórias presentes na contagem de 200 células (KASIMANICKAM et al., 2005; MADDOZ et al., 2014).

Sheldon et al. (2006) definiram alguns critérios para o diagnóstico da endometrite subclínica. Segundo estes autores, são portadores de endometrite subclínica os animais que não apresentam secreções uterinas e possuam mais de 18% de neutrófilos em citologias uterinas realizadas entre os dias 21 a 33 pós-parto, ou mais que 10% de neutrófilos entre 34 e 47 dias pós-parto.

Além das técnicas de diagnóstico rápido, a cultura bacteriana também é importante na determinação da etiologia da infecção, auxiliando, assim, na melhor escolha do tratamento (KOCAMUFTUOGLU; VURAL, 2008).

Para isso, o conteúdo inflamatório advindo do útero deve ser coletado em frasco estéril e as amostras incubadas em meio de cultura para crescimento bacteriano. As colônias crescidas dessas amostras devem ser recolhidas e submetidas à coloração pelo método de gram, com o objetivo de verificar as características morfotintoriais para classificação dos microrganismos (KONEMAN et al., 2001; MARQUES JUNIOR; MARTINS; BORGES, 2011).

2.2.2. Infecção Uterina e sua Influência na Eficiência Reprodutiva

Infecções uterinas têm sido associadas com a fertilidade reduzida em fêmeas bovinas. Essa associação ainda não é completamente elucidada, entretanto, vários estudos vêm mostrando a interferência dos processos infecciosos no desempenho reprodutivo desses animais (SAVIC et al., 2016).

A involução uterina no pós-parto é considerada normalmente um processo séptico, portanto mais de 90% das vacas apresentam microrganismos no útero nas primeiras duas semanas pós-parto. A maioria das bactérias é contaminante ambiental e são eliminadas do útero sem impacto na fertilidade, porém uma parcela dos animais contaminados desenvolve a infecção bacteriana clínica ou subclínica. Esses animais apresentam notável aumento no número de dias para concepção, aumento no número de serviços para concepção e aumento no risco de descarte (GHANEM et al., 2015; KIM; KANG, 2003).

Williams et al. (2007) relataram que a contaminação bacteriana do lúmen uterino no sétimo dia pós-parto, alterou a foliculogênese resultando em um crescimento mais lento do folículo dominante, com menores concentrações de estradiol circulante, tendo impacto no retorno ao cio dos animais.

Além da interferência na secreção de estradiol, pode ocorrer também alterações nas concentrações de P4 devido a infecção uterina. Isso acontece devido a liberação de citocinas inflamatórias secretadas pelo endométrio inflamado e a alta responsividade das células lúteas em bovinos a esses mediadores. Dessa forma, o processo inflamatório é capaz de alterar a liberação de P4 pelo CL (SHELDON et al., 2002).

Da mesma forma, Kim e Kang (2003) observaram que o número de serviços por concepção foi maior, a taxa de concepção ao primeiro serviço foi menor e os intervalos do parto ao primeiro serviço e concepção foram prolongados no grupo de animais com endometrite. Além disso, concluíram que retenção de placenta, desordens metabólicas e número de partos são fatores de risco para ocorrência de endometrite pós-parto.

Segundo Sheldon et al. (2009), as taxas de concepção são cerca de 20% menores em vacas com endometrite, com intervalo médio do parto à concepção trinta dias mais longo e destes, 3% são sacrificados por falta de concepção.

Além disso, as vacas que desenvolveram endometrite clínica e foram tratadas são menos férteis que vacas da mesma idade que não apresentaram doença clínica. Isso se deve, provavelmente, porque a endometrite subclínica pode persistir após a resolução dos sinais clínicos.

Da mesma forma, animais com infecção uterina subclínica também apresentam mais dias em aberto, levam mais tempo para conceber e tem cerca de metade da taxa de concepção comparado com animais saudáveis.

Santos et al. (2010) observaram uma influência de 11,3% e 15,1% da ocorrência de metrite e endometrite clínica, respectivamente, na perda de prenhez até os sessenta dias de gestação. Além disso, o impacto dessas doenças nos primeiros sessenta dias pós-parto sobre a taxa de prenhez à primeira IA foi de 37,8% para metrite e 38,7% para endometrite clínica.

2.3. Mastite e suas Classificações

A mastite bovina é uma doença multifatorial, e caracteriza-se por um processo inflamatório da glândula mamária (COSER; LOPES; COSTA, 2012). É considerada a principal doença que acomete vacas leiteiras, causando grandes perdas econômicas, por reduzir a produção de leite, alterar a qualidade do leite e aumentar o risco de descarte do mesmo (RIBEIRO et al., 2014).

Existem duas classificações principais para a mastite, quanto aos sinais clínicos e alterações no leite. A mastite clínica caracteriza-se por alterações visíveis no leite, com evidências de processo inflamatório da glândula mamária e com sinais da inflamação. A ocorrência de processo inflamatório da glândula mamária está

relacionada principalmente, com a infecção por microrganismos como bactérias e, em menor proporção, fungos, leveduras e vírus (CUNHA; OLIVEIRA, 2013).

Já a mastite subclínica é considerada a forma mais importante, pois ocorre com maior frequência, não apresenta sintomas aparentes e normalmente antecede a clínica (UFLA, 2012).

Para o diagnóstico desse tipo de mastite é necessário que se faça o teste com amostra de leite de cada quarto mamário, com o *California Mastitis Test* (CMT). O CMT detecta a presença de células somáticas na amostra analisada e possibilita a classificação do grau de acometimento do quarto mamário em leve, moderado e alta concentração de células somáticas (CCS) de acordo com a viscosidade observada (UFLA, 2012).

2.3.1. Métodos Diagnósticos para Mastite Bovina

A detecção de casos de mastite é fundamental, e é necessário que tanto o produtor quanto ordenhadores interpretem corretamente o que é a mastite. Portanto, existem vários métodos que podem ser utilizados no diagnóstico de mastites (LANGONI, 2013).

Para detecção da mastite clínica, normalmente realiza-se a palpação da glândula mamária e a observação do aspecto do leite, sendo este último por meio do uso da caneca de fundo preto (RIBEIRO et al., 2003).

À palpação, o animal acometido apresentará vermelhidão de úbere, dor à palpação e aumento de volume devido ao edema e ao processo inflamatório presente. No teste da caneca de fundo preto, o leite apresentará grumos, com presença de pus ou sangue (RIBEIRO et al., 2003).

Enquanto isso, para diagnóstico da mastite subclínica, são necessários testes auxiliares, tais como *California Mastitis Test* (CMT), Contagem de Células Somáticas (CCS) e *Wisconsin Mastitis Test* (WMT) (LANGONI, 2013; UFLA, 2012).

O *California Mastitis Test* (CMT) foi o primeiro teste indireto desenvolvido por Schalm e Noorlander em 1956, sendo considerado um teste prático e de baixo custo, com resultados imediatos e eficientes. O Teste de CMT mostra alterações na viscosidade do leite frente à ação do reagente púrpura de bromocresol ao romper

as membranas das células somáticas presentes na amostra. O resultado é classificado como negativo, traço ou reações dos tipos 1 (+) fracamente positivo, 2 (++) positivo ou 3 (+++) fortemente positivo, em função da viscosidade da amostra, a qual reflete a resposta inflamatória (LANGONI, 2013; RADOSTITS et al., 2002; RIBEIRO et al., 2003).

Além desses, existem outros métodos diagnósticos mais precisos, como a contagem de células somáticas no leite (CCS), aceita internacionalmente como medida padrão para determinar a qualidade do leite cru e o *Wisconsin Mastitis Test*, que é um aprimoramento do Teste de CMT (LANGONI, 2011).

Normalmente, há associação entre os resultados da classificação CMT e a CCS, sendo que CMT grau 2 (++) apresenta CCS entre 1.200.000 e 5.000.000 de células somáticas por mL de leite e CMT grau 3 (+++) a CCS encontra-se acima de 5.000.000, conforme descrito no Manual de Boas Práticas de Manejo de Ordenha (MAPA, 2016).

Além dos testes diagnósticos para mastite, propriamente dita, existem alguns métodos diagnósticos complementares que conseguem detectar o microrganismo envolvido e indicar o tratamento eficaz. Dentre eles, destacam-se a cultura microbiana e o antibiograma (UFLA, 2012).

A cultura microbiana fará a detecção do tipo de microrganismo causador de mastite no leite examinado, enquanto o antibiograma irá diagnosticar se há resistência microbiana contra algum tipo de antibiótico ou medicamento utilizado no tratamento da mastite (LANGONI, 2013).

A desvantagem desses testes é o custo elevado, necessidade de profissional capacitado e o resultado não é imediato, podendo levar de dois a três dias (LANGONI, 2013).

2.4. Ocorrência de Mastite e sua Influência na Eficiência Reprodutiva

O impacto direto da mastite sobre a piora do desempenho reprodutivo já é conhecido há mais de 20 anos (MOORE et al., 1991) e desde então, inúmeros pesquisadores tem relatado que a mastite pode provocar uma redução nesse desempenho (HERTL et al., 2010; ROTH et al., 2013; SANTOS et al., 2004; SCHRICK et al., 2001).

Essa enfermidade é considerada um fator determinante para a performance reprodutiva de vacas leiteiras. Estudos epidemiológicos têm mostrado que a ocorrência da mastite clínica antes ou após a inseminação artificial pode suprimir a capacidade da fêmea em manter uma gestação (ROTH et al., 2013).

Santos et al. (2004) observaram que a mastite clínica no início do período pós-parto, demonstrou relação negativa com a fertilidade de vacas de alta produção de leite, devido à elevação na temperatura corpórea, provocando redução na qualidade oocitária e menor sobrevivência embrionária.

De acordo com Wolfenson, Leitner e Lavon (2016), a probabilidade de concepção é reduzida em 24%, quando há ocorrência de mastite clínica durante os 10 dias anteriores à IA, e 23% menor quando a mesma ocorre até 30 dias após a IA.

Yang et al. (2012) compararam a ocorrência de mastite clínica antes da primeira IA e entre a IA e o diagnóstico de gestação com vacas sem mastite, e observaram que, o número de dias à primeira IA e o número de dias à concepção foram significativamente maiores para as vacas com mastite clínica.

A mastite subclínica também pode reduzir a probabilidade de concepção mais que a mastite clínica, devido ao tempo de ocorrência e sua natureza crônica. Cerca de 30% das vacas com mastite crônica (elevada CCS por mais de dois meses consecutivos) apresenta ovulação tardia, baixa concentração de estradiol, além de uma onda do hormônio luteinizante com amplitude mais baixa ou atrasada (ROTH et al., 2013).

Segundo Roth et al. (2013) o efeito negativo da mastite subclínica está relacionado à valores de CCS médio (CMT ++) e alto (CMT ++++) por interferirem no desenvolvimento de oócitos ovarianos. Os oócitos obtidos de vacas com mastite subclínica duas ou três cruces manifestaram uma deficiência em relação à qualidade, que resultou numa proporção reduzida de embriões em desenvolvimento após a fertilização.

Além disso, a mastite tem sido associada ao atraso na ovulação de folículos pré-ovulatórios em cerca de 30% das vacas afetadas (LAVON et al, 2011).

Entretanto, os fatores de risco para mastite e distúrbios reprodutivos são semelhantes e, muitas vezes, pode ser difícil determinar o impacto isolado da mastite sobre o desempenho reprodutivo quando ambas as afecções estão presentes no animal (ROTH et al., 2013).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Obtenção dos animais e propriedades

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética do Uso de Animais (CEUA), da Universidade Federal do Espírito Santo, sob número 50/2014.

O experimento foi desenvolvido em quatro propriedades leiteiras comerciais do sul do estado do Espírito Santo.

Foram utilizadas 55 vacas cruzadas Gir x Holandês de aptidão leiteira em idade reprodutiva. Os animais foram agrupados de acordo com a categoria em, Primíparas, grupo constituído por 20 vacas consideradas híginas, de primeira cria; e Multíparas, grupo composto por 35 vacas com histórico reprodutivo de dois ou mais partos anteriores.

Além disso, classificou-se primíparas e multíparas em quatro grupos quanto ao diagnóstico de afecções: sadias; com infecções uterinas; com mastite; e com as duas afecções concomitantes (infecção uterina e mastite).

Os quatro grupos foram avaliados e comparados quanto: ao tempo para involução uterina; ao tempo para retorno à atividade ovariana luteal cíclica; ao número de inseminações; e à taxa de prenhez, em todos os momentos do experimento.

As fêmeas foram avaliadas com intervalo de 15 dias a partir de 15 dias após o parto até 90 dias pós-parto, submetidas aos exames físico, ginecológico e testes de CMT.

Não houve interferência no manejo reprodutivo adotado em cada propriedade, desta forma, as vacas que apresentaram cio foram cobertas ou inseminadas.

As IAs foram realizadas por inseminadores das propriedades, utilizando sêmen comercial e o diagnóstico de gestação foi realizado 30 dias após a inseminação ou cobertura.

3.2. Exame Físico

O exame físico foi realizado, conforme recomendado por Feitosa (2008). Foram avaliadas a frequência cardíaca (bpm), frequência respiratória (mpm), temperatura retal (°C) e escore de condição corporal (ECC). O ECC foi classificado de acordo com Edmonson et al. (1989) em escala de 1 a 5, com subunidades de 0,25; onde 1 é a vaca extremamente magra e 5, extremamente gorda. A avaliação física foi realizada em todos os momentos experimentais (15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias pós-parto).

3.3. Exame Ginecológico

No exame ginecológico realizou-se a inspeção do trato reprodutivo por meio de vaginoscopia, palpação e ultrassonografia transretal.

No exame de vaginoscopia, utilizou-se o espéculo tubular específico para bovinos (Walmur®) para o exame da vagina e detecção de secreção vaginal. Posteriormente, foi realizada palpação e ultrassonografia transretal, com transdutor retal linear de 5-10 MHz (DP-10VET®, Mindray, Shenzhen, China), para a avaliação do tamanho e estruturas ovarianas, principalmente a presença de corpo lúteo a fim de determinar o momento do retorno à atividade ovariana luteal cíclica.

A classificação de infecções uterinas clínicas foi realizada de acordo com o preconizado por Sheldon et al. (2006), com algumas adaptações para os momentos avaliados.

Classificou-se como metrite clínica a presença de secreção vaginal purulenta observada aos 15 dias pós-parto. E a endometrite clínica foi assim classificada mediante a presença de secreção vaginal mucopurulenta na vaginoscopia (aproximadamente 50% pus, 50% muco) observada aos 30 dias pós-parto ou mais.

Já a endometrite subclínica foi diagnosticada por meio do resultado de citologia endometrial.

Para avaliar o tempo para involução uterina, esta foi considerada completa após detecção do retorno do útero à cavidade pélvica, com ausência de conteúdo e simetria de cornos uterinos por palpação transretal e ultrassonografia.

3.4. Citologia endometrial

As endometrites subclínicas, foram diagnosticadas por meio da citologia endometrial aos 30 dias pós-parto após a coleta da amostra.

Para coleta da amostra, foi realizado raspado do endométrio, pela técnica de *cytobrush* (KASIMANICKAN et al., 2005), utilizando escova ginecológica descartável estéril de uso humano. Esta, por sua vez, foi acoplada a uma bacia francesa e a um aplicador universal de inseminação artificial para a espécie bovina.

Para evitar o contato da escova com as mucosas vaginal e cervical utilizou-se camisa sanitária específica para inseminação para proteção.

O material obtido foi depositado em lâminas de vidro, confeccionando-se esfregaços, submetidos à coloração rápida com corante tipo Panótico. A análise da citologia endometrial foi realizada com base no percentual de neutrófilos, a partir da contagem de 200 células por lâmina em microscópio óptico em aumento de 400x.

Classificou-se como endometrite subclínica a presença de mais de 18% de neutrófilos em lâminas de animais aos 30 dias pós-parto (SHELDON et al., 2006).

3.5. Diagnóstico de Mastite

O exame lácteo foi realizado em todos os momentos, antes da ordenha, após limpeza e desinfecção dos tetos pelo ordenhador.

O primeiro jato de leite de cada quarto foi desprezado e, em seguida realizava-se o teste da caneca de fundo preto para diagnóstico de mastite clínica. Posteriormente, realizou-se o teste de CMT para detecção de mastite subclínica classificando-a de acordo com o grau de viscosidade do leite em contato com o reagente.

A classificação da mastite subclínica foi realizada seguindo o Manual de Boas Práticas de Manejo de Ordenha (MAPA, 2016) em: Negativo: sem formação de gel; Traço (falso positivo): há formação de gel momentânea, desaparecendo muito rápido; Fracamente Positivo (+): Leve alteração na consistência da solução; Positivo (++) : Há alteração na consistência da solução; Fortemente Positivo (+++): Há forte alteração na consistência da mistura.

Foram consideradas para avaliação da influência da mastite nos índices reprodutivos do rebanho somente mastites subclínicas classificadas em duas (++) ou três (+++) cruces.

3.6. Análise estatística

Os resultados obtidos foram tabulados em planilhas e submetidos a testes estatísticos. Realizou-se o teste de Shapiro-Wilk para testar normalidade dos dados amostrais. Para comparar as diferentes categorias (primíparas e múltíparas) nos diferentes momentos e os grupos de afecções, foram realizados testes de Mann-Whitney.

Para verificar influência das afecções nos índices reprodutivos foi realizado o cálculo do coeficiente de correlação de Spearman.

Todas as análises foram realizadas no programa GraphPad Prisma 6.0 com nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Influência da Infecção Uterina e Mastite nos Índices Reprodutivos

Não constatou-se alterações nos parâmetros fisiológicos avaliados para as duas categorias. Os valores obtidos para frequência cardíaca, frequência respiratória e temperatura retal encontraram-se dentro do intervalo considerado normal para a espécie, segundo o descrito por Feitosa (2008).

Não houve diferença para ECC entre as categorias em todos os momentos avaliados, obtendo-se valor médio de ECC de $3\pm 0,34$ para primíparas e $3\pm 0,38$ para múltiparas dos 15 dpp aos 90 dpp.

Não houve influência das infecções uterinas e mastite sobre os índices reprodutivos: tempo para involução uterina, RAOLC, número de inseminações artificiais (IA) e taxa de prenhez (Tabela 1).

Tabela 1. Valores de r e p para correlação entre infecção uterina e mastite sobre os índices reprodutivos: Tempo para involução uterina; Retorno à atividade ovariana luteal cíclica (RAOLC); Número de Inseminações (IA) e Taxa de Prenhez de Primíparas (P) e Múltiparas (M) no pós-parto.

ÍNDICE REPRODUTIVO	CATEGORIA	INFECÇÃO UTERINA		MASTITE	
		Valor de r	Valor de p	Valor de r	Valor de p
Tempo para involução uterina	P	0	0	0	0
	M	0	0	0	0
RAOLC	P	-0,08	0,75	-0,10	0,69
	M	-0,15	0,38	-0,12	0,46
Numero de IA	P	0	0	0	0
	M	-0,09	0,62	0,16	0,33
Taxa de Prenhez	P	0	0	0	0
	M	-0,07	0,82	-0,08	0,75

Valores de r obtidos por meio do teste de Correlação de Spearman com $P > 0,05$ não foram significativos.

(0): não há correlação entre as variáveis avaliadas.

A figura 1 mostra o percentual de vacas primíparas e multíparas diagnosticadas com metrite clínica e endometrite clínica, e o total de infecções uterinas clínicas em cada categoria animal.

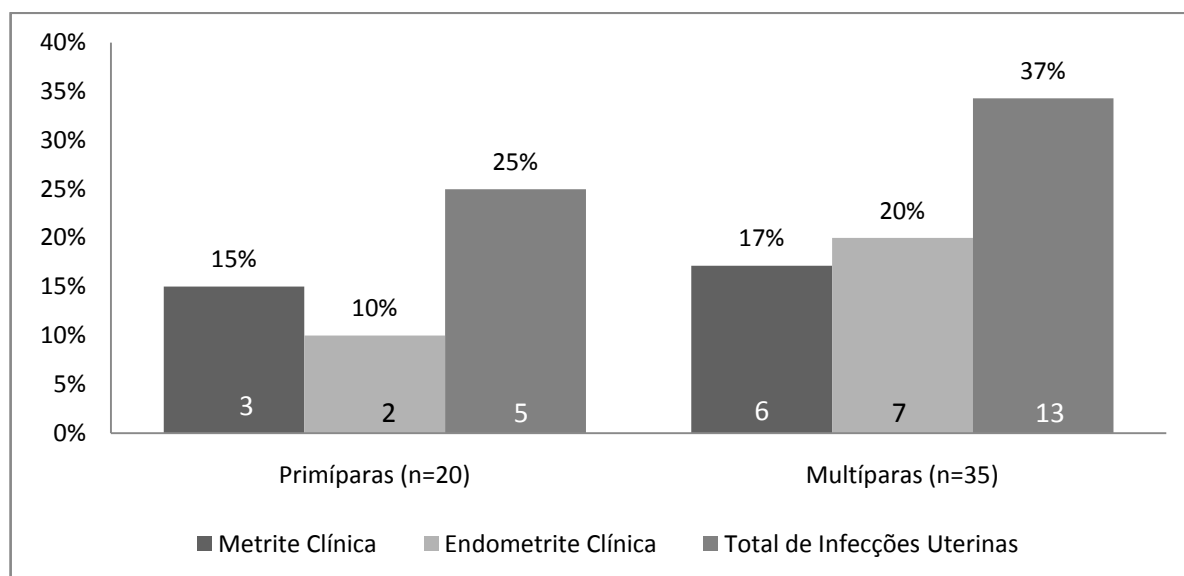


Figura 1- Percentual de vacas Primíparas (n=20) e Multíparas (n=35) diagnosticadas com Metrite Clínica e Endometrite Clínica, conforme classificação adaptada de Sheldon et al. (2006).

Outros trabalhos associam a incidência de endometrite subclínica à baixa condição corporal, registros de retenção de placenta e partos distócicos e maior prevalência desta enfermidade nos meses chuvosos (BUSO et al., 2018; MOLINA-COTO, 2016).

No presente estudo não detectou-se endometrite subclínica e nenhum dos seus fatores predisponentes foram detectados, justificando-se o resultado encontrado para essa enfermidade.

Além das alterações associadas à endometrite subclínica, a detecção de fase lútea prolongada e baixas concentrações de glicose sanguínea também foram associadas à ocorrência de endometrite (GHANEM et al, 2015; GHANEM et al., 2016). Contudo, não foram diagnosticadas essas alterações na presente pesquisa.

Quanto ao percentual de neutrófilos utilizado e o momento do exame, nos estudos de Buso et al. (2018) foram diagnosticadas 35,82% das vacas com endometrite subclínica, entre 30 e 80 dpp, considerando o percentual de neutrófilos

≥5%, e Molina-Coto (2016) diagnosticou 28,9% das vacas com infecção uterina subclínica, entre 30 e 39 dpp, considerando o percentual de neutrófilos ≥6%.

No presente estudo, considerou-se o percentual de neutrófilos >18% para citologias realizadas somente aos 30 dias pós-parto, conforme proposto por Sheldon et al. (2006). Segundo o referido autor, o percentual >5% só seria utilizado para avaliar infecção uterina subclínica entre 40-60 dias pós-parto.

O percentual total de infecção uterina diagnosticado durante o puerpério foi de 32,7% (18/55), o qual se encontra abaixo dos valores relatados por Marques Junior, Martins e Borges (2011), Martins et al. (2013), Hammon et al. (2006) e Santos et al. (2017), compreendidos no intervalo de 40 a 70% de incidência.

Esse baixo percentual de infecções uterinas encontrado pode ser atribuído à ausência dos fatores de risco associados a infecções uterinas, como retenção de placenta, afecções metabólicas, níveis elevados ou diminuídos de ECC e deficiência nas condições de higiene da maternidade nas propriedades acompanhadas, como citado por Daros et al. (2017).

Vale ressaltar que, os diferentes métodos de diagnóstico e a maneira como a classificação das infecções uterinas é realizada, podem afetar o diagnóstico desta afecção, tornando a incidência bastante variável.

Conforme descrito por Marques Júnior, Martins e Borges (2011) a incidência de quadros de infecção uterina no rebanho também pode variar em decorrência do manejo adotado em cada sistema de produção.

Independente disso, a ocorrência dessas infecções afeta negativamente os resultados de eficiência reprodutiva do rebanho. Além da perda reprodutiva, as infecções uterinas geram custos mais elevados para os sistemas de produção, através dos gastos com mão-de-obra veterinária e medicamentos (MARQUES JÚNIOR; MARTINS; BORGES, 2011).

Alguns autores defendem que, a presença de infecções uterinas, nas primeiras semanas pós-parto, provoca efeito prejudicial sobre a involução uterina e, conseqüentemente, sobre o RAOLC (MATEUS et al., 2002; SHELDON et al., 2002).

Entretanto, observou-se, aos 45 dias pós-parto, 100% (55/55) dos animais com o útero posicionado na cavidade pélvica, ausência de conteúdo intra-uterino e cornos uterinos simétricos, demonstrando involução uterina macroscópica completa em primíparas e múltiparas.

Esse período de 45 dias está dentro do intervalo de 25 a 47 dias pós-parto considerado ideal para involução uterina completa, proposto por Leblanc (2008).

Desta forma, pode-se afirmar que o tempo para involução uterina não foi afetado pelas infecções uterinas neste estudo, podendo-se atribuir esse resultado ao diagnóstico precoce dessas enfermidades e indicação de tratamento quando necessário.

Contrastando os resultados encontrados na pesquisa para involução uterina, Zhang et al. (2010) afirmam que vacas com maior número de parições apresentam involução uterina mais lenta que vacas primíparas e, conseqüentemente, menor retorno à atividade ovariana.

Na tabela 2 observa-se o percentual de retorno à atividade ovariana luteal cíclica, o número de inseminações e a taxa de prenhez em vacas primíparas e multíparas sadias; com infecção uterina; com mastite; e com mastite e infecção uterina em todos os momentos do experimento.

Dos 18 animais diagnosticados com infecção uterina e dos 16 diagnosticados com mastite subclínica, cinco apresentaram as duas afecções concomitantes. Portanto, para avaliar a influência das duas afecções sobre os índices reprodutivos, estes animais foram avaliados como um grupo à parte.

Tabela 2. Percentual de retorno à atividade ovariana luteal cíclica (RAOLC), número de inseminações e taxa de prenhez em vacas primíparas (P) (n=20) e múltiparas (M) (n=35) sadias; com infecção uterina; com mastite; e com infecção uterina e mastite aos 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias pós-parto.

	MOMENTO	RAOLC		NUMERO IA		TAXA PRENHEZ	
		P	M	P	M	P	M
SADIOS¹ P (n=12) M (n=15)	15	-	-	-	-	-	-
	30	1	1	-	-	-	-
	45	2	2	-	-	-	-
	60	1	-	1	-	1	-
	75	1	9	-	2	-	2
	90	2	3	2	1	1	1
*TOTAL 1		7^a (58,33%)	15 (100%)	3/7(42,8%)	3/15(20%)	2/7(28,57%)	3/15(20%)
**TOTAL 2		81,48%(22/27)		27,27%(6/22)		22,73%(5/22)	
INFECÇÃO UTERINA P (n=4) M (n=8)	15	-	-	-	-	-	-
	30	-	-	-	-	-	-
	45	1	1	-	1	-	1
	60	-	3	-	2	-	-
	75	2	1	-	3	-	1
	90	-	3	-	1	-	1
TOTAL 1		3^{ab} (75%)	8 (100%)	-	7/8(87,5%)	-	3/8 (37,5%)
TOTAL 2		91,67%(11/12)		63,63%(7/11)		27,27%(3/11)	
MASTITE P (n=3) M (n=8)	15	-	-	-	-	-	-
	30	-	2	-	1	-	-
	45	-	3	-	1	-	1
	60	1	-	-	2	-	1
	75	-	1	-	-	-	-
	90	1	1	-	2	-	2
TOTAL 1		2^b (66,67%)	7 (87,5%)	-	6/7(85,72%)	-	4/7 (57,14%)
TOTAL 2		81,82%(9/11)		66,66%(6/9)		44,44%(4/9)	
INFECÇÃO UTERINA + MASTITE P (n=1) M (n=4)	15	-	-	-	-	-	-
	30	-	-	-	-	-	-
	45	-	-	-	-	-	-
	60	-	-	-	-	-	-
	75	-	1	-	-	-	-
	90	1	2	-	1	-	1
TOTAL 1		1^b (100%)	3 (75%)	-	1/3(33,33%)	-	1/3(33,33%)
TOTAL 2		80%(4/5)		25%(1/4)		20%(1/5)	

^{ab}:Valores totais seguidos por letras diferentes representam diferença significativa (p<0,05) entre grupos na coluna.

¹Sadios: grupo de animais sem diagnóstico de infecção uterina e/ou mastite.

* TOTAL 1: Valor total por categoria. ** TOTAL 2: Valor total por grupo.

Observou-se que 83,64% (46/55) dos animais retornaram à ciclicidade até os 90 dias pós-parto, sendo 28,26% (13/46) primíparas e 71,74% (33/46) múltiparas.

Em relação aos demais, 35% (7/20) das vacas primíparas e 5,71% (2/35) das vacas múltiparas não retornaram à atividade ovariana cíclica até os 90 dias pós-parto. Dentre as possíveis causas, sugere-se a falha no momento da ovulação dos folículos dominantes, considerado um fator determinante no retorno à atividade ovariana.

Autores relatam que falhas na ovulação estão entre os principais fatores responsáveis pelo atraso no RAOLC após o parto. Verifica-se atraso de três a quatro semanas para detecção do primeiro corpo lúteo, nos casos de falhas de ovulação dos primeiros folículos dominantes, comparado ao período ideal até os 45 dpp (MOLINA-COTO, 2016).

Estudos recentes avaliaram o efeito da suplementação com semente de girassol, nas últimas cinco semanas de gestação, em vacas leiteiras, e relataram que um folículo de tamanho pré-ovulatório se desenvolveu mais cedo. Também relataram que o intervalo para a primeira ovulação foi mais curto e a proporção de vacas ovulando nos 35 dias pós-parto foi maior nos animais suplementados comparado ao grupo sem suplementação (SALEHI et al., 2016).

Desta forma, novos compostos nutricionais podem auxiliar no desempenho reprodutivo pós-parto, quando incorporados à dieta animal dentro do limite para a espécie.

Logo, sugere-se que as vacas que não ovularam até os 90 dias pós-parto poderiam ser beneficiadas, quanto ao tempo para primeira ovulação caso fossem suplementadas, seguindo o modelo do estudo anterior.

Outro ponto importante é avaliar se a suplementação mineral nos currais leiteiros está suprindo a necessidade de macro e microminerais como Cálcio, Molibdênio, Manganês, Fósforo, Selênio, Zinco e Cobre.

Esses elementos são essenciais para uma boa performance reprodutiva e bom funcionamento do sistema imune (BACH; PINTO; BLACH, 2015). Com isso, podem ser associados ao baixo desempenho reprodutivo dos animais do experimento.

O tempo para RAOLC foi de 90 dpp para vacas primíparas e 75 dpp para vacas múltiparas. Devido à necessidade de disponibilizar energia para crescimento

e desenvolvimento de carcaça após o parto, vacas primíparas tendem a retornar à ciclicidade mais tardiamente que vacas múltiparas, conforme observado no estudo.

Isso ocorre, pois, o ganho energético e protéico na alimentação atende primeiramente as necessidades fisiológicas para, posteriormente, atender os requisitos à atividade reprodutiva (CHEBEL et al., 2004).

Villadiego et al. (2016) observaram que 92% das vacas primíparas ovularam nos primeiros 42 dpp e 68% das vacas múltiparas apresentaram primeiro estro ovulatório até os 50 dpp, contrastando os resultados apresentados anteriormente. Entretanto, os índices reprodutivos em vacas primíparas normalmente se apresentam, nas pesquisas, numericamente inferiores para os mesmos índices em vacas múltiparas.

Os casos de infecção uterina verificados no presente estudo não influenciaram no tempo para RAOLC, de modo que, os valores encontrados neste grupo não diferiram dos demais grupos ($p>0,05$) e entre categorias. Dentre as possíveis explicações para esse resultado, sugere-se a boa condição corporal dos animais no pós-parto e a influência de hormônios reprodutivos na resolução da infecção.

Sheldon et al. (2008) afirmaram que vacas com ECC considerado baixo (2 e 2,5) apresentaram maior dificuldade em controlar a infecção uterina do que vacas com ECC alto (3 a 4), associando a perda da condição corporal ao aumento das citocinas antiinflamatórias e pró-inflamatórias.

Dessa forma, como os animais do estudo apresentaram média de ECC pós-parto ($3\pm 0,34$) adequada, mesmo que tenham cursado a infecção, conseguiram controlar o processo infeccioso, sem que houvesse impacto nas concentrações hormonais e no retorno à ciclicidade.

Ferreira (2010) observaram que vacas com bom ECC ao parto e adequadamente alimentadas no início da lactação, não apresentaram atraso no retorno ao cio pós-parto. O autor considera que as espécies de bactérias presentes no útero não produziram endotoxinas ou produziram em pequenas quantidades, não sendo suficiente para afetar a produção de GnRH via aumento do cortisol.

Além do ECC bom, em vacas que apresentam metrites e endometrites no pós-parto imediato, observa-se aumento da liberação de $\text{PGF}_2\text{-}\alpha$ pelo endométrio. Com isso, a $\text{PGF}_2\text{-}\alpha$ pode contribuir reativando a função leucocitária do útero (HAFEZ; HAFEZ, 2004; LEWIS, 2004).

Associada a ação da PGF2- α , estudos relatam que o estrógeno pode contribuir para a resposta imune. Com a queda nos níveis de progesterona, as concentrações circulantes de estrógeno aumentam, promovendo maior irrigação e quimiotaxia por células de defesa. Isso favorece a produção de muco e a abertura da cérvix, ajudando na limpeza do lúmen uterino, além de induzir *feedback* positivo para LH, favorecendo a ovulação (CERRI et al., 2016).

Neste estudo observou-se diferença para o tempo de RAOLC entre os grupos sadios e com mastite ($p=0,04$) e sadios e com as duas afecções (infecção uterina e mastite) ($p=0,02$) em vacas primíparas.

Como esperado, vacas primíparas sadias apresentaram melhor desempenho reprodutivo quanto ao início de retorno à ciclicidade (30dpp), em comparação com vacas primíparas com mastite (60dpp) e com as duas afecções (90dpp).

Dentre os fatores deletérios para o RAOLC em primíparas com mastite, e com as duas afecções, destaca-se o estresse do início da primeira lactação, com altas concentrações de cortisol circulantes afetando a resposta imune, bloqueando a secreção de LH e comprometendo a ovulação como já relatado por Malinowski e Gajewski (2010).

Além disso, a incidência de doenças infecciosas, como mastite e infecção uterina, é consequência substancial da diminuição da competência imune durante o início da lactação (CERRI et al., 2016). Apesar da infecção uterina não ter apresentado efeito negativo sobre o RAOLC em primíparas, quando diagnosticada juntamente com a mastite, o impacto mútuo dessas enfermidades foi notável.

Isso porque, a mastite exerce impacto negativo direto sobre a eficiência reprodutiva, por alterar o comportamento estral e o crescimento folicular ovariano. Ela influencia sobre o momento da liberação do hormônio reprodutivo na fase folicular (FSH) e retarda o início ou bloqueia o pico de LH (FUENZALIDA; FRICKE; RUEGG, 2015).

Associado a isso, a ocorrência de doenças clínicas e subclínicas envolvem ativação de mecanismos inflamatórios e pró-inflamatórios diferentes, que quando ativados mutuamente, desencadeiam alterações fisiológicas e hormonais, a nível inflamatório, que podem comprometer o desempenho produtivo e reprodutivo (CERRI et al., 2016).

O principal mecanismo de defesa do útero contra a invasão de bactérias é a imunidade inata, a qual é formada por determinadas proteínas e células fagocitárias

que reconhecem os patógenos e rapidamente se ativam para destruí-los (CARNEIRO; CRONIN; SHELDON, 2016).

Enquanto isso, no leite oriundo de quartos infectados, o sistema complemento frequentemente apresenta atividade bactericida e hemolítica (LANGONI et al. 2017).

Contudo, especificamente em linhagens de *Staphylococcus aureus*, comumente isolados de mastite subclínica, observa-se que a presença da cápsula polissacarídica presente nesta espécie, impede a ação dos componentes do complemento, permitindo o avanço da infecção (SAGLAM et al., 2017).

Essa falta de eficiência inicial no combate ao *S. aureus*, induz a ativação de outras categorias de citocinas envolvidas com infecções intramamárias, como: interferons (INF- γ), interleucinas (IL-1, IL-2) e fatores de necrose tumoral (TNF- α e TNF- β) (MALINOWSKI; GAJEWSKI, 2010).

A ativação dessas citocinas é descrita por Malinowski e Gajewski (2010) por provocarem distúrbios de fertilidade em vacas mastísticas, dentre eles: a inibição da síntese de progesterona e estrógeno (TNF- α) e alterações no perfil de produção de progesterona e PGF2- α (INF- γ , IL-1, IL-2, TNF- β).

Com isso, nota-se que, o efeito negativo da mastite pode afetar não só a fertilidade, como também o processo de resolução de infecções uterinas, devido à influência nas concentrações de hormônios importantes para tal.

Essa afirmação se apoia nos resultados descritos por Albaaj, Foucras e Raboisson (2017), cujo trabalho avaliando a contagem de células somáticas, associada negativamente à concepção de vacas leiteiras, suporta a teoria de que, a inflamação local pode afetar a resposta de todo o corpo e alterar as funções de outros órgãos, como o trato reprodutivo.

Desta forma, o tratamento bem-sucedido da mastite e a proteção contra infecções do úbere devem ser considerados métodos importantes para a profilaxia de desordens de fertilidade em vacas.

No entanto, em vacas múltiparas, não houve essa diferença para o tempo de RAOLC entre grupos ($p > 0,05$). Acredita-se que vacas múltiparas são menos desafiadas, pois já estão adaptadas a lactação. Esse resultado poderia ser diferente, e possivelmente negativo, se fatores como, má alimentação, condições sanitárias deficientes e distúrbios metabólicos fossem detectados nas propriedades acompanhadas. Entretanto, na ausência desses fatores, não se observou diferença entre as categorias nos grupos para RAOLC e para os demais índices avaliados.

Do total de vacas com RAOLC até 90 dpp (n = 46), 32,61% (15/46) expressaram sinais de estro.

Estes 15 animais foram inseminados, obtendo-se uma taxa de concepção de 86,67% (13/15) e uma taxa de prenhez de 28,26% (13/46) nos animais inseminados até 90 dias pós-parto.

Esse percentual para taxa de prenhez pode ser considerado baixo, quando comparado com outros estudos com grupos de animais semelhantes (apresentando casos de mastite, infecção uterina ou outra doença clínica). Villadiego et al. (2016) observaram 43,6% de vacas prenhes ao primeiro serviço e 56,7% das vacas gestantes com mais de um serviço, em vacas com e sem infecção uterina, em sistema *free stall*. Da mesma forma, Santos et al. (2010) obtiveram taxa de prenhez de 56,5% em vacas em sistema de pastejo apresentando pelo menos uma doença clínica, e Okawa et al. (2017), relataram 50% de prenhez em vacas com endometrite clínica não tratadas.

Nesse estudo, não houve diferença entre grupos e categorias para taxa de prenhez. Contudo, foram necessárias 20 inseminações, devido à repetição de cio após a primeira IA.

Dentre as vacas que repetiram cio, todas eram multíparas e pertenciam aos grupos de vacas com infecção uterina e vacas com mastite, o que pode ser explicado pelo fato do ambiente uterino ser inadequado após a instalação de processos infecciosos, o que influencia na implantação e manutenção da gestação. Geary e Abreu (2015) afirmaram que, a regulação dos receptores de progesterona, estradiol, e ocitocina no endométrio uterino é fundamental para estabelecer um ambiente uterino adequado para o desenvolvimento do conceito, no entanto, é negativamente afetado na presença de infecções uterinas.

Outros trabalhos sugerem que, 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 pelo componente de membrana LPS (lipopolissacarídeo) e outros componentes bacterianos, fornecendo suporte inadequado para manutenção da gestação (SINA et al., 2018).

Da mesma forma que a infecção uterina, o processo inflamatório desencadeado pela mastite, também é relatado pelo seu efeito deletério sobre o estabelecimento e progresso da gestação (MALINOWSKI; GAJEWSKI, 2010).

A ativação de citocinas em vacas mastísticas foi relacionada causando a indução de apoptose das células luteais (principalmente por INF- γ e TNF- α), provocando luteólise e morte do conceito, e agindo diretamente sobre a indução da morte embrionária (IL-2, INF- γ e TNF- α) (MALINOWSKI; GAJEWSKI, 2010).

Como esses efeitos negativos não foram notados em todos os animais afetados por essas enfermidades (infecção uterina e mastite), isso pode ser relacionado à capacidade individual de cada organismo em controlar esses processos nocivos. Essa resposta individual é fator relevante nos resultados da maioria das pesquisas, com animais *in vivo*, e que deve ser levado em consideração.

Por fim, dentre as vacas que retornaram à ciclicidade até 90 dpp (n=46), observou-se presença de corpo lúteo nos ovários em 67,39% (31/46) delas, sem que estes animais apresentassem manifestações de estro. Desses 31 animais, 32,26% (10/31) eram primíparas e 67,74% (21/31) eram múltiparas.

Segundo Moraes et al. (2014), a primeira ovulação pós-parto geralmente é precedida da ausência de manifestação de estro. Isso ocorre porque altos níveis de estradiol durante o final da gestação aparentemente induzem um estado refratário no qual o cérebro não responde a ação indutora de comportamento de estro do estradiol na primeira ovulação pós-parto.

Outra possibilidade pode ser a falta de observação de estro pelo inseminador. Em outros estudos, a detecção de estro foi apontada como fator limitante para alcançar melhores índices de eficiência reprodutiva (VILLADIEGO et al., 2016). No entanto, todos os animais do referido estudo pertenciam a um mesmo rebanho.

Na presente pesquisa, os animais estavam distribuídos por quatro propriedades diferentes, porém, com características sanitárias e de manejo semelhantes. Com isso, a hipótese de falta de observação de cio deve ser levada em consideração, mas não deve ser apontada como fator limitante, visto que o número de animais a ser observado pelo inseminador era baixo, contrastando com o estudo citado anteriormente.

Nesse contexto, a inseminação em tempo fixo e os protocolos de sincronização de estro, que não requerem observação de estro, têm sido usados com resultados similares para taxa de prenhez e concepção comparados à detecção de estro para IA (POHLER; REESE; ARAUJO, 2016).

Em relação ao diagnóstico de mastite, na figura 2 encontra-se o número de mastites subclínicas diagnosticadas pelo teste de CMT em cada categoria para cada momento avaliado.

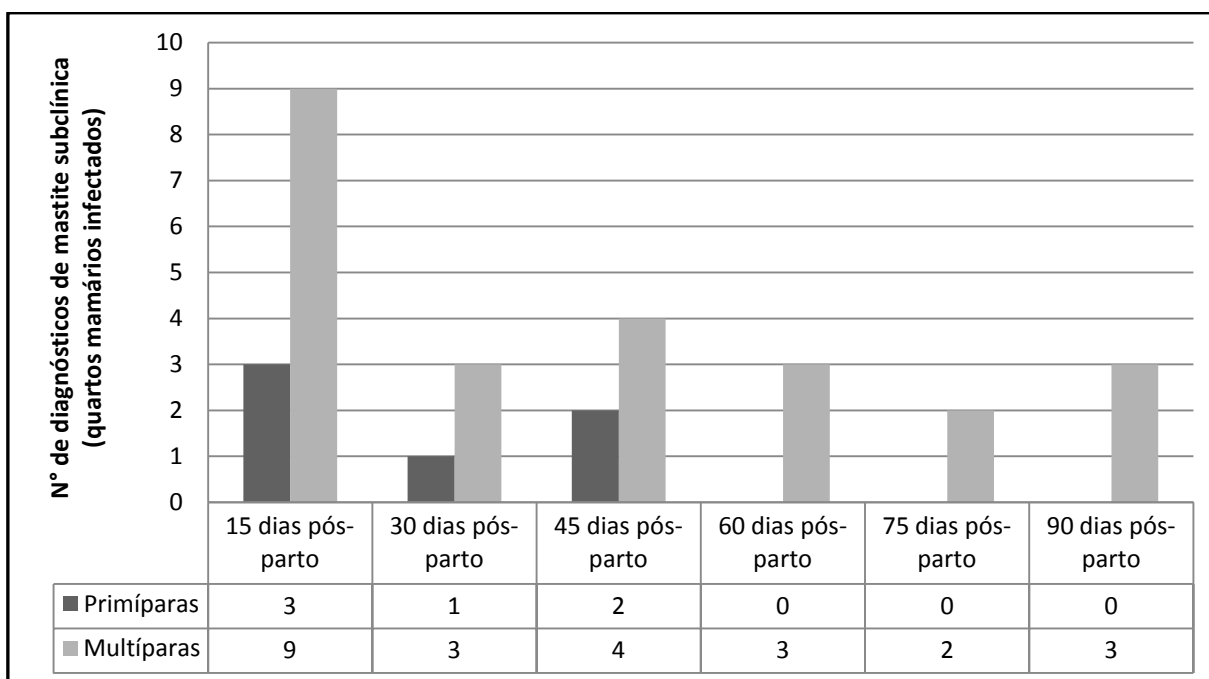


Figura 2 – Número de mastites subclínicas diagnosticadas pelo teste de CMT em vacas Primíparas (n=20) e Múltíparas (n=35) aos 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias pós-parto.

Observou-se que o período de maior incidência de mastite subclínica foi aos 15 dias pós-parto, tanto em primíparas como em múltíparas. Entretanto, não houve diferença entre o número de diagnósticos de mastite entre momentos e entre categorias ($p > 0,05$).

Isso pode ser explicado pelo fato do tecido mamário sofrer modificações para iniciar a produção de leite após o parto, e predispor processos inflamatórios e colonização por microrganismos bacterianos na glândula mamária. Além disso, no pós-parto imediato, o estresse do início da lactação torna as vacas imunodeficientes, favorecendo o desenvolvimento de afecções, como a mastite (CUNHA; OLIVEIRA, 2013).

Uma forma de reduzir a contaminação da glândula mamária de vacas recém-paridas é instituir uma linha de ordenha com base no diagnóstico de mastite da lactação anterior, pelo teste da caneca de fundo preto e CMT.

Desta forma, vacas primíparas, normalmente sem mastite, devem ser as primeiras ordenhadas, seguidas por vacas múltiparas que nunca tiveram mastite. Na ordem, ordenham-se vacas que já tiveram mastite, mas foram curadas, vacas com mastite subclínica e, por último, vacas com mastite clínica (MAPA, 2016).

Esse protocolo, associado à higiene dos tetos, higiene do ordenhador e dos equipamentos, reduz a incidência da doença no rebanho, visto que, o principal momento de transmissão da mastite subclínica ocorre durante a ordenha, de um animal a outro (RIBEIRO et al., 2014).

Quanto ao número de animais diagnosticados, das 55 vacas acompanhadas, 29% (16/55) foram diagnosticadas com mastite subclínica, sendo 25% (4/16) primíparas e 75% (12/16) múltiparas.

Dentre elas, uma vaca múltipara (6,25%; 1/16) apresentou mastite clínica aos 75 dias pós-parto, após ser diagnosticada com mastite subclínica aos 15, 45 e 60 dias pós-parto. Contudo, este caso não foi considerado relevante, numericamente, para o estudo, nem refletiu negativamente nos resultados para o animal diagnosticado.

O percentual de vacas com mastite subclínica diagnosticado no presente estudo (29%) não diferiu dos percentuais identificados por Godden et al. (2003), Roth et al. (2013) e Santos et al. (2010), compreendidos entre 12% e 40%.

A higienização dos tetos realizada antes das ordenhas diminui o risco de transmissão de patógenos contagiosos, como o *Staphylococcus aureus*, principal causador da mastite subclínica, podendo esta ação ser associada à baixa incidência da mastite nos animais avaliados.

Além disso, o sistema adotado nas propriedades acompanhadas é o de ordenha mecânica, com o bezerro ao pé. Estudos defendem que em vacas com bezerro ao pé, a sucção proporciona menor leite residual, sendo benéfica na prevenção da mastite (BARBOSA; BENEDETTI; GUIMARÃES, 2009).

Portanto, mesmo que a baixa incidência da mastite subclínica tenha sido observada nesta pesquisa, observou-se sua influência negativa em determinadas situações e grupos animais, como no tempo para RAOLC em vacas primíparas, quando comparadas com vacas saudáveis. Desta forma, é importante ressaltar que a profilaxia da mastite e o tratamento dos casos existentes podem resultar em benefícios à atividade leiteira nas propriedades estudadas, tanto para produção e qualidade do leite, como para a eficiência reprodutiva.

5. CONCLUSÕES

A presença de infecções uterinas não influenciou no tempo para involução uterina, RAOLC, número de inseminações artificiais e taxa de prenhez em vacas primíparas e multíparas.

A presença de mastite e das duas afecções concomitantes atrasou o retorno a atividade ovariana luteal cíclica em vacas primíparas.

6. REFERENCIAS

- ALBAAJ, A.; FOUCRAS, G.; RABOISSON, D. High somatic cell counts and changes in milk fat and protein contents around insemination are negatively associated with conception in dairy cows **Theriogenology**, v.88, p.18–27, 2017.
- AHMADI, M.R. et al. The comparative evaluation of uterine mucosa cytology with endometrial histopathology in cows. **Comportamental Clinical Pathology**, p.90-94, 2005.
- AHMADZADEH, A. et al. Effect of clinical mastitis and other diseases on reproductive performance of Holstein cows. **Animal Reproduction Science**, v. 112, p. 273-282, 2009.
- BACH, A.; PINTO, A.; BLANCH, M. Association between chelated trace mineral supplementation and milk yield, reproductive performance, and lameness in dairy cattle. **Livestock Science**, v.182, p.69–75, 2015.
- BALL, P.J.H.; PETERS, A.R. **Reprodução em bovinos**. 3. ed. São Paulo: Roca, 2006. 232p.
- BARANSKI, W.; ZDUNCZYK, S.; JANOWSKI, T. Reproductive performance of cows with subclinical endometritis diagnosed by different cytological thresholds in the postpartum period. **Tierärztl Prax**, v.41, p.15–19, 2013.
- BARBOSA, C.P.; BENEDETTI, E.; GUIMARÃES, E.C. Incidência de mastite em vacas submetidas a diferentes tipos de ordenha em fazendas leiteiras na região do triângulo mineiro. **Bioscience Journal**, v.25, n.6, p.121-128, 2009.
- BARLUND, C.S.; CARRUTHERS, T.D.; WALDNER, C.L.; PALMER, C.W. A comparison of diagnostic techniques for postpartum endometritis in dairy cattle. **Theriogenology**, v.69, p.714-723, 2008.
- BERISHA, B.; SCHAMS, D. Ovarian function in ruminants. **Domestical Animal Endocrinology**, v. 29, p.305-317, 2005.
- BUSO, Rodrigo R. et al. Retenção de placenta e endometrite subclínica: prevalência e relação com o desempenho reprodutivo de vacas leiteiras mestiças. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.38, n.1, p.1-5, 2018.
- CARNEIRO, L.C.; CRONIN, J.G.; SHELDON, I.M. Mechanisms linking bacterial infections of the bovine endometrium to disease and infertility. **Reproductive Biology**, v.16, p1-7, 2016.
- CERRI, R.L.A. et al. Efeito das inflamações e da condição de saúde sobre o desenvolvimento e a fertilidade de gado de leite. **XX Curso Novos Enfoques na Produção e Reprodução de Bovinos**, Uberlândia, 2016.

CHEBEL, R.C. et al. Factors affecting conception rate after artificial insemination and pregnancy loss in lactating dairy cows. **Animal Reproduction Science** v. 84, p. 239-255, 2004.

CORASSIN, C.H. **Determinação e avaliação de fatores que afetam a produtividade de vacas leiteiras**: Aspectos sanitários e reprodutivos. 113 p. Tese (Doutorado), Escola Superior de Agricultura “Luis de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

COSER, S.M.; LOPES, M.A.; COSTA, G.M. Mastite Bovina: controle e prevenção. **Boletim Técnico**, Lavras, Minas Gerais, n.93, p.1-30, 2012.

CUNHA, P.K.S.; OLIVEIRA, S.P. **Principais patógenos isolados nas glândulas mamárias das vacas da Fazenda Experimental da PUC Minas e sua correlação com a produção diária de leite e contagem de células somáticas**. 2013. 39f. Monografia - Curso de Medicina Veterinária, Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, Betim, 2013.

DAROS, R.R. et al. Prevalence and risk factors for transition period diseases in grazing dairy cows in Brazil. **Preventive Veterinary Medicine**. v.145, p.16–22, 2017.

DISKIN, M.G. HeatWatch: a telemetric system for heat detection in cattle. **Veterinary Quarterly**, v.30, p.37–48, 2008.

EDMONSON, A.J. et al. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.72, p.68-78, 1989.

EMERICK et al. Retorno da atividade ovariana luteal cíclica de vacas de corte no pós-parto: uma revisão. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.33, n.4, p.203-212, 2009.

FEITOSA F.L.F. **Semiologia Veterinária: a arte do diagnóstico**. 2ª edição, São Paulo, Roca, 735 p.,2008.

FERREIRA, A. M.; SÁ, W.F.; VILLAÇA, H. de A.; ASSIS, A.G. de. Diagnóstico da situação produtiva e reprodutiva em rebanhos leiteiros da Zona da Mata de Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.27, n.1, p.91-104, 1992.

FERREIRA, A. M. **Reprodução da fêmea bovina**: Fisiologia aplicada e problemas mais comuns (causas e tratamentos). 1ª edição, Valença, Editar, 420p. 2010.

FUENZALIDA, M.J.; FRICKE, P.M.; RUEGG, P.L. The association between occurrence and severity of subclinical and clinical mastitis on pregnancies per artificial insemination at first service of Holstein cows. **Journal Dairy Science**, v.98, p.3791–3805, 2015.

GEARY, T.W.; ABREU, F. Manejo reprodutivo para otimizar o útero e a prenhez. **XIX Curso Novos Enfoques Na Produção e Reprodução de Bovinos**, Uberlândia, 2015.

GHANEM, M.E. et al. Persistence of uterine bacterial infection, and its association with endometrites and ovarian function in postpartum dairy cows. **Journal of Reproduction and Development**, v.61, n.1, 2015.

GHANEM, M.E. et al. Correlation of blood metabolite concentrations and body condition scores with persistent postpartum uterine bacterial infection in dairy cows. **Journal of Reproduction and Development**, v.62, n.5, 2016

GODDEN, S. et al. Effectiveness of an Internal Teat Seal in the Prevention of New Intramammary Infections During the Dry and Early-Lactation Periods in Dairy Cows when used with a Dry Cow Intramammary Antibiotic. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.3899-3911, 2003.

HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. **Reprodução Animal**. 7ª ed. São Paulo: Manole, 2004. 501p.

HAMMON, D.S. et al. Neutrophil function and energy status in Holstein cows with uterine health disorder. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.113, p.21–29, 2006.

HERTL, J. A., Y. T. et al. Effects of clinical mastitis caused by gram-positive and gram-negative bacteria and other organisms on the probability of conception in New York State Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.93, p.1551–1560, 2010.

INGVARTSEN, K.L.; DEWHURST, R.J.; FRIGGENS, N.C. On the relationship between lactational performance and health: is it yield or metabolic imbalance that cause production diseases in dairy cattle? A position paper. **Livestock Production Science**, v. 83, p. 277-308, 2003.

KASIMANICKAM, R. 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. et al. A comparison of the cytobrush and uterine lavage techniques to evaluate endometrial cytology in clinically normal postpartum dairy cows. **Canadian Veterinary Journal**, v.46, p.255-259, 2005.

KIM, I.H.; KANG, H.G. Risk factors for postpartum endometritis and the effect of endometritis on reproductive performance in dairy cows in Korea. **Journal of Reproduction and Development**, v.49, n.6, 2003.

KOCAMUFTUOGLU, M.; VURAL R. The evaluation of postpartum period in dairy cows with normal and abnormal periparturient problems. **Acta Veterinaria Belgrade**, v.58, p.75-87, 2008.

KONEMAN, E.W.; ALLEN, S.D.; JANDA, W.M; SCHREKENBERGER, P.C. **Diagnóstico Microbiológico-Texto e Atlas Colorido**. 5ª edição, Rio de Janeiro: MEDSI, 2001.

LANGONI, H. Aspectos microbiológicos e de qualidade do leite. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 12, p. 1059-1065, 2011.

LANGONI, H. Qualidade do leite: utopia sem um programa sério de monitoramento da ocorrência de mastite bovina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 5, p. 620-626, 2013.

LANGONI, H. et al. Considerações sobre o tratamento das mastites. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. Rio de Janeiro, v. 37, n. 11, p. 1261-1269, 2017.

LAVON, Y. et al. Immediate and carryover effects of Gram-negative and Gram-positive toxin-induced mastitis on follicular function in dairy cows. **Theriogenology**, v.76, p.942–953, 2011.

LEBLANC, S.J. Postpartum uterine disease and dairy herd reproductive performance: a review. **Veterinary Journal**. v. 176, p. 102-114, 2008.

LEUTERT, C.; et al. Evaluation of vaginoscopy for the diagnosis of clinical endometritis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.96, n.1, p.206-212, 2012.

LEWIS, G.S. Steroidal regulation of uterine immune defenses. **Animal Reproduction Science**, v.82-83, p.281-294, 2004.

MADOZ, L.V.; GUILIODORI, M.J.; MIGLIORISI, A.L.; JAUREGUIBERRY, M.; SOTA, R.L. Endometrial cytology, biopsy, and bacteriology for the diagnosis of subclinical endometritis in grazing dairy cows. **Theriogenology**, v.97, n.1, p.195-201, 2014.

MALINOWSKI, E.; GAJEWSKI, Z. Mastitis and fertility disorders in cows. **Polish Journal Veterinary Science**, v.13,n. 3, p.555-60, 2010.

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Boas Práticas de Manejo – Ordenha**. 2016. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/boas-praticas-e-bem-estar-animal/arquivos-publicacoes-bem-estar-animal/ordenha.pdf/view>>. Acesso em: 20 março 2018.

MARQUES-JÚNIOR, A.P.; MARTINS, T.M.; BORGES, A.M. Abordagem diagnóstica e de tratamento da infecção uterina em vacas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.35, n.2, p.293-298, 2011.

MARTINS, T.N.; BORGES, A.M. Avaliação uterina em vacas durante o puerpério. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.35, n.4, p.433-443, 2011.

MARTINS, C.F.G. et al. Avaliação ginecológica e citológica em vacas Holandesas com mais de três repetições de cio. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 6, p. 3787-3794, 2013.

MATEUS, L. et al. Influence of puerperal uterine infection on uterine involutin and postpartum ovarian activity in dairy cows. **Reproduction in Domestic Animals**, v.37, p.31-35, 2002.

MOLINA-COTO, R. **Effect of subclinical endometritis on ovarian and uterine response to a timed ai protocol in dairy cows**. 2016. 113f. Dissertação (Mestrado). University of Missouri. Missouri, 2016

MOORE, D. A., J. S. et al. Preliminary Field Evidence for the Association of Clinical Mastitis with Altered Interestrus Intervals in Dairy-Cattle. **Theriogenology**, n.36, p.257-265, 1991.

MORAES, C.N. et al. Considerações a respeito do pós-parto em bovinos. **Veterinária e Zootecnia**, v.21, n.1, p.53-63, 2014.

MOURA, A.R.F. et al. Endometrite subclínica após o tratamento de vacas com endometrite clínica. **Archives of Veterinary Science**, v.17, n.3, p.32-41, 2012.

NIELSEN, C. **Economic Impact of Mastitis in Dairy Cows**. 2009. 81f. Tese (Doutorado). Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, 2009.

OKAWA, H. et al. Effect of diagnosis and treatment of clinical endometritis based on vaginal discharge score grading system in postpartum Holstein cows. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v.79, n.9, p.1545-1551, 2017.

PASCOTTINI, O.B. et al. Comparison between cytology and histopathology to evaluate subclinical endometritis in dairy cows. **Theriogenology**, v.1, p.1-7, 2016.

POHLER, K.G.; REESE, S.R.; ARAUJO, G.F. Utilização de Glicoproteínas Associadas à Prenhez (PAGs) para entender e melhorar resultados de fertilidade em bovinos. **XX Novos Enfoques na Produção e Reprodução de Bovinos**. Uberlândia, 2016.

POTHMANN, H. et al. The prevalence of subclinical endometritis and intrauterine infections in repeat breeder cows. **Theriogenology**, v.83, n.8, p.1249-1253, 2015.

PRESTES, N.C.; ALVARENGA, F.C.L. **Obstetrícia veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017, 236 p.

RADOSTITS, O. M. et al. Mastite. In:_____. **Clínica veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, caprinos e equinos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p. 541-629.

RAMÍREZ, N.F. et al. Herd- and cow-level risk factors associated with subclinical mastitis in dairy farms from the High Plains of the northern Antioquia, Colombia. **Journal of Dairy Science**, v.97, p.4141–4150, 2014.

RIBEIRO, M. et al. Relação entre mastite clínica, subclínica, infecciosa e não infecciosa em unidades de produção leiteiras na região sul do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 9, n. 3, p. 287-290, 2003.

RIBEIRO, W.O. et al. Enumeração de microrganismos causadores da mastite bovina e estudo da ação de antimicrobianos. **Revista Instituto Laticínios Cândido Tostes**, v. 69, n. 1, p 45-52, 2014.

ROCHE J.F. The effect of nutritional management of the dairy cow on reproductive efficiency. **Animal Reproduction Science**, v.96, p.282-96, 2006.

ROTH, Z. et al. Naturally occurring mastitis disrupts developmental competence of bovine oocytes. **Journal Dairy Science**, v.96, n.19, p.1–7, 2013.

SAGLAM, A.G. et al., The role of staphylococci in subclinical mastitis of cows and lytic phage isolation against to *Staphylococcus aureus*. **Veterinary World**, v.12, n.10, p.1481-1485, 2017.

SALEHI, R. et al. Effects of prepartum oilseed supplements on subclinical endometritis, pro- and anti-inflammatory cytokine transcripts in endometrial cells and postpartum ovarian function in dairy cows. **Reproduction, Fertility and Development**, v.29, p.747–758, 2016

SANTOS, J.D. et al. Infecções uterinas no pós-parto e seus efeitos na fertilidade de vacas leiteiras. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 13, n. 2, p. 96-105, 2017.

SANTOS, J.E.P. et al. Applying nutrition and physiology to improve reproduction in dairy cattle. **Society of Reproduction and Fertility Supplement**, v.67, p.387-403, 2010.

SANTOS, J.E. et al. Effect of timing of first clinical mastitis occurrence on lactational and reproductive performance of Holstein dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v. 80, n.1-2, p. 31-45, 2004.

SAVIC, M. et al. Uterine disease and its effect on subsequent reproductive performance of dairy cattle: a comparison of two cow-side diagnostic methods. **Theriogenology**, v.89, n.8, p.1983-1988, 2016.

SCHRICK, F.N. et al. Influence of subclinical mastitis during early lactation on reproductive parameters. **Journal of Dairy Science**, v.84, p.1407-1412, 2001.

SHELDON, I.M.; DOBSON, H. Postpartum uterine health in cattle. **Animal Reproduction Science**, v.82-83, p.295-306, 2004.

SHELDON, I.M. 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. et al. Defining postpartum uterine disease in cattle. **Theriogenology**, v. 65, n.8, p. 1516-1530, 2006.

SHELDON, I.M. et al. Uterine diseases in cattle after parturition. **The Veterinary Journal**, v.176, p.115–121, 2008.

SHELDON, I.M. et al. Defining postpartum uterine disease and the mechanisms of infection and immunity in the female reproductive tract in cattle. **Biology of Reproduction**, v.81, n.6, p.1025-1032, 2009.

SHRESTA, H.K. et al. Effects of abnormal ovarian cycles during pre-service period postpartum on subsequent reproductive performance of high producing Holstein cows. **Theriogenology**, v.6, p.1559-1571, 2004.

SINA, M. et al. Inflammatory status and its relationships with different patterns of postpartum luteal activity and reproductive performance in early lactating Holstein cows. **Theriogenology**, v.108, p.262-268, 2018.

SORDILLO, L.M., AITKEN, S.L. Impact of oxidative stress on the health and immune function of dairy cattle. **Veterinary Immunology and Immunopathology**. v.128, p.104-109, 2009.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS. **Mastite bovina: controle e prevenção**. Lavras: UFLA, 2012, 27p.

VIEIRA, R.J. Obstetrícia em bovinos: da concepção ao puerpério. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.8, n.2, p. 361-368, 2014.

VILLADIEGO, F.A.C. et al. Parâmetros reprodutivos e produtivos em vacas leiteiras de manejo free stall. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.36, n.1, p.55-61, 2016.

WILLIAMS, G.L. Fisiologia e manejo reprodutivo de vacas de corte pós-parto. **IX Curso Novos Enfoques na Produção e Reprodução de Bovinos**, Uberlândia, 2005.

WILLIAMS, E.J. et al. The relationship between uterine pathogen growth density and ovarian function in the postpartum dairy cow. **Theriogenology**, v.68, p.549–559, 2007.

WOLFENSON, D.; LEITNER, G.; LAVON, Y. The Disruptive Effects of Mastitis on Reproduction and Fertility in Dairy Cows. **Italian Journal of Animal Science**, v.14, n.4, 2016.

YANG, F.L. et al. Clinical mastitis from calving to next conception negatively affected reproductive performance of dairy cows in Nanning, China. **African Journal of Biotechnology**, v.11, n.10, p.2574-2580, 2012.

ZHANG, J. et al. Effects of parity on uterine involution and resumption of ovarian activities in postpartum Chinese Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.93, n.5, p.1979-1986, 2010.