

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
Faculdade de Medicina Veterinária
Programa de Pós-Graduação em Ciências
Veterinárias

**RETENÇÃO DE PLACENTA E ENDOMETRITE SUBCLÍNICA:
PREVALÊNCIA E RELAÇÃO COM O DESEMPENHO REPRODUTIVO DE
VACAS LEITEIRAS MESTIÇAS**

Rodrigo Rossini Buso
Médico Veterinário

UBERLÂNDIA - MINAS GERAIS - BRASIL

2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
Faculdade de Medicina Veterinária
Programa de Pós-Graduação em Ciências
Veterinárias

**REtenção de PLACENTA e ENDOMETRITE SUBCLÍNICA:
PREVALÊNCIA e RELAÇÃO COM O DESEMPENHO REPRODUTIVO DE
VACAS LEITEIRAS MESTIÇAS**

Rodrigo Rossini Buso

Orientadora: Profa. Dra. Ricarda Maria dos Santos

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias.

Área de Concentração: Produção Animal
Linha de Pesquisa: Biotécnicas e Eficiência Reprodutiva

Uberlândia-MG
Agosto de 2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

B979r Buso, Rodrigo Rossini, 1989-
2015 Retenção de placenta e endometrite subclínica: prevalência e relação

com o desempenho reprodutivo de vacas leiteiras mestiças / Rodrigo
Rossini Buso. - 2015.

56 f.

Orientadora: Ricarda Maria dos Santos.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

Inclui bibliografia.

1. Veterinária - Teses. 2. Bovino de leite - Reprodução - Teses. 3.
Endometrite - Teses. 4. Bovino de leite - Doenças - Teses. I. Santos,
Ricarda Maria dos. II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de
Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. III. Título.

“Se você quer ser bem sucedido,
precisa ter dedicação total,
buscar seu último limite e
dar o melhor de sim mesmo”.

Ayrton Senna da Silva

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Carlos Roberto Buso e Marta Helena Rossini Buso, à minha irmã Rafaela, aos meus avós e à Fernanda, por sempre acreditarem em minhas capacidades, por suas orações, por me compreenderem e me apoiarem em todos os momento, tendo a paciência necessária durante esta fase

Com muito carinho, dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus em primeiro lugar, por me proteger e permitir cumprir mais uma fase em minha vida, dar força e sabedoria para conquistar meus sonhos.

À Universidade Federal de Uberlândia pela oportunidade e estrutura que permitiu a elaboração e desenvolvimento deste projeto.

A minha orientadora e professora Dra. Ricarda Maria dos Santos, por ser um exemplo, pela oportunidade e confiança, paciência e ensinamentos.

Ao professor Dr. João Paulo Elsen Saut e a professora Dra. Letícia Zoccolaro Oliveira, por participarem da banca e nos ajudar a desenvolver um trabalho ainda melhor.

À toda minha família, pais, irmã, avós, tios e tias, primos e primas, sogros pela grande torcida, apoio, compreensão e confiança.

À Dra. Fernanda Lanzelotti, minha namorada, pelo companheirismo, compreensão e apoio em todas as minhas decisões.

À professora Dra. Natascha Almeida Marques da Silva, pelo apoio e compreensão.

À colega doutoranda Thaisa Reis dos Santos por sua ajuda incondicional para a elaboração e conclusão deste trabalho.

Aos colegas e produtores Sydney, Ademar, Dásio, Éder, Geovane, Januário, Marco, Silvan, Valdinei e Ziltomar por generosamente disponibilizar seus animais para a coleta de amostras, fornecer os dados necessários e por terem a paciência de destinar parte de seu tempo para nos acompanhar nas coletas.

Aos meus amigos André, Bruno Caixeta, Daniel Brum, Davi, Fabrício, Gustavo, Lucas Abrantes, Raphael, Samuel, Vinícius e Thadeu que sempre compreenderam minhas ausências e deram os melhores conselhos me ajudando a chegar até aqui.

A todos que não foram aqui mencionados, mas que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	6
ABSTRACT	7
1. INTRODUÇÃO	8
2. REVISÃO DE LITERATURA	10
2.1. Anatomia uterina, suas alterações e contaminações no pós-parto	10
2.2. Fatores que predispõem às infecções uterinas	11
2.3. Definição, sintomatologia e fatores predisponentes à Retenção de Placenta	12
2.4. Metrite, endometrite clínica, endometrite subclínica (citológica) e piometra	15
2.5. Mecanismos de defesa do útero contra as infecções.....	17
2.6. Diagnósticos e possíveis tratamentos das infecções uterinas.....	18
2.7. Tratamento e prevenção da Retenção de Placenta.....	20
2.8. Retenção de placenta e infecções uterinas: desempenho reprodutivo e perdas econômicas	21
3. MATERIAIS E MÉTODOS	25
3.1. Local e período	25
3.2. Animais.....	25
3.3. Avaliação e colheita de dados	26
3.4. Análise estatística	28
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
5. CONCLUSÃO	39
6. REFERÊNCIAS	40

LISTA DE ABREVIATURAS

B4	Leucotrieno B4
°C	Graus Célsios
CEUA	Comitê de ética na utilização de animais
CL	Corpo lúteo
D	Dia
DPP	Dias pós-parto
E2	Estrógeno
ECC	Escore de condição corporal
ES	Endometrite subclínica
FSH	Hormônio folículo estimulante
G	Gramas
GnRH	Hormônio liberador de gonadotrofinas
IA	Inseminação artificial
IATF	Inseminação artificial em tempo fixo
Kg	Quilograma
LH	Hormônio luteinizante
MHC	Complexo principal de histocompatibilidade
Mg	Miligramas
MI	Mililitro
Mm	Milímetro
P4	Progesterona
PGE2	Prostaglandina E2
PGF2α	Prostaglandina F2α
PMN	Células polimorfonucleares
P-Valor	Probabilidade estatística
RP	Retenção de placenta
UFU	Universidade Federal de Uberlândia

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1 Efeito individual de cada fazenda analisado sobre a prevalência de endometrite subclínica em vacas leiteiras Girolando.....	29
Tabela 2 Efeito do tipo de parto (Normal vs. Distocico) sobre a prevalência de endometrite subclínica e retenção de placenta em vacas leiteiras Girolando.....	31
Tabela 3 Efeito do período do ano em que ocorreu o parto sobre a prevalência de endometrite subclínica em vacas leiteiras Girolando.....	32
Tabela 4 Efeito do período do ano em que ocorreu o parto sobre a prevalência de retenção de placenta em vacas leiteiras Girolando.....	33
Tabela 5 Efeito da ocorrência de retenção de placenta 12 horas após o parto sobre a prevalência de endometrite subclínica em vacas leiteiras Girolando.....	34
Tabela 6 Efeito da endometrite subclínica sobre o período de serviço médio e o número de inseminações artificiais (IA) necessária à prenhez em vacas leiteiras Girolando.....	35
Tabela 7 Efeito da retenção de placenta sobre o período de serviço médio e o número de inseminações artificiais (IA) necessária à prenhez em vacas leiteiras Girolando.....	37

REtenção de PLACENTA e ENDOMETRITE SUBCLÍNICA: PREVALÊNCIA e RELAÇÃO COM o DESEMPEnHO REPRODUTIVO DE VACAS LEITEIRAS MESTIÇAS

RESUMO – Objetivou-se neste estudo avaliar a prevalência de retenção de placenta (RP) e endometrite subclínica (ES) entre 30 a 80 dias pós-parto, a relação entre as duas patologias e seus efeitos no desempenho reprodutivo de vacas leiteiras mestiças. Foram avaliados 462 partos de vacas mestiças (Holandês/Gir). A ocorrência de RP foi considerada como a não eliminação da placenta a partir de 12 horas após a expulsão do feto. As amostras endometriais foram colhidas entre 30 e 80 dias pós-parto, utilizando o método do “cytobrush”, as lâminas foram coradas e analisadas em microscopia. Foi considerado caso de ES a presença de 5% ou mais de neutrófilos em cada lâmina. O desempenho reprodutivo foi avaliado pela porcentagem de animais que ficaram gestantes na primeira IA e antes de 150 dias pós-parto. Os dados foram analisados por teste qui-quadrado com auxílio do programa InStat. A prevalência de RP foi de 14,94% e de ES foi de 27,49%. A ocorrência de RP não afetou a prevalência de ES ($P>0,05$). A ocorrência de parto distócico aumentou a prevalência de RP ($P<0,05$), porém não afetou a prevalência de ES ($P>0,05$). O período do ano não influenciou a RP ($P>0,05$), porém vacas paridas nos meses chuvosos apresentaram maior prevalência de ES ($P<0,05$). A ES não interferiu no desempenho reprodutivo das vacas, porém a ocorrência da RP interferiu negativamente no desempenho reprodutivo, vacas que tiveram a patologia tiveram maior período de serviço ($P<0,05$) e necessitaram de maior número de IA para emprenhar ($P<0,05$).

Palavras-chave: bovinos, endometrite citológica, pós-parto

RETAINED PLACENT AND SUBCLINICAL ENDOMETRITIS: PREVALENCE AND RELATIONSHIP WITH REPRODUCTIVE PERFORMANCE OF CROSSBRED DAIRY COWS

ABSTRACT - The objective of this study was to evaluate the prevalence of retained placenta (RP) and subclinical endometritis (ES) between 30 to 80 days postpartum, the correlation between the two diseases and its relationship with the reproductive performance of crossbred dairy cows. We evaluated 462 calvings of crossbred dairy cows (Holstein/Gir). The occurrence of RP is regarded as the failure to eliminate the placenta from 12 hours after the expulsion of the fetus. The endometrial samples were collected between 30 and 80 days postpartum, using the method of "cytobrush", the blade were stained and analyzed by microscopy. ES case was considered the presence of more than 5% of neutrophils in each blade. The reproductive performance was evaluated by the percentage of animals that injure pregnant women in the first IA and before 150 days postpartum. Data were analyzed by chi-square test with the help of the InStat program. The prevalence of PR was 14.94% and ES was 27.49%. The occurrence of RP did not affect the prevalence of ES ($P>0.05$). The occurrence of dystocia increased the prevalence of RP ($P<0.05$), but did not affect the incidence of ES ($P>0.05$). The time of year did not influence the RP ($P>0.05$), however calving cows in the rainy months had a higher prevalence of ES ($P<0.05$). The ES did not affect the reproductive performance of cows, but the occurrence of RP negative effect on reproductive performance, cows who had the disease had service period higher ($P < 0.05$) and required more IA to pregnant ($P < 0.05$).

Keywords: cattle, cytological endometritis, postpartum

1. INTRODUÇÃO

Em todos os sistemas de criação de bovinos leiteiros, as infecções uterinas são comuns, normalmente não letais, porém reduzem a fertilidade e elevam os custos de produção (SHELDON e DOBSON, 2004; GILBERT *et al.*, 2005). Alguns fatores que ocorrem no peri-parto podem ser considerados de risco para estas patologias. Estes fatores incluem a retenção de placenta, ambiente do parto, distocia, parto gemelar e a dieta da vaca no pré-parto (SHELDON *et al.*, 2008).

A retenção de placenta pode ser definida como a permanência da porção fetal da placenta aderida ao útero após a expulsão do feto por um período acima de 12 horas (SANTOS, 2010). A prevalência desta patologia nos bovinos é superior à verificada em outras espécies, manifestando-se principalmente em vacas leiteiras (HORTA, 1994).

Os fatores mecânicos, nutricionais, infecciosos e de manejo são os principais relacionados à ocorrência de retenção de placenta. As causas mecânicas estão ligadas às distocias, as nutricionais às deficiências de energia, proteínas, vitaminas e minerais, as infecciosas relacionadas às doenças reprodutivas, e as de manejo estão associadas ao estresse e ao ambiente dos animais (GUNAY *et al.*, 2011).

Logo após o parto, o útero inicia o processo de involução, regeneração do endométrio e eliminação da contaminação bacteriana, pois somente assim torna-se capacitado a desenvolver uma próxima gestação (SHELDON *et al.*, 2003). O útero no pós-parto suporta o crescimento de bactérias aeróbias e anaeróbias. A proporção de animais infectados aumenta entre o sétimo e o decimo quarto dia após o parto, o que sugere que não é simplesmente a contaminação bacteriana durante o parto que é responsável por problemas uterinos (SHELDON, 2004). Durante quatro semanas após o parto, o sistema imune das vacas é extremamente desafiado, a maioria das vacas desenvolve uma endometrite não patológica no início da fase puerperal (THATCHER *et al.*, 2006).

A primeira linha de defesa contra a invasão de organismos patogênicos é a formada pelos neutrófilos durante o pós-parto (WATSON et al., 1990). A endometrite subclínica é diagnosticada pela citologia uterina e está associada a uma redução na taxa de prenhez e aumento do tempo médio para concepção após o parto (KASIMANICKAM et al., 2004; GILBERT et al., 2005).

Após o período voluntário de espera, o desempenho reprodutivo de vacas leiteiras depende da condição corporal, da detecção de cio, da técnica de inseminação utilizada, da qualidade do sêmen e de um ambiente uterino saudável (NOAKES et al., 2002). A retomada da atividade ovariana cíclica normal é um dos eventos mais importantes para as vacas leiteiras recuperarem seu potencial reprodutivo (KANEKO e KAWAKAMI, 2009).

A retenção de placenta leva a um atraso tanto no processo de involução uterina quanto no reinício da atividade ovariana no período pós-parto, além de elevar a probabilidade de ocorrência das infecções uterinas (DJURICIC et al., 2012). A intensidade das consequências, acarretadas pelas doenças uterinas, varia de acordo com a gravidade da infecção pós-parto, práticas sanitárias e o tempo no qual esta doença acometeu o animal. Normalmente, elas causam importantes perdas econômicas, causado principalmente pela diminuição do desempenho reprodutivo, redução na produção e a elevação da taxa de descarte precoce dos animais (BARLETT et al., 1986 e DUBUC et al., 2011a).

O desempenho reprodutivo é de extrema importância na gestão da atividade pecuária. O diagnóstico e o tratamento de uma doença uterina no pós-parto e seu impacto no desempenho reprodutivo do animal exige bastante atenção de veterinários e produtores (LeBLANC et al., 2002a).

Objetivou-se neste estudo avaliar a prevalência da retenção de placenta e endometrite subclínica entre 30 a 80 dias pós-parto, a relação entre as duas patologias e seus efeitos no desempenho reprodutivo de vacas leiteiras mestiças.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Anatomia uterina, suas alterações e contaminações no pós-parto

O útero de bovinos é bicornuado, ou seja, composto de dois cornos, com um corpo e uma cérvix (colo). Esta anatomia é típica em animais domésticos. Em ruminantes, o epitélio uterino, é composto por diversas carúnculas e é fundamental para o processo reprodutivo. O endométrio e seus fluidos são responsáveis pelo transporte de espermatozoides, regulação da função do corpo lúteo (CL) e início da implantação e gestação (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

O útero tem peso próximo a nove quilogramas (kg) no momento do parto e regride para cerca de 1 kg ao completar 30 dias pós-parto. Em normalidade, o útero é esteril, mas no momento do parto, com a vulva e a vagina relaxadas, bactérias podem contaminar o lúmen uterino (SHELDON, 2004). Estas bactérias podem ser provenientes do ambiente, da pele do animal ou das fezes (SHELDON e DOBSON, 2004).

O período pós-parto é compreendido entre o parto e a completa involução do útero e pode ser dividido em três subperíodos, são eles: 1) puerpério, definido como o intervalo do parto até a adeno-hipófise tornar-se responsável ao hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH); 2) intermediário, é o intervalo de tempo que a hipófise torna-se responsável ao GnRH e a primeira ovulação durante o pós-parto; e 3) pós-ovulatório, é o intervalo entre a primeira ovulação até a completa involução uterina (OLSON *et al.* 1986).

Na involução uterina os fenômenos envolvidos são o encolhimento físico, necrose e descamação das carúnculas e regeneração do endométrio. Após a perda da alanto-córion, ocorre a necrose dos cotilédones uterinos, que são eliminados geralmente em 12 dias após o parto (SHELDON *et al.*, 2008).

Em bovinos leiteiros em sistemas intensivos de criação, a contaminação microbiana do útero é bem comum, porém, o sistema imune dos animais eliminam progressivamente a população microbiana. Mesmo assim, em torno de 40% dos animais ainda possuirão infecção uterina nas três semanas após o parto (SHELDON *et al.*, 2008).

Durante o estro, as concentrações de progesterona (P4) estão reduzidas e as concentrações de estradiol aumentadas. Após o estro, as produções de prostaglandina F_{2α} (PGF_{2α}) pelo útero aumentam, produzindo mais leucotrieno (B₄) endometrial, e o útero normalmente é capaz de evitar o desenvolvimento das infecções (LEWIS, 2003).

2.2. Fatores que predispõem às infecções uterinas

Bactérias patogênicas, que contaminam o útero, causam inflamação e lesões no endométrio, levam ao atraso na involução uterina e reduzem a sobrevivência embrionária (SEMAMBO, et al., 1991; BONNET et al., 1991). Casos de endometrite são associados a infecções uterinas por *Escherichia coli* na primeira semana do pós-parto e por *Trueperella pyogenes* na segunda semana (GILBERT et al. 2007, WILLIAMS et al., 2007).

Os principais fatores de risco para a infecção uterina podem ser divididos entre aqueles associados aos danos uterinos, condições metabólicas, e aqueles que determinam o equilíbrio entre a patogenicidade do agente invasor e imunidade do animal (SHELDON, 2004). Fatores que impedem o desenvolvimento do parto normal, como a presença de natimortos, abortos, partos gemelares, distocia, ou necessidades de intervenções cirúrgicas como as cesarianas, são os mais associados à infecção uterina (HUSSAIN et al., 1990; PEELER et al., 1994).

Concentrações anormais de P4 podem ocorrer em quadros de retenção de placenta e infecção uterina, predispondo ao atraso na ovulação, presença de cistos ovarianos ou ainda aumento na duração da fase lútea (OPSMER et al., 2000; ROYAL et al., 2000). Os efeitos imunossupressores da P4 produzida pelo CL, ou possivelmente dos esteroides suprarrenais, podem contribuir para uma progressão da contaminação presente em infecções uterinas (SHELDON et al., 2006).

As alterações na liberação de PGF_{2α} no pós-parto pode ser um dos responsáveis pelo atraso da involução uterina e maior prevalência de infecções uterinas bem como persistência de bactérias patogênicas observadas em

vacas com endometrite severa (MATEUS *et al.*, 2002). Os efeitos da *Escherichia coli* ou de lipopolissacarídeos podem modular a secreção dos hormônios PGF2α e PGE2 aumentando a prevalência da endometrite (HERATH *et al.*, 2006).

Indicadores de metabolismo de energia, tais como aumento e diminuição durante o pré-parto de ácidos graxos não esterificados, aumento do ácido beta-hidroxi-butírico no pós-parto têm sido associados com maiores chances de desenvolvimento de casos de endometrite (HAMMON *et al.*, 2006).

Alguns distúrbios metabólicos, como deslocamento do abomaso, hipocalcemia e cetose, aumentam o risco de endometrite (CORREA *et al.*, 1993; WHITEFORD e SHELDON, 2005). A concentração elevada da proteína plasmática haptoglobina foi considerada um fator de risco para a presença de corrimento vaginal purulento e ocorrência de endometrite subclínica. Isto sugere que há um aumento do processo inflamatório durante o pós-parto, provavelmente a partir do útero (SHELDON *et al.*, 2001; WILLIAMS *et al.*, 2005; DUBUC *et al.*, 2010a).

A maior proporção de vacas que tiveram endometrite subclínica na quarta semana pós-parto também foram positivas na oitava semana, o que indicou que esta pode persistir por um longo tempo e/ou o mesmo animal pode ser re-infectado em diferentes ocasiões (BACHA e REGASSA, 2009).

A endometrite subclínica é comum em animais com baixa ingestão de matéria seca a partir da última semana de gestação até cinco semanas de pós-parto (ROCHE, 2006; HAMMON *et al.*, 2003).

2.3. Definição, sintomatologia e fatores predisponentes à Retenção de Placenta

Segundo Ferreira (2010), na espécie bovina, é considerado retenção de placenta quando ocorre a permanência da porção fetal da placenta aderida ao útero 12 horas após a expulsão do feto. Em vacas leiteiras a prevalência de retenção de placenta é superior à verificada em outras espécies (HORTA, 1994). Em seu estudo, Merck (1996) relatou que após um parto normal a

prevalência de retenção de placenta é de 3 a 12%, porém quando ocorrem partos anormais, ou quando ocorre infecção do trato reprodutivo, a ocorrência de retenção de placenta pode ser de 20 a 50%.

Devido ao período fisiológico necessário para o descolamento dos anexos fetais, que dura por volta de seis horas, pode-se dizer que todas as vacas apresentam retenção de placenta após o parto. A retenção de placenta é considerado um quadro patológico quando a mesma permanece por períodos acima do período fisiológico (VAN WERVEN *et al.* 1992).

Além dos anexos placentários expostos, os outros sinais clínicos da retenção de placenta são cólicas e esforços expulsivos recorrentes, putrefação das membranas fetais com secreção cinzenta-amarelada de odor fétido que pode evoluir para uma metrite séptica capaz de comprometer o estado geral de saúde do animal. A vaca pode apresentar anorexia, prostração, hipertermia, atonia uterina, interrupção da ruminação e agalaxia, podendo evoluir para septicemia acompanhada ou não por tetania, seguida de morte. No caso de sobrevivência a vaca pode desenvolver metrite que, se não tratada, tende a cronicidade, comprometendo a fertilidade futura do animal (HORTA, 1994; GRUNERT *et al.*, 2005).

Muitos fatores podem dar origem a um quadro patológico de retenção de placenta, porém todos levam a uma falha na quebra da ligação entre cotilédone-carúncula após o parto (LeBLANC, 2008). A pouca ou ausência de contração muscular do útero não é a principal causa de retenção de placenta, o motivo mais comum parece ser a não degradação dos pontos de adesão das carúnculas aos cotilédones (MARTINS *et al.*, 2004; FERREIRA, 2010).

Nos últimos meses de gestação, ações enzimáticas, hormonais e a migração de células inflamatórias para o útero iniciam a maturação dos placentomas o que, futuramente, levaram a separação da placenta (CIRILO NETO, 2010). A enzima colagenase, quando ativada, desfaz a ligação entre carúncula e cotilédone (BEAGLEY *et al.*, 2010).

Nos momentos antecedentes ao parto onde a concentração de P4 diminui e a de E2 aumenta, ocorre a expressão dos抗ígenos do Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC) classe I nas criptas placentárias,

decorrentes da presença de células binucleadas, e com isso o sistema imune materno ataca a placenta rejeitando o tecido, o que resulta em degradação e expulsão da placenta (JOOSTEN et al., 1991; WILTBANK, 2006).

Um dos fatores que aumenta a probabilidade da placenta ficar retida é quando ocorre similaridade genética entre as moléculas do MHC da vaca e do feto. Com isso, o sistema imune materno não reconhece as células fetais como estranhas, não atacando à placenta para promover sua degradação e posterior expulsão (FERREIRA, 2010).

Outros fatores de risco à ocorrência de retenção de placenta são: gestação gemelar, distocia, natimortalidade, intervenções obstétricas, duração do período de gestação, indução do parto com PGF_{2α} e glicocorticoides, aborto, hipocalcemia pós-parto e idade avançada da vaca, bem como os efeitos sazonais (GROHN e RAJALA-SCHULTZ, 2000; HAN e KIM, 2005; LeBLANC, 2008;). Outros fatores predisponentes são ligados à imaturidade dos placentomas, como em partos prematuro e no aborto, placentite, inflamação cotiledonária, infecções bacterianas ou micóticas, e com a atonia uterina ou o retardamento da involução uterina. Doenças específicas que levam à aborto como, por exemplo, a brucelose e a leptospirose são causas importantes da retenção de placenta (MERCK, 1996).

Fatores estressantes como o manejo inadequado de vacas no final da gestação, o estresse pelo transporte e pelo calor, as carências nutricionais especialmente pela deficiência de vitaminas e minerais, a diminuição ou o prolongamento do período de gestação, e a distensão excessiva do útero em casos de gestação gemelar, hidroalantóide ou gigantismo fetal estão associados a casos de retenção de placenta (HORTA 1994; GRUNERT et. al., 2005). Condições de estresse no período pré-parto, onde os níveis de cortisol se elevam, prejudicam a função imunológica e levam ao quadro de retenção de placenta (WILTBANK, 2006).

Ferreira (2010) relatou que deficiências nutricionais como o déficit proteico acentuado, as deficiência de minerais, especialmente o cálcio e o selênio, e de vitaminas, como A e E, ou ainda os extremos do escore de condição corporal (ECC) ao parto podem influenciar na ocorrência da retenção

de placenta. Este mesmo autor ainda relatou que a ocorrência de intoxicações, reações alérgicas e anafiláticas, a falta de movimentação física de animais confinados, os traumatismos, o efeito do touro, a raça, o sexo da cria, a falta de amamentação e a ausência ou curta duração do período seco também são predisponentes a retenção de placenta.

2.4. Metrite, endometrite clínica, endometrite subclínica (citológica) e piometra

É importante diferenciar contaminação uterina, contendo uma variedade de bactérias, e a infecção uterina que consiste na persistência de bactérias patogênicas com o estabelecimento da doenças uterinas (SHELDON e DOBSON, 2004).

As bactérias que contaminam o útero podem ser classificadas como patógenos uterinos, em patógenos uterinos potenciais ou bactérias contaminantes oportunistas. Os patógenos uterinos mais comumente encontrados são a *Escherichia coli*, *Trueperella pyogenes*, *Fusobacterium necrophorum*, *Prevotella melaninogenica* e espécies de *Proteus* (SHELDON et al., 2002; WILLIAMS et al., 2005).

Numericamente os patógenos mais prevalentes de uma infecção uterina são: *Trueperella pyogenes* (49%) e *Escherichia coli* (37%) (WILLIAMS et al., 2005). Segundo Williams et al. (2007) as infecções por *Escherichia coli* parecem preceder e serem responsáveis pela entrada de *Trueperella pyogenes*. Além disso, *Fusobacterium necrophorum* é frequentemente um invasor secundário e a presença de uma infecção mista com *Trueperella pyogenes* é bem comum (ZERBE et al., 2001).

As bactérias *Trueperella pyogenes*, *Fusobacterium necrophorum* e espécies de *Prevotella* atuam sinergicamente para aumentarem os riscos das doenças no útero, como endometrites clínicas bem como de suas gravidades (RUDER et al., 1981; OLSON et al.; 1984).

Apesar de terem definições bem claras, os termos metrite e endometrite têm sido muitas vezes utilizados erroneamente (SHELDON, 2004). Metrite é

uma reação inflamatória envolvendo todas as camadas do útero (endométrio, submucosa, muscular e serosa) (BONDURANT, 1999). Clinicamente, é caracterizada por uma involução atrasada do útero, contendo secreção purulenta fétida e corrimento vaginal, podendo ser acompanhada de hipertermia (maior ou igual a 39,5 °C) e ocorre geralmente na primeira semana pós-parto. É frequente sua associação com retenção de placenta, sendo bem incomum na segunda semana pós-parto (SHELDON, 2004).

Segundo LeBlanc *et al.* (2008), endometrite clínica é a inflamação do endométrio, sem a presença de alterações sistêmicas. Apresenta os sinais clínicos de descarga uterina muco-purulenta ou purulenta associada à infecção bacteriana crônica do útero, que geralmente ocorre depois de três semanas do parto. Ainda, seu diagnóstico deve ser realizado em vacas entre duas e oito semanas do pós-parto para identificação daqueles animais que não tiveram uma involução uterina normal.

Na ausência de endometrite clínica, uma vaca com endometrite subclínica (citológica) é definida por quantidades superiores a 18% de neutrófilos nas amostras coletadas da citologia uterina, aos 21-33 dias pós-parto ou, maior que 10% nos 34-47 dias pós-parto (SHELDON *et al.*, 2008), ou ainda, maior que 5% destas células aos 40 - 60 dias pós-parto sem conteúdo purulento na vagina (GILBERT *et al.*, 1998). Mesmo sendo subclínica, é grave suficiente para prejudicar a performance reprodutiva do animal (SHELDON *et al.*, 2006).

Endometrite subclínica e secreção vaginal purulenta mostraram-se ser distintas manifestações de doenças do trato reprodutivo, com seus próprios conjuntos de fatores de riscos (Dubuc *et al.*, 2010a). Foi proposto que secreção vaginal purulenta é um termo que deve ser usado ao invés de endometrite clínica, já que a secreção vaginal purulenta não é necessariamente indicativo de inflamação do endométrio (Dubuc *et al.*, 2010b).

A piometra é definida como um acúmulo de material purulento dentro do lúmen uterino com a persistência de CL e cérvix fechada (SHELDON *et al.*, 2008). Ela está associada com a atividade do CL presente no ovário, em que muitas vezes persiste por período superior a fase lútea normal. Foi sugerido

que a presença do CL com a sua secreção de P4 reduzida, resultarão em endometrite e posteriormente, o aparecimento da piometra (KENNEDY e MILLER, 1993).

2.5. Mecanismos de defesa do útero contra as infecções

A patogenicidade das bactérias, o estabelecimento da infecção e a persistência da mesma influenciam na gravidade da infecção uterina no pós-parto. A gravidade também pode ser influenciada pelo ambiente uterino, fatores genéticos, e pela imunidade inata e adquirida do animal (WILLIAMS *et al.*, 2007).

A primeira linha de defesa do útero, contra as bactérias causadores da endometrite, é formada pelas células epiteliais. As células imunes do endométrio geram a resposta imunológica e estão associadas com a regulamentação da função de neutrófilos (SHELDON *et al.*, 2008).

O sistema imunológico inato, é o principal responsável pela luta contra a contaminação bacteriana do útero, é formado por uma série de defesas anatômicas, fisiológicas, fagocitárias e inflamatórias. A anatomia funciona como barreira física para evitar a entrada de bactérias no trato genital, sendo a vulva, vagina, cérvix e útero os órgãos envolvidos. O muco secretado pela vagina e cérvix funciona como barreira fisiológica. A principal barreira fagocitária é fornecida pela invasão de neutrófilos em resposta ao desafio bacteriano, e as barreiras inflamatórias incluem moléculas de defesa não específicas, tais como lactoferrina e proteínas de fase aguda. (SHELDON e DOBSON, 2004).

Parte da resposta imune inata à infecção bacteriana é a elaboração de citocinas pró-inflamatórias, que são estimulantes potentes de proteínas de fase aguda, como a α -1 glicoproteína ácida (BAUMANN e GAULDIE, 1994; GAYLE *et al.*, 1999). Segundo Baumann e Gauldie (1994) as proteínas de fase aguda são produzidas pelo fígado em resposta às citocinas pró-inflamatórias liberadas durante o dano tecidual e infecção bacteriana.

Algumas células, como monócitos, presentes no sangue, e os macrófagos teciduais, são considerados fagócitos profissionais na defesa

celular contra os microrganismos patogênicos. Os neutrófilos são as principais células de fagocitose e sua capacidade de eliminação das bactérias invasoras, inclui vários estágios, entre eles: quimiotaxia, opsonização, aderência, ligação e digestão (AZAWI, 2008).

Neutrófilos e outros elementos do sangue são atraídos para o local da infecção por agentes quimiotáticos liberados a partir do momento em que patógenos invadem e causam inflamação. Os neutrófilos se aderem e ingerem os patógenos, estes, dentro do vacúolo citoplasmático serão destruídos (CAI *et al.*, 1994).

2.6. Diagnósticos e possíveis tratamentos das infecções uterinas

Segundo Sheldon (2004) é importante diagnosticar a presença de infecção uterina para facilitar o tratamento adequado e quantificar a gravidade da doença, o que permite assim, um prognóstico para a fertilidade subsequente do animal.

De acordo com Bonnet *et al.* (1993), o diagnóstico definitivo de endometrite é feito com base no exame histológico de uma biopsia endometrial. No entanto, a biopsia endometrial exige equipamentos especializados e o procedimento pode ser deletério para a fertilidade. Por isso, é raramente executado na prática em bovinos (SHELDON, 2004).

A palpação transretal não é uma boa técnica para avaliar a infecção uterina, visto que é bastante subjetiva, variável e de pouca associação com a performance reprodutiva animal (LEWIS, 1997; LeBLANC *et al.*, 2002b). De acordo com Miller *et al.* (1980) em seus experimentos, o diagnóstico por palpação identificou corretamente apenas 22% das vacas previstas a possuírem infecção uterina, quando comparados com resultados do mesmo exame feito por cultura uterina.

Sheldon e Noakes (1998); LeBlanc *et al.* (2002) e Williams e Sheldon (2003) defenderam que para diagnosticar endometrite clínica o exame ideal deve ser realizado pela avaliação do conteúdo de pus presente na vagina do animal. Uma ferramenta bastante utilizada é o vaginoscópio, que permite a

visualização do muco, ou até mesmo do uso de instrumentos para a retirada de material do interior da vagina (SHELDON *et al.*, 2008).

A citologia endometrial é considerada como teste de referência para diagnóstico de endometrite devido ao seu potencial em diagnosticar tanto casos clínicos como subclínicos de endometrite (KASIMANICKAM *et al.*, 2004; GILBERT *et al.*, 2005; BARLUND *et al.*, 2008).

Em animais sem sinais evidentes de endometrite clínica, a endometrite subclínica pode ser diagnostica avaliando a proporção de neutrófilos presentes em uma amostra coletada por uma lavagem uterina, ou pela citologia com o uso de uma escova ginecologica, chamada “cytobrush” (GILBERT *et al.*, 2004b, KASIMANICKAM *et al.*, 2004; KASIMANICKAM *et al.*, 2005). Em seus estudos, Barlund *et al.* (2008) afirmaram que a técnica do “cytobrush” é o método mais confiável para diagnosticar endometrite em bovinos, com resultados superiores ao exame com vaginoscópio, citologia da lavagem uterina e dos exames ultrassonográficos de fluido uterino e de espessura endometrial.

O princípio geral do tratamento da endometrite é reduzir a carga de bactérias patogênicas e aumentar a defesa uterina bem como o mecanismo de reparo e assim, deter e reverter alterações inflamatórias que comprometam a fertilidade (LeBLANC, 2008). Segundo Galvão *et al.* (2009b) doenças uterinas clínicas são prejudiciais à fertilidade de vacas leiteiras por aumentarem o risco de endometrite subclínica.

O uso de tratamento à base de análogos de PGF2 α são capazes de reduzirem a gravidade da infecção uterina bem como aumentarem a capacidade do útero em resolver infecções, mesmo quando as concentrações de P4 são mantidas (LEWIS e WULSTER-RADCLIFFE, 2006).

A administração de PGF2 α é o tratamento de eleição para endometrite quando um CL está presente. Considerando que, esta estrutura esteja ausente, vários tratamentos intra-uterinos têm sido administrados, incluindo o uso de anti-sépticos e antibióticos (SHELDON e DOBSON, 2004).

2.7. Tratamento e prevenção da Retenção de Placenta

O tratamento da retenção de placenta objetiva a expulsão das membranas, assepsia do útero e prevenir as complicações decorrentes. Estas complicações comprometem a saúde e o bem-estar do animal, promovendo uma queda de produção (FERREIRA, 2010). Técnicas comuns no passado, como a remoção manual da placenta, atualmente apresentam contraindicações (DRILLICH *et al.*, 2006). Segundo Ferreira (2010) a remoção manual é ineficiente por ser incapaz de separar a carúncula do cotilédone e com isso aumenta os riscos de lesões e infecções no endométrio.

Outro tratamento que apresenta eficiência controversa é a aplicação de ocitocina visando o estímulo da atividade do miométrio. Este tratamento seria eficiente apenas para casos em que a retenção de placenta fosse causada por atonia do útero, mas esta não é a principal causa da retenção de placenta (LEBLANC, 2008; BEAGLEY *et al.*, 2010; FERREIRA, 2010).

Peters e Laven (1996) relataram que a utilização do E2 aumenta o tônus uterino, o fluxo sanguíneo e a atividade fagocitária no útero, se mostrando eficiente no tratamento da retenção de placenta e no combate da infecção. A administração de E2 promove o relaxamento da cérvix e a produção de muco, facilitando a expulsão dos anexos retidos (FERREIRA, 2010). Dohmen *et. al.* (2000) ressaltou a desvantagem no uso de E2, associando o aumento da circulação sanguínea no útero com o risco de absorção de toxinas produzidas pelas bactérias presentes no conteúdo uterino.

Outro tratamento hormonal que apresentou resultados diferentes em alguns trabalhos é a aplicação de PGF2α. No trabalho de Fernandes *et al.* (2012) foi notado uma redução na ocorrência de infecções e aumento do desempenho reprodutivo das vacas que tiveram retenção de placenta quando tratadas com PGF2α e antibiótico terapia. Já no trabalho de Dubuc *et al.* (2011) a administração de PGF2α no pós-parto não teve influencia sobre a saúde uterina das vacas leiteiras e não interferiu positivamente no desempenho reprodutivo das mesmas.

Infusões uterinas com antibacterianos não apresentam resultados satisfatórios na prevenção da evolução da retenção de placenta para metrite e, consequentemente, não influencia positivamente na fertilidade das vacas tratadas. Quando administrados via sistêmica, os antibacterianos são eficiente em casos de metrite puerperal aguda e auxiliam na resolução do quadro mais brevemente (PETERS e LAVEN, 1996; DRILLICH *et al.*, 2007; BEAGLEY *et al.*, 2010).

Apesar do tratamento da retenção de placenta ser indispensável, Ferreira (2010) ressalta que o ideal é a prevenção do aparecimento de novos casos de retenção de placenta. Neste mesmo trabalho o autor enfatiza o acompanhamento diário das vacas, observando a total eliminação da placenta, o retorno à normalidade uterina evitando assim que o quadro evolua para uma infecção uterina aguda.

Por não haver apenas um motivador principal para o aparecimento da retenção de placenta, nenhuma medida preventiva única será funcional para todos os rebanhos. A prevenção deve ter como base a redução do estresse, melhorando a função imune no período pré-parto e aumentando a ingestão de alimentos no período de transição (LeBLANC, 2008).

2.8. Retenção de placenta e infecções uterinas: desempenho reprodutivo e perdas econômicas

Vacas acometidas por retenção de placenta normalmente também sofrem problemas reprodutivos e metabólicos no pós-parto, o que pode afetar a capacidade tanto produtiva quanto reprodutiva destes animais (HAN e KIM, 2005). Estes prejuízos são causados por diminuição da produção de leite, custos com assistência veterinária e com tratamentos, descarte de leite e de animais, e aumento no intervalo de partos (GRUNERT *et. al.* 2005; SHELDON *et. al.* 2009). A metrite puerperal aguda ocorre em 25 a 50% das vacas que tiveram retenção de placenta, e esta é a principal razão da redução da fertilidade destas vacas (GROHN e RAJALA-SCHULTZ, 2000; LeBLANC, 2008).

A saúde da vaca no peri-parto está diretamente ligada ao seu desempenho reprodutivo futuro. As doenças que acometem o trato reprodutivo da vaca podem afetar o período de intervalo de partos, o número de dias abertos e a eficiência reprodutiva em geral dos rebanhos leiteiros (RAJALA E GROHN, 1998). O maior impacto sobre a lucratividade esta relacionado ao período até a ocorrência da gestação subsequente (DE VRIES, 2006).

O calendário reprodutivo pós-parto deve permitir o processo fisiológico da involução uterina, como também dar tempo suficiente para o tratamento e resposta antes do início do próximo período reprodutivo do animal (SHELDON *et al.*, 2006).

As infecções bacterianas uterinas são importantes porque afetam não só a função do útero, mas também do ovário e ainda do eixo hipotálamo-hipófise. A resposta inflamatória e imune à presença de uma infecção compromete o bem-estar animal, bem como é capaz de causar infertilidade e subfertilidade (SHELDON e DOBSON, 2004). Um rebanho afetado com problemas uterinos será caracterizado por intervalos mais longos entre o parto-primeira inseminação ou concepção, e mais vacas serão descartadas por não emprenharem durante a lactação (SHELDON *et al.*, 2008).

Em seus estudos Gilbert *et al.* (2005) afirmaram que a prevalência e a prevalência de endometrite subclínica, diagnosticada pela citologia, sugeriram que é uma doença importante e potencialmente dispendiosa. Os custos são altos, aumentam o número de dias abertos, diminuem a taxa de concepção ao primeiro serviço, levam a maior taxa de serviço, e há muitas falhas dos animais em ficarem prenhes até 300 dias de lactação, levando ao descarte precoce.

As bactérias ou seus produtos também modulam a função normal do sistema endócrino das células uterinas, e, provavelmente, afetam não só a capacidade do útero em suportar um embrião, mas também a função ovariana. Na verdade, a doença uterina está associada com um aumento da fase lútea e falha do animal em ovular (SHELDON *et al.*, 2008).

Sheldon e Dobson (2004) avaliaram os efeitos da infecção uterina sobre a função do hipotálamo e da hipófise relacionando com o papel da endotoxina, que é um componente da parede de bactérias gram-negativas, e relataram que

a endotoxina inibe a pulsatilidade do hormônio luteinizante (LH), devido a supressão da secreção hipotalâmica de GnRH e reduzindo assim, respostas endógenas ou exógenas à pulsos de GnRH.

Produtos bacterianos, como lipopolissacarídeos introduzidos no útero ou na circulação periférica podem interromper a secreção de LH da hipófise (BATTAGLIA *et al.*, 1999). Ainda, de acordo com Williams *et al.*, (2007), a infecção bacteriana uterina está associada com uma redução na capacidade dos ovários em responderem ao hormônio folículo estimulante (FSH).

Animais com altas quantidades de bactérias no útero têm folículos dominantes menores e concentrações plasmáticas de estradiol periférico inferiores quando comparadas com vacas de pós-parto normal (SHELDON *et al.*, 2002a). Ainda, bactérias patogênicas como *Escherichia coli* estimulam a secreção de PGE2 pelas células do endométrio (HERATH *et al.*, 2006).

Burke *et al.* (2010) indicaram que a endometrite foi associada com uma resposta inflamatória, capaz de comprometer a função hepática, além de observarem baixas concentrações plasmáticas de magnésio no começo da lactação. Também relataram uma associação existente entre endometrite, redução da produção de leite e período anovulatório até os 56 dias pós-parto.

Gilbert *et al.* (2004a) afirmaram que em vacas leiteiras a inflamação do endométrio diagnosticada pela citologia no início do pós-parto (antes de cinco semanas após o parto) teve pouca influência no desempenho reprodutivo subsequente, enquanto que a persistência de endometrite nas sete semanas ou mais do pós-parto foi extremamente prejudicial para o desempenho reprodutivo posterior.

Vacas com endometrite subclínica possuem menor probabilidade de emprenharem, e apresentaram 70% a mais de chances de serem descartadas por falhas reprodutivas. São necessários 32 dias a mais para que pelo menos metade das vacas com endometrite possam emprenhar, quando comparadas com vacas saudáveis (LeBLANC *et al.*, 2002a).

O maior desafio imposto pelas doenças uterinas é desenvolver programas eficientes de prevenção, diagnóstico precoce e tratamento eficiente

à essas patologias. Assim, reduzir a incidência e a prevalência para que impactem menos no desempenho produtivo e reprodutivo (SANTOS, 2010).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Local e período:

O presente estudo foi realizado de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, aprovado pela Comissão de Ética na Utilização de Animais da Universidade Federal de Uberlândia sob o número de protocolo 212/13 do CEUA/UFU.

O período de coleta dos dados foi de novembro de 2013 a outubro de 2014. O estudo foi realizado em nove fazendas leiteiras comerciais, localizadas na região do Triângulo Mineiro, Minas Gerais. Segundo Baccaro (1991) e Silva (2010) o clima do Triângulo Mineiro é classificado como tropical chuvoso, onde as chuvas estão concentradas no verão. No mês mais frio a temperatura média é superior a 18°C e no mês mais quente a temperatura média é de 26°C podendo atingir picos acima de 40°C. A precipitação média é de 1.400 mm/ano sendo que 85% desta precipitação ocorre entre os meses de outubro a março.

3.2. Animais:

Foram registrados 462 partos de vacas Girolando, originadas do cruzamento das raças Holandês (H) e Gir Leiteiro (G), com composição genética variando entre 1/2HG e 7/8HG. Somados, os rebanhos das propriedades eram compostos por 695 vacas adultas, sendo 554 vacas em lactação, ordenhadas mecanicamente duas vezes ao dia, sem a presença do bezerro ao pé, com produção média diária de 17,3 Kg de leite por vaca.

Os manejos nutricionais destas fazendas eram semelhantes, de maneira que no período chuvoso era realizado pastejo rotacionado em gramíneas tropicais, e no período seco era fornecido silagem de milho ou silagem de cana. O concentrado era fornecido durante todo o ano para balancear a dieta de acordo com a produção de leite (NRC, 2001), além de suplementação mineral e água *ad libitum*. As vacas não foram submetidas a nenhum tipo de controle ambiental (ventilação, aquecimento, refrigeração, entre outros).

As fazendas adotavam um calendário sanitário que incluía as vacinações obrigatórias contra febre aftosa e brucelose, como também as vacinas reprodutivas contra rinotraqueíte infecciosa bovina, diarreia viral bovina e leptospirose, além de vermifugações e controle estratégico contra ectoparasitas com alternância de princípios ativos dos produtos. As vacas eram tratadas com somatotropina bovina a partir dos 60 dias pós-parto até atingirem 150 dias de gestação, com intervalo de 14 dias entre as aplicações.

Para determinar a ocorrência de retenção de placenta as vacas foram observadas imediatamente após o parto, sendo aquelas que não eliminaram a totalidade da placenta até as primeiras 12 horas após a expulsão do feto diagnosticadas com retenção de placenta (SANTOS, 2010). O protocolo utilizado para o tratamento da patologia consistiu na aplicação de 2 doses via intramuscular de 50 mL de oxitetraciclina de longa ação (LA) com intervalo de 48 horas entre as aplicações. A ocorrência de outras doenças no período pós-parto não foi avaliada no presente estudo.

3.3. Avaliação e colheita de dados:

Dados reprodutivos e amostras citológicas do endométrio foram colhidos entre 30 e 80 dias pós-parto. O muco uterino foi avaliado com auxílio de espéculo vaginal, e classificado em: grau 0 (sem descarga), grau 1 (muco cristalino), grau 2 (muco com flocos de pus), grau 3 (descarga mucopurulenta), grau 4 (descarga purulenta) e grau 5 (descarga purulenta com odor fétido) (McDOUGALL *et al.*, 2007).

Somente nos animais com muco de grau 0 e 1 (considerados negativos para endometrite clínica) foi realizado método de “cytobrush” endometrial para o diagnóstico de endometrite subclínica, que consiste numa escova ginecológica modificada não estéril, que foi introduzida pela vagina até o corpo do útero e, posteriormente, girada no sentido horário aproximadamente uma volta completa para a obtenção do material celular do endométrio.

Após coletar as amostras endometriais, as escovas foram roladas sobre lâminas de microscopia limpas e previamente identificadas (número do animal,

data da coleta e propriedade). As lâminas foram então colocadas em caixa de transporte apropriada, onde secaram naturalmente e, em seguida, encaminhadas para o laboratório da UFU. Foram então coradas utilizando o método de May-Grunwald Giemsa (VALLADA, 1999) e posteriormente submetidas a uma avaliação microscópica.

A endometrite subclínica foi determinada pela porcentagem de neutrófilos (células PMN) presentes em cada lâmina corada. Um examinador contou 100 células, sob uma microscopia de luz (Olympus®, CHT-2, Optical CO. LT, Japão), com aumento de 40X em cada lâmina. As células foram classificadas em: epiteliais (de descamação), células PMN (neutrófilos), células mononucleares grandes (presume-se que são os macrófagos) e células mononucleares pequenas (presume-se que são os linfócitos). Os animais que apresentaram 5% ou mais de neutrófilos (proporção do número de neutrófilos em relação ao número total de células) em cada lâmina foram considerados como caso de endometrite subclínica (GILBERT *et al.*, 2005).

Após a avaliação dos animais e colheita do material, as vacas foram encaminhadas para o manejo reprodutivo. Este consistiu na realização da IA convencional (foi observado estro e realização da IA convencional), ou da inseminação artificial em tempo fixo (caso não fosse observado o estro até o 90º DPP). O protocolo de IATF foi o seguinte: Dia (D) 0: aplicou-se 2,0 mg via intramuscular de benzoato de estradiol (2,0 mL de Sincrodiol®, Ouro Fino) juntamente com a inserção de um dispositivo com 1 g de P4 (Sincrogest®, Ouro Fino); D8: foi aplicado via intramuscular 0,52 mg de cloprostenol sódico, análogo da PGF2 α (2 mL de Sincrocio®, Ouro Fino) e retirada do implante de P4. D9: foi aplicado 1,0 mg de benzoato de estradiol via intramuscular (1 mL de Sincrodiol®, Ouro Fino); D10: foi realizada a IATF e a aplicação de 0,008 mg via intramuscular de acetato de buserelina, análogo do GnRH (2 ml de Sincroforte®, Ouro Fino).

Todos os animais foram inseminados com sêmen previamente analisado. Vacas com 3 IA que tornaram a repetir o cio, foram encaminhadas para a monta controlada com touros de repasse. O diagnóstico de gestação foi

realizado entre a 40º e o 70º dia após a inseminação ou monta, por palpação retal.

3.4. Análise estatística:

Inicialmente foi avaliado o efeito de rebanho em todos as variáveis estudadas pelo teste qui-quadrado com auxílio do programa InStat, em seguida como não foi detectado efeito de rebanho os dados de todos os rebanhos faram analisados em conjunto.

Os efeitos do período do ano (seco *versus* chuvoso) na prevalência de endometrite subclínica e na prevalência de retenção de placenta foram analisados por teste qui-quadrado pelo programa InStat. O mesmo teste foi utilizado para avaliar o efeito da ocorrência de retenção de placenta sobre a prevalência de endometrite subclínica.

Os efeitos da prevalência de endometrite subclínica e da retenção de placenta sobre o número de IA por concepção e o período de serviço foram avaliados por analise de variância com auxílio do programa MINITAB. Significância estatística foi estabelecida como $P \leq 0,05$, e a tendência estatística como $0,05 < P \leq 0,10$.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A prevalência de endometrite subclínica em vacas leiteiras mestiças avaliada entre 30 a 80 dias pós-parto foi de 27,49% (127/462). Como não foi detectado efeito de fazenda (Tabela 1) os dados de todas as fazendas foram analisados em conjunto.

Tabela 1: Efeito individual de cada fazenda analisado sobre a prevalência de endometrite subclínica em vacas leiteiras Girolando.⁽¹⁾

Fazenda	Prevalência de endometrite subclínica % (n)	P-Valor
1	34,93 % (29/83)	
2	19,56 % (9/46)	
3	34,84 % (23/66)	
4	22,58 % (14/62)	
5	22,72 % (10/44)	0,3943
6	24,32 % (9/37)	
7	30,5 % (18/59)	
8	22,22 % (6/27)	
9	25,71 % (9/35)	

⁽¹⁾ Dados avaliados por teste qui-quadrado ($P < 0,05$), Triângulo Mineiro - MG, 2013/2014;

A prevalência encontrada neste estudo foi próxima à reportada por Carneiro *et al.* (2014) que constataram 26% de vacas positivas para endometrite subclínica, em vacas leiteiras mestiças entre 32 a 70 dias pós-parto. Porém acima dos achados de Barlund *et. al.* (2008) e Dubuc *et. al.* (2010), que reportaram prevalência de endometrite subclínica de 11,1% e

18,7%, respectivamente. Barlund *et. al.* (2008) avaliaram 189 vacas leiteiras, aos 28-41 dias pós-parto usando a técnica do “cytobrush”, e consideraram positivas para endometrite subclínica vacas que possuíram mais que 8% de células PMN na citologia endometrial. Dubuc *et. al.* (2010) avaliaram 1295 vacas leiteiras aos 35 dias pós-parto, e consideraram positivas as amostras que apresentaram $\geq 6\%$ de neutrófilos.

No presente estudo, foram coletadas amostras apenas de vacas clinicamente sadias, descartando aquelas que apresentavam endometrite clínica no dia da coleta. Talvez seja por isso que o achado de 27,49% de vacas positivas para endometrite subclínica tenha sido menor que os achados de LeBlanc (2008). Este pesquisador encontrou de 15-20% das vacas com endometrite clínica nas quatro a seis semanas pós-parto, e ainda, 30-35% possuíram endometrite subclínica entre quatro e nove semanas pós-parto.

Em seus estudos Gilbert *et. al.* (2005) também diagnosticaram a endometrite subclínica pelo exame citológico e relataram prevalência de 53% de endometrite subclínica, onde 75 de um total de 141 vacas holandesas puras foram positivas aos 40-60 dias pós-parto em cinco rebanhos leiteiros comerciais.

Kasimanickam *et. al.* (2004) relataram que qualquer teste de diagnóstico para endometrite não tem total confiabilidade para avaliar o desempenho reprodutivo de vacas, pois existem outros fatores independentes que podem impossibilitar a prenhez do animal, podendo assim gerar resultados falso-negativos. Estes mesmos pesquisadores utilizaram como diagnóstico o método da escova (cytobrush), em vacas entre 20 a 33 dias pós-parto, e encontraram 80 de 215 vacas (37%) positivas para endometrite subclínica, porém, usaram uma definição que foi dada positiva para aquelas que possuíram mais de 18% de neutrófilos na amostra.

A prevalência de retenção de placenta no presente estudo foi de 14,94% (69/462), valor próximo aos citados na literatura. Rezende *et. al.* (2013), que trabalharam na mesma região do presente estudo, encontraram 13,75% de prevalência de retenção de placenta em vacas Holandesas puras. Fernandes *et. al.* (2012) reportaram prevalência de retenção de placenta de 15,7% em

vacas Girolando e Holandesas, e Nobre *et al.* (2012) encontraram prevalência de 12,8% trabalhando com vacas leiteiras mestiças.

Não foi detectado efeito do tipo de parto (Eutócico *versus* Distócico) sobre a prevalência de endometrite subclínica ($P > 0,05$), mas foi detectado efeito do tipo de parto sobre a prevalência de retenção de placenta ($P < 0,05$). Vacas que tiveram partos distócicos apresentaram maior prevalência de retenção de placenta (Tabela 2).

Tabela 2: Efeito do tipo de parto (Eutócico vs. Distócico) sobre a prevalência de endometrite subclínica e retenção de placenta em vacas leiteiras Girolando.⁽¹⁾

Patologia	Tipo do Parto		P-Valor
	Distócico % (n)	Eutócico % (n)	
Prevalência de endometrite subclínica	42,1 % (8/19)	26,5 % (119/443)	0,227
Prevalência de retenção de placenta	68,42 % (13/19)	12,64 % (54/443)	0,0001

⁽¹⁾Dados avaliados por teste qui-quadrado ($P < 0,05$), Triângulo Mineiro - MG, 2013/2014;

O esperado era que vacas que tiveram partos distócicos apresentassem maior prevalência de endometrite subclínica pois, segundo Sheldon *et al.* (2008) a distocia é um fator de risco para o desenvolvimento da infecção uterina, assim como retenção de placenta, ambiente do parto, parto gemelar e dieta do animal. Este fato não foi confirmado no presente estudo.

Porém, o efeito da distocia sobre a ocorrência de retenção de placenta relatado no presente estudo está de acordo com diversos autores que relataram que os fatores de risco associados à retenção de placenta incluem distocia, gestação gemelar, natimortalidade, intervenções obstétricas, duração do período de gestação, indução do parto com PGF2α e glicocorticoides,

aborto, hipocalcemia pós-parto e idade avançada da vaca, bem como os efeitos sazonais (GROHN e RAJALA-SCHULTZ, 2000; HAN e KIM, 2005; LeBLANC, 2008).

Foi encontrado efeito ($P < 0,05$) do período do ano em que ocorreu o parto (Seco versus Chuvoso) sobre a prevalência de endometrite subclínica (Tabela 3). Vacas que pariram no período Chuvoso (novembro-abril) apresentaram maior prevalência de endometrite subclínica. Estes achados eram esperados devido ao maior estresse e maior desafio de contaminação ambiental sofridos pelas vacas que pariram nos meses mais quentes e úmidos.

Tabela 3: Efeito do período do ano em que ocorreu o parto sobre a prevalência de endometrite subclínica em vacas leiteiras Girolando⁽¹⁾

Período do ano	Prevalência de endometrite subclínica % (n)	P-Valor
Seco/Frio (maio - outubro)	20,08 % (49/245)	0,0002
Chuvoso/Quente (novembro - abril)	35,78 % (78/218)	

⁽¹⁾Dados avaliados por teste qui-quadrado ($P < 0,05$), Triângulo Mineiro - MG, 2013/2014;

Os resultados do presente estudo diferem do reportado por Kasimanickam *et al.* (2004) onde a prevalência de endometrite subclínica aos 20-33 e 34-47 dias pós-parto em 228 vacas leiteiras, não foi influenciada pela estação do parto. Também diferindo do presente estudo, nos resultados de Carneiro *et al.* (2014) a prevalência de endometrite subclínica, entre 32 a 70 dias pós-parto em 172 vacas leiteiras mestiças, não foi diferente entre as vacas que pariram na primavera/verão e as vacas que pariram no outono/inverno.

Não foi detectado efeito ($P > 0,05$) do período do ano em que ocorreu o parto (Seco versus Chuvoso) sobre a prevalência de retenção de placenta (Tabela 4). Rezende *et al.* (2013) relataram uma tendência de menor ocorrência de retenção de placenta no período mais seco do ano. Esperava-se que a prevalência de retenção de placenta fosse maior durante as estações

mais quentes do ano, pois as fazendas avaliadas não possuem sistemas de controle de temperatura e umidade, e os animais, mesmo sendo mestiços, provavelmente sofrem efeitos deletérios causados pelo estresse térmico.

Tabela 4: Efeito do período do ano em que ocorreu o parto sobre a prevalência de retenção de placenta em vacas leiteiras Girolando.⁽¹⁾

Período do ano	Prevalência de retenção de placenta % (n)	P-Valor
Seco (maio - outubro)	14,34 % (35/245)	0,8055
Chuvoso (novembro - abril)	15,59 % (34/217)	

⁽¹⁾Dados avaliados por teste qui-quadrado ($P < 0,05$), Triângulo Mineiro - MG, 2013/2014;

Fernandes *et al.* (2012) verificaram maior ocorrência de retenção de placenta nos períodos mais quentes do ano. O estudo foi realizado na região sul de Minas Gerais e norte de São Paulo utilizando vacas das raças Girolando e Holandesas, e detectou-se 19,9% de retenção de placenta nos meses de outubro a março (chuvoso) e 13,6% de abril a setembro (seco). Estes autores apontaram o estresse térmico e a redução na competência imunológica como prováveis causas desta diferença ao longo do ano.

Foi detectada uma tendência de efeito ($P = 0,10$) da ocorrência de retenção de placenta sobre a prevalência de endometrite subclínica (Tabela 5). A prevalência de endometrite subclínica, entre 30 a 80 dias pós-parto, em vacas leiteiras mestiças que tiveram retenção de placenta foi de 35,82% (24/67) e nas vacas que não tiveram retenção de placenta foi de 26,08% (103/395). Esta tendência de efeito pode ser explicada pela provável eficácia do tratamento da retenção de placenta, adotado pelas fazendas, na capacidade de fazer a cura clínica do animal. Porém os efeitos subclínicos no endométrio persistiram mesmo após o tratamento e cura da endometrite clínica.

Tabela 5: Efeito da ocorrência de retenção de placenta 12 horas após o parto sobre a prevalência de endometrite subclínica em vacas leiteiras Girolando.⁽¹⁾

Presença de retenção de placenta no pós parto	Prevalência de endometrite subclínica % (n)	P-Valor
Sim	35,82 % (24/67)	0,100
Não	26,08 % (103/395)	

⁽¹⁾Dados avaliados por teste qui-quadrado ($P < 0,05$), Triangulo Mineiro - MG, 2013/2014;

Sheldon (2004) relatou que os principais fatores de risco para a infecção uterina podem ser divididos entre aqueles associados aos danos uterinos, condições metabólicas, e aqueles que determinam o equilíbrio entre a patogenicidade e imunidade do animal. Ainda segundo este autor, estes fatores incluem distocia, hipocalcemia, retenção de placenta, metrite e endometrite.

Os fatores de risco mais frequentemente associados com infecção uterina são aqueles que interrompem o desenvolvimento do parto normal, como a presença de natimortos, abortos, partos gemelares, distocia, ou necessidades de intervenções cirúrgicas como as cesarianas (HUSSAIN *et al.*, 1990; PEELER *et al.*, 1994). Os fatores que atrasam a involução uterina são importantes porque podem causar infertilidade futura (FONSECA *et al.*, 1983).

Sheldon *et. al.* (2008) relataram em seu estudo que 25 a 40% dos animais desenvolveram metrite clínica nas duas primeiras semanas pós-parto, e desta 20% persistiram com o quadro de endometrite clínica. De acordo com Kasimanickam *et al.* (2004), vacas com problemas durante o periparto (retenção de placenta, parto gemelar, parto assistido) possuíram 3,15 vezes mais chances de terem endometrite subclínica e fluido uterino durante os 20 a 33 dias de lactação e 3,18 vezes mais chances de terem endometrite subclínica ou fluido uterino entre 34 a 74 dias de lactação.

Para avaliação do número de IA por concepção e do período de serviço foram utilizadas 425 vacas, pois os demais animais não se encontravam em tempo hábil para a confirmação de prenhez. A presença de endometrite

subclínica não afetou o período de serviço ($P > 0,05$), e também não interferiu no número de IA por concepção das vacas mestiças ($P > 0,05$) (Tabela 6). Carneiro *et al.* (2014), que trabalharam com vacas leiteira mestiças na mesma região do presente estudo, também não encontraram influência da endometrite subclínica sobre a taxa de concepção à primeira IA nem sobre a porcentagem de vacas gestantes aos 150 dias pós-parto.

Tabela 6: Efeito da endometrite subclínica sobre o período de serviço médio e o número de inseminações artificiais (IA) necessária à prenhez em vacas leiteiras Girolando.⁽¹⁾

Ocorrência de endometrite subclínica (n)	Período de serviço (média ± epm ⁽²⁾)	Número de IA (média ± epm ⁽²⁾)
Sim (113)	138,42 ± 83,07 dias	2,55 ± 1,99
Não (312)	136,59 ± 77,62 dias	2,66 ± 2,15
P-Valor	0,833	0,680

⁽¹⁾Dados avaliados por análise de variância, Triângulo Mineiro - MG, 2013/2014;

⁽²⁾Erro padrão da média.

Bacha e Regassa (2009), assim como neste estudo, trabalharam com vacas de leite mestiças (Zebu x Friesian) e relataram que a taxa de concepção ao primeiro serviço não teve diferença significativa em vacas com ou sem endometrite subclínica na quarta semana pós-parto. No entanto, relataram que a taxa de prenhez ao primeiro serviço em vacas sadias foi 5,1 vezes maior do que naquelas com endometrite subclínica na oitava semana pós-parto.

Santos *et al.* (2008), que trabalharam com 137 vacas paridas de corte, da raça Angus, no Estados Unidos da América, não relataram nenhum efeito causado pela incidência de endometrite subclínica no intervalo entre o parto e a concepção. A taxa de concepção ao primeiro serviço, reportada por estes autores, também não foi afetada pela ocorrência da endometrite subclínica.

Segundo estes autores, a endometrite subclínica pareceu se resolver de forma bem rápida e não afetou o desempenho reprodutivo das vacas avaliadas.

Diferindo do presente estudo, Kaufmann *et al.* (2009) relataram que a presença de endometrite subclínica no momento da IA, é capaz de prejudicar o ambiente uterino e dificultar a implantação e desenvolvimento do embrião. Estes mesmos autores, em seu trabalho, realizaram o exame de “cytobrush” em 201 vacas de leite, consideraram vacas positivas para endometrite subclínica aquelas com mais de 15% de células PMN e relataram uma taxa média de concepção ao primeiro serviço de 43,3%. Também relataram que aquelas vacas com 0 a 15% de neutrófilos nas amostras endometriais, ou seja, negativas para endometrite subclínica tiveram maior taxa de concepção ao primeiro serviço (57,6%) do que aquelas com valores de células PMN maiores que 15% (29,6%).

Segundo Gilbert *et al.* (2005) a proporção total de vacas prenhas aos 300 dias pós-parto foi influenciada pela endometrite subclínica, onde vacas com diagnóstico negativo para endometrite subclínica no pós-parto tiveram taxa de prenhez de 89% contra apenas 63% das vacas com diagnóstico positivo. E a presença de endometrite subclínica resultou em menor taxa de concepção ao primeiro serviço (11%) quando comparada com vacas negativas para endometrite subclínica (36%).

Galvão *et al.* (2009) reportaram que vacas com endometrite subclínica sofreram uma redução de 26% na taxa de gestação aos 300 dias de lactação, quando comparadas com aquelas sem endometrite subclínica. Segundo Dubuc *et al.* (2011), a presença de endometrite subclínica foi um fator fundamental na taxa de prenhez a longo prazo, com um aumento de até 16 dias no período de serviço.

Kasimanickam *et al.* (2004) não observaram efeito da endometrite subclínica sobre a taxa de concepção ao primeiro serviço nas vacas diagnosticadas entre 20 a 33 dias de lactação, porém, encontraram uma taxa de concepção ao primeiro serviço menor nas vacas com endometrite subclínica comparadas com aquelas sem endometrite subclínica entre 34 a 74 dias de lactação.

Neste estudo, como a presença de endometrite subclínica não afetou o período de serviço nem o número de IA por concepção, sugere-se que a relevância da endometrite subclínica pode ser pequena para vacas de leite mestiças, pois provavelmente as mesmas tem maior chance de cura espontânea.

Tabela 7: Efeito da retenção de placenta sobre o período de serviço médio e o número de inseminações artificiais (IA) necessária à prenhez em vacas leiteiras Girolando.⁽¹⁾

Ocorrência de retenção de placenta (n)	Período de serviço (média ± epm ⁽²⁾)	Número de IA (média ± epm ⁽²⁾)
Sim (54)	177,46 ± 11 dias	3,30 ± 2,35
Não (371)	131,19 ± 4 dias	2,46 ± 1,97
P-Valor	0,001	0,005

⁽¹⁾Dados avaliados por análise de variância, Triângulo Mineiro - MG, 2013/2014;

⁽²⁾Erro padrão da média.

A retenção de placenta influenciou negativamente ($P < 0,05$) o período de serviço. Nas vacas que apresentaram retenção de placenta 12 horas após o parto, o período de serviço médio foi de $177,46 \pm 11$ dias, enquanto as vacas que não tiveram a patologia apresentaram um período de serviço médio de $131,19 \pm 4$ dias. A mesma influência negativa ($P < 0,05$) da retenção de placenta foi observada no número de IA por concepção (Tabela 7).

Rezende *et al.* (2013) desenvolveram seu trabalho na mesma região do presente estudo, porém com vacas Holandesas puras, e também encontraram interferência da retenção de placenta na duração do intervalo entre o parto e a concepção. As vacas que não desenvolveram a retenção de placenta tiveram um intervalo até a concepção de $139,64 \pm 73,83$ dias, enquanto que as vacas com retenção de placenta apresentaram um intervalo de $166,30 \pm 95,90$ dias.

A interferência significativa da retenção de placenta no desempenho reprodutivo de vacas Holandesas puras também foi relatada no estudo realizado por Han e Kim (2005), onde o intervalo entre o parto e a concepção de vacas sem retenção de placenta foi de 128,6 dias, enquanto que o intervalo para as vacas com retenção de placenta foi de 146,6 dias.

Diferindo do presente estudo, Muller e Owens (1974) não encontraram efeito da prevalência de retenção de placenta sobre a duração do período de serviço de vacas Holandesas, uma vez que as vacas sadias apresentaram um intervalo de 149,4 dias vs. 136,3 dias para as vacas com retenção de placenta.

A grande maioria dos estudos mostram que a retenção de placenta influencia no intervalo entre o parto e a concepção, aumentando este período nas vacas que foram acometidas pela patologia. Portanto, as medidas preventivas para que não ocorra à retenção de placenta, que são as mesmas para evitar a endometrite subclínica, têm influência sobre o desempenho reprodutivo futuro das vacas leiteiras mestiças.

5. CONCLUSÕES

Em vacas leiteiras mestiças a prevalência de retenção de placenta foi de 14,94% e de endometrite subclínica foi de 27,49%. A ocorrência de retenção de placenta não afetou a prevalência de endometrite subclínica. A ocorrência de parto distóxico aumentou a prevalência de retenção de placenta, porém não afetou a prevalência de endometrite subclínica. O período do ano não influenciou a RP, porém vacas paridas nos meses chuvosos/quentes apresentaram maior prevalência de endometrite subclínica.

A endometrite subclínica não interferiu no desempenho reprodutivo das vacas, porém a ocorrência da retenção de placenta interferiu negativamente no desempenho reprodutivo.

6. REFERÊNCIAS

AZAWI, O.I. Postpartum uterine infection in cattle: A Review. **Animal Reproduction Science**, v.105, p.187-208, 2008.

BACCARO, C.A.D.; Unidades geomorfológicas do Triângulo Mineiro. In: **Revista Sociedade & Natureza**. Uberlândia, v. 3 (5 e 6): p. 37-42, 1991.

BACHA, B.; REGASSA, F.G. Subclinical endometritis in Zebu x Friesian crossbred dairy cows: risk factors, association with subclinical mastitis and effect on reproductive performance. **Tropical Animal Health and Production**, v.42, p.397-403, 2009.

BARLETT, P.C.; KIRK, J.H.; WILKE, M.A.; KANEENE, J.B.; MATHER, E.C. Metritis complex in Michigan Holstein-Friesian cattle: incidence, descriptive, epidemiology and estimated economic impact. **Preventive Veterinary Medicine**, v.4, p.235, 1986.

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.

BATTAGLIA, D.; BEAVER, A.B.; HARRIS, T.G.; TANHEHCO, E.; VIGUIE, C.; KARSCH, F.J. Endotoxin disrupts the estradiol-induced luteinizing hormone surge: interface with estradiol signal reading, not surge release. **Endocrinology**, v.140, p.2471-2479, 1999.

BAUMANN, H.; GAULDIE, J. The acute phase response. **Immunology Today**, v.15, p.74-80, 1994.

BEAGLEY, J.C.; WHITMAN, K.J.; BAPTISTE, K.E.; SCHERZER, J. Physiology and treatment of retained fetal membranes in cattle. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.24, p.261-268, 2010.

BONDURANT, R.H. Inflammation in the bovine female reproductive tract. **Journal of Dairy Science**, v.82(Suppl.2.), p.101-110, 1999.

BONNET, B.N.; MARTIN, S.W.; GANNON, V.P.; MILLER, R.B.; ETHERINGTON, W.G. Endometrial biopsy in Holstein-Friesian dairy cows. III. Bacteriological analysis and correlations with histological findings. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v.55, p.168-173, 1991.

BONNET, B.N.; MARTIN, S.W.; MEEK, A.H. Association of clinical findings, bacteriological and histological results of endometrial biopsy with reproductive performance of postpartum dairy cows. **Preventive Veterinary Medicine**, v.15, p.205-220, 1993.

BURKE, C.R.; MEIER, S.; McDougall, S.; COMPTON, C.; MITCHELL, M.; ROCHE, J.R. Relationships between endometritis and metabolic state during the transition period in pasture-grazed dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.93, p.5363-5373, 2010.

CAI, T.Q.; WESTON, P.G.; LUND, L.A.; BRODIE, B.; McKENNA, D.J.; WAGNER, W.C. Association between neutrophil functions and peripartum disorders in cows. **American Journal of Veterinary Research**, v.55, p.934, 1994.

CARNEIRO, L.C.; FERREIRA, A.F.; PADUA, M.; SAUT, J.P.; FERRAUDO, A.S.; SANTOS, R.M. Incidence of subclinical endometritis and its effects on reproductive performance of crossbred dairy cows. **Trop Anim Health Prod**, v.46, p.1435-1439, 2014.

CIRILO NETO, G. **Retenção de placenta na vaca.** Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) UFCG, Campina Grande, 2010.

CORREA, M.T.H.; ERB, H.; SCARLETT, J. Path analysis for seven postpartum disorders of Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v.76, p.1305-1312, 1993.

DE VRIES, A. Economic value of pregnancy in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.89, p.3876–3885, 2006.

DJURICIC, D.; VINCE, S.; ABLONDI, M.; DOBRANIC, T., SAMARDZIJA, M. Intrauterine ozone treatment of retained fetal membrane in Simmental cows. **Animal Reproduction Science**, v.134, p.119-124, 2012.

DOHMEN, M.J.W.; JOOP, K.; STURK, A.; BOLS, P.E.J.; LOHUIS, J.A.C.M. Relationship between intra-uterine bacterial contamination, endotoxin levels and the development of endometritis in postpartum cows with dystocia or retained placenta. **Theriogenology**, v.54, p.1019-1032, 2000.

DRILLICH, M.; KLEVER, N.; HEUWIESER, W. Comparison of two management strategies for retained fetal membranes on small dairy farms in Germany. **Journal of Veterinary Science**, v.90, p.4275-4281, 2007.

DRILLICH, M.; MAHLSTEDT, M.; REICHERT, U.; TENHAGEN, B.A.; HEUWIESER, W. Strategies to improve the therapy of retained fetal membranes in dairy cows. **Journal of Veterinary Science**, v.89, p.627-635, 2006.

DUBUC, J.; DUFFIELD, T.F.; LESLIE, K.E.; WALTON, J.S.; LeBLANC, S.J. Definitions and diagnosis of postpartum endometritis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.93, p.5225-5233, 2010a.

DUBUC, J.; DUFFIELD, T.F.; LESLIE, K.E.; WALTON, J.S.; LeBLANC, S.J. Risk factors for postpartum uterine diseases in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.93, p.2764-5771, 2010b.

DUBUC, J.; DUFFIELD, T.F.; LESLIE, K.E.; WALTON, J.S.; LeBLANC, S.J. Randomized clinical trial of antibiotic and prostaglandin treatments for uterine health and reproductive performance in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.94, p.1325-1338, 2011.

DUBUC, J.; DUFFIELD, T.F.; LESLIE, K.E.; WALTON, J.S.; LEBLANC, S.J. Effects of postpartum uterine diseases on milk production and culling in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.94, p.1339-1346, 2011a.

FERNANDES, C.A.C.; PALHÃO, M.P.; RIBEIRO, J.R.; VIANA, J.H.M.; GIOSO, M.M.; FIGUEIREDO, A.C.S.; OBA, E.; COSTA, D.S. Associação entre oxitetraciclina e cloprostenol no tratamento de vacas leiteiras com retenção de placenta. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v.19, n.3, p.178-182, 2012.

FERREIRA, A.M. **Reprodução da fêmea bovina: fisiologia aplicada e problemas mais comuns (causas e tratamentos)**. 1. Ed. Juiz de Fora: MG, Editora Editar, p.219-243. 2010.

FONSECA, F.A.; BRITT, J.H.; McDANIEL, B.T.; WILK, J.C.; RAKES, A.H. Reproductive traits of Holsteins and Jerseys. Effects of age, milk yield, and clinical abnormalities on involution of cervix and uterus, ovulation, estrous cycles, detection of estrus, conception rate and days open. **Journal of Dairy Science**, v.66, p.1128-1147, 1983.

GALVÃO, K.N.; FRAJBLAT, S.B.; BRITIN, S.B.; BUTLER, W.R.; GUARD, C.L.; GILBERT, R.O. Effect of prostaglandin F_{2α} on subclinical endometritis and fertility in dairy cow. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.4906-4913, 2009a.

GALVÃO, K.N.; GRECO, L.F.; VILELA, J.M.; SÁ FILHO, M.F.; SANTOS, J.E.P. Effect of intrauterine infusion of ceftiofur on uterine health and fertility in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.1532-1542, 2009b.

GAYLE, D.; ILYIN, S.E.; PLATA-SALAMAN, C.R. Feeding status and bacterial LPS-induced cytokine and neuropeptide gene expression in hypothalamus. **American Journal of Physiology**, v.277, p.1188-1195, 1999.

GILBERT, R.O. Uterine disease in the postpartum period. In: PROCEEDINGS OF THE 15TH INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION, 2004b, Porto Seguro, Brazil. **Anais...Porto Seguro**, p.66-67. 2004b.

GILBERT, R.O.; SANTOS, N.R.; GALVÃO, K.N.; BRITTIN, S.B.; ROMAN, H.B. The relationship between postpartum uterine bacterial infection and subclinical endometritis. **Journal of Dairy Science**, v.90 (Suppl.1), p.490, Abstract, 2007.

GILBERT, R.O.; SHIN, S.T.; FRAJBLAT, M.; GUARD, C.L.; ERB, H.N.; ROMAN, H. The incidence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. In: PROC 12TH INTERNATIONAL CONFERENCE PRODUCTION DISEASE IN FARM ANIMAL, 2004a, Ghent. **Anais...Ghent: Ghent University**, p.30. 2004a.

GILBERT, R.O.; SHIN, S.T.; GUARD, C.L.; ERB, H.N. Incidence of endometritis and effects on reproductive performance of dairy cows. **Theriogenology**, v.49, p.251[abstract], 1998.

GILBERT, R.O.; SHIN, S.T.; GUARD, C.L.; ERB, H.N.; FRAJBLAT, M. Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance or dairy cows. **Theriogenology**, v.64, p.1879-1888, 2005.

GROHN, Y.T.; RAJALA-SCHULTZ, P.J. Epidemiology of reproductive performance in dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v.60-61, p.605-614, 2000.

GRUNERT, E.; BIRGEL, E.H.; VALE, W.G. **Patologia e clínica da reprodução dos animais mamíferos domésticos**. 1. Ed. São Paulo: SP, Editora Varela, p.479-486. 2005.

GUNAY, A. GUNAY, U.; ORMAN, A. Effects of retained placenta on the fertility in treated dairy cows. **Bulgarian Journal of Agricultural Science**, v.17, p.126-131, 2011.

HAFEZ, E.S.E. **Reprodução animal**. 7. Ed. São Paulo: SP, Editora Manole, p. 513. 2004.

HAMMON, D.S.; DHIMAN, R.; GOFF, J.P. Negative energy balance during periparturient period is associated with uterine health disorders and fever in Holstein cows. **Journal of Animal Science**, v.82, p.279-282, 2003.

HAMMON, D.S.; EVJEN, I.M.; DHIMAN, T.R.; DHIMAN, J.P.; WALTERS, J.L. Neutrophil function and energy status in Holstein cows with uterine health disorders. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.113, p.21-29, 2006.

HAN, Y.K.; KIM, I.H. Risk factors for retained placenta and the effect of retained placenta on the occurrence of postpartum diseases and subsequent reproductive performance in dairy cows. **Journal of Veterinary Science**, v.6, p.53-59, 2005.

HERATH, S.; FISCHER, D.P.; WERLING, D.; WILLIAMS, E.J.; LILLY, S.T.; DOBSON, H.; BRYANT, C.E.; SHELDON, E.M. Expression and function of Toll-like receptor 4 in the endometrial cells of the uterus. **Endocrinology**, v.147, p.562-570, 2006.

HORTA, A.E.M. Etiopatogenia e terapêutica da retenção placentária dos bovinos. In: PROCEEDINGS OF 7^a JORNADAS INTERNACIONALES DE REPRODUCCIÓN ANIMAL, **Anais...**Murcia, p.181-192, 1994.

HUSSAIN A.M.; DANIEL, R.C.W.; O`BOYLE, D. Postpartum uterine flora following normal and abnormal puerperium in cows. **Theriogenology**, v.34(2), p.291-302, 1990.

JOOSTEN, I.; SANDERS, M.F.; HENSEN, E.J. Involvement of major histocompatibility complex class I compatibility between dam and calf in the aetiology of bovine retained placenta. **Animal Genetics**, v.22, p.455-463, 1991.

KANEKO, K.; KAWAKAMI, S. The roles of PFG2α and PGE2 in regression of the corpus luteum after intrauterine infusion of Arcanobacterium pyogenes in cows. **Theriogenology**, v.71, p.858-863, 2009.

KASIMANICKAM, R.; DUFFIELD, T.F.; FOSTER, R.A.; GARTLEY, C.G.; LESLIE, K.E.; WALTON, J.S.; JOHNSON, W.H. 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.

KASIMANICKAM, R.; DUFFIELD, T.F.; FOSTER, R.A.; GARTLEY, C.J.; LESLIE, K.E.; WALTON, J.S.; JOSHSON, W.H. Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. **Theriogenology**, v.62, p.9-23, 2004.

KAUFMANN, T.B.; DRILLICH, M.; TENHAGEN, B.-A.; FORDERUNG, D.; HEUWIESER, W. Prevalence of bovine subclinical endometritis 4 h after insemination and its effects on first service conception rate. **Theriogenology**, v.71, p.385-391, 2009.

KENNEDY, P.C.; MILLER, R.B. The female genital system. In: JUBB KVF, KENNEDY PC, PALMER N, EDITORS., 1993, San Diego. **Anais...San Diego**: Academic Press Pathology of domestic animals. 4th ed., p.378-387, 1993.

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

LeBLANC, S.J.; DUFFIELD, T.F.; LESLIE, K.E. Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.2223-2236, 2002b.

LeBLANC, S.J.; DUFFIELD, T.F.; LESLIE, K.E. The effect of clinical endometritis on reproductive performance in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.2237-2259, 2002a.

LEWIS, G.S. Steroidal regulation of uterine resistance to bacteria infection in livestock. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v.1, p.117-125, 2003.

LEWIS, G.S. Uterine health and disorders. **Journal of Dairy Science**, v.80(5), p.984-994, 1997.

LEWIS, G.S.; TATCHER, W.W.; BLISS, E.L.; DROST, M.; COLLIER, R.J. Effects of heat stress during pregnancy on postpartum reproductive changes in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v.58, p.174, 1984.

LEWIS, G.S.; WULSER-RADCLIFFE, M.C. Prostaglandin F_{2α} upregulates uterine immune defenses in the presence of the immunosuppressive steroid progesterone. **American Journal of Reproductive Immunology**, v.56, p.102-111, 2006.

MARTINS, V.M.V.; MARQUES JÚNIOR, A.P.; VASCONCELOS, A.C.; MARTINS, E.; SANTOS, R.L.; LIMA, F.P.C. Placental maturation and expulsion in Holstein and Nelore cows. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.56, p. 157-167, 2004.

MATEUS, L.; COSTA, L.L.; BERNARDO, F.; SILVA, R.J. Influence of puerperal uterine infection on uterine involution and postpartum ovarian activity in dairy cows. **Reproduction in Domestic Animals**, v.37, p.31-35, 2002.

McDOUGALL, S.R.; MACAULY, R.; COMPTON, C. Association between endometritis diagnoses using a novel intravaginal device and reproductive performance in dairy cattle. **Animal Reproduction Science**, v.99, p.9-23, 2007.

MERCK. **Manual Merck de Veterinária: um manual de diagnóstico, tratamento, prevenção e controle de doenças para o veterinário**. 7. Ed. São Paulo: SP, Editora Roca, p. 846, 1996.

MILLER, H.V.; KIMSEY, P.B.; KENDRICK, J.W.; DARIEN, B.; DOERING, L.; FRANTI, C.; HORTON, J. Endometritis of dairy cattle: diagnosis, treatment, and fertility. **Bovine Practitioner**, v.15, p.13-23, 1980.

MULLER, L.D.; OWENS, M.J. Factors associated with the incidence of retained placentas. **Journal of Dairy Science**, v.57, p.725-728, 1974.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7.ed. Washington, D.C.: National Academic Press, 2001.

NOAKES, D.E.; PARKINSON, T.J.; ENGLAND, G.C.W.; ARTHUR, G.H. **Arthur's veterinary reproduction and obstetrics**, 8th ed., Elsevier Science, Ltd, London, 2002.

NOBRE, M.M.; COELHO, S.G.; HADDAD, J.P.A.; CAMPOS, E.F.; LANA, A.M.Q.; REIS, R.B.; SATURNINO, H.M. Avaliação da incidência e fatores de risco da retenção de placenta em vacas mestiças leiteiras. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.64, p.101-107, 2012.

OLSON, J.D.; BALL, L.; MORTIMER, R.G.; FARIN, P.W.; ADNEY, W.S.; HUFFMAN, E.M. Aspects of bacteriology and endocrinology of cows with pyometra and retained fetal membranes. **American Journal of Veterinary Research**, v.45, p.2251-2255, 1984.

OLSON, J.D.; BRETZLAFF, R.G.; MORTIMER, G.; BALL, L. The metritis-pyometra complex in current therapy.: diagnosis, treatment and prevention of reproductive diseases in small and large animals. **Theriogenology**, 1986.

OPSMER, G.; GROHN, Y.T.; HERTL, J.; CORYN, M.; DELUYKER, H.; DE KRUIF, A. Risk factors for post partum ovarian dysfunction in high production dairy cows in Belgium: a field study. **Theriogenology**, v.53, p.841-857, 2000.

PEELER, E.J.; OTTE, M.J.; ESSLEMONT, R.J. Inter-relationships of periparturient diseases in dairy cows. **Veterinary Record**, v.134, p.129-132, 1994.

PETERS, A.R.; LAVEN, R.A. Treatment of bovine retained placenta and its effects. **Veterinary Record**, v. 139, p.535-539, 1996.

RAJALA, P.J.; GROHN, Y.T. Effects of dystocia, retained placenta, and metritis on milk yield in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.3172-3181, 1998.

REZENDE, E.V.; CAMPOS, C.C.; SANTOS, R.M. Incidência da retenção de placenta e as consequências na produção de leite e na eficiência reprodutiva de vacas holandesas. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.41, p.1170-1175, 2013.

ROCHE, J. The effect of nutritional management of the dairy cow on reproductive efficiency. **Animal Reproduction Science**, v.96, p.282-296, 2006.

ROYAL, M.D.; DARWASH, A.O.; FLINT, A.P.F.; WEBB, R.; WOOLIAMS, J.A.; LAMMING, G.E. Declining fertility in dairy cattle: changes in traditional and endocrine parameters of fertility. **Animal Science**, v.70, p.487-501, 2000.

RUDER, C.A.; SASSER, R.G.; WILLIAMS, R.J.; ELY, J.K.; BULL, R.C.; BUTLER, J.E. Uterine infections in the postpartum cow: II Possible synergistic effect of *Fusobacterium necrophorum* and *Corynebacterium pyogenes*. **Theriogenology**, v.15, p.573-580, 1981.

SANTOS, J.E.P. Doenças uterinas em vacas de leite: prevalência, fatores de risco e tratamento. In: XIV CURSO NOVOS ENFOQUES NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS, **Anais...**Uberlândia, p. 393-410, 2010.

SANTOS, N.R.; LAMB, G.C.; BROWN, D.R.; GILBERT, R.O. Postpartum endometrial cytology in beef cows. **Theriogenology**, v.71(5), p.739-745, 2008.

SEMAMBO, D.K.; AYLiffe, T.R.; BOYD, J.S.; TAYLOR, D.J.; Early abortion in cattle induced by experimental intrauterine infection with pure cultures of *Actnomyces pyogenes*. **Veterinary Record**, v.129, p.12-16, 1991.

SHELDON, I.M. The postpartum uterus. **Veterinary clinics: Food Animal Practice**, Londres, v.20, p.569-591, 2004.

SHELDON, I.M.; CRONIN, L.; GOETZE, L.; DONOFRIO, G.; SCHUBERTH, H.J. Defining postpartum uterine disease and the mechanism of infection and immunity in the female reproductive tract in cattle. **Biology of Reproduction**, v.81, p.1025-1032, 2009.

SHELDON, I.M.; DOBSON, H. Postpartum uterine health in cattle. **Animal Reproduction Science**, v.82-83, p.295-360, 2004.

SHELDON, I.M.; LEWIS, G.S.; LeBLANC, S.; GILBERT, R.O. Defining postpartum uterine disease in cattle. **Theriogenology**, v.65, p.1516-1530, 2006.

SHELDON, I.M.; NOAKES, D.E. Comparison of three treatments for bovine endometritis. **Veterinary Records**, v.142, p.575-579, 1998.

SHELDON, I.M.; NOAKES, D.E.; RYCROFT, A.; DOBSON, H. Acute phase protein responses to uterine bacterial contamination in cattle after calving. **Veterinary Records**, v.148, p.172-175, 2001.

SHELDON, I.M.; NOAKES, D.E.; RYCROFT, A.N.; PFEIFFER, D.U.; DOBSON, H. Influence of uterine bacterial contamination after parturition on ovary dominant follicle selection and follicle growth and function in cattle. **Reproduction**, v.70, p. 3158-3162, 2002.

SHELDON, I.M.; WILLIAMS, E.J.; MILLER, A.N.A.; NASH, D.M.; HERATH, S. Uterine diseases in cattle after parturition. **The Veterinary Journal**, v.176, p.115-121, 2008.

SHELDON, I.M; NOAKES, D.E.; RYCROFT, A.N.; DOBSON, H. The effect of intrauterine administration of estradiol on postpartum uterine involution in cattle. **Theriogenology**, v.59, p.1357-1371, 2003.

SILVA, N.R. Caracterização do regime climático regional: uma análise dos parâmetros de temperatura, precipitação e balanço hídrico do Triângulo Mineiro – MG. In: II Colóquio Brasileiro de História do Pensamento Geográfico 2010, **Anais...** Uberlândia, 2010.

THATCHER, W. W.; et. al. Strategies for improving fertility in the modern dairy cow. **Theriogenology**, v. 65, p. 30-34, 2006.

VALLADA, E.P. Atheneu, **Manual de Técnicas Hematológicas**, São Paulo, 1999.

VAN WERVEN, T.; SCHUKKEN, Y.H.; LLOYD, J. BRAND, A.; HEERINGA, H. Tj.; SHEA, M. The effects of duration of retained placenta on reproduction, milk production, postpartum disease and culling rate. **Theriogenology**, v.37, p.1191-1203, 1992.

WATSON, E.D.; DIEHL, N.K.; EVANS, J.F. Antibody response in the bovine genital tract to intrauterine infusion of *Actinomyces pyogenes*. **Research in Veterinary Science**, v.48, p.70-75, 1990.

WHITEFORD, L.C.; SHELDON, I.M. Association between clinical hypocalcemia and postpartum endometritis. **Veterinary Record**, v.157, p.202-203, 2005.

WILLIAMS E.J.; SHELDON, I.M. Clinical evaluation of postpartum vaginal mucus reflect uterine bacterial infection. **Reproduction Abstract Series**, v.30, p.91, 2003.

WILLIAMS, E.J.; FISCHER, D.P.; ENGLAND, G.C.W.; DOBSON, H.; PFEIFFER, D.U.; SHELDON, I.M. Clinical evaluation of postpartum vaginal mucus reflects uterine bacterial infection and the inflammatory response to endometritis in cattle. **Theriogenology**, v.63, p.102-117, 2005.

WILLIAMS, E.J.; FISCHER, D.P.; NOAKES, D.E.; ENGLAND, G.C.; RYCROFT, A.; DOBSON, H.; SHELDON, I.M. The relationship between uterine pathogen growth density and ovarian function in the postpartum dairy cow. **Theriogenology**, v.68, p.549-559, 2007.

WILTBANK, M.C. Prevenção e tratamento da retenção de placenta. In: X CURSO NOVOS ENFOQUES NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS, **Anais...**Uberlândia, p.61-70, 2006.

ZERBE, H.; OSSADNIK, C.; LEIBOLD, W.; SCHUBERTH, H.J. Influence os *Escherichia coli* and *Archacobacterium pyogenes* isolated from puerperal uterus on phenotypic and functional properties of neutrophils. **Veterinary Microbiology**, v.79, p.351-365, 2001.