



**FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE RONDÔNIA
NÚCLEO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA TERRA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DESENVOLVIMENTO REGIONAL E
MEIO AMBIENTE – PGDRA**

**ASSOCIAÇÃO ENTRE SAÚDE UTERINA E A FERTILIDADE DE VACAS NO
PÓS-PARTO SUBMETIDAS À INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO
FIXO**

IZABELA CRISTINA LEMOS

Porto Velho (RO)
2018



**FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE RONDÔNIA
NÚCLEO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA TERRA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DESENVOLVIMENTO REGIONAL E
MEIO AMBIENTE**

**ASSOCIAÇÃO ENTRE SAÚDE UTERINA E A FERTILIDADE DE VACAS NO
PÓS-PARTO SUBMETIDAS À INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO
FIXO**

IZABELA CRISTINA LEMOS

**Orientador: Dr. Luiz Francisco M.
Pfeifer**

Defesa de Mestrado apresentada junto ao Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento Regional e Meio Ambiente, Área de Concentração em Biologia da Reprodução, para obtenção do Título de Mestre em Desenvolvimento Regional e Meio Ambiente.

Porto Velho (RO)
2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Fundação Universidade Federal de Rondônia
Gerada automaticamente mediante informações fornecidas pelo(a) autor(a)

L555a Lemos, Izabela Cristina.

Associação entre saúde uterina e a fertilidade de vacas no pós-parto submetidas à inseminação artificial em tempo fixo / Izabela Cristina Lemos. -- Porto Velho, RO, 2018.

37 f.

Orientador(a): Prof. PhD Luiz Francisco M. Pfeifer

Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento Regional e Meio Ambiente) - Fundação Universidade Federal de Rondônia

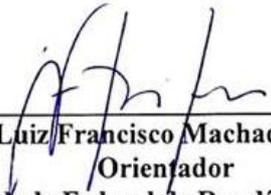
1. Vacas de corte. 2. Útero. 3. Taxa de prenhez. I. Pfeifer, Luiz Francisco M.. II. Título.

CDU 636.082

IZABELA CRISTINA LEMOS

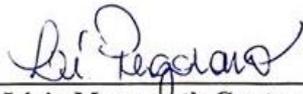
ASSOCIAÇÃO ENTRE SAÚDE UTERINA E A FERTILIDADE DE VACAS NO
PÓS-PARTO SUBMETIDAS À INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO-
FIXO

Comissão Examinadora



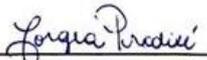
Dr. Luiz Francisco Machado Pfeifer
Orientador

Fundação Universidade Federal de Rondônia/Embrapa Rondônia



Dra. Lígia Margareth Cantarelli Pegoraro
Membro Externo

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária/Pelotas-RS



Dra. Jorgea Pradié
Membro Externo
Universidade Federal de Pelotas

Porto Velho, 29 de outubro de 2018.

Resultado:

Aprovada

DEDICATÓRIA

À minha família pelo exemplo, amor, carinho, incentivo e paciência, dedico-lhes essa conquista com enorme gratidão.

AGRADECIMENTO

Agradeço a Deus pela sua graça sobre minha vida, concedendo-me saúde e força para seguir a minha caminhada, pela família incrível que me apoia em cada sonho e pela grande oportunidade para realizar o mestrado.

Aos meus pais Humberto Cezar Lemos e Inês Kozan Lemos, por todo esforço, por me conceder sempre mais do que mereço, por sempre sonhar meus sonhos e me apoiarem em tudo que faço, além de todo amor e carinho.

Aos meus irmãos Daniela C. Lemos de Carvalho e Guilherme Augusto Lemos, por todos ensinamentos, apoio psicológico e incentivos. Por sempre estarem dispostos a me ajudar nesta caminhada profissional desde a graduação até aqui.

Aos meus cunhados Alaôr José de Carvalho e Sofia M. Abdala Lemos, por todo apoio, e na caminhada do mestrado me concedendo muitos ensinamentos e oportunidades.

Aos meus sobrinhos mais que queridos Gabriela e João Pedro por todo amor, alegria e muitas risadas.

Ao meu orientador Luiz F. M. Pfeifer, pela orientação, ensinamentos, paciência, conselhos e apoio durante toda caminhada do mestrado, contribuindo para a minha formação profissional e pessoal.

À Embrapa Rondônia, aos colegas de caminhada da pós-graduação, Jéssica, Paulo, Vanessa L., George, Elizangela, Vanessa R., pelo apoio, auxílio e dedicação para a execução de todas as atividades, igualmente a todos funcionários.

Aos proprietários e funcionários das Fazendas SK e São José do Pau D'elho pela disponibilização dos animais e das instalações para a realização do projeto de mestrado.

RESUMO

O restabelecimento satisfatório da função uterina no período pós-parto é fundamental para que bovinos apresentem adequada fertilidade quando submetidas a protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF). O objetivo deste estudo foi avaliar a saúde uterina, através da mensuração da concentração de células polimorfonucleares, concentração de beta-hidroxibutirato, da determinação do escore de condição corporal e do diâmetro do folículo dominante, em relação a fertilidade de vacas submetidas à programas de IATF iniciados entre 20 e 60 dias pós-parto (DPP). Este estudo foi realizado com 244 vacas multíparas da raça Nelore (*Bos taurus indicus*) no período pós-parto. Estas fêmeas bovinas foram separados em 3 grupos de acordo com os dias pós-parto (DPP): 1) Grupo <30DPP (n=64), composto por vacas com DPP entre 20 e 30; 2) Grupo <45DPP (n=115), composto por vacas com DPP entre 31 e 45; 3) Grupo <60DPP (n=65), composto por vacas com DPP entre 46 e 60. No dia 0 do protocolo de IATF amostras de células endometriais foram coletas (*cytobrush*). Lâminas com as amostras foram preparadas e submetidas à avaliação para contagem de células polimorfonucleares (PMN) sob microscopia. As vacas do grupo <30DPP (19/64 = 29,7%) apresentaram uma menor (P <0,05) taxa de prenhez por IA (P/IA) do que as vacas dos grupos <45DPP (52/115 = 45,2%) e <60DPP (34/65 = 52,3%). A descarga uterina e a proporção de células PMN diminuíram com o aumento dos dias pós-parto. Esses resultados sinalizam que fêmeas com maior DPP, possuem úteros mais saudáveis e tendem a um maior índice de prenhez/IA, indicando que animais com mais de 30 dias pós-parto podem ser incluídos nos programas de IATF. Os animais qualificados com ECC adequado pelo dispositivo Vetscore® (verde) tiveram um aumento de prenhez/IA quando comparadas com as fêmeas das outras categorias.

Palavras-chave: Vacas de corte, útero, taxa de prenhez

ABSTRACT

The satisfactory restoration of uterine function in the postpartum period is fundamental for the bovine to present adequate fertility when submitted to fixed-time artificial insemination (IATF) protocols. The objective of this study was to evaluate uterine health by measuring the concentration of polymorphonuclear cells, beta-hydroxybutyrate concentration, determination of the body condition score and the diameter of the dominant follicle, in relation to the fertility of cows submitted to IATF programs initiated between 20 and 60 days postpartum (DPP). This study was performed with 244 Nelore multiparous cows (*Bos taurus indicus*) in the postpartum period. These bovine females were separated into 3 groups according to the postpartum days (DPP): 1) Group <30DPP (n= 64), composed of cows with DPP between 20 and 30; 2) Group <45DPP (n= 115), composed of cows with DPP between 31 and 45; 3) Group <60DPP (n= 65), composed of cows with DPP between 46 and 60. On day 0 of the IATF protocol endometrial cells samples were collected (cytobrush). Slides with the samples were prepared and submitted to evaluation for polymorphonuclear cell counts (PMN) under microscopy. Cows in the <30DPP group (19/64 = 29.7%) presented a lower ($P < 0.05$) pregnancy rate per AI (P/AI) than cows in the <45DPP groups (52/115 = 45.2%) and <60 DPP (34/65 = 52.3%). Uterine discharge and the proportion of PMN cells decreased with increasing postpartum days. These results indicate that females with higher PMN have healthier uterus and tend to have a higher pregnancy rate / AI, indicating that animals with more than 30 postpartum can be included in the IATF programs. Animals qualified with appropriate ECC by the Vetscore® device (green) had an increase in pregnancy/AI when compared to females in the other categories.

Keywords: Beef cows, uterus, pregnancy rate

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Relação entre proporção de células PMN no endométrio uterino e dias pós-parto em vacas Nelore submetidas a protocolo de IATF.....27

Figura 2. Prenhez por IA após IATF em vacas de acordo com o ECC (vermelho, verde ou amarelo) com o dispositivo Vetscore® (P=0,25)27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Dados das respostas de fertilidade de vacas de acordo com o período no protocolo de IATF no pós-parto: classificação da descarga uterina, proporção de PMN (%), concentração de BHB (mmol/L), diâmetro do FPO (mm) e taxa de prenhez (%) entre os grupos de animais.....	26
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGNEs – Ácidos Graxos Não Esterificados
BE - Benzoato de Estradiol
BEN – Balanço Energético Negativo
BHB – Beta-Hidroxibutirato
CEUA - Comitê de Ética no Uso de Animais
CIDR – Dispositivo Intravaginal de Progesterona
CLRs - C-type Lectin Receptors
ECC – Escore de Condição Corporal
eCG - Gonadrofina Coriônica equina
ECP - Cipionato de Estradiol
DAMPs – Padrões Moleculares Associados a Danos
DPP – Dias Pós-Parto
FPO – Folículo Pré-Ovulatório
IA – Inseminação Artificial
IATF – Inseminação Artificial em Tempo Fixo
IGF-I - Fator de Crescimento Semelhante à Insulina tipo 1
IL - Interleucina
IM – Intramuscular
LH – Hormônio Luteinizante
NLRs - NOD-like receptors
PAMPs – Padrões Moleculares Associados a Patógenos
PGF 2α - Prostaglandina
PMN – Células Polimorfonucleares
PGF – Prostaglandina
RLRs - RIG-I-like receptors
TRL – Toll-like (Transcritos para Receptores)
TNFa – Fator de Necrose Tumoral
UI – Unidade Internacional

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. OBJETIVOS	13
2.1. Geral	13
2.2. Específicos	13
3. REFERENCIAL TEÓRICO	14
3.1 Período pós-parto	14
3.2 Contaminação bacteriana e inflamação no pós-parto	15
3.3 Involução uterina e regeneração do endométrio	17
3.4 Resposta imunológica uterina no pós-parto	19
3.5 Retorno à atividade ovariana luteal cíclica de vacas de corte no pós-parto.....	20
3.6 Vantagens do uso de protocolos de IATF.....	21
4. METODOLOGIA	23
4.1 Protocolo de IATF	23
4.2 Avaliação de Corpos Cetônicos	23
4.3 Exame Clínico Vaginal	24
4.4 Coleta Citológica Endometrial e Contagem de Células Polimorfonucleares	24
4.5 Avaliação de Escore de Condição Corporal (ECC).....	25
4.6 Avaliações ultrassonográficas do Diâmetro Folicular e Diagnóstico de Gestação25	
4.7 Análise Estatística.....	25
5. RESULTADOS	26
6. DISCUSSÃO	28
7. CONCLUSÃO	31
8. REFERÊNCIAS	32

1 INTRODUÇÃO

O agronegócio desempenha um papel fundamental para o desenvolvimento do estado de Rondônia, de tal maneira que a pecuária se apresenta como uma das bases da economia do estado. Com cerca de 11 milhões de cabeças bovinas criadas a pasto, (IDARON, 2017), o Estado é o quinto maior exportador e sétimo maior produtor de carne bovina do País. Segundo dados do Instituto Brasileiro e Geografia de Estatística (IBGE), em 2015, Rondônia produziu 561 mil toneladas de carne para abastecer o mercado interno e externo. Todavia, para que este setor aproveite o desenvolvimento favorável, é necessário que supere alguns desafios como, aumentar a sua produtividade e, concomitantemente, assegurar não somente o bem-estar animal, mas também a sustentabilidade ambiental, além de analisar qualidade e segurança dos produtos finais (TABORDA, 2015).

Apesar de Rondônia possuir um dos maiores rebanhos bovinos do Brasil em relação à extensão de terras disponíveis para atividade pecuária, a exploração animal ainda é caracterizada por baixos índices produtivos devido, entre outros fatores, à baixa fertilidade do rebanho. A condição corporal, a produção hormonal, a situação do aparelho reprodutivo e o desempenho no ciclo estral (EMERICK, 2009; SA FILHO et al., 2013), podem ser algumas das razões para os baixos índices de produção no Estado. O sucesso reprodutivo dos bovinos depende diretamente da fertilidade da fêmea e, precisa ocorrer de forma adequada, e tem início com a formação do gameta, passa pela seleção folicular ovariana, ovulação e finaliza com a concepção (EMERICK et al., 2009).

Neste âmbito, a disponibilização de estratégias na reprodução como a inseminação artificial (IA), associada ao controle farmacológico do ciclo estral apresentam-se como ferramentas que podem melhorar a eficiência reprodutiva do rebanho (NEVES et al., 2010). O aumento da fertilidade de vacas criadas a pasto contribui substancialmente para tornar o sistema de produção de carne mais eficiente e sustentável, uma vez que ganhos na produtividade influenciam diretamente na mitigação de gases do efeito estufa, que estão intimamente ligados ao aquecimento global. Desta forma, o aumento do desempenho reprodutivo do rebanho de cria pode representar um caminho seguro para que a produção de carne em Rondônia esteja alinhada com às demandas globais por sistemas de produção mais sustentáveis.

A contaminação do útero durante o parto é um dos obstáculos para o retorno da fertilidade e da produtividade de vacas no período pós-parto recente, pois influencia a

retomada da atividade ovariana (OPSTOMER et al., 2000). Geralmente, cerca de 80 a 100% das vacas têm contaminação uterina durante as primeiras semanas pós-parto (MORAES et al., 2014). Assim, para eliminar essa contaminação, o animal depende de um eficiente mecanismo de defesa uterino (MARTINS et al., 2013; DADARWAL et al., 2017).

Uma das primeiras respostas uterinas diante a inflamação e infecção do útero no pós-parto é a migração intensa de células de defesa como, polimorfonucleares (PMN) para o útero (SHELDON, 2004). Dependendo da proporção de células PMN no lúmen uterino pode-se determinar a gravidade da inflamação uterina como: endometrite clínica com exudato purulento e mucopurulento; e a endometrite subclínica, sem descarga uterina (BARLUND et al., 2008). Em contraste ao processo inflamatório uterino pós-parto, no intuito de aumentar a eficiência reprodutiva dos sistemas de produção de carne, atualmente, as vacas paridas com menos de 60 dias pós-parto são submetidas a protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) (SÁ FILHO et al., 2010; SALES et al., 2011; SÁ FILHO et al., 2013). Apesar destes protocolos resultarem em taxas de prenhez adequadas, o impacto da saúde uterina no início do protocolo de IATF e sua relação com a fertilidade ainda não foram estudados.

Com base nestas considerações, o objetivo do presente estudo foi avaliar a relação entre a saúde uterina e a fertilidade no intervalo parto-concepção de vacas Nelore submetidas a protocolos de IATF em diferentes dias pós-parto, e estabelecer o melhor momento para submeter as fêmeas para a IATF de acordo com a condição uterina.

2. OBJETIVOS

2.1. Geral

Este estudo teve como objetivo avaliar a relação da saúde uterina e a fertilidade de vacas de corte submetidas a protocolos de IATF no pós-parto.

2.2. Específicos

- Classificar a descarga uterina no início do protocolo (D0) de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) e mensurar a concentração de células polimorfonucleares (PMN) no endométrio uterino com a citologia endometrial de vacas pós-parto.

- Avaliar a concentração de beta-hidroxibutirato (BHB) na circulação sanguínea no início do protocolo (D0) de IATF, e determinar o escore de condição corporal (ECC) através do dispositivo Vetscore[®] no início do protocolo de (D0) de IATF, medir o diâmetro do folículo dominante (FPO) no período pré-ovulatório no dia da inseminação (D10).

- Relacionar a classificação da descarga uterina, a concentração de células PMN no endométrio uterino e o escore de condição corporal com a taxa de prenhez por IATF de vacas de corte no período entre 20 e 60 dias pós-parto.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Período pós-parto

Nas fêmeas, o puerpério é o período compreendido entre o momento do parto até à completa involução uterina. É um processo fisiológico, que promove mudanças no sistema reprodutivo das vacas, levando o útero à recuperação das alterações ocorridas durante o período de prenhez, para assim recuperar o volume, tamanho, posição e adquirir novamente a capacidade reprodutiva para uma nova gestação (KOZICKI, 1998), neste período ocorre uma completa involução uterina com a eliminação da contaminação e regeneração do endométrio. Durante o puerpério a condição do ambiente uterino é um dos principais fatores que influenciam na fertilidade das vacas. O retorno da atividade endócrina, permitindo novo estro, crescimento folicular, ovulação, desenvolvimento do corpo lúteo (MARTINS; BORGES, 2011; CANABRAVA et al., 2014).

Para que ocorra um puerpério fisiológico, eventos como: involução uterina, regeneração do endométrio, supressão de contaminação por bactérias e retomada da atividade cíclica ovariana devem ser observados e acompanhados. Todo este processo deverá ocorrer nas primeiras seis semanas após o parto (SHELDON et al., 2008). Os eventos que acontecem no puerpério interferem diretamente no prolongamento da vida reprodutiva de uma vaca. O retorno rápido à reprodução possibilita um intervalo de 12 meses entre partos (MARTINS; BORGES, 2011).

As fases do puerpério são determinadas por três processos distintos: o período puerperal precoce, o período puerperal intermediário e o período pós-ovulatório. Após a expulsão do feto inicia-se a fase precoce do puerpério, permanecendo por até duas semanas ou até que a hipófise reestabeleça a produção de Hormônio Liberador de Gonadotrofinas (GnRH). No período puerperal intermediário, o aumento da sensibilidade hipofisária diante os estímulos da GnRH marcam o início desta fase seguindo até a primeira ovulação pós-parto. Já o período pós-ovulatório tem início na primeira ovulação se estendendo até a completa involução do útero (SHELDON et al., 2008).

Uma das mais importantes causas de atraso da primeira ovulação pós-parto são animais com um baixo ECC. Vacas que parem com um ECC ideal apresentam melhores resultados na prenhez/IATF em vacas de corte (SALES et al., 2011; SA FILHO et al., 2013), menor intervalo entre o parto e a primeira ovulação, menor período de anestro pós-

parto e menor intervalo entre partos (EMERICK et al., 2009). Vacas com ECC bom/ideal (2,75 - 4,5, em uma escala de 1 a 5) são mais propensas a serem mais férteis do que as vacas magras ou gordas (PFEIFER et al., 2017).

O manejo nutricional é fundamental para uma condição corporal ideal das fêmeas de corte no pós-parto, pois estas sofrem modificações fisiológicas e metabólicas que induzem a um balanço energético negativo (BEN) (EMERICK et al., 2009). O manejo nutricional é fundamental para uma condição corporal ideal das fêmeas de corte no pós-parto, pois estas sofrem modificações fisiológicas e metabólicas que induzem a um balanço energético negativo (BEN) (EMERICK et al., 2009). O tecido adiposo representa a reserva de energia que é armazenada em células cheias de triglicerídeos conhecidas como adipócitos. A decomposição dos triglicerídeos, resulta na liberação de ácidos graxos não-esterificados (AGNEs). No período pós-parto que o animal geralmente apresenta o BEN, os músculos usam derivados de gordura como AGNEs e corpos cetônicos como fontes de energia. O fígado é usado como um eixo de adaptação e manutenção, modificando a distribuição e aplicação destes combustíveis corporais, metabolizando os AGNEs em corpos cetônicos. A distribuição dos AGNEs hepáticos em cetogênese é um agente chave na adaptação de vacas que estão em BEN (HERDT et al., 2000).

3.2 Contaminação bacteriana e inflamação no pós-parto

A inflamação é uma resposta desencadeada por danos nos tecidos vivos. Esta resposta inflamatória trata-se de um mecanismo de defesa que evoluiu em organismos superiores para protegê-los de infecções e lesões. Sua finalidade é localizar e eliminar o agente nocivo e remover componentes danificados do tecido. A resposta consiste em mudanças no fluxo sanguíneo, um aumento na permeabilidade dos vasos sanguíneos e a migração de fluidos, proteínas e glóbulos brancos (leucócitos) da circulação para o local do dano tecidual. Nas vacas com doença inflamatória do trato reprodutivo mais crônica e localizada, a magnitude e/ou a duração da inflamação são excessivas. A diferença entre inflamação fisiológica e patológica depende da gravidade, tempo e duração da inflamação e se ela auxilia prejudicialmente à fertilidade no início do período reprodutivo (LEBLANC, 2014).

Leblanc (2014) afirma ainda que a fisiologia reprodutiva desencadeia muitos mediadores inflamatórios que contribuem para a sinalização parácrina e endócrina e para a manutenção da homeostase tecidual do trato reprodutivo em bovinos. No entanto, a

inflamação é também uma característica das infecções microbianas. Bactérias e vírus geralmente causam doenças, perturbam o desenvolvimento dos folículos ovarianos e suprimem a atividade endócrina do hipotálamo e hipófise. A endotoxina bacteriana ou citocinas intermediárias (IL 1 ou TNF- α), bloqueiam a secreção de GnRH e a responsividade da hipófise a pulsos de GnRH. E em relação ao hipotálamo e hipófise, o pico de LH do folículo pré-ovulatório induzido pelo estradiol é reduzido, conseqüentemente suprime o crescimento folicular pré-ovulatório (SHELDON, 2004).

O trato reprodutivo está exposto a traumas e desafios microbianos no parto e durante o período inicial do pós-parto. A maioria das vacas apresentam contaminação bacteriana do útero que é eventualmente eliminada pelo sistema imunológico em vacas saudáveis. Embora comumente as vacas tenham inflamação intra-uterina no período pós-parto precoce, uma proporção menor de vacas terá uma resposta imune sistêmica caracterizada pela elevação de proteínas de fase aguda, como a haptoglobina. A liberação de proteínas de fase aguda pelo fígado pode ser estimulada por produtos bacterianos, como a endotoxina, que também pode inibir a produção de paraxonase que tem funções antiinflamatórias. Todos esses fatores, a presença de bactérias e produtos bacterianos no útero, proteínas de fase aguda elevadas e proteínas antiinflamatórias diminuídas estão associados a uma saúde ruim do útero (CHEONG et al., 2017).

Com alterações ocorridas no endométrio logo após o parto, os fluidos e restos celulares que se encontram no lúmen uterino, tornam um ambiente propício para a rápida multiplicação de bactérias. Dessa forma, cerca de 90% das vacas, apresentam contaminação uterina no período de duas a três semanas pós-parto (SHARMA et al., 2017). As fêmeas bovinas também exibem uma reação inflamatória no útero, caracterizada pela infiltração de células polimorfonucleares (PMN, principalmente neutrófilos) no endométrio, resultando em uma redução significativa do desempenho reprodutivo (RICCI et al., 2017). Associada ao infiltrado de PMN no útero de vacas leiteiras durante o puerpério, são produzidos citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias, incluindo Interleucina (IL) -1 β , IL-6 e IL 8 e fator de necrose tumoral α (TNF- α) (GALVÃO et al. 2011).

Após infecção ou lesão tecidual, os mediadores inflamatórios são liberados, resultando nos sinais cardinais de inflamação: vermelhidão, calor, inchaço, dor e perda de função. Os mediadores inflamatórios tipicamente incluem citocinas como IL1 β , IL6 e TNF α ; quimiocinas tais como IL8 e prostaglandina E2. Esses mediadores inicialmente direcionam a resposta inflamatória atraindo e ativando células imunes, particularmente

neutrófilos e macrófagos, para remover microrganismos e danificar células hospedeiras. Mais tarde, mediadores inflamatórios, como IL10 e resolvins, promovem o reparo do tecido e coordenam a resolução oportuna da inflamação (SHELDON et al., 2014).

As bactérias patogênicas do lúmen uterino após o parto freqüentemente persistem e comprometem a função uterina, causando doenças que é uma das principais causas de infertilidade em bovinos. Assim, metade das vacas leiteiras são afetadas por pelo menos um processo de metrite, corrimento vaginal purulento, endometrite ou cervicite no período pós-parto. Essas condições resultam de resposta imunológica inadequada à infecção bacteriana (falha na remoção de bactérias patogênicas do útero) ou inflamação persistente que prejudica a função reprodutiva (LEBLANC, 2014).

A identificação da doença uterina pós-parto é de extrema importância, sendo ela comum e prejudicial para o desempenho reprodutivo das fêmeas. As principais doenças do período pós-parto são metrite puerperal aguda, exsudato vaginal purulento e endometrite. Todas essas doenças estão associadas ao mesmo espectro de bactérias. Estas bactérias ocorrem no útero em uma seqüência específica e parecem ser sinérgicas em seus efeitos patogênicos. Os organismos mais importantes do útero bovino pós-parto incluem *Escherichia coli*, anaeróbios gram-negativos, como *Fusobacterium necrophorum* e *Prevotella melaninogenica*, e *Trueperella pyogenes* (GILBERT, 2013).

A fertilidade de vacas no período pós-parto deve superar dois desafios primários para manter a boa reprodução: restaurar a saúde uterina e retomar a função folicular ovulatória. Um ambiente uterino saudável permite que os espermatozoides percorram com sucesso o trato reprodutivo para chegar ao local da fecundação. O ovário também deve ter função folicular apropriada para produzir um oócito competente e criar um ambiente endócrino adequado para reprodução e prenhez. Esses dois processos reprodutivos são distintos, mas claramente há interações entre o estado de saúde uterino e as funções foliculares ovarianas. A retomada precoce da ciclicidade ovariana no pós-parto resulta em melhora no desempenho reprodutivo (CHEONG et al., 2017).

3.3 Involução uterina e regeneração do endométrio

A involução uterina é caracterizada pela diminuição dos cornos uterinos, necrose e descamação das estruturas denominadas carúnculas de forma simultânea. É uma regeneração natural do endométrio, pela diminuição do útero juntamente com as contrações musculares da cérvix. A regeneração do epitélio endometrial se dá por

completo aos 25 dias pós-parto, em média, ficando as camadas mais profundas dos tecidos somente regenerados totalmente ao alcançar 6 a 8 semanas posteriormente ao parto (SHELDON et al., 2009).

Afim de observar e acompanhar as fases da involução uterina, preconiza-se a palpação retal e a utilização de ultrassonografia. Na palpação retal é possível avaliar a posição uterina em relação à pelve, consistência do útero, grau de contratilidade, espessura dos cornos uterinos e ainda medir o comprimento. Por outro lado, na realização da ultrassonografia é possível examinar o processo de diminuição dos cornos uterinos e se há presença de líquido no interior do útero. O processo de revitalização da carúncula ocorre em média num período de 25 dias em vacas sadias, podendo ocorrer retrocesso neste período caso ocorra infecção uterina (MARTINS et al., 2013).

Canabrava et al., (2014), avaliando parâmetros vitais, ECC, exame ginecológico, avaliação ultrassonográfica e características de odor da secreção vaginal, verificaram que no 21º dia pós-parto, 100% das vacas Guzerá, já apresentavam o útero com tamanho compatível ao período não gravídico e com ajustamento na cavidade pélvica e que no 42º DPP as vacas exibiram 42,1% de taxa de ciclicidade sem demonstração de endometrite citológica.

Em susceptibilidade ao desenvolvimento de doenças, a imunidade inata e inflamação no sistema reprodutivo requer a adoção de mediadores inflamatórios na fisiologia da reprodução em bovinos, a imunidade inata permanece importante para manutenção da homeostase tecidual e defesa contra patógenos. Há nestes termos, a necessidade de controlar as infecções pós-parto do trato genital destacando a importância de compreender os mecanismos subjacentes à integração da imunidade inata, inflamação e fisiologia reprodutiva. Além disso, essas interações são moduladas pelo estresse, pelo ambiente e pelo metabolismo, onde o entendimento das interações entre imunidade inata, inflamação e reprodução se faz importante para o desenvolvimento de estratégias frente a saúde e o bem-estar animal para melhores resultados reprodutivos (SHELDON et al., 2014).

O epitélio endometrial é a primeira linha de defesa para esta superfície mucosa contra bactérias e os receptores Toll-like (TLRs) são um componente crítico do sistema imune inato para a detecção de padrões moleculares associados aos patógenos (PAMPs) (DAVIES et al., 2008). Os TLRs em células hospedeiras se ligam a PAMPs e DAMPs, levando à ativação de vias de sinalização intracelulares de MAPK e NFkB e à liberação de mediadores inflamatórios. Os mediadores inflamatórios incluem tipicamente as

citocinas interleucinas IL1 β e IL6, quimiocinas como IL8, interfens e prostaglandinas (SHELDON et al., 2014).

3.4 Resposta imunológica uterina no pós-parto

A imunidade inata é o principal mecanismo de defesa envolvido no controle da contaminação uterina em vacas no período pós-parto incluindo as barreiras fisiológicas de a pele e a mucosa, os peptídeos antimicrobianos e células que detectam e respondem a essa contaminação. Atuam através de respostas fisiológicas, fagocitárias e inflamatórias, onde, as contrações celulares no miométrio juntamente com a produção de muco advindo do endométrio se fazem importantes respostas fisiológicas mediadas pela imunidade inata. Como também a presença de células de defesas diante da contaminação por bactérias, incluindo monócitos, macrófagos, eosinófilos, neutrófilos e células natural killer (AZAWI, 2008; TURNER et al., 2012).

A atividade fagocitária diante da invasão uterina por neutrófilos é considerada como a mais importante resposta imunológica. A migração das células de defesa ocorre pelo o processo denominado quimiotaxia, os neutrófilos são as células de defesa mais rapidamente recrutadas da circulação sanguínea para o interior do útero perante a presença de patógenos, contando com a ajuda dos macrófagos na remoção (SORDILLO et al., 2009).

A resposta inflamatória aguda é caracterizada pelo aumento do fluxo sanguíneo, pela vasodilatação aumento do metabolismo celular, desprendimento de mediadores solúveis e pelo extravasamento de líquidos. Em vacas, a resposta inflamatória endometrial abrange a liberação de quimiocinas, citocinas, prostaglandinas, peptídeos, antimicrobianos, proteínas de fase aguda entre outros componentes imunomodulatórios. A sincronia e eficiência são determinantes para que a resposta inflamatória possa manter a integridade do tecido, pois, tem a capacidade de remover ligeiramente os patógenos (SORDILLO et al., 2009).

Os neutrófilos reconhecem o estrutura das bactérias patogênicas que invadem o útero através de receptores específicos que ficam localizados não só nas células de defesa, mas também nas células endometriais. Recentemente, quatro categorias de receptores de padrões moleculares microbianos foram identificadas, como os *C-type Lectin Receptors* (CLRs) e os TLRs, sendo estas, proteínas transmembranares, e ainda as proteínas

citoplasmáticas, sendo os *RIG-I-like receptors* (RLRs) e os *NOD-like receptors* (NLRs) envolvidos neste processo de reconhecimento microbiano (TAKEUCHI; AKIRA, 2010).

A interação entre os PAMPs e os TLRs induz o acionamento das cascatas de sinalização celular, desencadeando a resposta imunológica. Nesta conjuntura, observa-se a fagocitose dos patógenos, seguida pela ativação da resposta inflamatória e complementada pela transcrição de imunomediadores. Em meio a outras citocinas pró inflamatórias, é possível observar o procedimento gênico de peptídeos antimicrobianos e quimiocinas, estando estas envolvidas na modulação da sinalização celular por meio de seus receptores moleculares microbianos unificados (TAKEUCHI; AKIRA, 2010).

A presença de neutrófilos no lúmen uterino, é indicação de um processo inflamatório ativo. Entretanto, infecções uterinas no pós-parto devem ser observadas, pois podem retardar a regeneração do endométrio e interromper a retomada da função ovariana cíclica, levando assim o prolongamento do intervalo entre partos (LEBLANC, 2014).

3.5 Retorno à atividade ovariana luteal cíclica de vacas de corte no pós-parto

As causas multifatoriais da baixa eficiência reprodutiva no pós-parto incluem nutrição inadequada, balanço energético negativo e patologias durante o período pós-parto são consideradas causas de ineficiência reprodutiva (EMERICK et al., 2009).

A concepção após o parto é uma etapa crucial no sistema de criação de gado de corte e a ineficiência durante esta fase tende a influenciar diretamente todo o sistema de produção. O intervalo compreendido entre o parto e o reinício da atividade ovariana pode ser um grande obstáculo, logo, o anestro pós-parto demonstra-se como sendo em grande parte responsável por longos intervalos entre os partos (BRAUNER et al., 2009).

O padrão ovulatório das vacas é mantido por meio de intercâmbios das atividades parácrinas, autócrinas e ainda endócrinas. A linha central, determina o hipotálamo como responsável pela secreção do GnRH, o qual desempenha influências diante da hipófise anterior, permitindo a liberação do FSH e LH, sendo estes, responsáveis por ordenar o recrutamento, o aumento, seleção, diferenciação, atresia e ao fim a ovulação dos folículos ovarianos. Tais arcabouços, mediante a atuação do LH e do FSH, produzem esteroides como por exemplo a progesterona (P₄), o estradiol (E₂) e outros reguladores (EMERICK et al., 2009). Entretanto, o retorno à atividade cíclica pós-parto na vaca acontece depois de restabelecer o acúmulo de LH pela hipófise e sua completa síntese. Durante a gestação, a redução no estoque de LH é inevitável, tornando-se esgotado, como causa do *feedback*

negativo de hormônios esteroides, especialmente da P₄ sobre o hipotálamo, refletindo na liberação de GnRH de forma diminuída. Após o parto, acontece o declínio na P₄ circulante de modo acelerado, permitindo nesta abrangência, novo acúmulo de LH na hipófise anterior, que em um período de duas a três semanas, este processo estará concluído (MARTINS et al., 2013).

As vacas apresentam dois estágios no desenvolvimento folicular antral, sendo a primeira uma fase de crescimento com características lentas e a segunda de forma mais rápida. A fase mais lenta abrange um período maior que 30 dias a partir da formação do antro, onde os folículos apresentam cerca de 300 µm de diâmetro prosseguindo até alcançar diâmetros entre 3 a 5 mm (estágio de folículos pequenos). Já na fase rápida, envolve um período de 5 a 7 dias em média e compreende a manifestação de uma onda de folículos, seleção de um folículo dominante, crescimento folicular e um período de dominância mutável, acompanhado pela ovulação ou em alguns casos a regressão do folículo pré-ovulatório (AERTS; BOLS, 2010).

O crescimento folicular após o parto na maioria das vacas de corte está associado a um aumento transitório do FSH que ocorre entre o 3º e 5º dias. A retomada tardia da ovulação é invariavelmente devida a uma falta de frequência de pulso de LH mediada por GnRH, seja por causa da inibição da sucção em vacas de corte ou estressores relacionados ao metabolismo (AERTS; BOLS, 2010). Sartori e Guardieiro (2010) mencionam que a primeira ovulação em vacas de corte geralmente é silenciosa e seguida por um curto intervalo ovulatório (ciclo ovariano). Estas vacas apresentam ainda anestro mais prolongado no pós-parto e que alguns fatores podem influenciar de forma significativa o retorno da ciclicidade, dentre estes é possível citar o escore de condição corporal (ECC), o déficit no restabelecimento do LH. Igualmente, o BEN da vaca de corte acarreta no aumento da lipólise no tecido adiposo, causando aumento da concentração de Ácidos Graxos Não Esterificados (AGNEs). Todas estas mudanças metabólicas e endócrinas do período pós-parto, afeta severamente a atividade luteal e desenvolvimento folicular de forma direta e indireta em relação a tamanho, número e qualidade dos folículos (EUSTÁQUIO FILHO et al., 2010).

3.6 Vantagens do uso de protocolos de IATF

Associada ao melhoramento genético, a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) tem ganhado destaque no campo comercial e demonstrado inúmeras vantagens,

pois proporciona a facilidade de inseminar um grande número de vacas em tempo pré-determinado, sem que seja necessário observar o estro (cio). É uma biotecnologia reprodutiva aplicada no rebanho por meio de fármacos capazes de sincronizar a ovulação. A técnica da IATF visa promover facilidades diante do manejo da inseminação artificial (MILLEN et al., 2011).

A IATF permite que as vacas tenham taxas de prenhez mais elevadas no começo da estação de acasalamento, num pequeno espaço de tempo em relação às vacas submetidas a outras maneiras de acasalamento, como por exemplo, a monta natural e a inseminação convencional. As implicações resultantes desta técnica irão depender de algumas variáveis, em meio destas estão a condição corporal, os hormônios, o estado do aparelho reprodutor e ainda o desempenho estral (EMERICK, 2009; SÁ FILHO et al., 2013).

Neste contexto, é possível perceber que as vacas que evidenciam estro prévio à IATF possuem chances bem maiores de conceber, pois, neste momento apresentam maior desenvolvimento folicular e boa disposição de fertilização. Cabe ressaltar que o ECC deve ser avaliado, pois, poderá influenciar no resultado da IATF (GOTTSCHALL et al., 2012).

As vantagens da IATF se sobressaem pela magnitude de inseminar um maior número de vacas em menor espaço de tempo, pelo melhoramento genético, o maior número de bezerros nascidos e a antecipação da prenhez, observa-se ainda a possibilidade da cronologia de nascimentos e desmame em ocasiões mais favoráveis (BARBOSA et al., 2011).

O emprego de protocolos hormonais em face a sincronização do cio em programas de IATF permite que vacas sejam inseminadas no início da estação de monta involuntariamente ao seu estado cíclico. Deste modo, observa-se menor dissipação de sêmen, mão de obra e também material, além de suprimir a necessidade de detectar se há estro. Com vistas a aumentar o número de vacas prenas ao fim da estação, essa prática aumenta o número de bezerros nascidos e a eficiência reprodutiva, reduzindo o intervalo de partos (BARBOSA et al., 2011).

4. METODOLOGIA

Todos os procedimentos experimentais foram aprovados pelo CEUA da Embrapa Rondônia (Protocolo #F02.2014).

Este estudo foi realizado com 244 vacas multíparas da raça Nelore (*Bos taurus indicus*) no período pós-parto com idade entre 4 a 10 anos, em duas fazendas comerciais em Rondônia - Brasil no ano de 2017. Todas os animais foram mantidos em pastagem de *Brachiaria brizantha* com acesso livre a água e sal mineral.

Os animais foram separados em 3 grupos de acordo com os dias pós-parto (DPP): 1) Grupo <30DPP (n=64), composto por vacas com DPP entre 20 e 30; 2) Grupo <45DPP (n=115), composto por vacas com DPP entre 31 e 45; 3) Grupo <60DPP (n=65), composto por vacas com DPP entre 46 e 60, no dia 0 do protocolo de IATF.

4.1 Protocolo de IATF

Após a coleta das amostras da citologia endometrial, as vacas foram submetidas ao protocolo de IATF, demonstrado na Figura 1. No dia 0, foi administrado 2 mg de benzoato de estradiol (Bioestrogen[®], Biogénesis-Bagó, Curitiba, Brazil) por via IM e um dispositivo intravaginal liberador de progesterona (1,9g de progesterona, CIDR[®], Pfizer Animal Health, São Paulo, Brazil). No dia 8 o CIDR[®] foi removido e administrado de 150µg d-Cloprostenol (Croniben[®], Biogénesis-Bagó, Curitiba, Brazil) por via IM, 1mg de cipionato de estradiol (ECP[®], Pfizer, São Paulo, Brazil) por via IM, e 300 UI de eCG (Novormon[®], Zoetis, Buenos Aires, Argentina) por via IM. No dia 10, cerca de 48 horas após a remoção do dispositivo de progesterona os animais foram inseminados.

4.2 Avaliação de Corpos Cetônicos

No dia 0 do início do protocolo de IATF foi feita a coleta de uma gota de sangue da cauda para avaliação concentração de beta-hidroxibutirato (BHB) em mmol/L, através de um dispositivo medidor de mão (TD-4235[®], Ketovet, MG, Brazil).

4.3 Exame Clínico Vaginal

A vaginoscopia foi realizada no dia 0 do protocolo de IATF de um subgrupo de vacas (n = 148). O exame de vaginoscopia é um método preciso para avaliar e caracterizar a presença de corrimento vaginal (PLETICHA et al., 2009)

Para o exame clínico vaginal, a vulva foi limpa com uma toalha de papel e um espéculo vaginal higienizado (Vaginoscópio) foi introduzido no canal vaginal. Usando uma fonte de luz, o colo do útero e o canal vaginal, o que permite a inspeção da descarga uterina da vagina até a base da cérvix, sendo que a secreção observada foi classificada em 0 (muco transparente), 1 (muco com manchas de pus), 2 (secreção com 50% de material purulento), 3 (secreção com 50% de material purulento e/ou sanguinolento), de acordo com Williams et al. (2005) e Sheldon et al. (2006).

4.4 Coleta Citológica Endometrial e Contagem de Células Polimorfonucleares

Logo no início do protocolo de IATF (Dia 0), o mesmo subgrupo de vacas da vaginoscopia foi submetido à coleta de amostras da citologia endometrial através da técnica de *Cytobrush* adaptado de Kasimanickam et al. (2004) e Barlund et al. (2008).

A escova cervical de uso humano foi ajustada em um aplicador universal de sêmen, protegida por uma bainha sanitária para a passagem através da cérvix. Em seguida a escova citológica é exposta na parede do endométrio, em seguida foi feita uma rotação no sentido horário de 360° para recolher células do corpo uterino, depois retornando a escova para o aplicador e remoção do animal.

A escova citológica foi retirada do aparelho e suavemente rotacionada em uma lâmina limpa de microscopia utilizando somente metade de sua circunferência, para assegurar que uma quantidade adequada de material celular permanecesse na superfície não tocada para a análise da expressão gênica. As lâminas foram secas ao ar livre e embaladas para transporte até o laboratório para leitura das mesmas. As amostras coletadas foram coradas com um kit de coloração rápida (Quick Panoptic®, Laborclin, Pinhais, Brasil) de acordo com Krause et al., (2014). A contagem de células foi realizada através de microscopia óptica, cada lâmina foi avaliada utilizando 100x de ampliação, tendo dois examinadores diferentes fazendo a contagem (BARLUND, 2008) de 200 células sendo elas, endometriais, mononucleares e PMNs.

4.5 Avaliação de Escore de Condição Corporal (ECC)

A avaliação do ECC foi feita através da leitura com o dispositivo Vetscore[®], indicada através das seguintes cores no visor: Vermelho (Baixa/Muito Magra <2,75), Verde (Adequada 2,75-4,5), Amarelo (Alta/Muito Gorda >4,5), no dia 0 do protocolo de IATF.

4.6 Avaliações ultrassonográficas do Diâmetro Folicular e Diagnóstico de Gestação

Os animais de outro subgrupo (N=138) foram submetidos a ultrassonografia transretal com o aparelho de ultrassom CTS-900 (SIUI, Guangdong, China) equipado com um transdutor linear de 5 MHz para avaliação do diâmetro do folículo pré-ovulatório (FPO) no dia 10 do protocolo e 30 dias após a IATF para detecção da prenhez.

4.7 Análise Estatística

As análises estatísticas foram realizadas através do programa estatístico SAS (1998). A média de células PMN uterinas, descarga uterina, níveis de β -cetona sérica, diâmetro do folículo pré-ovulatório, foram avaliados por análise de variância e as médias foram comparadas entre os grupos por meio do teste de Tukey. A taxa de prenhez/IA foi analisada pelo teste do Qui-quadrado. A regressão linear foi utilizada para determinar a relação entre a proporção de células PMN no endométrio uterino e DPP.

5. RESULTADOS

Na tabela 1 estão resumidas as informações para as respostas de fertilidade das vacas de acordo com o período pós-parto no protocolo de IATF.

As fêmeas do grupo <30DPP apresentaram maior descarga uterina do que as vacas dos grupos <45DPP e <60DPP ($P < 0,001$) (Tabela 1). Do mesmo modo, os animais do grupo <30DPP demonstraram uma proporção maior ($P < 0,001$) de células PMN no útero do que os grupos <45DPP e <60DPP (Tabela 1). A figura 1 mostra que o modelo de regressão linear indica uma relação negativa entre o DPP e a proporção de células PMN no endométrio.

As concentrações sanguíneas de BHB também estão exibidas na Tabela 1, de acordo com o grupo pós-parto. As vacas do grupo <60DPP tiveram maiores concentrações de BHB do que os animais do grupo <45DPP ($P < 0,01$). No entanto, a concentração de BHB nas vacas do grupo <30DPP, não foi diferente em comparação com os outros grupos. Entre os grupos, não foi verificada diferença ($P > 0,05$) no diâmetro do FPO no período ovulatório no dia da inseminação (Tabela 1).

Os dados de fertilidade também estão relacionados na Tabela 1. As fêmeas do grupo <30DPP apresentaram uma menor ($P < 0,05$) taxa de prenhez por IA (P/IA) do que as vacas dos grupos <45DPP e <60DPP (Tabela 1).

Tabela 1. Dados das respostas de fertilidade de vacas de acordo com o período no protocolo de IATF no pós-parto: classificação da descarga uterina, proporção de PMN (%), concentração de BHB (mmol/L), diâmetro do FPO (mm) e taxa de prenhez (%) entre os grupos de animais.

	Grupos			Valor P
	<30DPP	<45DPP	<60DPP	
*Descarga Uterina	1,39 ± 0,14 ^A	0,57 ± 0,13 ^B	0,59 ± 0,12 ^B	0,001
PMN (%)	9,03 ± 1,47 ^A	3,83 ± 0,72 ^B	2,23 ± 0,42 ^B	0,001
*BHB (mmol/L)	0,97 ± 0,04 ^{AB}	0,89 ± 0,03 ^B	1,07 ± 0,05 ^A	0,008
*Diâmetro do FPO (mm)	12,1 ± 0,38 ^A	12,2 ± 0,29 ^A	12,5 ± 0,52 ^A	0,82
Prenhez/IA	29,7% (19/64) ^A	45,2% (52/115) ^{AB}	52,3% (34/65) ^B	0,02

^{AB} Valores com letras diferentes na mesma linha, diferem entre si ($P < 0,05$).

* Os dados estão apresentados em forma de Média ± Erro Padrão.

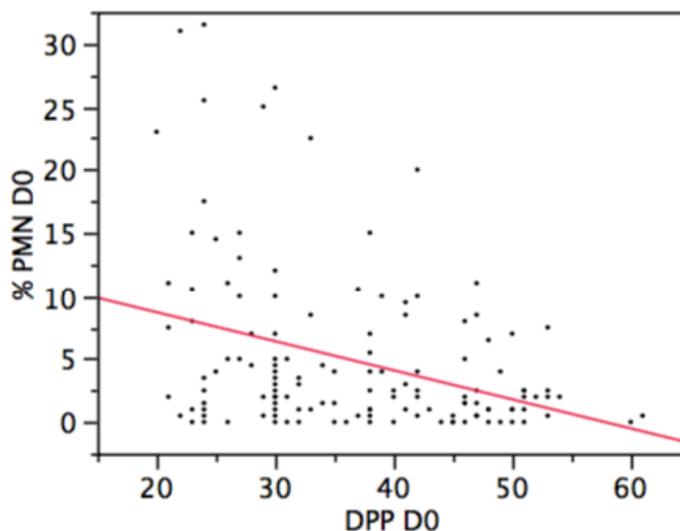
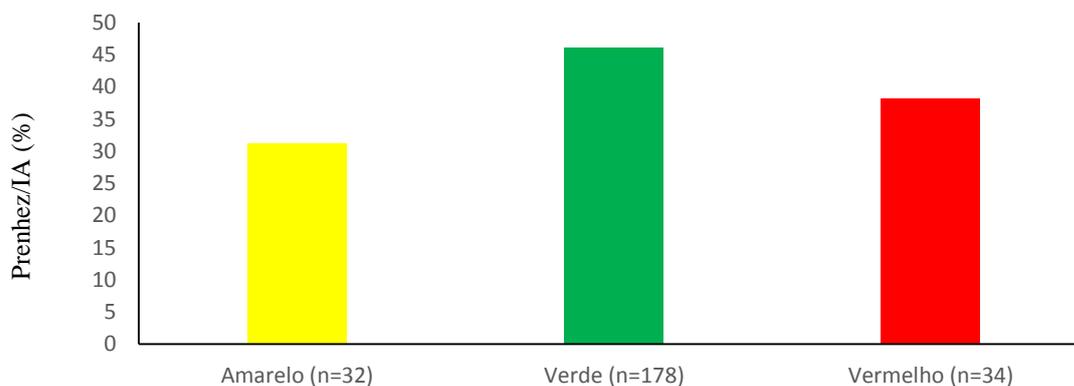


Figura 1. Relação entre proporção de células PMN no endométrio uterino e dias pós-parto em vacas Nelore submetidas a protocolo de IATF.

A Figura 2 mostra que as vacas com ECC 2,75-4,5 (Vetscore® Verde) atingiram uma maior taxa de prenhez (82/178 = 46,10%) em relação as fêmeas com ECC <2,75 (Vetscore® Vermelho) (13/34 = 38,20%) e com ECC >4,5 (Vetscore® Amarelo) (10/32 = 31,20%) (P=0,25).

Figura 2. Prenhez por IA após IATF em vacas de acordo com o ECC (vermelho, verde ou amarelo) com o dispositivo Vetscore® (P=0,25).



6. DISCUSSÃO

O presente estudo mostrou que as vacas da raça Nelore (*B. taurus indicus*) submetidas a protocolos de IATF no pós-parto precoce (grupo experimental <30DPP) apresentaram maior descarga uterina e menor taxa de prenhez/IA. Relação similar foi observada em vacas de leite, nas quais o desempenho reprodutivo foi significativamente menor naquelas com secreção purulenta no exame de vaginoscopia, quando comparadas com animais sem secreção anormal (LEBLANC et al., 2002). Segundo Sheldon (2006), na maioria das vacas pós-parto haverá contaminação do lúmen uterino por bactérias da superfície do animal e do meio ambiente.

O grupo <30DPP também apresentou uma maior proporção de PMN no endométrio uterino. Além disso, foi possível constatar que a proporção de células PMN diminuiu com o aumento dos dias pós-parto. Kasimanickam et al. (2004), semelhantemente, notaram que vacas holandesas com 20-33 dias pós-parto apresentaram uma maior proporção de PMN do que fêmeas com 34-47 dias pós-parto. Foi constatado no atual estudo, que a presença de células PMN em vacas da raça Nelore diminuiu consideravelmente após 30 DPP, diferente de Santos et al. (2009), que verificaram que em vacas da raça Angus, este declínio ocorre aproximadamente após 50 DPP.

Neste estudo, as fêmeas bovinas com menor proporção de PMN no útero tiveram maior índice de prenhez/IA, independente dos dias pós-parto, que condiz com os dados obtidos por Kasimanickam et al. (2004), onde vacas holandesas positivas com >18% de PMN foram associadas a uma redução significativa na taxa de prenhez. Conforme a proporção de PMN no lúmen uterino é possível determinar a gravidade da inflamação uterina (BARLUND et al., 2008), pois a endometrite pós-parto tem um efeito negativo sobre o desempenho reprodutivo, diminuindo a taxa de prenhez e de concepção (KASIMANICKAM et al., 2004).

Galvão et al. (2011) mostraram que as vacas leiteiras que tiveram ovulações mais cedo no pós-parto também apresentaram uma menor ocorrência de endometrite e maior taxa de prenhez. Além disso, Krause et al. (2014) constataram que as fêmeas que retomaram a ovulação no pós-parto solucionaram a inflamação pós-parto mais precocemente do que as vacas em que a ovulação pós-parto foi mais tardia. Porém, em

vacas de corte, a endometrite não é frequente ou tem pouca influência na performance reprodutiva (SANTOS et al., 2009).

Os maiores valores de BHB e prenhez foram observados no grupo <60DPP neste estudo, apesar de Mulliniks et al. (2013) terem afirmado que vacas de corte com melhores índices reprodutivos possuem menores concentrações de BHB. O balanço energético é afetado negativamente durante o período periparto, por causa do estresse causado pela prenhez, parto, início da lactação e amamentação (CICCIOLI et al., 2003). De acordo com Herdt (2000), altas concentrações de BHB no período pós-parto em vacas de corte sinalizam uma disfunção metabólica devido à inadequação ao balanço energético negativo (BEN). O aumento da produção de leite em vacas de corte (OLIVEIRA et al., 2007) e o período do menor ECC (PFEIFER et al., 2017), podem justificar o valor de concentração mais elevado do BHB no grupo <60DPP.

Os animais de todos os grupos do atual estudo tiveram diâmetro de POF semelhantes, e as vacas do grupo <60 DPP apresentaram uma taxa de prenhez/IA próxima do grupo <45DPP. Wiltbank et al. (2002) relataram que o desenvolvimento folicular ovariano e a ovulação são prejudicados pelo BEN. Sartori et al. (2010) também afirmaram que quando o animal está em BEN ocorre alteração nos níveis sanguíneos, com o aumento de vários fatores, inclusive do BHB, indicando um comprometimento da função ovariana e da fertilidade. Short et al. (1972) já haviam verificado que a realização de IA após estro antes de 20 DPP não induziram prenhez. Wettemann et al. (1978) relataram que a intensidade de sucção, assim como, Randel (1990) mostrou que a quantidade de energia na dieta, são fatores que afetam negativamente o intervalo entre o parto e o primeiro estro, e a concepção.

De forma similar, a redução do desenvolvimento ovariano e função folicular estão associados a uma intensa contaminação bacteriana uterina (SHELDON, 2004). Dourey et al. (2011) demonstraram que o intervalo entre o parto e a primeira ovulação foi significativamente menor nas vacas com baixas concentrações de PMN, do que nas do grupo com altas taxas ($32,4 \pm 3,0$ vs. $45,3 \pm 3,6$ d; $P < 0,05$).

Um dos elementos mais importantes que afetam a fertilidade em bovinos é a nutrição (ROBINSON et al., 2006). Um instrumento reconhecido e importante para a quantificação subjetiva de reservas de gordura corporal em bovinos é a avaliação visual do ECC (AYRES et al., 2009; SILVEIRA et al., 2015). O dispositivo Vetscore® é uma

ferramenta desenvolvida para uma avaliação objetiva do ECC em vacas de corte. Fêmeas com ECC adequado pelo Vetscore[®] (Verde) apresentaram um aumento de 18% de prenhez/IA em relação às fêmeas com ECC baixo (Vetscore[®] Vermelho) e de 31,8% em comparação aos animais considerados obesos (Vetscore[®] Amarelo) (PFEIFER et al., 2017). Resultados semelhantes foram observados no presente estudo, onde fêmeas com ECC 2,75 – 4,5 (Vetscore[®] Verde) alcançaram uma maior taxa de prenhez em relação as fêmeas com ECC <2,75 (Vetscore[®] Vermelho) e >4,5 (Vetscore[®] Amarelo). Esse importante recurso foi analisado por Carneiro et al. (2013), que constataram que vacas com ECC $\leq 2,5$, tenderam a ter uma maior ocorrência de doença uterina do que animais com ECC $\geq 2,5$. Pfeifer et al. (2017) também averiguaram que fêmeas com maior ECC apresentaram maior FPO na IA, e ainda, vacas multíparas tiveram maior FPO na IA do que as primíparas. E, ainda, o aumento no diâmetro do FPO foi associado a maior taxa de prenhez/IA.

7. CONCLUSÃO

Fêmeas da raça Nelore submetidas a protocolos de IATF no pós-parto precoce (≤ 30 dias) apresentam maior descarga uterina e maior proporção de PMN no endométrio uterino e menor taxa de prenhez/IA. Com o aumento dos dias pós-parto, a descarga uterina e a proporção de células PMN diminuíram e a taxa de prenhez/IA aumentou. Esses resultados sugerem que vacas com maior DPP, possuem úteros mais saudáveis e tendem a um maior índice de prenhez/IA, indicando que animais com mais de 30 dias pós-parto podem ser incluídos nos programas de IATF, pois a condição uterina nos diferentes períodos pós-parto interfere na fertilidade. Quanto ao ECC, o Vetscore® se mostra como uma importante ferramenta para identificar vacas com maior possibilidade de emprenhar em programas de IATF, confirmando que as fêmeas classificadas com ECC adequado pelo Vetscore® (verde) tiveram um aumento de prenhez/IA quando comparadas com animais das outras categorias.

8. REFERÊNCIAS

- AERTS, J.M.J.; BOLS, P.E.J. Ovarian follicular dynamics: a review with emphasis on the bovine species. Part II: Antral development, exogenous influence and future prospects. **Reproduction Domestic Animals**, 45, 171–179, 2010.
- AYRES, H.; FERREIRA, R.M.; TORRES-JUNIOR, J.R.; DEMÉTRIO, C.G.B.; LIMA, C.G.; BARUSELLI, P.S. Validation of body condition score as a predictor of subcutaneous fat in Nelore (*Bos indicus*) cows. **Livestock Science**. 123, 175–179, 2009.
- AZAWI, O. I. Postpartum uterine infection in cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 105, p. 187- 208, 2008.
- BARBOSA, C. F.; JACOMINI, J. O.; DINIZ, E. G.; DOS SANTOS R. M.; TAVARES, M. T. Inseminação artificial em tempo fixo e diagnóstico precoce de gestação em vacas leiteiras mestiças. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.1, p.79-84, 2011.
- BARLUND, C.S.; CARUTHERS, 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.
- BRAUNER, C. C.; PIMENTEL, M. A.; LEMES, J. S.; PIMENTEL, C. A.; MORAES, J. C. F. Desempenho reprodutivo pós-parto de vacas de corte submetidas a indução/sincronização de cio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 1, p. 99-103, 2009.
- BORGES, Á. M.; HEALEY, G. D.; SHELDON, I. M. Explants of intact endometrium to model bovine innate immunity and inflammation ex vivo. **American Journal of Reproductive Immunology**v. 67, p. 526-539, 2012.
- CANABRAVA, Á. C. M. N.; DE OLIVEIRA, P. M.; NASCIUTTI, N. R.; PÁDUA, M. F. S.; OLIVEIRA, R. S. D. B. R.; DE OLIVEIRA, D.; SAUT, J. P. E. Dinâmica da involução uterina no pós-parto de vacas da raça Guzerá. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 5, 2014.
- CARNEIRO, L. C.; MENDES, F. M.; OLIVEIRA, R. S. B. R.; PÁDUA, M. S.; FERREIRA, A. F.; SAUT, J. P. E.; SANTOS, R. M.; Incidência de endometrite citológica e desempenho reprodutivo em vacas de corte Nelore. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 65, n. 3, p. 742-748, 2013.
- CHEONG, S. H.; SÁ FILHO, O. G.; ABSALON-MEDINA, V. A.; SCHNEIDER, A., BUTLER, W. R.; GILBERT, R. O. Uterine and systemic inflammation influences ovarian follicular function in postpartum dairy cows. **PLoS One.**, v.12, n. 5, 2017.
- CHEONG, S. H.; NYDAM, D. V.; GALVÃO, K. N.; CROSIER, B. M.; GILBERT, R. O. Cow-level and herd-level risk factors for subclinical endometritis in lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 94, p. 762–770, 2011.
- CICCIOLI, N. H.; WETTEMANN, R.P.; SPICER, L.J.; LENTS, C.A.; WHITE, F.J.; KEISLER, D.H. Influence of body condition at calving and postpartum nutrition on

endocrine function and reproductive performance of primiparous beef cows. **Journal of Animal Science**, v. 81, n. 12, p. 3107-3120, 2003.

DADARWAL, D.; PALMER, C.; GRIEBEL, P. Mucosal immunity of the postpartum bovine genital tract. **Theriogenology**, v. 104, p. 62-71, 2017.

DAVIES, D.; MEADE, K. G.; HERATH, S.; ECKERSALL, P. D.; GONZALEZ, D.; WHITE, J. O.; CONLAN R. S.; O'FARRELLY C.; SHELDON, I. M. Toll-like receptor and antimicrobial peptide expression in the bovine endometrium. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v. 6, n. 1, p. 53, 2008.

DIAZ, I. D. P. S.; OLIVEIRA, H. N.; BEZERRA, L. A. F.; LOBO, R. B. Genotype by environment interaction in Nelore cattle from five Brazilian states. **Genetics and Molecular Biology**. Print version ISSN 1415-4757 2011, vol.34, n.3, pp.435-442, 2011.

DOUREY, A.; COLAZO, M. G.; BARAJAS, P. P.; AMBROSE, D. Relationships between endometrial cytology and interval to first ovulation, and pregnancy in postpartum dairy cows in a single herd. **Research in Veterinary Science**, v.91, p. 149-153, 2011.

EMERICK L. L.; DIAS, J. C.; GONÇALVES, P. E. M.; MARTINS, J. A. M.; SOUZA, F. A.; VALE, F.; ANDRADE, V. J. 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, Out/Dez. 2009.

EUSTÁQUIO FILHO. A.; SOUZA F. M.; SANTOS, P. E. F.; SILVA, M. W. R. Balanço energético negativo. **Pubvet**, v. 4, p. Art. 780-787, 2010.

GALVÃO, K. N.; SANTOS, N.R.; GALVÃO, J.S.; GILBERT, R.O. Association between endometritis and endometrial cytokine expression in postpartum Holstein cows. **Theriogenology**, v. 76, n. 2, p. 290-299, 2011.

GILBERT, R. O. Postpartum uterine infection and impacts on herd fertility Infecção uterina pós-parto e seu impacto na fertilidade do rebanho. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.37, n.2, p.198-199, abr./jun. 2013.

GONZÁLEZ, F. D.; MUIÑO, R.; PEREIRA, V.; CAMPOS, R.; BENEDITO, J. L. Relationship among blood indicators of lipomobilization and hepatic function during early lactation in high-yielding dairy cows. **Journal of Veterinary Science**, v. 12, n. 3, p. 251–255, 2011.

GOTTSCHALL, C.; BITTENCOURT, H.R.; MATTOS, R.C; GREGORY, R.M. Retardo da realização da IATF sobre o desempenho reprodutivo na estação de acasalamento de vacas de corte lactantes. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, n. 2, p. 295-304, 2012.

HERDT, T. H. Ruminant adaptation to negative energy balance: Influences on the etiology of ketosis and fatty liver. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 16, n. 2, p. 215-230, 2000.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa do Perfil da Pecuária Municipal de Rondônia**. IBGE, 2015.

IDARON – Agência de Defesa Agrosilvopastoril do Estado de Rondônia. Informe semestral de campo referente a 43ª etapa de vacinação contra febre aftosa do estado de Rondônia, bovinos de corte. Porto Velho: Idaron, out./nov. 2017^a. Disponível em: <http://www.idaron.ro.gov.br/Portal/Handler.ashx?OP=6&ID=144>. Acesso em: 26 março 2018.

KASIMANICKAM, R.; DUFFIELD, T.F.; FOSTER, R.A.; GARTLEY, C.J.; LESLIE, K.E.; WALTON, J.S.; JOHNSON, W.H. Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. **Theriogenology**, v. 62, n. 1, p. 9-23, 2004.

KRAUSE, A. R.; PFEIFER, L. F.; MONTAGNER, P.; WESCHENFELDER, M. M.; SCHWEGLER, E.; LIMA, M. E.; XAVIER, E. G.; BRAUNER, C. C.; SCHMITT, E.; DEL PINO, F. A.; MARTINS, C. F.; CORREA, M. N.; SCHNEIDER, A. Associations between resumption of postpartum ovarian activity, uterine health and concentrations of metabolites and acute phase proteins during the transition period in Holstein cows. **Animal Reproduction Science**, v. 145, n. 1-2, p. 8-14, 2014.

KOZICKI, L. E. Aspectos fisiológicos e patológicos do puerpério em bovinos. **Archives of Veterinary Science**, v. 3, n. 1, 1998.

LEBLANC, S. J. Reproductive tract inflammatory disease in postpartum dairy cows. **Journal of Animal and Plant Sciences**, v. 8, p. 54–63, 2014.

LEBLANC, S. J.; DUFFIELD, T. F.; LESLIE, K. E.; BATEMAN, K. G.; KEEFE, G. P.; WALTON, J. S.; JOHNSON, W. H. Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, 85(9), 2223-2236, 2002.

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

MARTINS, T. M.; SANTOS, R. L.; PAIXÃO, T. A.; COSTA, E. A.; PIRES, A. C.; BORGES, A. M. Aspectos reprodutivos e produtivos de vacas da raça Holandesa com puerpério normal ou patológico. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 65, p. 1348-1356, 2013.

MILLEN, D. D.; PACHECO, R. D. L.; MEYER, P. M.; RODRIGUES, P. H. M.; ARRIGONI, M. B. Current outlook and future perspectives of beef production in Brazil. **Animal Frontiers**, v.1, n.2, p.46-52, 2011.

MORAES, C. N. D.; MAIA, L.; ALVARENGA, F. D. C. L.; OBA, E. Considerações a respeito do pós-parto em bovinos. **Veterinária e Zootecnia**, v. 21, n. 1, p. 53-63, 2014.

MULLINIKS, J. T.; KEMP, M. E.; ENDECOTT, R. L.; COX, S. H.; ROBERTS, A. J.; WATERMAN, R. C.; GEARY, T. W.; SCHOLLJEGERDES, E. J.; PETERSEN, M. K.

Does β -hydroxybutyrate concentration influence conception date in young postpartum range beef cows. **Journal of Animal Science**, v. 91, n. 6, p. 2902-2909, 2013.

NEVES, J. P.; MIRANDA, K. L.; TORTORELLA, R. D. Progresso científico em reprodução na primeira década do século XXI. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.39, p.414-421, 2010.

OLIVEIRA, V. C.; ALENCAR, F. C. A.; SIQUEIRA, J. G.; FERNANDES, A. M.; FARIA S. N.; NETO, A. C. Produção de leite e desempenho dos bezerros de vacas Nelore e mestiças1. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 6, 2007.

PFEIFER, L. F. M.; CASTRO, N. A.; NEVES, P. M. A.; CESTARO, J. P. Development and validation of an objective method for the assessment of body condition scores and selection of beef cows for timed artificial insemination. **Livestock Science**, v. 197, p. 82-87, 2017.

RANDEL, R. D. Nutrition and postpartum rebreeding in cattle. **Journal of Animal Science**, v. 68, n. 3, p. 853-862, 1990.

RICCI, A.; BONIZZI, G.; SARASSO, G.; GALLO, S.; DONDO, A.; ZOPPI, S.; VINCENTI, L. Subclinical endometritis in beef cattle in early and late postpartum: Cytology, bacteriology, haptoglobin and test strip efficiency to evaluate the evolution of the disease. **Theriogenology**, v. 94, p. 86-93, 2017.

ROBINSON, J. J.; ASHWORTH, C. J.; ROOKE, J. A.; MITCHELL, L. M.; MCEVOY, T. G. Nutrition and fertility in ruminant livestock. **Animal Feed Science Technology**. 126, 259–276, 2006.

SÁ FILHO, M. F.; CRESPILO, A. M.; SANTOS, J. E.; PERRY, G. A.; BARUSELLI, P. S. Ovarian follicle diameter at timed insemination and estrous response influence likelihood of ovulation and pregnancy after estrous synchronization with progesterone or progestin-based protocols in suckled *Bos indicus* cows. **Animal Reproduction Science** v.120, p.23-30. 2010.

SÁ FILHO, M. F.; PENTEADO, L.; REIS, E.L.; REIS, T. A.; GALVÃO, K. N.; BARUSELLI, P. S. Timed artificial insemination early in the breeding season improves the reproductive performance of suckled beef cows. **Theriogenology** v.79, p.625-632, 2013.

SALES, J. N.; CREPALDI, G. A.; GIROTTO, R. W.; SOUZA, A. H.; BARUSELLI, P. S. Fixed-time AI protocols replacing eCG with a single dose of FSH were less effective in stimulating follicular growth, ovulation, and fertility in suckled-anestrus Nelore beef cows. **Animal Reproduction Science**. v. 124, p. 12-18, 2011.

SANTOS, K. J. G.; SANTOS, A. P. P.; COSTA, M. A.; MONTESINOS, I. S. Biotecnologias reprodutivas e fisiologia reprodutiva da fêmea bovina – conhecimento para o sucesso. Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia. **Revista PUBVET**. Londrina, v. 6, n. 36, 2012.

- SANTOS, N. R.; LAMB, G. C.; BROWN, D.R.; GILBERT, R. O. Postpartum endometrial cytology in beef cows. **Theriogenology**, v. 71, n. 5, p. 739-745, 2009.
- SARTORI, R.; GUARDIEIRO, M. M. Fatores nutricionais associados à reprodução da fêmea bovina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.422-432, 2010.
- SHARMA, A.; SINGH, M.; KUMAR, P.; SHARMA, A.; NEELAM, A. M. J.; SHARMA, P. Postpartum Uterine Infections in Cows and Factors Affecting it– A Review. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences.**, v.6, n. 9, p. 1020-1028, 2017.
- SHELDON, I. M.; PRICE, S. B; CRONIN, J.; GILBERT, R. O; GADSBY, J. E. Mechanisms of infertility associated with clinical and subclinical endometritis in high producing dairy cattle. **Reproduction in Domestic Animals**, 2009.
- SHELDON, I. M. The postpartum uterus. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 20, n. 3, p. 569-591, 2004.
- SHELDON, I. M.; WILLIAMS, E. J.; MILLER, A. N.; NASH, D. M.; HERATH, S. Uterine diseases in cattle after parturition. **Veterinary Journal**, v.176, p.115-121, 2008.
- SHELDON, I. M.; CRONIN, J. G.; HEALEY, G. D.; GABLER, C.; HEUWIESER, W.; STREYL, D.; BROMFIELD, J. J.; MIYAMOTO, A.; FERGANI, C.; DOBSON, H. Innate immunity and inflammation of the bovine female reproductive tract in health and disease. **Reproduction and Fertility**, v. 148, p. R41–R51, 2014.
- SHELDON, I. M.; LEWIS, G. S.; LEBLANC, S.; GILBERT, R. O.; Defining posrpartum uterine disease in cattle. **Theriogenology**, v.65, p. 1516-1530, 2006.
- SHORT, R. E.; BELLOWS, R.A.; MOODY, E. L.; HOWLAND, B. E. Effects of suckling and mastectomy on bovine postpartum reproduction. **Journal of Animal Science**, v. 34, n. 1, p. 70-74, 1972.
- SILVEIRA, D. D.; SOUZA, F. R. P.; BRAUNER, C. C.; AYRES, D. R.; SILVEIRA, F. A.; DIONELLO, N. J.; BOLIGON, A. A. Body condition score of Nelore cows and its relation with mature size and gestation length. **Livestock Science**. 175, 10–17, 2015.
- SORDILLO, L. M.; CONTRERAS, G. A.; AITKEN, S. L. Metabolic factors affecting the inflammatory response of periparturient dairy cows. **Animal Health Research Reviews**, v. 10, p. 53-63, 2009.
- TABORDA, J. M. M.; **Desenvolvimento da Pecuária bovina no estado de Rondônia: contextualização histórica e indicadores zootécnicos**. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento Regional e Meio Ambiente) - Núcleo de Ciências Exatas de Rondônia, Fundação Universidade Federal de Rondônia, Porto Velho, 73 f, 2015.
- TAKEUCHI, O.; AKIRA, S. Pattern Recognition Receptors and Inflammation. **Cell**, v. 140, p. 805-820, 2010.
- TURNER, M. L.; HEALEY, G. D.; SHELDON, I. M. Immunity and inflammation in the uterus. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 47 p. 402-409, 2012.

WETTEMANN, R. P.; TURMAN, E. J.; WYATT, R. D.; TOTUSEK, R. Influence of suckling intensity on reproductive performance of range cows. **Journal of Animal Science**, v. 47, n. 2, p. 342-346, 1978.

WILLIAMS, E. J.; FISCHER, D. P.; PFEIFFER, D. U.; ENGLAND, G. C.; NOAKES, D. E.; DOBSON, H.; SHELDON, I. M. Clinical evaluation of postpartum vaginal mucus reflects uterine bacterial infection and the immune response in cattle. **Theriogenology**, v. 63, n. 1, p. 102-117, 2005.

WILTBANK, M. C.; GÜMEN, A.; SARTORI, R. Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. **Theriogenology**, v. 57, n. 1, p. 21-52, 2002.