

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**DOENÇAS UTERINAS EM VACAS LEITEIRAS: OCORRÊNCIA,
CARACTERÍSTICAS METABÓLICAS E REPRODUTIVAS**

Rodrigo Schallenberger Gonçalves

PORTO ALEGRE

2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**DOENÇAS UTERINAS EM VACAS LEITEIRAS: OCORRÊNCIA,
CARACTERÍSTICAS METABÓLICAS E REPRODUTIVAS**

Autor: Rodrigo Schallenberger Gonçalves

**Tese apresentada como requisito parcial para
obtenção do grau Doutor em Ciências
Veterinárias**

Orientador: Félix Hilario Diaz González

Coorientador: André Gustavo Cabrera Dalto

PORTO ALEGRE

2019

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

CIP - Catalogação na Publicação

Schallenberger Gonçalves, Rodrigo
Doenças uterinas em vacas leiteiras: ocorrência,
características metabólicas e reprodutivas / Rodrigo
Schallenberger Gonçalves. -- 2019.
81 f.

Orientador: Félix Hilario Díaz González.

Coorientador: André Gustavo Cabrera Dalto.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre, BR-RS, 2019.

1. Vaca leiteira. 2. Doenças uterinas. 3. Parâmetros metabólicos. 4. Parâmetros clínicos. 5. Taxa de concepção. I. Hilario Díaz González, Félix, orient. II. Cabrera Dalto, André Gustavo, coorient. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Rodrigo Schallenberger Gonçalves

DOENÇAS UTERINAS EM VACAS LEITEIRAS: OCORRÊNCIA,
CARACTERÍSTICAS METABÓLICAS E REPRODUTIVAS

Aprovada em 15 de março de 2019

APROVADO POR:

Prof. Dr. Félix Hilario Diaz González
Orientador e Presidente da Comissão Avaliadora

Prof. Dr. Carlos Bondan
Membro da Comissão Avaliadora

Prof. Dr. Rodrigo de Almeida
Membro da Comissão Avaliadora

Prof. Dr. Sérgio Ceroni da Silva
Membro da Comissão Avaliadora

RESUMO

As doenças uterinas em vacas leiteiras podem ser classificadas como a retenção de placenta, metrite, endometrite clínica e endometrite subclínica. A metrite consiste em uma reação inflamatória severa que envolve todas as camadas do útero com presença de corrimento vaginal fétido de coloração marrom avermelhada que pode ocorrer até três semanas pós-parto. Esse distúrbio pode ser classificado em metrite puerperal aguda que se caracteriza por apresentar sinais sistêmicos da doença e metrite clínica sem sinais sistêmicos da doença. Endometrite em vacas leiteiras tem sido definida como uma inflamação do endométrio ocorrendo 21 dias ou mais após o parto, sem sinais sistêmicos da doença. Essa doença pode ocorrer na forma clínica e na forma subclínica. As doenças uterinas pós-parto são importantes por razões de bem-estar animal e produção animal, já que elas contribuem para o desconforto e para a eliminação da vaca do rebanho. Esse estudo foi conduzido em nove propriedades leiteiras comerciais localizadas na Serra Gaúcha, Rio Grande do Sul, Brasil, de setembro de 2016 até novembro de 2017. No total, 393 vacas leiteiras imediatamente após o parto da raça holandesa (126 primíparas e 267 múltiparas) foram incluídas nesse estudo, sendo 203 animais em sistema de produção de confinamento com acesso ao pasto e 190 animais em sistema de produção de confinamento. As fazendas leiteiras tinham em média 45 vacas em lactação e eram ordenhadas duas vezes ao dia com média de produção de leite em 305 dias de 9.500 kg/vaca para o sistema condenado com acesso ao pasto e 10.700 kg/vaca para o sistema confinado. O sistema confinado com acesso ao pasto foi composto por cinco propriedades e era caracterizado pelo acesso à pastagem rotativa, enquanto o sistema de confinamento foi composto por quatro propriedades sem acesso à pastagem. Para determinar a frequência de doenças uterinas clínicas foi realizado o diagnóstico do conteúdo vaginal em todos os animais do estudo utilizando o dispositivo Metricheck, para o diagnóstico de endometrite subclínica foi realizada a citologia uterina mediante *cytobrush*. As doenças metabólicas foram diagnosticadas através da análise bioquímica do soro. Os ovários foram avaliados quanto à presença de corpo lúteo e presença de folículos, na sétima semana pós-parto 345 animais iniciaram o mesmo protocolo de inseminação artificial em tempo fixo. O estudo diagnosticou doenças uterinas, doenças metabólicas e a suas correlações e avaliou a taxa de concepção no primeiro serviço dos rebanhos. As

prevalências das doenças uterinas foram 18,3% de retenção de placenta, 32,3% de metrite, 40,1% de endometrite clínica e 37,1% de endometrite subclínica. A incidência de metrite na primeira semana pós-parto foi de 22,6%, na segunda semana pós-parto foi de 8,6% e na terceira semana pós-parto de 1%. A incidência de endometrite clínica foi de 33,7%, 5,3% e 2,5% na primeira, segunda e terceira semana pós-parto respectivamente. E a endometrite subclínica apresentou uma incidência de 22,9% e 14,2% na quarta e sexta semana pós-parto respectivamente. As taxas de concepção no primeiro serviço não se diferiram entre as vacas que apresentaram doenças uterinas quando comparadas com vacas saudáveis. Parâmetros metabólicos têm efeito mais pronunciado na retenção de placenta e na metrite no desenvolvimento de doenças uterinas. As primíparas em confinamento com acesso ao pasto tiveram índices de gestação na primeira inseminação artificial reduzidos em relação as primíparas em sistema de confinamento. Apenas a endometrite clínica causou uma tendência de pior desempenho reprodutivo. Mais estudos devem ser conduzidos para avaliar o efeito do sistema de produção na região do Rio Grande do Sul.

Palavras chave: vacas leiteiras, doenças uterinas; produção animal, parâmetros metabólicos, confinamento

ABSTRACT

Uterine diseases in dairy cows can be classified as retained placenta, metritis, clinical endometritis and subclinical endometritis. Metritis consists of a severe inflammatory reaction that involves all the layers of the uterus with presence of fetid vaginal discharge of reddish-brown color that can occur until three weeks postpartum. This disorder may be classified into acute puerperal metritis characterized by systemic signs of disease and clinical metritis without systemic signs of the disease. Endometritis in dairy cows has been defined as an inflammation of the endometrium occurring 21 days or more postpartum, with no systemic signs of the disease. This disease may occur clinically and sub clinically. Postpartum uterine diseases are important for animal welfare and animal production reasons, as they contribute to the discomfort and elimination of the cow from the herd. This study was conducted in nine commercial dairy farms located in the Serra Gaúcha, Rio Grande do Sul, Brazil, from September 2016 to November 2017. A total of 393 Holstein dairy cows immediately after calving (126 primiparous and 267 multiparous) were included in this study, 203 animals in a confinement (free-stall) production system with access to pasture and 190 animals in confinement (free-stall) production system. Dairy farms had on average 45 lactating cows and were milked twice daily with average milk yield in 305 days of 9,500 kg / cow for the condemned system with access to pasture and 10,700 kg / cow for the confined system. The confined pasture access system consisted of five properties and was characterized by access to rotational pasture, while the confinement system consisted of four properties without pasture access. To determine the frequency of clinical uterine diseases, the diagnosis of vaginal contents was performed in all animals of the study using the Metricheck device, for the diagnosis of subclinical endometritis uterine cytology was performed using cytobrush. Metabolic diseases were diagnosed through biochemical analysis of serum. The ovaries were evaluated for the presence of corpus luteum and presence of follicles. At the seventh week postpartum 345 animals started the same artificial insemination fixed time protocol. The study diagnosed uterine diseases, metabolic diseases and their correlations and evaluated the conception rate in the first service of the herds. The prevalence of uterine diseases was 18.3% of retained placenta, 32.3% of metritis, 40.1% of clinical endometritis and 37.1% of subclinical endometritis. The incidence of metritis in the first week postpartum

was 22.6%, in the second week postpartum was 8.6% and in the third week postpartum 1%. The incidence of clinical endometritis was 33.7%, 5.3% and 2.5% in the first, second and third postpartum weeks, respectively. And subclinical endometritis presented an incidence of 22.9% and 14.2% in the fourth and sixth postpartum weeks, respectively. Design rates in the first service were not different among cows that had uterine diseases when compared to healthy cows. Metabolic parameters have a more pronounced effect on placental retention and metritis in the development of uterine diseases. primiparous with access to pasture had conception rates at the first artificial insemination reduced compared to the primiparous in the confinement system. Only clinical endometritis caused a trend of poor reproductive performance. Further studies should be conducted to evaluate the effect of the production system in the region of Rio Grande do Sul.

Keywords: dairy cows, uterine diseases, animal production, metabolic parameters, free-stall

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** – Prevalência das doenças uterinas de vacas da raça Holandesa alojadas em fazendas da serra do Rio Grande do Sul, Brasil. 29
- Figura 2** – Ocorrência de partos distócicos em sistemas de produção em confinamento ou confinamento com acesso ao pasto e sua correlação com a ordem de parto (primípara ou múltipara) de vacas da raça Holandesa alojadas em fazendas da serra do Rio Grande do Sul, Brasil. 30
- Figura 3** – Ocorrência de doenças uterinas clínicas em sistemas de produção de confinamento e confinamento com acesso ao pasto ao longo das seis semanas pós-parto de vacas da raça Holandesa alojadas em propriedades da serra do Rio Grande do Sul, Brasil. 31
- Figura 4** – Ocorrência de endometrite subclínica nos sistemas de produção de confinamento e confinamento com acesso ao pasto na quarta e sexta semana pós-parto em vacas da raça Holandesa alojadas em fazendas da região da serra do Rio Grande do Sul, Brasil. 31
- Figura 5** – Ocorrência de descarte e mortalidade em vacas da raça Holandesa alojadas em fazendas da serra do Rio Grande do Sul, Brasil, quanto à ordem de partos (primípara ou múltipara) ao longo das seis primeiras semanas pós-parto. 32
- Figura 6** – Proporção de doenças clínicas (mastite clínica, metrite puerperal, doenças locomotoras, deslocamento de abomaso, cetose clínica e outras enfermidades) ao longo das seis semanas pós-parto em animais da raça Holandesa criados em fazendas da serra do Rio Grande do Sul. 33
- Figura 7** – Taxa de concepção de vacas da raça Holandesa quanto à ordem de parto (primíparas e múltiparas) de todos os animais do estudo (geral) e em sistemas de produção de confinamento e confinamento com acesso ao em propriedades da serra do Rio Grande do Sul, Brasil. 35
- Figura 8** – Diferenças entre as médias da concentração do beta-hidroxibutirato (BHB) no soro nas duas semanas pós-parto em vacas da raça Holandesa alojadas em fazendas da serra do Rio Grande do Sul, Brasil, quando comparado vacas com retenção de placenta e saudáveis. 39
- Figura 9** – Diferenças entre a concentração do cálcio total no soro nas duas semanas pós-parto em vacas da raça Holandesa alojadas em fazendas da serra do Rio

Grande do Sul, Brasil, quando comparado vacas com retenção de placenta e saudáveis.
..... 39

Figura 10 – Diferenças entre o escore de condição corporal do parto até a sexta semana pós-parto em vacas da raça Holandesa alojadas em fazendas da serra do Rio Grande do Sul, Brasil, quando comparado vacas com doenças uterinas e saudáveis. 40

Figura 11 – Diferenças entre a temperatura retal nas seis semanas pós-parto em vacas da raça Holandesa alojadas em fazendas da serra do Rio Grande do Sul, Brasil, quando comparado vacas com doenças uterinas e saudáveis..... 40

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Incidência das doenças uterinas ao longo das semanas após o parto de vacas da raça Holandesa alojadas em fazendas da serra do Rio Grande do Sul, Brasil.. 30
- Tabela 2** – Comparação entre o número de animais descartados e mortalidade entre primíparas e múltiparas de vacas da raça Holandesa alojadas em fazendas da região da serra do Rio Grande do Sul, Brasil..... 32
- Tabela 3** – Distribuição de mastite clínica, deslocamento de abomaso, metrite puerperal, cetose clínica, doenças locomotoras no decorrer das seis semanas pós-parto em vacas da raça Holandesa alojadas em propriedades localizadas na região da serra do Rio Grande do Sul, Brasil. 33
- Tabela 4** – Comparação da taxa de concepção (Tx. C.) no primeiro serviço realizado aos 50 ± 7 dias em leite mediante inseminação artificial em tempo fixo de vacas da raça Holandesa alojadas em propriedades da serra do Rio Grande do Sul, Brasil, em relação a ordem de parto (primípara ou múltipara), sistema de produção, doenças uterinas, número de usos do implante intravaginal de progesterona (1º ou 2º uso), limiares de escore de condição corporal (ECC), época do ano (inverno ou verão), limiares de beta-hidroxitirato (BHB) e limiares de cálcio..... 34
- Tabela 5** – Associação entre retenção de placenta, temperatura retal, parâmetros bioquímicos (beta-hidroxitirato (BHB), colesterol e cálcio), e escore de condição corporal (ECC) nas vacas da raça Holandesa localizadas em fazendas da região da serra do Rio Grande do Sul, Brasil. 36
- Tabela 6** – Associação entre metrite e endometrites com a temperatura retal, parâmetros bioquímicos (beta-hidroxitirato (BHB), colesterol e cálcio), e escore de condição corporal (ECC) nas vacas da raça Holandesa localizadas em fazendas da região da serra do Rio Grande do Sul, Brasil..... 37
- Tabela 7** – Associação entre temperatura ambiente com tipo de parto, doenças uterinas, escore de condição corporal (ECC) ao parto, taxa de concepção e temperatura retal de vacas da raça Holandesa de fazendas da região da serra do Rio Grande do Sul, Brasil. 38
- Tabela 8** – Correlação do cálcio, colesterol e escore da condição corporal (ECC) do parto até a 3ª semana pós-parto com a paridade (primípara ou múltipara) de vacas da

raça Holandesa alojadas em propriedades na região da serra do Rio Grande do Sul, Brasil.
..... 38

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1	Metrites	18
2.2	Endometrites	19
2.3	Bem-estar animal e sistemas de produção	22
3	MATERIAIS E MÉTODOS	24
3.1	Manejo e animais	24
3.2	Definições de doenças	25
3.3	Protocolo de inseminação artificial em tempo fixo	26
3.4	Diagnóstico de gestação e mapa do ovário	26
3.5	Determinação dos parâmetros metabólicos	27
3.6	Análise estatística	27
4	RESULTADOS	29
5	DISCUSSÃO	41
5.1	Doenças uterinas	41
5.2	Indicadores bioquímicos e doenças metabólicas subclínicas	46
5.3	Temperatura retal e doenças clínicas	51
5.4	Taxa de concepção	52
5.5	Mortalidade e descarte	56
5.6	Bem-estar animal	57
6	CONCLUSÃO	60
	REFERÊNCIAS	61

1 INTRODUÇÃO

Vacas em boas condições de manejo produzem mais leite, apresentam melhores índices reprodutivos, adoecem menos e, desta forma, ficam mais tempo no rebanho. Por outro lado, animais estressados apresentam menor imunidade, são de difícil manejo, tendem a consumir menos alimentos, nos quais todos esses fatores acabam interferindo na produtividade e, em consequência, na sua longevidade dentro do sistema (LEBLANC et al., 2006; WILLIAMS, 2013; INGVARTSEN e MOYES, 2015).

As doenças uterinas afetam um grande número de animais no período pós-parto, causando perdas na produção, reprodução e na saúde animal. As principais doenças uterinas são retenção de placenta, metrites e endometrites. Estes distúrbios são altamente prevalentes em vacas leiteiras de alta produção (SHELDON et al., 2006). Entretanto, os dados de ocorrência de doenças uterinas no estado do Rio Grande do Sul são escassos, assim como a relação com parâmetros metabólicos nos animais e as suas consequências no sistema produtivo.

Comparar os sistemas produtivos com acesso ao pasto e confinado sempre foram alvos de inúmeras discussões sobre bem-estar animal (FRASER e MATTHEWS, 1997; CHILIBROSTE, et al., 2007; OLMOS et al., 2009; BOND et al., 2012; NASCIMENTO et al., 2013). Estudos relativos a esse tema são escassos e geralmente são comparações entre regiões e momentos diferentes ou entre sistemas que não são utilizados na nossa região.

Os objetivos desse estudo são: (1) determinar a ocorrência de retenção de placenta, metrite, endometrite clínica e endometrite subclínica em fazendas do Rio Grande do Sul mediante uso do *Metricheck* e *cytobrush*. (2) Determinar parâmetros metabólicos de vacas com diferentes graus de metrite e endometrite. (3) Comparar a taxa de concepção de animais saudáveis em relação aos animais que apresentaram doenças uterinas. (4) Comparar sistemas de produção de animais em confinamento com animais em confinamento com acesso ao pasto em relação aos parâmetros estudados.

2 REVISÃO DE LITERATURA

O período de transição pode ser definido como o intervalo que compreende as três semanas pré-parto e as três semanas pós-parto de uma vaca leiteira. Até recentemente, manejar e alimentar vacas no período de transição não era uma grande prioridade para as propriedades leiteiras. Entretanto, hoje se reconhece que a vaca passa por dramáticas alterações metabólicas e fisiológicas nesse período, em que se prepara para o parto e a futura lactação (GRUMMER, 1995). Pursley (1999) afirmou que desordens uterinas como retenção de placenta ou metrites têm impacto em futuros desempenhos reprodutivos. Igualmente manter a saúde e a produtividade no período de transição é uma das tarefas mais difíceis para os rebanhos leiteiros. Aproximadamente 75% das doenças em vacas leiteiras geralmente ocorrem no primeiro mês após o parto (LEBLANC et al., 2006). Por isso, durante o período pós-parto inicial, as vacas leiteiras podem experimentar vários distúrbios infecciosos e metabólicos (SEEGERS et al., 2003; DUFFIELD et al., 2009; DUBUC et al., 2010a) que são onerosos para o produtor e comprometem o bem-estar dos animais (FETROW et al., 2000; DUBUC et al., 2011).

As doenças uterinas em vacas leiteiras podem ser classificadas como retenção de placenta, metrite puerperal, metrite clínica, endometrite clínica e endometrite subclínica. Conforme a classificação de Sheldon et al. (2006), as três primeiras ocorrem até os 21 dias pós-parto enquanto a endometrite clínica é classificada em vários graus (0, 1, 2, 3) após 21 dias de pós-parto e a endometrite subclínica é diagnosticada conforme a contagem de neutrófilos da secreção uterina. Estas doenças são altamente prevalentes em vacas leiteiras de alta produção e têm sido associadas com diminuição da taxa de gestação, com intervalo prolongado até o estabelecimento da prenhez, com aumento da taxa de descarte e com elevadas perdas econômicas (BARTLETT et al., 1986; SHELDON e DOBSON, 2004; GILBERT et al., 2005). Além disso, em estudo realizado no Canadá e Estados Unidos, a incidência de distocia, parto gemelares, retenção de placenta, metrite, endometrite clínica e endometrite subclínica foram de 9,2%, 8,9%, 11,8%, 17,6%, 14,6%, e 18,7%, respectivamente. Entre vacas com retenção de placenta, 33,2% desenvolveram metrite; entre vacas com metrite, 32,5 e 31,8% desenvolveram, endometrite clínica e endometrite subclínica respectivamente (DUBUC et al., 2010b).

Normalmente, a expulsão das membranas fetais ocorre no prazo de 8 horas após o parto. Retenção de placenta é definida como a incapacidade de expelir membranas fetais dentro de 24 horas após o parto (KELTON et al., 1998). A retenção de placenta é uma doença economicamente importante que afeta cerca de 7,8% (variação: 1,3-39,2%) de vacas leiteiras nos Estados Unidos (KELTON et al., 1998; USDA, 2007). Adicionalmente, doenças como a hipocalcemia subclínica, cetose subclínica, lipidose hepática, retenção de placenta, metrite e deslocamento do abomaso, não devem ser consideradas de modo isolado, tendo em conta que todas têm uma etiologia inter-relacionada (MULLIGAN et al., 2008). Estudos sobre o efeito da ingestão de matéria seca têm correlacionado os indicadores de balanço energético (ácidos graxos não esterificados e beta-hidroxibutirato), haptoglobina, função dos neutrófilos e cálcio sanguíneo com as doenças uterinas (HAMMON et al., 2006; HUZZEY et al., 2007; DUFFIELD et al., 2009; DUBUC et al., 2010b; GALVÃO et al., 2010; OSPINA et al., 2010; MARTINEZ et al., 2012). Assim o baixo consumo de matéria seca tem sido reconhecido como um importante fator de risco para o desenvolvimento da doença uterina (HAMMON et al., 2006; HUZZEY et al., 2007). Esta diminuição no consumo de matéria seca foi acompanhada por um aumento de ácidos graxos não esterificados (NEFA) e beta-hidroxibutirato (BHB) no sangue, indicando um balanço energético negativo mais intenso e imunossupressão nessas vacas (HAMMON et al., 2006; GALVÃO et al., 2010).

O cálcio encontra-se no sangue ligado a proteínas (40-45%), e também sob a forma de complexos aniônicos de cálcio (5-10%) como o fosfato de cálcio, e o citrato de cálcio, e sob a sua forma ativa de íon cálcio livre (45-50%). A forma ionizada livre é a fração mais importante fisiologicamente, no entanto quando é feita a pesquisa de cálcio sanguíneo esta fração muitas vezes não é avaliada (NEWTON e NUNAMAKER, 1985). A hipocalcemia tem sido consistentemente associada com retenção de placenta (CURTIS et al., 1983; CURTIS et al., 1985; CORREA et al., 1993, MARTINEZ et al., 2012), e, em alguns estudos, com metrite (GRÖHN et al., 1990). Adicionalmente, vacas diagnosticadas com hipocalcemia clínica têm 3,2 vezes mais probabilidade de ter retenção de placenta do que as vacas que não têm hipocalcemia clínica (CURTIS et al., 1983). Whiteford e Sheldon (2005) também verificaram que a hipocalcemia estava associada à ocorrência de doença uterina em vacas leiteiras. O cálcio é um mediador importante em diversos processos celulares, incluindo a ativação de células imunitárias, dessa forma, as

vacas que desenvolveram metrite tinham diminuído as concentrações de cálcio nas primeiras duas semanas após o parto, e a menor concentração de cálcio foi associada à diminuição da função dos neutrófilos (MARTINEZ et al., 2012).

Como a maioria das doenças metabólicas e infecciosas em vacas leiteiras acontecem nas primeiras quatro semanas após o parto (LEBLANC et al., 2006), em consequência do balanço energético negativo, aumento nos níveis de NEFA e BHB na corrente sanguínea, ocorrem juntamente com uma queda nos níveis de glicemia e da insulina (BUTLER, 2004). Porém, vacas que parem em baixa condição corporal podem ser mais propensas às doenças infecciosas e a terem baixa eficiência reprodutiva e redução na produção, entretanto vacas que parem com alta condição corporal são mais afetadas por doenças metabólicas. O balanço energético negativo é difícil de avaliar em condições de campo, mas algumas medidas indiretas foram testadas (CLARK et al., 2005). Entre elas, o escore de condição corporal (ECC) é considerado um estimador de balanço energético negativo eficaz (ZAHRAZADEH et al., 2018). Portanto o monitoramento do escore de condição corporal de vacas leiteiras pode melhorar a produção de leite, a saúde, o desempenho reprodutivo do rebanho e a rentabilidade global da fazenda (BEWLEY e SCHUTZ, 2008). Além disso, Edmonson et al. (1989) verificaram que as vacas com condição corporal elevada ($> 4,0$) são mais propensas à CS, devido ao fato de terem menor consumo logo após o parto e mobilizarem mais reservas corporais. Segundo Ferguson et al. (1994), tanto as vacas muito gordas como as muito magras correm o risco de terem problemas metabólicos e doenças, redução na produção de leite e na taxa de concepção e dificuldade em parir. Santos (1996), avaliando o efeito da condição corporal ao parto observou que as vacas mais gordas perderam mais condição corporal e tinham níveis de BHB mais altos.

Os dois parâmetros metabólicos séricos mais utilizados como ferramentas clínicas para medir o status nutricional e a adaptação ao balanço energético negativo de vacas leiteiras durante o período periparto são os NEFA e o BHB (CHUNG et al., 2008). Certamente a forma mais eficiente de medir os corpos cetônicos é nos fluidos corporais, tais como sangue, leite e urina (DUFFIELD, 2000). O aumento das concentrações de corpos cetônicos é um dos fatores mais comuns no desenvolvimento de doenças típicas do periparto em vacas de alta produção de leite, sendo responsáveis por causar perdas de

produção, comprometer o desempenho reprodutivo, bem como aumentar o risco de doenças uterinas (VOYVODA e ERDOGAN, 2010).

O colesterol constitui o lipídeo de maior composição nas membranas celulares, sendo suas principais funções servir de precursor de hormônios esteroides, ácidos biliares e vitamina D (KANEKO et al., 2008). Os níveis plasmáticos de colesterol são considerados indicadores adequados do total de lipídeos no plasma, pois representam em torno de 30% dessa concentração lipídica no sangue (GONZÁLEZ e SILVA, 2006) e a concentração sérica do colesterol é um bom indicador da concentração global de lipoproteínas (RAPHAEL et al., 1973). Aproximadamente três semanas antes do parto até uma semana antes do parto as vacas encontram-se fisiologicamente em hipercolesterolemia (GONZÁLEZ e SILVA, 2006), havendo uma queda nas concentrações de colesterol próximo ao parto, mas os níveis devem voltar ao nível basal após a 1ª semana de lactação. ARAVE et al. (1975) verificaram aumento nas concentrações plasmáticas de colesterol nas vacas em relação às novilhas, do início para o meio da lactação, com decréscimo no final. Park et al. (1983), Delazari (1996) e Lammoglia et al. (1996), trabalhando com bovinos, encontraram relação direta entre concentração de colesterol plasmático e número de dias pós-parto, ou seja, a concentração plasmática de colesterol aumenta conforme aumentam os dias em leite. Ademais, Ruegg et al. (1992) encontraram 98,7 e 386,3 mg/dL de colesterol plasmático, em amostras nos dias 4 e 87 pós-parto, respectivamente. Este aumento foi diretamente relacionado ao aumento da produção de leite, e a concentração de colesterol foi inversamente correlacionada com o escore da condição corporal. Por fim, Kaneene et al. (1997) constataram que a baixa concentração plasmática de colesterol no pré-parto foi associada com a incidência de retenção de placenta, e conseqüentemente ao risco de metrite e outras doenças uterinas.

A enzima aspartato transaminase (AST) é utilizada como indicador de lesão hepática, por isso, no período periparto pode ser utilizada como uma ferramenta para o diagnóstico e a prevenção de doenças metabólicas. Quando o nível desta enzima é elevado, há uma maior tendência de ocorrer problemas como retenção de placenta, hipocalcemia, entre outros. Aspartato transaminase pode ser associada com outros metabólitos, como a albumina e o colesterol, para verificar transtornos na função hepática (GONZÁLEZ e SILVA, 2006). Além disso, a atividade da AST é aumentada na lesão

hepática, tanto na forma aguda como na forma crônica em todas as espécies domésticas, (KANEKO et al., 2008). Em casos de lipidose hepática o aumento da AST pode auxiliar no diagnóstico, associando-se com o resultado de outros metabólitos como a elevação dos NEFA e BHB e a diminuição da albumina (QUIROZ-ROCHA et al., 2010). Por consequência, quando ocorre a perda de peso progressiva e significativa no pós-parto, isso resulta em intensa mobilização da gordura corporal, que pode terminar em lipidose hepática (GRUMMER, 1993; DRACKLEY, 1999).

Os animais de produção mantêm relativamente constante a sua temperatura corporal, mesmo perante grandes alterações térmicas ambientais. Este estado de homeotermia é mantido através de um equilíbrio entre a perda e o ganho de energia existente nos animais de alta produção. A febre traduz-se por uma elevação da temperatura corporal acima do normal, associada a uma reação infecciosa, inflamatória ou traumática (RADOSTITIS et al., 2007). Melendez e Risco (2005) salientam que um dos parâmetros mais usados para identificar anormalidades relacionadas com o parto é a temperatura corporal, sendo a febre um sinal comum ao exame clínico na maioria das doenças infecciosas no período que precede ao parto. Sheldon et al. (2004) relatam que em 45% de vacas se observam temperaturas superiores a 39,4°C, nos primeiros 10 dias após o parto. As primeiras manifestações de febre verificam-se entre o 2º e o 3º dia, após o parto e mantém-se até ao 6º dia. Mais da metade dos animais, identificados com febre, apresentavam infecções uterinas. Por outro lado, estudos registraram que o aumento da temperatura retal em dois dias consecutivos, antes do diagnóstico de metrite, pode servir como fator preditivo da doença, para vacas que subsequentemente desenvolvem febre no dia em que a metrite é diagnosticada (BENZAQUEN et al., 2007).

2.1 Metrites

A metrite afeta cerca de 20% das vacas em lactação, com uma incidência variando de 8% a 40% em algumas fazendas (CURTIS et al., 1985; GOSHEN e SHPIGEL, 2006; HAMMON et al., 2006; HUZZEY et al., 2007; GALVÃO et al., 2009). Ela consiste em uma reação inflamatória severa que envolve todas as camadas do útero: endométrio, submucosa, muscular e serosa (BONDURANT, 1999). Dessa maneira, ela pode ser classificada em metrite puerperal aguda e metrite clínica (SHELDON et al., 2006).

A metrite puerperal aguda é caracterizada por um útero anormalmente aumentado, descarga uterina vermelho-acastanhado aquosa fétida associada a sinais de doença sistêmica e febre ($> 39,4^{\circ}\text{C}$) até os primeiros 21 dias pós-parto (SHELDON et al., 2006). É uma doença comum de vacas leiteiras e está associada com significativas perdas econômicas por causa da diminuição da produção de leite, desempenho reprodutivo mais reduzido e maior risco de descarte (LEBLANC et al., 2002; OVERTON e FETROW, 2008; WITTROCK et al., 2011). As vacas apresentando um útero aumentado e uma descarga uterina fétida no prazo de 21 dias pós-parto, porém sem sinais sistêmicos, podem ser classificadas como tendo metrite clínica (SHELDON et al., 2006). Assim sendo, vacas diagnosticadas com metrite (puerperal ou clínica) devem ser avaliadas para doenças metabólicas ou infecciosas concomitantes (cetose, abomaso deslocado, mastite, pneumonia, etc.) uma vez que estas doenças estão associadas (CURTIS et al., 1985).

Os animais que apresentam metrite têm uma concentração plasmática de NEFA e BHB aumentada, concentração reduzida de glicose e maior balanço energético negativo (GALVÃO et al., 2010). Também apresentam menor concentração de cálcio, molibdênio, fósforo, selênio e zinco quando comparadas com animais saudáveis (BICALHO et al., 2014). Adicionalmente a hipocalcemia subclínica aumenta o risco dos animais de desenvolverem metrite puerperal aguda e metrite clínica (MARTINEZ et al., 2012).

2.2 Endometrites

A endometrite pós-parto em vacas leiteiras tem sido definida como uma inflamação do endométrio ocorrendo 21 dias ou mais após o parto, sem sinais sistêmicos da doença (Sheldon et al., 2006). Entre os fatores clínicos de risco mais comuns para endometrite estão problemas no parto (distocia, retenção de placenta e natimortos) e metrite (GHANEM et al., 2002; LEBLANC et al., 2002; DUBUC et al., 2010; GAUTAM et al., 2010; POTTER et al., 2010). Essa doença pode ocorrer na forma clínica e na forma subclínica (citológica) (SHELDON et al., 2006).

A endometrite clínica é definida pelo aumento $\geq 7,5$ cm do diâmetro do colo uterino por ultrassonografia transretal 21 dias ou mais após o parto ou pela presença de corrimento vaginal mucopurulento ou purulento por vaginoscopia após 26 dias do parto (LEBLANC et al., 2002). Além disso, presença de descarga purulenta uterina ($> 50\%$ de

pus) pode ser detectável na vagina 21 dias ou mais após o parto, e a descarga mucopurulenta (aproximadamente 50% de pus, 50% muco) detectável na vagina 26 dias ou mais após o parto (SHELDON et al., 2006). A prevalência de endometrite clínica varia de 5 a mais de 30% em alguns rebanhos (LEBLANC et al., 2002; MEJÍA e LACAU-MENGIDO, 2005; MCDUGALL et al., 2007; GIULIODORI et al., 2013). Portanto, a classificação do muco vaginal varia do escore 0 até o escore 3, conforme a seguir: escore 0 = muco cristalino translúcido; escore 1 = muco translúcido com alguns pontos ou flocos de pus; escore 2 = corrimento mucopurulento ou quase branco com menos de 50% de pus; escore 3 = exsudato com 50% ou mais de material purulento branco a amarelado que ocasionalmente pode ser sanguinolento (WILLIAMS et al., 2005). Para diagnosticar a endometrite clínica, o dispositivo Metricheck (Simcrotech, Hamilton, Nova Zelândia) é o método mais confiável em vacas quando comparado à vaginoscopia ou ao método da mão enluvada. As vacas com escores de corrimento vaginal de 2 e 3 têm menor desempenho reprodutivo em comparação com vacas saudáveis (PLETICHA et al., 2009). Acrescenta-se também que os animais com maior concentração de NEFA e BHB antes e/ou depois do parto têm maior risco de desenvolver endometrite clínica quando comparados com animais saudáveis (GIULIODORI et al., 2013). Vacas diagnosticadas com endometrite têm menor concentração sérica de cálcio, cobre, molibdênio e zinco (BICALHO et al., 2014).

Por sua vez, a endometrite citológica é definida pelo aumento da proporção de células polimorfonucleares (PMN) em amostras de citologia endometriais obtidas por *cytobrush* endometrial (KASIMANICKAM et al., 2004) ou de baixo volume de lavagem uterina (GILBERT et al., 2005) ou por histologia a partir de amostras de biopsia (BONNETT et al., 1993). Certamente, a citologia uterina com *cytobrush* é o método mais confiável para diagnosticar endometrite em bovinos, em comparação aos métodos de vaginoscopia, ultrassonografia do volume do líquido uterino, ultrassonografia da espessura do útero e citologia por lavagem uterina (BARLUND et al., 2008). Para o diagnóstico da endometrite subclínica as amostras de citologia uterina com contagem maior que 18% de neutrófilos coletadas entre 21 a 33 dias pós-parto, ou maior que 10% de neutrófilos em amostras coletadas entre 34 a 47 dias são consideradas positivas (SHELDON et al., 2006). Os polimorfonucleados são o principal tipo de leucócitos envolvidos na depuração bacteriana após a infecção uterina (HUSSAIN, 1989; GILBERT

et al, 2007), além disso, as vacas que desenvolvem doença uterina têm diminuições pronunciadas na ingestão de matéria seca e aumento nos níveis de NEFA e BHB (KIM et al., 2005; HAMMON et al., 2006). Adicionalmente, a prevalência relatada de endometrite subclínica varia de 12% (BARLUND et al., 2008) a mais de 50% (GILBERT et al., 2005; HAMMON et al., 2006; GALVÃO et al., 2009). Assim sendo, as vacas com hipocalcemia subclínica têm aumento da incidência de metrite e endometrite em comparação com vacas normocalcêmicas (MARTINEZ et al., 2012; BICALHO et al., 2014). Além disso, uma associação entre um balanço energético negativo mais acentuado e a diminuição da resposta imune em vacas que desenvolveram doença uterina, em comparação com vacas saudáveis, tem sido relatada (CAI et al., 1994; KIMURA et al., 1999; HAMMON et al., 2006; GALVÃO et al., 2010).

Nesse sentido, uma parte dos eventos de descarte e mortalidade nas fazendas leiteiras pode ser atribuída a fatores indesejáveis no sistema de produção. Essas causas variam dependendo da idade, número de partos e estágio da lactação da vaca leiteira (SEEGERS et al., 1998; RAJALA-SCHULTZ, GROHN, 1999). Assim, o descarte, a mortalidade e venda são eventos comuns em sistemas intensivos de produção de leite. Em qualquer sistema de produção, a receita agrícola líquida é afetada pela receita e pelos custos. A venda de leite é o fator mais importante para a renda em fazendas leiteiras e a criação e a compra de animais de reposição são custos importantes para a fazenda (COMPTON et al., 2017).

A mortalidade da vaca leiteira é um problema crescente e tem um efeito significativo na propriedade. Ela pode causar perdas econômicas devido à diminuição na produção de leite da fazenda, perda de receitas de venda de animais, custo do tratamento durante o período da doença antes da morte, aumento dos custos de reposição, mão de obra extra e o custo da eliminação dos animais mortos (THOMSEN et al., 2006). Além disso, um aumento da mortalidade do rebanho indica que a saúde e o bem-estar estão comprometidos (THOMSEN e HOUE, 2006). Portanto, a taxa de descarte e mortalidade são variáveis importantes no rebanho e devem ser incluídas em protocolos de avaliação do bem-estar em vacas leiteiras (EFSA, 2012).

Os métodos mais comuns para o tratamento de são os intrauterinos (LEBLANC et al., 2002; KASIMANICKAM et al., 2005; GOSHEN e SHPIGEL 2006) que melhoram

a fertilidade do animal (GOSHEN e SHPIGEL, 2006) e os sistêmicos, que melhoram os sinais clínicos da doença (CHENAULT et al., 2004).

2.3 Bem-estar animal e sistemas de produção

Atualmente tem-se notado grande preocupação da sociedade em relação ao bem-estar animal que reflete na escolha dos alimentos, ou seja, a tendência é que o mercado consumidor procure cada vez mais produtos que sejam provenientes de sistemas de produção que respeitem os padrões de bem-estar animal (NASCIMENTO et al., 2013). Conseqüentemente, sistemas de produção de leite à base de pasto ganharam interesse durante a última década devido às suas vantagens econômicas, ambientais e de bem-estar animal (CHILIBROSTE, et al., 2007). O acesso ao pasto é um fator importante para o comportamento e o bem-estar dos bovinos leiteiros (BOND et al., 2012). Em adição, Regula et al. (2004) testaram o efeito de diferentes sistemas de produção sobre o bem-estar e a saúde das vacas e os autores concluíram que o acesso às áreas externas tem efeitos positivos sobre o bem-estar de vacas confinadas. Além disso, estudos como o de Legrand et al. (2009), indicam que a preferência dos animais pelo pasto ou pelo confinamento pode estar condicionada a vários fatores, como o período do dia e fatores ambientais. Esses pesquisadores encorajam futuros trabalhos que considerem fatores adicionais como a qualidade das instalações internas e externas, bem como a experiência prévia dos animais em diferentes ambientes. Apesar da preferência variar entre confinamento e ar livre ao longo do dia, a liberdade de escolha do animal constitui um aspecto positivo para seu bem-estar (FRASER e MATTHEWS, 1997).

Na serra gaúcha, o sistema de confinamento com acesso ao pasto é difundido. Nesse sistema, os animais permanecem confinados a maior parte do tempo, porém são soltos no pasto em determinadas horas do dia. Tal prática pode representar uma importante vantagem em termos de bem-estar animal, como a manutenção da saúde do casco (OLMOS et al., 2009) e a possibilidade do animal exercer comportamentos como o pastejo e interações sociais com outros membros do rebanho (HEMSWORTH et al., 1995). Além disso, um estudo demonstra que o acesso ao pasto durante o período noturno não representa prejuízos na produção ou ingestão de matéria seca (CHAPINAL et al., 2010).

Sob o mesmo ponto de vista, a disponibilidade de área e o clima no território nacional tornam viável a criação de animais a pasto. Tal sistema, por apresentar menor restrição comportamental, está potencialmente relacionado a vantagens para o bem-estar animal, desde que sejam utilizadas práticas de manejo e controle sanitário adequadas. O equilíbrio final entre desafios e vantagens para na pecuária leiteira nacional, que compõe, em última instância, a qualidade de vida dos animais, ainda é desconhecido pela escassez de publicações nesta área no Brasil (BOND, et al., 2012).

Assim sendo, as doenças uterinas no pós-parto, como metrite, endometrite e retenção de placenta, são importantes por razões de bem-estar animal, já que elas contribuem para o desconforto da vaca e a eliminação do rebanho, estando associadas com desempenho reprodutivo afetado, produção de leite reduzida e despesas com tratamento, uma vez que metrite e endometrite são comumente associadas com infecção bacteriana (BICALHO et al., 2012). Acredita-se que vacas em condições de pastejo são menos estressadas do ponto de vista metabólico, devido à menor produção de leite em comparação com as vacas criadas em sistemas intensivos de alta produção. Assim, vacas menos estressadas podem diminuir a carga bacteriana uterina mais eficientemente do que as vacas mais estressadas (MADOZ et al., 2013). Desse modo, o acesso ao pasto pode proporcionar certos benefícios para o bem-estar, pois vacas que têm acesso a um ambiente mais natural, podem realizar comportamentos que podem ser favoráveis para elas (KROHN, 1994) e por sua vez as vacas em pastagem apresentam menor incidência de doenças como mastite, metrite (WASHBURN et al., 2002) e claudicação (HERNANDEZ-MENDO et al., 2007).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Manejo e animais

Este estudo foi realizado de acordo com os princípios éticos na experimentação animal, aprovado pela Comissão de Ética na Utilização de Animais da Universidade Federal do Rio Grande do Sul sob o número de protocolo 29966/2016 do CEUA/UFRGS.

O estudo observacional foi conduzido em nove propriedades leiteiras comerciais localizadas na região da serra Gaúcha, Rio Grande do Sul, Brasil, de setembro de 2016 até novembro de 2017. No total, 393 vacas leiteiras imediatamente após o parto da raça holandesa (126 primíparas e 267 múltíparas) foram incluídas nesse estudo, sendo 203 animais em sistema de produção de confinado com acesso ao pasto e 190 animais em sistema de produção de confinamento. As fazendas leiteiras tinham em média 45 vacas em lactação e eram ordenhadas duas vezes ao dia com média de produção de leite em 305 dias de 9.500 kg/vaca para o sistema confinado com acesso ao pasto e 10.700 kg/vaca para o sistema confinado. A dieta total para as vacas pós-parto foi calculada para atender ou exceder os requisitos de vacas leiteiras de acordo com as diretrizes estabelecidas pelo NRC (2001). Semanalmente até a sexta semana pós-parto, todas as vacas foram classificadas para escore de condição corporal (EDMONSON et al., 1989) e a temperatura retal (TR) foi registrada. Foram excluídos do estudo animais que tiveram duração de gestação menor que 265 dias e que foi realizada cesariana ou qualquer outro procedimento cirúrgico no momento do parto.

O sistema de confinamento com acesso ao pasto foi composto por cinco propriedades e era caracterizado pelo acesso a pastagem rotativa à base de aveia e azevém (no período entre maio a novembro) e tifton 85, capim Sudão e milho (no período de dezembro a abril), em torno de seis horas por dia, com disponibilidade de água *ad libitum*. Nas 18 horas restantes as vacas eram alojadas no *free-stall* com disponibilidade de alimento (ração totalmente misturada) e água ou estavam sendo ordenhadas. No sistema confinado, composto por quatro propriedades, as vacas tinham acesso à água e comida *ad libitum* e a ração era totalmente misturada.

Um total de quatro veterinários estiveram envolvidos neste estudo. Para padronizar a comunicação de procedimentos clínicos e achados, todos os veterinários

participantes receberam instruções padrão, material e documentação no início do estudo. Várias validações de procedimentos e classificação de resultados foram realizadas ao longo do estudo. Todos os rebanhos participantes estavam dentro de um raio de 60 km e, portanto, compartilhavam de condições climáticas semelhantes.

3.2 Definições de doenças

A natimortalidade foi definida como bezerro morto no nascimento. A distocia foi definida como parto que exigia assistência dos produtores da fazenda ou dos médicos veterinários responsáveis. Retenção de placenta (RP) foi definida como vacas que não conseguiram liberar as membranas fetais dentro de 24 horas após o parto (KELTON et al., 1998).

Para determinar a frequência de doenças uterinas foi realizado o diagnóstico do conteúdo vaginal em todos os animais do estudo utilizando o dispositivo Metrichack na 1^a, 2^a e 3^a semanas após o parto para o diagnóstico de metrite (puerperal e/ou clínica) e na 4^a, 5^a e 6^a semanas pós-parto para o diagnóstico de endometrite clínica classificada dos graus 0 a 3, (onde 0 = nenhum material de secreção recuperado ou muco claro, 1 = manchas de material purulento dentro de muco claro; 2 = menos de 50% de material purulento no corrimento vaginal, 3 = mais de 50% de material purulento com ou sem descarga fétida) (SHELDON et al, 2006), vacas com uma pontuação ≥ 1 foram consideradas como diagnosticadas com endometrite clínica. Na rotina das fazendas, as vacas que apresentaram metrite puerperal aguda foram tratadas de acordo com o protocolo estabelecido na propriedade, o diagnóstico de metrite puerperal na fazenda foi realizado diariamente pelos produtores treinados. Para algumas análises, metrite clínica e metrite puerperal foram combinadas. A febre foi considerada como vacas com TR $> 39,4$ °C. As vacas com metrite clínica e endometrite clínica de qualquer grau não foram tratadas no pós-parto.

Na 4^a e na 6^a semana após o parto foi realizada a citologia uterina naqueles animais que apresentaram grau 0 de descarga vaginal, mediante *cytobrush* (haste de metal ou plástica de aproximadamente 40 cm com cerdas de nylon na extremidade). Para esta análise, a vulva das vacas foi limpa com toalhas de papel. Em seguida, uma amostra a partir da região dorsal do corpo uterino foi obtida utilizando a *cytobrush* para realização

de citologia do endométrio. Lâminas para o exame citológico foram preparadas na fazenda rolando a *cytobrush* numa lâmina de microscópio de vidro limpo e fixadas para analisar posteriormente. As lâminas foram mantidas a temperatura ambiente. Todas as lâminas de citologia endometrial foram coradas no laboratório com corante Wright-Giemsa (panótico rápido). Cada lâmina foi analisada em microscópio óptico (400x) para realizar contagem de células diferencial de 200 células (polimorfonucleares e células endometriais) por um único observador experiente. Foi considerada endometrite subclínica os animais que apresentaram mais de 18% de PMN na 4ª semana pós-parto e mais de 10% de PMN na 6ª semana pós-parto (KASIMANICKAM et al., 2004).

Cetose subclínica foi definida como uma concentração plasmática de BHB $\geq 1,2$ mmol/L nas três primeiras semanas pós-parto (MCART et al., 2012). Além disso, a hipocalcemia subclínica (HS) foi definida como uma concentração plasmática de Ca $< 7,5$ mg/dL (GOFF et al., 1996; NEVES et al., 2018).

3.3 Protocolo de inseminação artificial em tempo fixo

Na sétima semana pós-parto 345 animais iniciaram o mesmo protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF), como descrito a seguir: no dia 0: implante de progesterona (1,0 g) intra vaginal + 2 mg de benzoato de estradiol intramuscular (IM) + 25 μ g de lecirelina IM; no dia 7: 0,482 mg de cloprostenol sódico IM; no dia 9: retirada do implante de progesterona + 0,482 mg de cloprostenol sódico IM; no dia 11: 25 μ g de lecirelina IM e 12 horas depois IATF.

3.4 Diagnóstico de gestação e mapa do ovário

Na quarta, quinta e sexta semanas pós-parto foram examinados os ovários através de ultrassonografia. Os ovários foram avaliados quanto à presença de corpo lúteo e presença de folículos. Depois de um período voluntário de espera de aproximadamente 60 dias, 345 vacas do estudo foram submetidas a IATF. A gestação foi verificada por ultrassonografia aproximadamente 30 dias após a IATF, para calcular a taxa de concepção no primeiro serviço.

3.5 Determinação dos parâmetros metabólicos

Amostras de sangue foram coletadas em todos animais do estudo por punção venosa ou arterial coccígea, através do sistema *vacutainer*, em tubos sem anticoagulante. Durante o transporte, as amostras coletadas foram mantidas sob temperatura ambiente. A coleta de sangue foi realizada semanalmente no momento do diagnóstico de doenças uterinas (1^a a 6^a semana pós-parto). As amostras foram centrifugadas após a formação do coágulo (2.500 rpm, 10 min) para obtenção de soro e divididas em frações para conservação a -20°C, em tubos *eppendorf*, até o momento das determinações bioquímicas (BHB, cálcio total, albumina, colesterol e AST). As determinações bioquímicas foram realizadas utilizando o equipamento automático (Autoanalyser CM 200, Wiener Lab) com kits comerciais (Labtest, Brasil e Randox, Irlanda) com exceção do BHB, no qual foi utilizado o sistema eletrônico de medição BHB (Precision Xtra, Abbott, Abingdon) previamente validado para uso em animais (GORDON et al., 2013).

3.6 Análise estatística

Todos os dados foram anotados em uma planilha de campo, após lançados no programa Excel e posteriormente um banco de dados foi criado e esses dados exportados para os pacotes estatísticos Epi Info 7.2, BioEstat 5.3 e SPSS 20.0.

As variáveis contínuas com distribuição normal foram expressas como média \pm desvio padrão e variáveis categóricas como frequências e percentuais. A vaca foi a unidade experimental e considerado um efeito aleatório. Os resíduos foram avaliados para normalidade e homoscedasticidade. A normalidade dos dados foi verificada por meio do teste de Shapiro-Wilk. Valores de $P \leq 0,05$ foram considerados como diferenças significativas entre os dados encontrados. Além disso, valores de $P \leq 0,1$ foram considerados como tendências. Contrastes foram escritos para descrever relações de interesse relevante.

Os resultados foram analisados através do teste de análise de variância (ANOVA) para determinar o efeito de algumas variáveis como por exemplo: número de partos e estação do ano, sobre o sistema de produção, considerando local como um efeito aleatório, além da análise de efeitos fixos em relação aos indicadores bioquímicos do

metabolismo e saúde uterina. O teste Qui-quadrado de Pearson ou teste exato de Fischer foram utilizados para as comparações de ocorrência das doenças pós-parto avaliadas e as taxas de concepção para variáveis categóricas. Adicionalmente, modelos de regressão linear e logística foram construídos para determinar o efeito da variável dependente sobre os demais indicadores, podendo esses serem contínuos ou categóricos

4 RESULTADOS

A prevalência de doenças uterinas do presente estudo foi de 18,3% de retenção de placenta, 32,3% de metrite, 40,1% de endometrite clínica e 37,1% de endometrite subclínica, conforme figura 1. As incidências de metrite na primeira, segunda e terceira semanas pós-parto foram de 22,6%, 8,6% e 1% respectivamente, as incidências de endometrite clínica foram 33,7% na quarta semana pós-parto, 5,3% na quinta semana pós-parto e 2,5% na sexta semana pós-parto. As incidências de endometrite subclínica foram de 22,9% e 14,2% na quarta e sexta semana pós-parto respectivamente, conforme tabela 1.

Figura 1 – Prevalência das doenças uterinas de vacas da raça Holandesa alojadas em fazendas da serra do Rio Grande do Sul, Brasil.

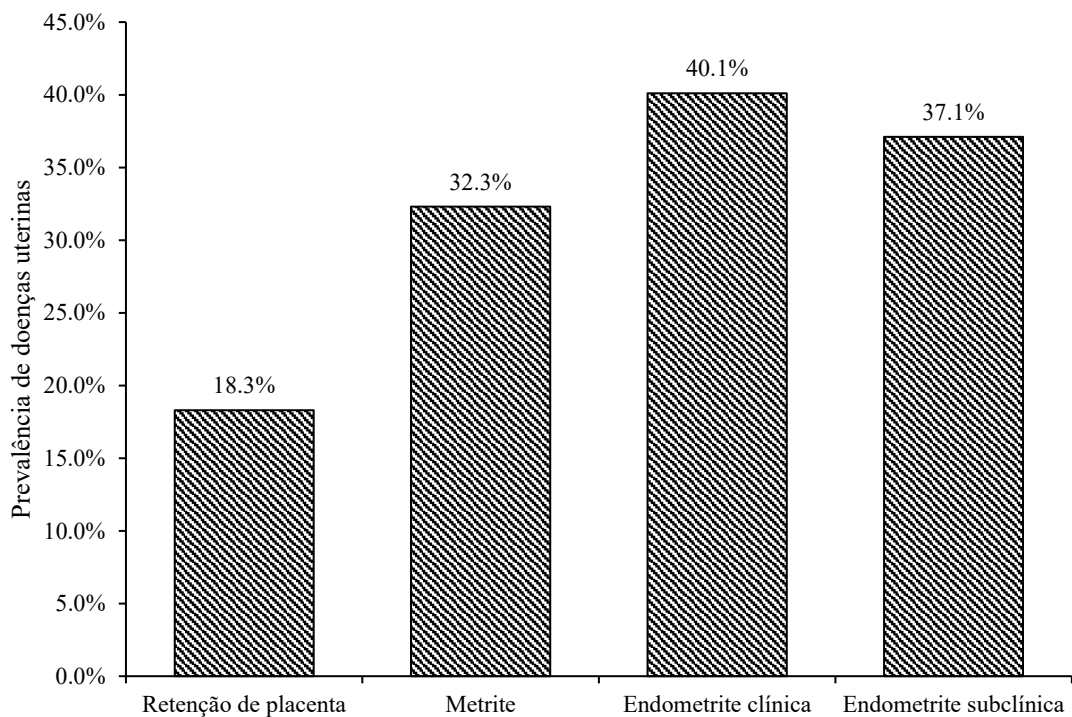


Tabela 1 – Incidência das doenças uterinas ao longo das semanas após o parto de vacas da raça Holandesa alojadas em fazendas da serra do Rio Grande do Sul, Brasil.

Semanas pós-parto	Doença uterina	Incidência
0	Retenção de placenta	18.3%
1	Metrite	22.6%
2	Metrite	8.6%
3	Metrite	1.0%
4	Endometrite clínica	33,7%
5	Endometrite clínica	5,3%
6	Endometrite clínica	2,5%
4	Endometrite subclínica	22.9%
6	Endometrite subclínica	14.2%

A ocorrência de parto distócico não foi afetada dentro do mesmo sistema de produção entre as fazendas, porém quando comparados o confinamento com confinamento com acesso ao pasto animais manejados com acesso ao pasto apresentaram maior ocorrência de distocia, conforme figura 2. Entretanto não houveram diferenças entre fazendas do mesmo sistema e entre sistemas quanto a ocorrência de doenças clínicas e subclínicas, conforme as figuras 3 e 4.

Figura 2 – Ocorrência de partos distócicos em sistemas de produção em confinamento ou confinamento com acesso ao pasto e sua correlação com a ordem de parto (primípara ou múltipara) de vacas da raça Holandesa alojadas em fazendas da serra do Rio Grande do Sul, Brasil.

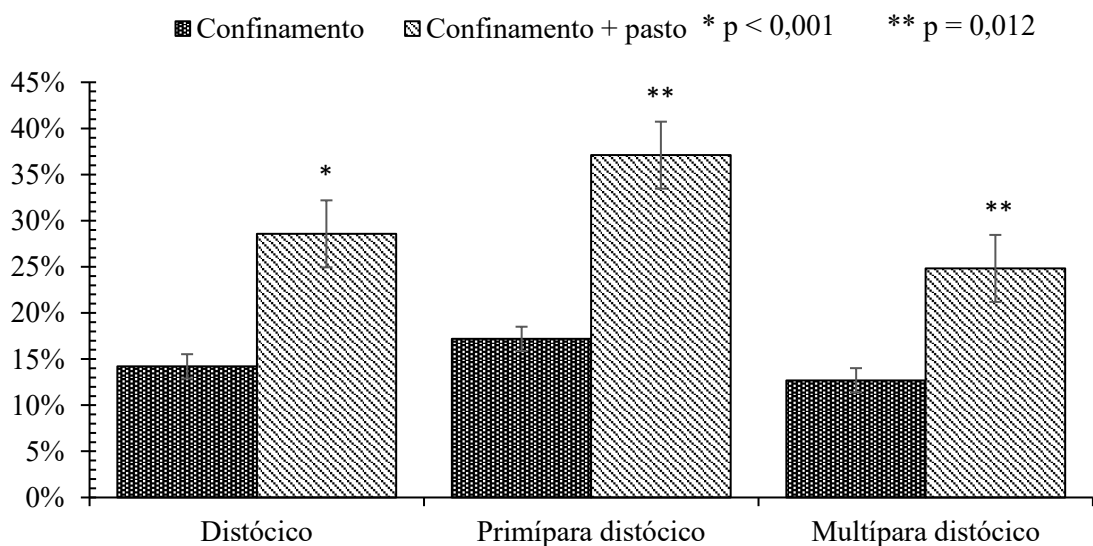


Figura 3 – Ocorrência de doenças uterinas clínicas em sistemas de produção de confinamento e confinamento com acesso ao pasto ao longo das seis semanas pós-parto de vacas da raça Holandesa alojadas em propriedades da serra do Rio Grande do Sul, Brasil.

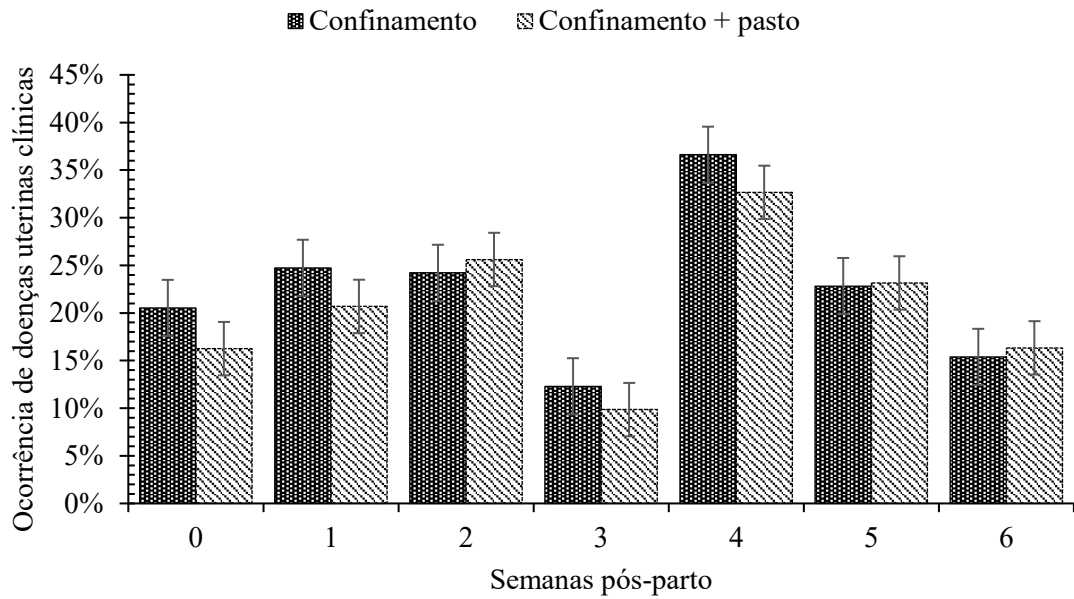
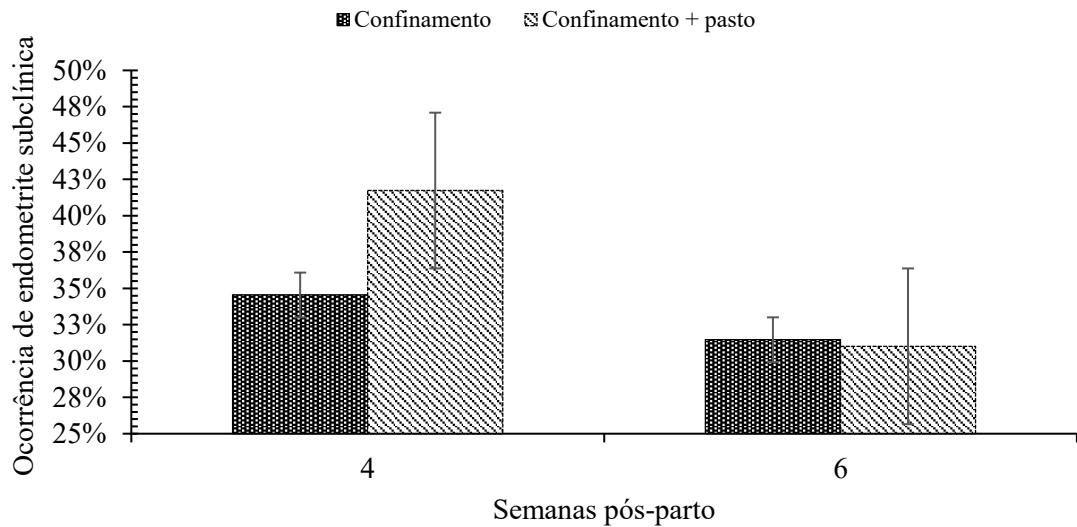


Figura 4 – Ocorrência de endometrite subclínica nos sistemas de produção de confinamento e confinamento com acesso ao pasto na quarta e sexta semana pós-parto em vacas da raça Holandesa alojadas em fazendas da região da serra do Rio Grande do Sul, Brasil.



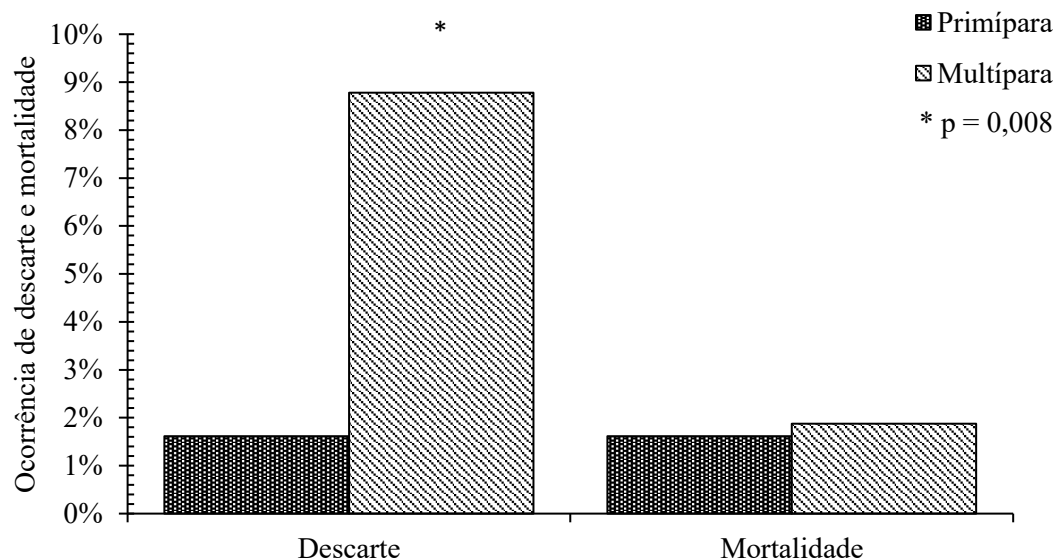
Não houve diferença significativa na taxa de mortalidade quando comparadas multíparas com primíparas, porém foi encontrada diferença na taxa de descarte quando comparadas para ordem de partos, conforme tabela 2 e figura 5. Na análise entre fazendas e entre sistemas não foram observadas diferenças quanto as taxas de mortalidade e descarte.

Tabela 2 – Comparação entre o número de animais descartados e mortalidade entre primíparas e multíparas de vacas da raça Holandesa alojadas em fazendas da região da serra do Rio Grande do Sul, Brasil.

	Primípara	Multípara	OR (95%)	P-valor
Descarte	2	23	5,87	*0,008
Rebanho	122	239		
Mortalidade	2	5	1,183	0,824
Sobrevivência	124	262		

*: diferença significativa

Figura 5 - Ocorrência de descarte e mortalidade em vacas da raça Holandesa alojadas em fazendas da serra do Rio Grande do Sul, Brasil, quanto à ordem de partos (primípara ou multípara) ao longo das seis primeiras semanas pós-parto.



A mastite clínica, os problemas de casco e locomotores e a metrite puerperal foram as principais doenças diagnosticadas no estudo durante as seis semanas pós-parto, sendo a maior ocorrência de doenças nas três primeiras semanas pós-parto e sendo a mastite a doença de maior ocorrência, conforme tabela 3 e figura 6.

Tabela 3 - Distribuição de mastite clínica, deslocamento de abomaso, metrite puerperal, cetose clínica, doenças locomotoras no decorrer das seis semanas pós-parto em vacas da raça Holandesa alojadas em propriedades localizadas na região da serra do Rio Grande do Sul, Brasil.

Doença	Semanas pós-parto						
	(n) Total	(n) 1 ^a	(n) 2 ^a	(n) 3 ^a	(n) 4 ^a	(n) 5 ^a	(n) 6 ^a
Mastite clínica	55	21	6	10	6	8	4
Deslocamento de abomaso	8	2	3	3	0	0	0
Metrite puerperal	20	13	6	1	0	0	0
Cetose clínica	2	1	0	1	0	0	0
Doenças locomotoras	31	10	6	3	4	5	3
Outras enfermidades	50	30	8	0	4	2	6
Total de doenças (n)	165	77	29	17	14	15	13
Doenças por semana (%)	100%	46,67%	17,58%	10,30%	8,48%	9,09%	7,88%

Figura 6 – Proporção de doenças clínicas (mastite clínica, metrite puerperal, doenças locomotoras, deslocamento de abomaso, cetose clínica e outras enfermidades) ao longo das seis semanas pós-parto em animais da raça Holandesa criados em fazendas da serra do Rio Grande do Sul.

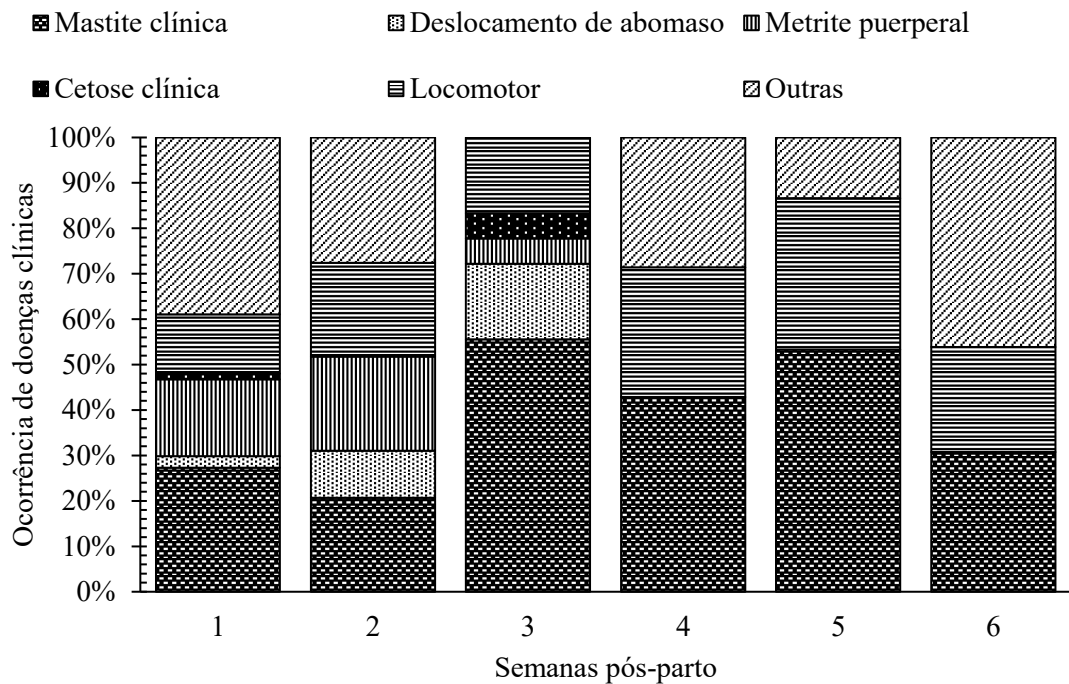


Tabela 4 – Comparação da taxa de concepção (Tx. C.) no primeiro serviço realizado aos 50 ± 7 dias em leite mediante inseminação artificial em tempo fixo de vacas da raça Holandesa alojadas em propriedades da serra do Rio Grande do Sul, Brasil, em relação a ordem de parto (primípara ou múltipara), sistema de produção, doenças uterinas, número de usos do implante intravaginal de progesterona (1º ou 2º uso), limiares de escore de condição corporal (ECC), época do ano (inverno ou verão), limiares de beta-hidroxibutirato (BHB) e limiares de cálcio.

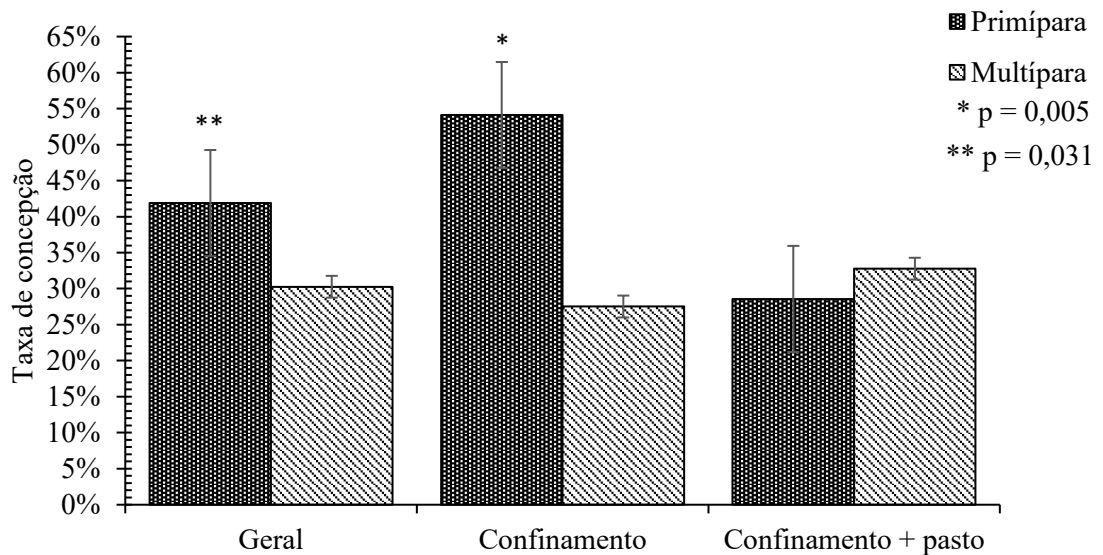
Item	Gestante	Não gestante	Odds Ratio (95%)	p-valor	Tx. C. (%)
Primípara	49	68	1,66	* 0,031	41,9
Múltipara	69	159			30,2
Primípara confinamento	33	28	2,946	* 0,005	54,1
Primípara confinamento + pasto	16	40			28,6
Normal	90	181	1,224	0,457	33,2
Distócico	28	46			37,8
Saudável	98	189	1,015	0,961	34,1
Retenção de placenta	20	38			34,5
Saudável	82	157	1,012	0,961	34,3
Metrite	37	70			34,6
Saudável.	93	169	1,228	0,446	35,7
Endometrite clínica	26	58			30,9
Saudável	68	140	1,207	0,414	32,7
Endometrite subclínica	51	87			36,9
1º uso implante	59	116	1,045	0,846	33,71
2º uso implante	59	111			34,7
ECC ao parto $\geq 3,5$	73	155	1,283	0,261	31,6
ECC ao parto $< 3,5$	55	91			37,6
ECC 6ª semana p.p. $\geq 3,0$	51	106	1,151	0,539	32,5
ECC 6ª semana p.p. $< 3,0$	67	121			35,6
Inverno	77	136	1,257	0,333	36,1
Verão	41	91			31
BHB < 1.2 mmol/L 1ª semana p.p.	71	134	1,041	0,863	34,6
BHB ≥ 1.2 mmol/L 1ª semana p.p.	47	93			33,6
BHB < 1.2 mmol/L 2ª semana p.p.	65	134	1,184	0,461	32,6
BHB ≥ 1.2 mmol/L 2ª semana p.p.	53	93			36,3
Cálcio $\leq 7,5$ mg/dL 1ª semana p.p.	23	41	1,070	0,865	35,9
Cálcio $> 7,5$ mg/dL 1ª semana p.p.	18	30			37,5
Cálcio $\leq 7,5$ mg/dL 2ª semana p.p.	22	38	1,230	0,608	36,6
Cálcio $> 7,5$ mg/dL 2ª semana p.p.	16	34			32,0

*: diferença significativa

p.p.: pós-parto

A taxa de concepção dos animais do estudo não foi influenciada pela maioria dos parâmetros analisados, havendo diferenças significativas entre a ordem de partos, sendo que as primíparas têm maior taxa de concepção quando comparadas com múltíparas. O sistema de produção também influenciou a taxa de concepção quando comparadas primíparas em confinamento com primíparas em confinamento com acesso ao pasto, conforme tabela 4 e figura 7, não havendo diferenças entre fazendas do mesmo sistema de produção.

Figura 7 – Taxa de concepção de vacas da raça Holandesa quanto à ordem de parto (primíparas e múltíparas) de todos os animais do estudo (geral) e em sistemas de produção de confinamento e confinamento com acesso ao em propriedades da serra do Rio Grande do Sul, Brasil.



Na análise utilizando o sexo do bezerro como variável dependente, vacas que tiveram um parto de macho tiveram maior chance de ter um parto distócico 3,45 mais vezes ($p = 0,0007$) e tenderam a ter mais retenção de placenta 1,85 vezes ($p = 0,066$) quando comparadas a vacas que tiveram um parto de fêmea. Vacas que tiveram parto distócico apresentam maior chances de apresentar retenção de placenta $p = 0,0433$. Partos gemelares aumentaram as 3,9 vezes as chances de retenção de placenta ($p = 0.0193$).

Animais com retenção de placenta têm maiores chances de serem diagnosticados com metrite e endometrite clínica nas primeiras semanas pós-parto ($p < 0.0001$). Animais com retenção de placenta têm maior temperatura retal durante as seis semanas pós-parto ($p = 0,0005$). Retenção de placenta não influenciou nas concentrações de colesterol durante as três semanas pós-parto, porém aumentou as concentrações de BHB nas três semanas pós-parto ($p = 0,0007$) e vacas que apresentaram retenção de placenta tiveram sua calcemia reduzida na primeira ($p = 0,0305$) e segunda ($p = 0,057$) semana pós-parto. Vacas com retenção de placenta tem menor ECC nas quatro semanas pós-parto conforme tabela 5.

Tabela 5 - Associação entre retenção de placenta, temperatura retal, parâmetros bioquímicos (beta-hidroxiacetato (BHB), colesterol e cálcio), e escore de condição corporal (ECC) nas vacas da raça Holandesa localizadas em fazendas da região da serra do Rio Grande do Sul, Brasil.

Animais do estudo	Coeficiente de regressão		p-valor
Retenção de placenta x metrite	0,592	t = 16,6942	* p < 0,0001
Retenção de placenta x Endometrite clínica	0,3739	t = 8,6213	* p < 0,0001
Retenção de placenta x Temperatura retal	0,1103	t = 3,5972	* p = 0,0005
Retenção de placenta x Colesterol	0,0001	t = 0,2579	p = 0,7969
Retenção de placenta x BHB	0,067	t = 3,4800	* p = 0,0007
Retenção de placenta x Cálcio 1ª semana p.p.	-0,0462	t = -2,1876	* p = 0,0305
Retenção de placenta x Cálcio 2ª semana p.p.	-0,0413	t = -1,9210	** p = 0,0570
Retenção de placenta x ECC ao parto	0,0467	t = -1,3617	p = 0,1757
Retenção de placenta x ECC 1ª semana p.p.	-0,0612	t = -1,7636	** p = 0,0802
Retenção de placenta x ECC 2ª semana p.p.	-0,099	t = -6,8390	* p < 0,0001
Retenção de placenta x ECC 3ª semana p.p.	-0,0678	t = -1,7148	** p = 0,0888
Retenção de placenta x ECC 4ª semana p.p.	-0,0772	t = -1,7821	** p = 0,0771

*: diferença significativa

** : tendência

p.p.: pós-parto

Animais diagnosticados com metrite e endometrite clínica apresentaram maior temperatura retal e menor ECC. A calcemia na primeira semana pós-parto é menor em vacas diagnosticadas com metrite, conforme tabela 6. Vacas diagnosticadas com retenção de placenta tem mais chances de não apresentarem estruturas ovarianas na quarta semana quando comparadas as que não tiveram retenção ($p=0,0363$). A cada redução de $0,1083^{\circ}\text{C}$ na temperatura retal na quarta semana as vacas têm maior chance de apresentar estruturas no ovário ($p = 0,0298$). Quanto maior o ECC na quinta semana maior a chances do animal apresentar estruturas no ovário ($p = 0,0721$). Quanto maior o ECC na sexta semana maior as chances do animal apresentar estruturas no ovário ($p = 0,0041$).

Tabela 6 - Associação entre metrite e endometrites com a temperatura retal, parâmetros bioquímicos (beta-hidroxiacetato (BHB), colesterol e cálcio), e escore de condição corporal (ECC) nas vacas da raça Holandesa localizadas em fazendas da região da serra do Rio Grande do Sul, Brasil.

Animais do estudo	Coeficiente de regressão		p-valor
Metrite x Temperatura retal	0,1409	t = 5,9320	* p < 0,0001
Metrite x Colesterol	-0,0009	t = -0,6077	p = 0,5445
Metrite x BHB	-0,0018	t = -0,0958	p = 0,9239
Metrite x Cálcio 1ª semana p.p.	-0,0476	t = -2,2302	* p = 0,0275
Metrite x Cálcio 2ª semana p.p.	-0,0083	t = -0,3652	p = 0,7156
Metrite x ECC	-0,207	t = -5,2054	* p < 0,0001
Metrite x Endometrite clínica	0,0134	t = 0,5690	p = 0,5704
Endometrite clínica x Temperatura retal	0,0384	t = 1,7912	** p = 0,0757
Endometrite clínica x ECC	-0,0452	t = -1,9587	** p = 0,0524
Endometrite subclínica x Temperatura retal	-0,0076	t = -0,1776	p = 0,8593
Endometrite subclínica x ECC	0,0193	t = 0,4101	p = 0,6825

*: diferença significativa

** : tendência

p.p.: pós-parto

Quando analisada a temperatura ambiente como variável dependente, sendo dividida em inverno (maio até outubro) e verão (novembro até abril), apenas a temperatura retal foi afetada por essa variável, sendo que a temperatura retal é maior no verão, conforme tabela 7. Parâmetros bioquímicos não foram influenciados pela ordem de parto, apenas as primíparas tenderam a ter menor concentração de colesterol na primeira semana pós-parto quando comparadas a múltíparas, conforme tabela 8.

Tabela 7 - Associação entre temperatura ambiente com tipo de parto, doenças uterinas, escore de condição corporal (ECC) ao parto, taxa de concepção e temperatura retal de vacas da raça Holandesa de fazendas da região da serra do Rio Grande do Sul, Brasil.

Animais do estudo	Coeficiente de regressão		p-valor
Temperatura ambiente x tipo de parto	0,0838	t = 1,3777	p = 0,1708
Temperatura ambiente x Retenção de placenta	-0,0118	t = -0,1820	p = 0,8559
Temperatura ambiente x ECC ao parto	0,0509	t = 1,1553	p = 0,2502
Temperatura ambiente x Taxa de concepção.	-0,0628	t = -1,1201	p = 0,2648
Temperatura ambiente x metrite	0,041	t = 0,6838	p = 0,4954
Temperatura ambiente x Endometrite clínica.	0,0349	t = 0,8235	p = 0,4118
Temperatura ambiente x Endometrite subclínica	0,052	t = 0,7802	p = 0,4368
Temperatura ambiente x Temperatura retal	0,1313	t = 6,4891	* p < 0,0001

*: diferença significativa

Tabela 8 - Correlação do cálcio, colesterol e escore da condição corporal (ECC) do parto até a 3ª semana pós-parto com a paridade (primípara ou múltípara) de vacas da raça Holandesa alojadas em propriedades na região da serra do Rio Grande do Sul, Brasil.

Animais do estudo	Coeficiente de regressão		p-valor
Colesterol 1ª semana p.p. primípara x múltípara	-0,0012	t = -1,7160	** p = 0,0886
Colesterol 2ª semana p.p. primípara x múltípara	-0,0006	t = -0,9770	p = 0,3305
Colesterol 3ª semana p.p. primípara x múltípara	-0,0002	t = -0,1668	p = 0,8678
Cálcio 1ª semana p.p. primípara x múltípara	0,0103	t = 0,4298	p = 0,6681
Cálcio 2ª semana p.p. primípara x múltípara	-0,2341	t = -0,7222	p = 0,4716
ECC ao parto primípara x múltípara	0,04	t = 0,9648	p = 0,3365
ECC 1ª semana p.p. primípara x múltípara	0,0466	t = 1,1106	p = 0,2689
ECC 2ª semana p.p. primípara x múltípara	0,0564	t = 1,2570	p = 0,2111
ECC 3ª semana p.p. primípara x múltípara	0,0246	t = 0,5140	p = 0,6082

** : tendência

p.p.: pós-parto

Vacas saudáveis apresentaram menor concentração de BHB e maior concentração de cálcio quando comparadas a vacas com retenção de placenta, conforme figuras 8 e 9. Animais diagnosticados com doenças uterinas apresentaram menor escore de condição corporal e maior temperatura retal quando comparados com animais saudáveis, conforme figuras 10 e 11.

Figura 8 - Diferenças entre as médias da concentração do beta-hidroxibutirato (BHB) no soro nas duas semanas pós-parto em vacas da raça Holandesa alojadas em fazendas da serra do Rio Grande do Sul, Brasil, quando comparado vacas com retenção de placenta e saudáveis.

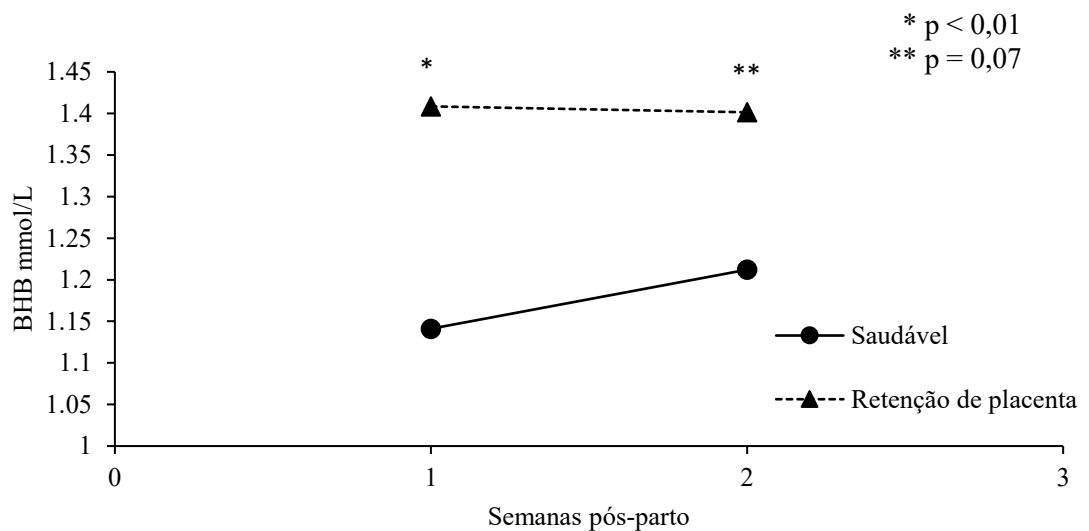


Figura 9 - Diferenças entre a concentração do cálcio total no soro nas duas semanas pós-parto em vacas da raça Holandesa alojadas em fazendas da serra do Rio Grande do Sul, Brasil, quando comparado vacas com retenção de placenta e saudáveis.

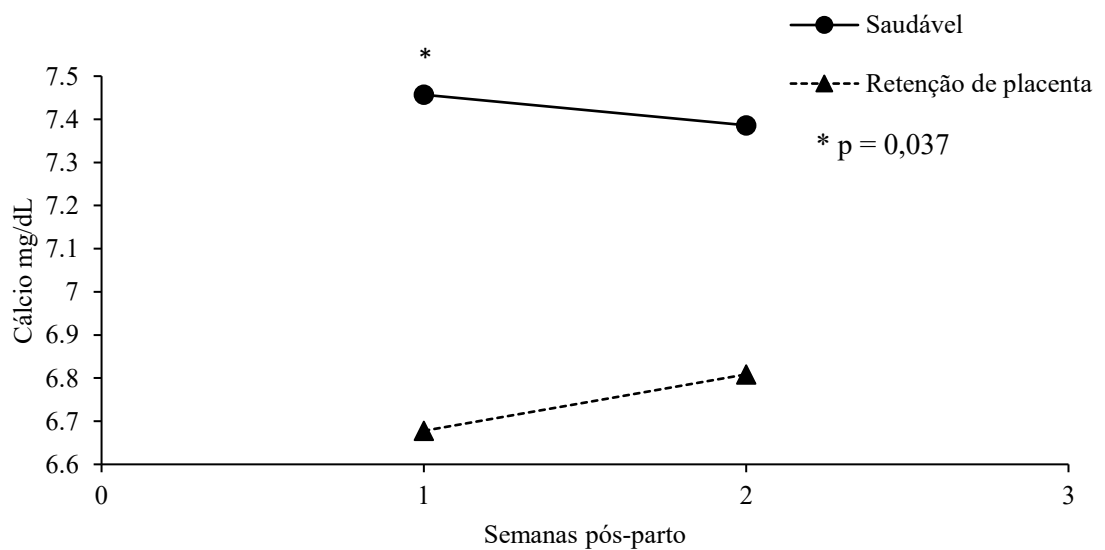


Figura 10 - Diferenças entre o escore de condição corporal do parto até a sexta semana pós-parto em vacas da raça Holandesa alojadas em fazendas da serra do Rio Grande do Sul, Brasil, quando comparado vacas com doenças uterinas e saudáveis.

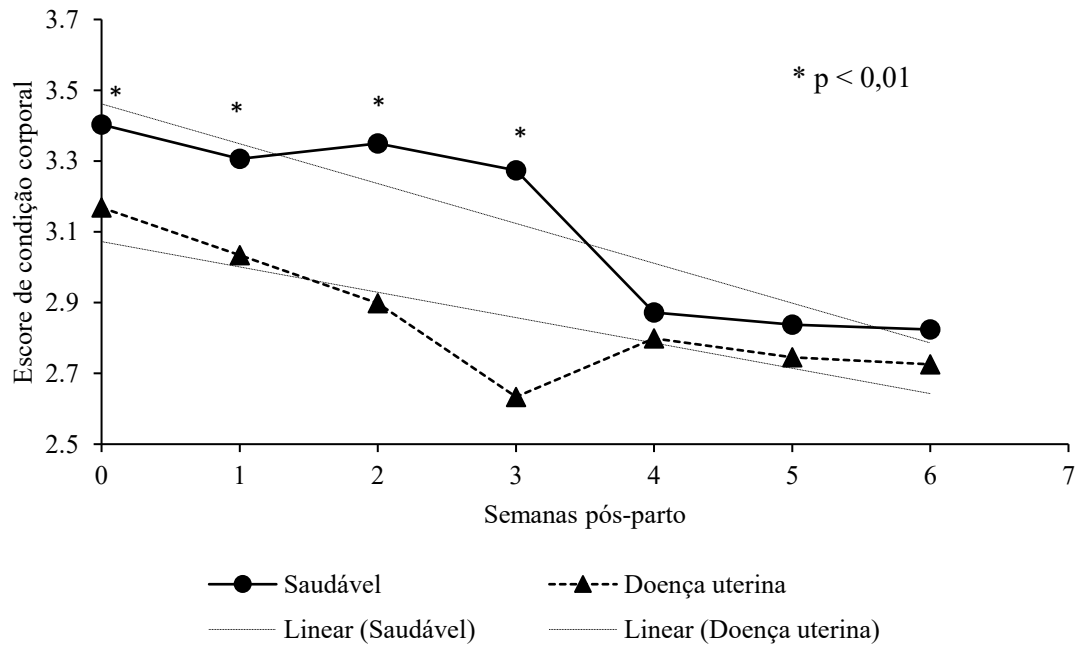
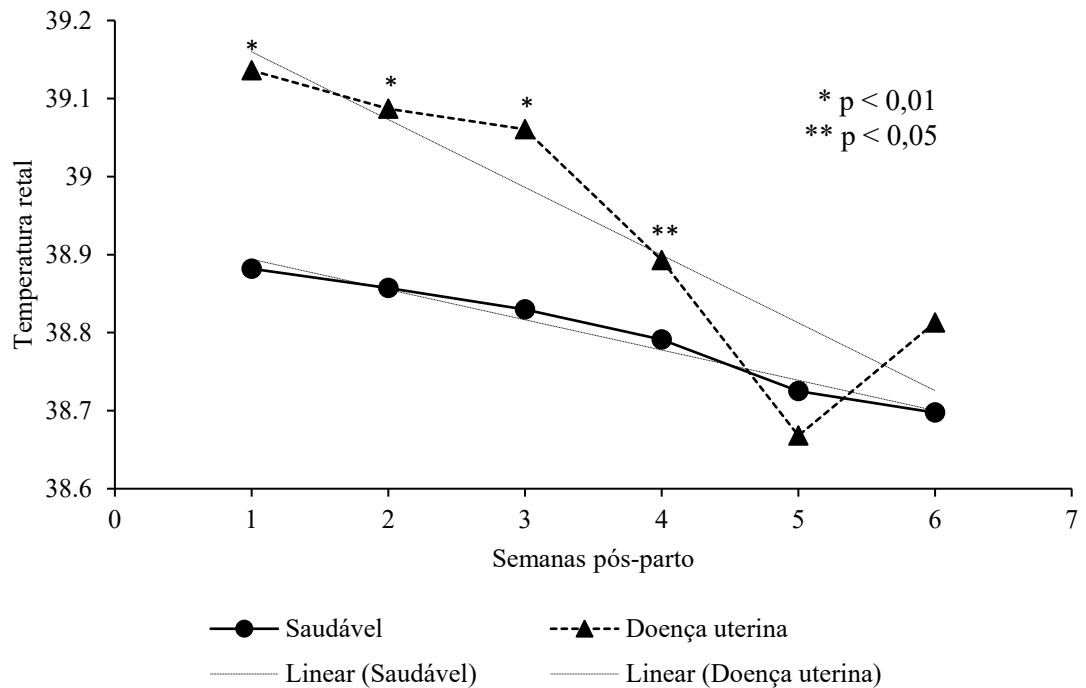


Figura 11 - Diferenças entre a temperatura retal nas seis semanas pós-parto em vacas da raça Holandesa alojadas em fazendas da serra do Rio Grande do Sul, Brasil, quando comparado vacas com doenças uterinas e saudáveis.



5 DISCUSSÃO

5.1 Doenças uterinas

Em nosso estudo 91,5% das vacas apresentaram ao menos uma doença uterina do parto até a sexta semana pós-parto, enquanto 4,0% dos animais apresentaram doença uterina em todas semanas da análise (números não apresentados nos resultados). Esses dados diferem dos valores reportados por LeBlanc (2012), que cita entre 35% a 50% das vacas têm pelo menos uma forma de doença do trato reprodutivo entre 3 e 7 semanas pós-parto mediante diagnóstico clínico ou citológico. Essa diferença pode ocorrer porque a maior incidência de doenças no pós-parto ocorre nas 4 primeiras semanas de lactação (LEBLANC, 2006, GOFF et al., 1997).

Quanto aos partos distócicos, em um estudo realizado no sul dos Estados Unidos, 450 partos foram avaliados, dos quais 73,0% foram classificados como normais e 27,0% como distócicos (BENZAQUEN et al., 2007), números muito próximos aos encontrados no nosso estudo, que foi de 21,6% de partos distócicos, e bem superiores aos 5% encontrados em Portugal (KOCH, 2013). A frequência de distocia foi significativamente afetada pelo sistema de produção em nosso estudo, contrariando estudos anteriores que citam que o acesso ao pasto reduz a distocia (POPESCU et al., 2013). Além disso, Gustaffson (1993) e Mee (2004) afirmam que a prevalência da distocia pode ser aumentada pela falta de exercício. Bendixen et al. (1986) mostraram que bovinos em pastagem apresentam uma incidência reduzida de distocia. No entanto, essa maior frequência de distocia pode não ser totalmente verdadeira porque estão sendo comparados sistemas de *tie-stall*/pasto, enquanto no nosso estudo comparamos *free-stall*/pasto.

Provavelmente distocia e partos gemelares estão associados à contaminação bacteriana do útero, trauma, e um risco mais elevado de desenvolvimento de retenção de placenta e metrite (SHELDON, 2004), em concordância com nossos resultados que demonstraram que distocia, partos gemelares e partos de machos foram fatores predisponentes para retenção de placenta. Também é importante entender que nem todas as vacas com retenção de placenta vão apresentar metrite, e que nem todas as vacas com metrite irão desenvolver endometrite clínica. Sabe-se que estas doenças uterinas estão ligadas, mas não é necessária uma para o desenvolvimento de outra.

A incidência de retenção de placenta em nosso estudo foi de 18,3%, próximo aos 22% de taxa de incidência relatado por outro estudo brasileiro (MASSUQUETO et al., 2007) e semelhante aos 19,9% encontrados em uma pesquisa que verificou os indicadores de fatores de risco para esta doença (QU et al., 2014). Quando comparado com outros estudos que relataram incidência de 5,6% a 12,5% (KELTON et al., 1998; DUBUC et al., 2010; MACHADO et al., 2012; KOCH, 2013), nossos resultados são considerados altos. Além disso, a retenção de placenta em nosso estudo foi fator de risco para metrite, endometrite clínica, aumento de BHB e temperatura retal, porém não influenciou na endometrite subclínica. Os fatores de risco para retenção de placenta foram parto distócico, parto de bezerro macho e partos gemelares. Sabidamente os partos gemelares e distócicos são um conhecido fator de risco para retenção de placenta (LAVEN e PETERS, 1996; DRILLICH, 2011).

A variação na prevalência e na incidência de metrite entre estudos é notável. Enquanto nós encontramos valores de prevalência para metrite de 32,3% e valores de incidência de 22,6%, 8,6% e 1% na primeira, segunda e terceira semanas pós-parto, respectivamente, em outros estudos a incidência média da metrite foi de 21,1% (MARKUSFELD et al., 1997), 2,2% (RAJALA e GRÖHN, 1998), 0,7% (BRUUN et al., 2002), 69% (URTON et al., 2005), 21,7% (HAMMON et al., 2006) e 19,0% (KOCH, 2013). As diferenças nos métodos utilizados para classificar infecções uterinas entre os estudos e o período pós-parto para o diagnóstico, contribuíram para as diferenças de taxas de incidência relatados na literatura.

Em uma pesquisa realizada na Flórida, vacas foram avaliadas para alto ou baixo risco de desenvolver metrite, encontrando que animais com uma ou mais desordens no parto eram considerados com alto risco de desenvolver metrite até os 12 dias após o parto. Entre essas vacas, a incidência de distocia, gêmeos, natimorto e retenção de placenta foram de 61,8%, 23,6%, 12,7%, e 30,9%, respectivamente (MARTINEZ et al., 2012). No mesmo estudo a incidência global de metrite foi de 47,3%. Nós encontramos 22,6% de incidência de metrite na primeira semana pós-parto. Esses valores inferiores podem ser explicados pelo delineamento diferente entre os estudos, pois no nosso estudo o diagnóstico foi semanal (podendo haver autocura) enquanto no estudo realizado na Flórida três coletas foram feitas em 12 dias.

Quando observada apenas a metrite puerperal, a prevalência dessa doença foi de 13,6%, enquanto a incidência em nosso estudo foi de 4,6%, 6,1% e 2,8% para a primeira, segunda e terceira semana pós-parto respectivamente. Esses números são bem inferiores aos apresentados por Benzaquen et al. (2007) que relataram 21% ou por Martinez et al. (2012), que encontraram uma incidência de metrite puerperal de 30%. A população desse estudo americano foi representada apenas por uma propriedade e variações na incidência das doenças, capacidade de diagnosticá-las, ou ambas ocorrem entre fazendas e pesquisadores (CHAPINAL et al., 2011). Os principais fatores de risco para metrite puerperal são partos difíceis, nascimento de gêmeos e retenção de placenta (HOSSEIN-ZADEH e ARDALAN, 2011; ORDELL et al., 2016). Esses dados de fatores de risco são semelhantes aos encontrados no presente trabalho, embora metrite não foi fator de risco para endometrite clínica, como afirmam Benzaquen et al. (2007).

A metrite e a endometrite clínica parecem estar associadas; no entanto, metrite não foi necessária para o desenvolvimento da endometrite, estando nossos dados em conformidade com os achados em estudos anteriores (BONDURANT, 1999; DUBUC et al., 2010). Entre os fatores clínicos de risco mais aceitos para endometrite clínica estão os problemas de parto (distocia, retenção de placenta e natimorto) (GHANEM et al., 2002; LEBLANC et al., 2002; GAUTAM et al., 2010; POTTER et al., 2010). Porém nós encontramos apenas a retenção de placenta como fator de risco para a endometrite clínica.

Machado et al. (2012) encontraram uma incidência de endometrite clínica de 10,0%, considerado baixo em comparação com os 15,0 a 42,0% encontrados em outros estudos (LEBLANC et al, 2002;. LEBLANC, 2008; PLONTZKE et al., 2010; MADDOZ et al., 2014). Nosso estudo encontrou prevalência de endometrite clínica de 40,1% incidência de endometrite clínica de 33,7%, 5,3% e 2,5% para quarta, quinta e sexta semana pós-parto respectivamente. Martinez et al. (2012) encontraram números bem superiores aos 31 dias pós-parto, com uma incidência global de endometrite clínica de 77,6%. Além disso, em estudo realizado na Alemanha para comparar os métodos de diagnóstico de endometrite clínica entre 21 e 27 dias pós-parto as proporções de vacas acometidas foram 36,9%, 47,5%, e 36,8% no espécúlo, Metricheck e mão enluvada, respectivamente (PLETICHA et al., 2009). Em adição, outro estudo realizado na Argentina com vacas a pasto, as incidências de endometrite clínica durante o período pós-parto foram de 54,1% em 21 dias pós-parto, 33,0% em 31 dias pós-parto e 14% em 41

dias pós-parto (GIULIODORI et al., 2013). Esses dados foram semelhantes aos encontrados no nosso estudo. O diagnóstico da endometrite clínica é influenciado pelo número de coletas que são realizadas no pós-parto, aumentando a identificação da doença quando se aumentam o número de análises nas vacas, podendo a endometrite subclínica ser subestimada quando se faz apenas um diagnóstico no pós-parto.

Na nossa abordagem, o número de vacas apresentando endometrite clínica não diferiu entre os sistemas de produção, o que está em desacordo com os achados de Brunn et al. (2002), que sugerem que os distúrbios uterinos foram menores nos rebanhos com acesso a pastagem. Eles explicaram o resultado com a melhor condição da musculatura e saúde como resultado do pastejo. Por outro lado, em estudo realizado na Romênia, o número de vacas apresentando corrimento vulvar foi significativamente maior em fazendas *tie-stall* sem acesso ao pasto quando comparadas a fazendas *tie-stall* com pastagem (POPESCU et al., 2013). A possibilidade dos animais se exercitarem no *free-stall* mesmo que eles não tenham acesso ao pasto pode ser um fator para não existir diferenças em nosso estudo, ou ainda o tempo que as vacas têm acesso à pastagem em nosso estudo é reduzido para trazer algum benefício no fortalecimento muscular.

Em estudos anteriores foi mostrado que existe maior chance de ocorrer endometrite clínica em vacas primíparas do que em vacas com parto anormal (GHANEM et al., 2002; LEBLANC et al., 2002; DUBUC et al., 2010; GAUTAM et al., 2010; POTTER et al., 2010; GIULIODORI et al., 2017), entretanto outro estudo demonstrou não haver relação com o número de partos (GIULIODORI et al., 2013). Nossos resultados foram parcialmente semelhantes, pois vacas com retenção de placenta tiveram maiores chances de desenvolver endometrite clínica, porém não houve diferença entre o número de partos, apesar de encontrarmos diferenças entre número de partos e endometrite subclínica. A explicação pode ser que as primíparas apresentaram mais distocia, fazendo com que aumente a possibilidade de trauma, retenção de placenta, dano tecidual e contaminação bacteriana e por consequência poderia levar ao desenvolvimento de endometrite clínica e endometrite subclínica (SHELDON et al., 2009).

Nós não encontramos diferenças entre a estação quente e estação fria para o desenvolvimento de endometrite clínica, contrariando resultados anteriores que mostraram maiores chances de endometrite clínica nas vacas em pastejo na primavera, verão e inverno (GIULIODORI et al., 2017). Efeitos sazonais diretos têm sido raramente

relatados, e os resultados dependem principalmente da região geográfica e do manejo do rebanho. Em um clima frio, com vacas em sua maioria confinadas no Canadá, o outono foi a estação de pico para a ocorrência endometrite clínica (ERB e MARTIN, 1978). No entanto, em estudo com condições de clima temperado e sob um sistema de pastagem, a menor incidência de endometrite clínica foi registrada no outono. Tem sido relatado que o risco de retenção de placenta aumenta durante a primavera e verão (FAYE et al., 1986), e como esta doença tem sido relacionada com endometrite clínica (LEBLANC et al., 2002; SHELDON et al., 2009) e igualmente confirmada no nosso estudo, isso poderia ajudar a explicar a maior prevalência observada para vacas do estudo argentino.

Nossos resultados para prevalência de endometrite subclínica foram 37,1%, enquanto a incidência na quarta e na sexta semana pós-parto foram de 22,9% e 14,2% respectivamente, não diferindo entre os sistemas de produção. Em outros estudos que utilizaram critérios semelhantes aos do presente trabalho para o diagnóstico de endometrite subclínica, houve grande variação na prevalência relatada. A prevalência global média nesses trabalhos foi de 11% a 53%, com uma variação de 0 a 74%, entre rebanhos (GILBERT et al., 2005; BARLUND et al., 2008; GALVÃO et al., 2009). Na Europa houve incidência de 27,3% no dia 21 pós-parto e 16,4% no dia 28 pós-parto (PRUNNER et al., 2014). Em estudo realizado por DUBUC et al. (2010b), a prevalência geral de endometrite (subclínica e clínica em conjunto) no exame aos 35 dias pós-parto e no exame aos 56 dias pós-parto foi de 28,7 e 21,5%, respectivamente. Esses resultados podem não ser comparáveis com os resultados do nosso estudo, pois ambos, endometrite subclínica e clínica foram consideradas simultaneamente. Números semelhantes aos nossos foram encontrados na Flórida, onde a prevalência de endometrite subclínica foi de 36,5% aos 38 dias pós-parto (MARTINEZ et al., 2012). Nossos resultados estão em desacordo com as prevalências relatadas de 14% (MADOZ et al., 2014), 17% (MADOZ et al., 2013) e 13% (RIBEIRO et al., 2013) que analisaram apenas vacas em pastoreio. Madoz et al. (2013) propuseram que as vacas leiteiras em pastoreio têm menor produção de leite do que vacas confinadas e que enfrentariam menos estresse metabólico durante o início da lactação e seriam capazes de lidar melhor com a eliminação da contaminação bacteriana uterina, levando a menor prevalência de endometrite. Outra explicação poderia ser que no trabalho de MADOZ et al. (2014) excluíram do estudo vacas com baixo ECC,

retenção de membranas fetais, abortos e tratamentos intrauterinos ou sistêmicos, podendo assim reduzir a proporção de vacas com endometrite subclínica.

Quanto à estação do ano, que no nosso estudo foi dividida entre quente e fria, não houve diferenças significativas entre os períodos para endometrite subclínica. Diferentemente aos nossos resultados, pesquisadores da Áustria demonstraram que a estação do ano afetou a proporção de PMN, com maiores proporções no inverno (28,3%) do que no outono (20,5%), primavera (17,5%) e verão (23,3%) (PRUNNER et al., 2014). Essa diferença nos resultados pode ter ocorrido devido a divisão das estações entre os estudos, pode ser devido as diferenças climáticas entre Brasil e Áustria ou ainda devido à raça das vacas incluídas nos estudos, que no Brasil foram 100% da raça Holandesa enquanto na Áustria foram 60% Simental, 15,7% Holandesas e 24,3% Pardo-Suíço.

5.2 Indicadores bioquímicos e doenças metabólicas subclínicas

Nosso estudo mostrou que vacas saudáveis pariram com ECC médio de 3,40 enquanto vacas com doenças uterinas apresentaram ECC médio ao parto de 3,17 com uma perda média de ECC durante as seis semanas pós-parto de 0,58 e 0,45 pontos para saudáveis e com doença uterina, respectivamente. Esses resultados mostram que as vacas saudáveis apresentam melhor ECC do que as com doenças uterinas, contrariando estudo anterior que sugere que as vacas devem parir com ECC 2,75 a 3,0 e não perder mais de 0,5 de uma unidade de ECC entre o parto e o primeiro serviço (OVERTON e WALDRON, 2004). Provavelmente animais saudáveis utilizaram suas reservas corporais para a produção leiteira, enquanto vacas com doenças uterinas utilizaram suas reservas para a cura da doença em detrimento da produção, visto que a partir da quarta semana pós-parto o ECC não se difere entre o grupo saudável e com doença uterina. Em estudo anterior com vacas leiteiras o ECC diminuiu aproximadamente 0,6 unidades (GIULIODORI et al., 2011). Esses autores também verificaram que as semanas pós-parto tiveram efeito significativo no ECC, igualmente encontrado em nosso estudo. Em um estudo que analisou o ECC de cinco rebanhos suecos, 13% a 38% das vacas em todos os rebanhos perderam mais de 1,0 unidades de ECC do início da lactação até seis semanas pós-parto (STENGÄRDE et al., 2008). Altos níveis de ECC antes do parto, bem como grandes perdas na condição corporal pós-parto, têm sido associados ao deslocamento do

abomaso, cetose e outras doenças relacionadas ao metabolismo, diminuição da fertilidade e aumento das taxas de descarte (RUKKWAMSUK, KRUIP, WENSING, 1999; MORROW, 1976; DUFFIELD, 2000).

As vacas saudáveis tiveram um escore de condição corporal ao parto superior a vacas com doenças uterinas, e a perda de condição corporal ao longo das seis semanas pós-parto foi superior em vacas saudáveis quando comparadas a com doenças uterinas. Semelhante aos nossos resultados, pesquisadores da Suécia demonstraram que a perda de condição corporal entre 1 e 4 semanas após o parto tendeu a estar relacionada com a condição corporal inicial. O grupo de vacas com maior condição corporal tendeu a perder mais condição corporal do que vacas em condições menores (O'HARA et al., 2016). Em outro estudo comparando vacas confinadas com acesso ao pasto e confinadas (ASTESSIANO et al., 2015), os resultados foram que vacas com acesso ao pasto perderam mais ECC que as confinadas, no nosso estudo essa comparação não foi possível de ser realizada pois houveram diferenças de ECC entre fazendas com o mesmo sistema de produção, sendo o manejo de cada propriedade um provável fator para essa desigualdade, mesmo as propriedades tendo sistemas de produção semelhantes.

Quando comparamos o número de partos com o ECC e a sua variação não verificamos diferenças significativas entre primíparas e múltiparas, resultados que diferem dos encontrados em um estudo realizado no Paraná, em que vacas de primeiro parto perderam mais peso que vacas de segundo parto (PONCHEKI et al., 2015). Em estudo conduzido em Israel, as vacas de maior número de partos perderam mais peso que as de menor número (VAN STRATEN et al., 2008). Essas diferenças encontradas entre o nosso estudo e os anteriores pode ser explicada pelo método de coleta das informações, pois enquanto nós utilizamos o ECC para avaliar a perda de peso, os pesquisadores do Paraná e Israel utilizaram o peso corporal para avaliar as perdas.

Os resultados do nosso estudo que correlacionaram retenção de placenta com ECC, mostraram que animais acometidos tiveram condição corporal semelhantes ao parto, porém da primeira até a quarta semana pós-parto animais com retenção de placenta apresentaram menor ECC, quando comparadas aos animais saudáveis. Esses resultados foram igualmente relatados por Qu et al. (2014), mostrando que vacas com retenção de placenta tinham ECC mais baixos do que as vacas saudáveis até 7 semanas pós-parto e menores do que as vacas com outras doenças uterinas até 2 semanas após o parto. Isso

pode ser explicado pelo decréscimo na ingestão de matéria seca que a retenção de placenta causa nos animais acometidos. Essa relação negativa entre ECC e doença uterina também foi encontrada em nosso estudo para animais acometidos por metrite, igualmente relatado por Hammon et al. (2006) e Galvão et al. (2010).

Em relação aos fatores de risco metabólicos para a endometrite clínica e subclínica, os resultados têm sido controversos. Alguns pesquisadores relataram um efeito do alto balanço energético negativo pré-parto e pós-parto sobre o risco de endometrite (KÖNYVES et al., 2009; KAUFMANN et al., 2010), enquanto outros não (DUBUC et al., 2010b). No nosso estudo não encontramos essa relação no pós-parto. Portanto, não existem dados conclusivos sobre o efeito do balanço energético negativo no risco das endometrites.

Quando comparadas vacas que apresentaram doenças uterinas, na primeira, segunda e terceira semana pós-parto com vacas saudáveis, não encontramos diferenças nas concentrações séricas de colesterol, porém quando comparadas múltíparas e primíparas encontramos uma tendência de maior colesterol para o grupo de primíparas na primeira semana pós-parto, esse resultado pode ser devido a menor produção de leite das primíparas quando comparadas às múltíparas. Em estudo realizado nos Estados Unidos, no dia sete pós-parto, retenção de placenta e vacas com outras doenças uterinas apresentaram concentrações significativamente mais baixas de colesterol do que as vacas saudáveis, uma descoberta que persistiu até 49 dias pós-parto. No dia 21 pós-parto, as vacas com retenção de placenta apresentaram menores concentrações de colesterol sérico do que vacas com outras doenças uterinas. Vacas com mais de dois partos tiveram menores concentrações de colesterol sérico do que vacas de primeiro parto (QU et al., 2014). O colesterol em nosso estudo não se diferiu entre os animais saudáveis e com doenças uterinas, contrariando resultados anteriores que explicam que doenças associadas à inflamação diminuem o colesterol, impedindo o fluxo de colesterol a partir das células (ABENI et al., 2007; VOGEL et al., 2011.), provavelmente o fígado das vacas do nosso estudo não foi tão afetado pelas doenças uterinas, visto que o colesterol não se diferiu entre os grupos assim como não houve diferenças na concentração da AST. As concentrações baixas de colesterol nas primeiras semanas após o parto foram associados com maiores ECC (HOLTENIUS et al., 1986; TOP VAN DEN et al., 2005). No entanto, grande parte da variação no colesterol pode ser explicada pelo consumo de matéria seca

de tal forma que um menor consumo de alimento leva a níveis mais baixos de colesterol, valores mais altos de colesterol pós-parto são indicativos de menor grau de mobilização do tecido adiposo (GURETZKY et al., 2006). Como no nosso estudo a variação do ECC entre vacas saudáveis e com doenças uterinas do parto até a sexta semana pós-parto não se diferiu, essa condição provavelmente influenciou nas concentrações de colesterol entre os grupos.

A incidência de hipocalcemia subclínica em nosso estudo foi de 57,9%, na primeira semana pós-parto, com apenas um animal apresentando hipocalcemia clínica em todo período do estudo. Em estudos anteriores a ocorrência de hipocalcemia subclínica variou. Sedó et al. (2018) em rebanhos a pasto encontraram uma incidência de 27,3% no dia do parto e de 39,3% sete dias após o parto. Fiorentin et al. (2018) em rebanhos confinados e semiconfinados do sul do Brasil encontraram ocorrência de 6,2% e 5,0%, respectivamente. Horst et al. (2003) encontraram uma ocorrência de mais de 50% em vacas com mais de duas lactações. Reinhardt et al. (2011) encontraram ocorrência de 25% e 47% em vacas primíparas e múltiparas, respectivamente, enquanto Martinez et al. (2012) e Caixeta et al. (2015) encontraram 65,5% e 60%, respectivamente, de hipocalcemia subclínica em vacas avaliadas após o parto e Rodrigues et al. (2017) encontraram surpreendentes 78% de ocorrência de hipocalcemia subclínica em rebanhos espanhois. Nós não encontramos efeito do número de partos para a calcemia. Quando comparamos os doenças uterinas, vacas com doenças uterinas tiveram maior incidência de hipocalcemia subclínica em relação as vacas saudáveis. As diferenças de ocorrências entre os estudos, podem estar relacionadas com o ponto de corte para hipocalcemia subclínica, pelo tipo de manejo de cada região, pelo período pós-parto da análise ou pela relação entre esses fatores.

No nosso estudo 75% das vacas que apresentavam metrite puerperal também estavam hipocalcêmicas (15/20). Martinez et al. (2012) encontraram números ainda maiores que os nossos, com 97% dos animais com metrite puerperal e hipocalcemia subclínica. É possível que vacas com metrite não sejam capazes de regular as concentrações séricas de Ca e então foram menos capazes de conter a infecção bacteriana uterina (MARTINEZ et al., 2012). Outra explicação para essa redução na calcemia é que o a transmigração dos neutrófilos requer um aumento do cálcio livre intracelular nas células endoteliais, adjacentes à transmigração leucocitária (PINTO e ROSA, 2013).

A ocorrência de metrite e retenção de placenta foram associadas significativamente com menores níveis de cálcio no nosso estudo. A diferença observada nas concentrações séricas de cálcio após o parto encontrada em nosso estudo entre animais com doenças uterinas e sem doenças uterinas foi previamente relatado (KIMURA et al., 2006; MARTINEZ et al., 2012; BICALHO et al., 2014). Este resultado contraria outros relatórios, onde baixos níveis séricos de cálcio não estavam associados com doenças reprodutivas (DUBUC et al., 2010; CHEONG et al., 2011; NEVES et al., 2018). A hipocalcemia subclínica foi significativamente superior em vacas com doenças uterinas. A provável explicação para associação entre retenção de placenta e metrite com hipocalcemia subclínica é que como a função imune da vaca com hipocalcemia subclínica pode estar comprometida e a contração muscular diminuída (MURRAY et al., 2008), a metrite e a retenção da placenta são mais propensas a ocorrer (MARTINEZ et al., 2012).

Encontramos uma prevalência de cetose subclínica no nosso estudo de 39,2%, 41,5% e 30,4% na primeira, segunda e terceira pós-parto, respectivamente. Em rebanhos suecos essa prevalência variou entre 9% e 33% (STENGÄRDE et al., 2008). Adicionalmente, outros estudos que avaliaram a ocorrência de cetose subclínica nas duas primeiras semanas pós-parto encontraram incidências de 33% até 55,1% (DUFFIELD et al., 1998; OSPINA et al., 2010; e MCART et al., 2012). No Canadá a incidência foi de 16,4% a 35,5% (SANTSCHI et al., 2011), nos Estados Unidos um estudo comparando os dados Pensilvânia e da Virgínia a incidência foi de 5,8% e 19,4% respectivamente (FRIGO et al., 2010), e no Brasil em um estudo comparando sistemas de produção a ocorrência foi de 4% e 5% para o confinamento e semiconfinamento respectivamente (FIORENTIN et al., 2018). As variações nas prevalências e incidências podem ter ocorrido devido a utilização de pontos de corte diferentes ou pelos diferentes métodos para mensurar o metabólito.

Em estudos anteriores, vacas que tiveram metrite eram mais propensas a terem cetose subclínica, com base em tiras de análise de cetonas, em comparação com vacas saudáveis (HAMMON et al., 2006; MACHADO et al., 2012). No nosso estudo, não foram encontradas diferenças nos valores de BHB entre os grupos de vacas com metrite e vacas saudáveis. No entanto, foram encontradas diferenças entre animais que apresentaram retenção de placenta em comparação aos que não apresentaram retenção de placenta.

Martinez et al. (2012) e Bicalho et al. (2014) também não encontraram correlações entre níveis de BHB sanguíneos e metrite.

Quando comparamos os animais diagnosticados com doenças uterinas e saudáveis, encontramos maiores médias de BHB pós-parto para o grupo com retenção de placenta, resultado que vai ao encontro dos dados de ECC de animais com doenças uterinas do nosso estudo, pois vacas que apresentam menor ECC estão sujeitas a maior chances de doenças infecciosas e consequentemente apresentam maior balanço energético negativo, refletindo em aumento de BHB e redução da ingestão de matéria seca (BELL, 1995; HORST et al., 1997). A este respeito, existe uma provável ligação entre alterações metabólicas do periparto na vaca leiteira e imunossupressão (WILLIAMS, 2013; INGVARTSEN e MOYES, 2015). Em estudo realizado no Uruguai comparando vacas sem acesso ao pasto, vacas com acesso durante 6 horas por dia e vacas com acesso durante 9 horas por dia, os pesquisadores encontraram que animais com acesso ao parto apresentaram maiores concentrações de BHB, e a explicação para esse achado é que vacas com acesso ao pasto por mais tempo desenvolvem estresse metabólico (ASTESSIONO et al., 2015). No nosso estudo não foi possível realizar essa análise devido às diferenças existentes entre as propriedades sob o mesmo sistema de produção.

5.3 Temperatura retal e doenças clínicas

O intervalo de referência da temperatura corporal de bovinos foi reportada como $38,6 \pm 0,5$ °C (ANDERSSON e JÓNASSON, 1993); no entanto, o limite acima do qual a temperatura retal de uma vaca no pós-parto é considerada febril varia consideravelmente. Em um estudo sobre tratamento de metrite, Smith et al. (1998) consideraram febre uma temperatura retal $> 39,2$ °C, outros estudos de metrite e retenção de placenta utilizaram limiares de temperatura retal $> 39,5$ °C (STEVENS et al., 1995; DRILLICH et al., 2001, SHELDON et al., 2006) e $39,7$ °C (DINSMORE et al., 1996; SHELDON et al., 2004). Entretanto temperatura retal usada em programas de monitoramento têm divergido entre vacas primíparas ($39,4$ °C) e vacas múltiparas ($39,7$ °C) (KRISTULA et al, 2001). Diante disso, encontramos em nosso estudo diferenças entre a temperatura retal para os animais saudáveis e doentes (doentes temperatura retal superiores aos saudáveis), diferenças entre vacas que apresentaram estruturas ovarianas

(menor temperatura retal maior chance de apresentar estruturas) e, por fim, a época do ano influenciou na temperatura retal (na época quente a temperatura retal foi superior à época fria). A temperatura retal em relação às doenças uterinas, os nossos achados foram semelhantes aos encontrados por Suthar et al. (2012) que encontraram valores de temperatura retal 0,8 °C superiores em animais com metrite e as diferenças entre inverno e verão na temperatura retal são similares ao que cita o mesmo estudo. A temperatura retal normal do gado leiteiro no período pós-parto imediato, durante os meses quentes de verão, é potencialmente maior do que o normal.

A maior proporção de doenças clínicas que necessitaram de intervenção (64,2%) ocorreu nas duas primeiras semanas pós-parto, resultado superior ao encontrado por Suthar et al. (2011) que diagnosticaram 50% das vacas doentes durante os primeiros 10 dias de lactação. Quanto à frequência das doenças temos a mastite clínica, doenças do sistema locomotor e deslocamento de abomaso sendo as de maior ocorrência. Em uma metanálise de estudos realizada por Kelton et al. (1998), a mastite clínica teve uma frequência entre 1,7% a 54,6%, doenças locomotoras entre 1,8% a 30% e deslocamento de abomaso entre 0,3% e 6,3%. Em outros estudos, a frequência de mastite foi de 4,3% a 30,5%, problemas locomotores de 3,7% a 15,7% e deslocamento de abomaso de 0,24% a 2,34% (FRIGO et al., 2010; BARLETTA et al., 2017; ZINICOLA et al., 2018). Acreditamos que existem tamanhas variações principalmente pelo tipo de manejo que é adotado em cada propriedade.

5.4 Taxa de concepção

Em nosso estudo a taxa de concepção no primeiro serviço para todos os animais do estudo foi de 34,2%. Estudos anteriores realizados no Brasil mostraram taxas de concepção semelhantes, com valores de 35,8% em Minas Gerais (BARBOSA et al., 2011), inferiores com valores de 26,4% no Rio Grande do Sul (KRAUSE et al., 2011) e superiores com valores de aproximadamente 50% no Goiás (SILVA et al., 2014). Em outros estudos, a taxa de concepção variou entre 41,7% a 49,7% nos Estados Unidos (SOUZA et al., 2008), 34,4% a 38,5% na Espanha (BACH, PINTO e BLANCH, 2015) e 35% a 42% na Suécia (ORDELL et al., 2016). Nesses últimos três trabalhos, o intervalo entre o parto e a primeira inseminação artificial foi em torno de 90 dias, valores superiores

aos nossos que foram em torno de 60 dias pós-parto, o que pode ter proporcionado um melhor ambiente uterino para o estabelecimento da gestação.

Adicionalmente, nós não detectamos efeito do número de utilizações do dispositivo intravaginal de progesterona nos índices reprodutivos analisados. Observou-se que estes dispositivos puderam ser reutilizados sem prejuízo para os resultados, semelhante ao que foi observado por Barbosa et al. (2011) e que se diferiu dos relatos de Dias et al. (2009) ao trabalharem com novilhas Nelore. Estes autores encontraram maior taxa de prenhez após IATF em animais tratados com dispositivo intravaginal de terceiro uso. Acrescenta-se também que o escore de condição corporal de lactação ideal para o retorno bem-sucedido ao estro e o estabelecimento da gestação parece estar entre 3,0 e 3,5 (ROCHE et al., 2009). No nosso estudo, o ECC na semana anterior ao início do protocolo de IATF não afetou a taxa de concepção. Quanto à presença ou ausência de estruturas no ovário observadas na nossa pesquisa, elas não afetaram os resultados de taxas de concepção, o que confirma os resultados de Martel (2008), Souza et al. (2009) e Barbosa et al. (2011) que não encontraram diferença na taxa de concepção das vacas com presença ou ausência de estruturas ovarianas. Em nosso estudo encontramos apenas uma tendência na quarta semana dos animais confinados apresentarem ovários mais ativos em comparação aos animais confinados com acesso ao pasto, achados semelhantes aos reportados por Astessiano et al. (2015), afirmaram que vacas confinadas com acesso ao pasto têm balanço energético negativo mais pronunciado impactando negativamente a função reprodutiva e o retorno à ciclicidade, contrariando a maioria das pesquisas que comparam vacas a pasto com confinadas. Em outro estudo que comparou ovulação de vacas, animais sem ovulação apresentaram menor ECC do que as normais (GIULIODORI et al., 2011).

Quando analisada a temperatura do ambiente, nosso estudo não encontrou diferenças significativas entre as estações, porém numericamente as vacas apresentaram melhor desempenho reprodutivo no clima frio. Esse resultado é semelhante a maioria dos estudos encontrados na literatura (GONZÁLEZ et al., 1993; ORR et al., 1993; VALTORTA e GALLARDO, 1996; BARBOSA et al., 2011; AYRES et al., 2014, BONATO et al., 2014; PEREIRA et al., 2015). Esses estudos avaliaram diferentes raças de vacas e em todos os efeitos deletérios do calor foram evidentes. Sabe-se há anos dos efeitos drásticos e potencialmente letais na estabilidade das proteínas e nas funções das

membranas celulares em vacas com estresse calórico, assim os ovócitos, os espermatozoides e o embrião são incapazes de manter as funções normais quando submetidos a temperaturas que causem estresse calórico e, desse modo, a gestação é interrompida quando essas células são expostas à hipertermia materna (HANSEN e ARÉCHIGA, 1999).

Para os parâmetros sanguíneos BHB, cálcio e colesterol nós não encontramos diferenças na taxa de concepção, apenas encontramos uma tendência na correlação entre colesterol na segunda semana e gestação. Alguns estudos encontraram associações negativas com indicadores de desempenho reprodutivo e a calcemia (MARTINEZ et al., 2012; CAIXETA et al., 2017), enquanto outros não relataram associação (CHAMBERLIN et al., 2013; GILD et al., 2015; RODRÍGUEZ et al., 2017). Diferentemente da maioria dos estudos que confirmam os efeitos negativos do alto BHB na eficiência reprodutiva (BUTLER, 2003; WALSH et al., 2007; OSPINA et al., 2010; MCART et al., 2012; RUTHERFORD et al., 2016) nós não encontramos associações. Complementando os nossos resultados, uma ampla metanálise foi realizada por Raboisson et al. (2014), e a associação entre o desempenho reprodutivo e a BHB não tem sido extensivamente estudada; portanto, a precisão dos resultados propostos em relação ao desempenho reprodutivo é considerada baixa. A maioria das relações entre os diferentes indicadores reprodutivos foi quantificada em apenas um ou dois estudos. Eles ainda concluem que mais estudos sobre as associações entre BHB e desempenho reprodutivo devam ser realizados. Além disso, em um estudo realizado na Argentina, a taxa de concepção na primeira inseminação artificial foi reduzida em animais que apresentaram endometrite subclínica, no entanto, não foi estatisticamente significativo. As vacas de duas ou mais lactações apresentaram menor chance de gestação quando comparadas aos animais de primeira (MADOZ et al., 2013). Igualmente aos resultados apresentados, no nosso estudo houve diferença na taxa de concepção quando comparadas multíparas e primíparas, havendo também diferenças significativas quando comparadas primíparas confinadas com primípara confinadas com acesso ao pasto. A possível explicação para esses resultados é que as primíparas com acesso ao pasto são as que apresentaram balanço energético negativo mais acentuado. Butler (2000) explicou que o balanço energético negativo está relacionado à menor capacidade de consumo de energia, quanto maior o balanço energético negativo (tempo e intensidade), pior o desempenho

reprodutivo no início da lactação. Ainda sobre o desempenho reduzido de primíparas a pasto, Roche (2006) afirmou que ECC excessivamente alto no parto e perdas bruscas estão associados com resposta reprodutiva insatisfatória. Outro resultado interessante foi apresentado por Santos et al. (2009), que concluíram que a produção diária de leite não impactou na concepção, no entanto, uma perda acentuada de ECC entre o parto e a inseminação teve um impacto negativo nas taxas de prenhez.

Quando agrupado o resultado global da taxa de concepção, os resultados mostram que as primíparas tiveram maior taxa de concepção (41,88%) quando comparadas às múltiparas (30,26%). Nossos resultados são semelhantes a estudos anteriores, demonstrando que primíparas tem melhor desempenho reprodutivo que múltiparas (TENHAGEN et al., 2004; SOUZA et al., 2008; SANTOS et al., 2009). Em relação à endometrite subclínica, não houve diferença entre animais que apresentaram essa enfermidade na quarta e na sexta semana quando comparadas a vacas saudáveis. Nossos dados também discordam dos resultados de estudos anteriores que relataram efeitos prejudiciais da endometrite subclínica na reprodução (KASIMANICKAM et al., 2004; GALVÃO et al., 2009; KAUFMANN et al., 2009; PLÖNTZKE et al., 2010). Os autores afirmam que efeitos deletérios sobre a reprodução causados pela endometrite subclínica poderia ser através da perturbação do ambiente uterino (BONDURANT, 1999; SHELDON e DOBSON, 2004), por exemplo, através de uma alteração na síntese endometrial de prostaglandinas (GABLER et al., 2009). ou fator de crescimento epidérmico (KATAGIRI e TAKAHASHI, 2004).

Na nossa pesquisa não houve diferenças detectadas no risco de concepção no primeiro serviço para o tipo de parto, número de partos, metrite puerperal, endometrite clínica e época do ano, sendo semelhantes aos resultados encontrados na Flórida, diferindo apenas na sazonalidade, que em épocas frias a chances de concepção na primeira inseminação artificial foi maior que nas quentes (BENZAQUEN et al., 2007) e no nosso estudo essa diferença não foi significativa. Houve, porém tendência de pior desempenho reprodutivo para vacas que apresentaram endometrite clínica na quinta e sexta semana, números semelhantes à maioria das pesquisas que associam endometrite com um pior desempenho reprodutivo (FOURICHON et al., 2000; LEBLANC et al., 2002; GILBERT et al., 2005; MCDUGALL et al., 2007; BARLUND et al., 2008; RUNCIMAN et al., 2008; GAUTAM et al., 2010; PLONTZKE et al., 2010; DUBUC et

al., 2011; GIULIODORI et al., 2013; GIULIODORI et al., 2017). Acreditamos que se houvesse maior número de animais amostrados conseguiríamos evidenciar com diferenças significativas o efeito da endometrite clínica na reprodução. Um fato interessante em relação às infecções uterinas é que existe um consenso geral sobre seus efeitos prejudiciais no desempenho reprodutivo, mas nenhuma definição padrão foi aceita universalmente (GILBERT et al., 2005; BARLUND et al., 2008). Acreditamos que a melhor forma para encontrar os efeitos deletérios das doenças uterinas sobre a reprodução seja através da análise da curva de sobrevivência, porém no nosso estudo não realizamos esse modelo de pesquisa.

5.5 Mortalidade e descarte

O nível de mortalidade na produção de vacas leiteiras deve ser o menor possível, com números inferiores a 4,8% (MCCONNEL et al., 2008). Thomsen e Houe (2006) revisaram 19 estudos que descreveram mortalidade em vacas leiteiras 1965 a 2006 e encontraram que a mortalidade média foi de 1 a 5%. Nos Estados Unidos, a mortalidade das vacas leiteiras manteve-se em 1 a 2% no período de 1930 a 1990 (SHAHID, 2015). No entanto, estudos recentes indicaram taxas de mortalidade relativamente mais elevadas. Pinedo et al. (2010) estudaram 2.054 rebanhos de 38 estados dos Estados Unidos e encontraram uma taxa de mortalidade de 6,6% para as vacas que pariram entre 2001 e 2006. Da mesma forma, Alvåsen et al. (2012) documentaram que a mortalidade nos rebanhos leiteiros suecos aumentou gradualmente de 5,1% em 2002-2003 para 6,6% em 2009-2010. Em outros países, a taxa de descarte e mortalidade variou de 21,3% na Irlanda (MAHER et al., 2008), 40% na Austrália (DA, 2018), 25,4% nos Países Baixos (NOR et al., 2014), 10-26% na Espanha (FOUZ et al., 2014; AREMENGOL e FRAILE, 2018), 22,6-30 % no Reino Unido (WHITAKER et al., 2004; BELL et al., 2010) e entre 28,2-33,5% no Canadá (CDIC, 2018). A mortalidade tem sido relatada como uma das razões de descartes em propriedades leiteiras (PINEDO et al., 2010), aumentando assim as preocupações sobre o bem-estar da vaca leiteira. Em duas fazendas comerciais do Canadá e uma dos Estados Unidos em sistema de *free-stall* a taxa de descarte até os 35 dias de lactação foi de 2,9% e a taxa de mortalidade foi de 2,1% (DUBUC, et al., 2010). Semelhante aos dados encontrados em outros países, a taxa de descarte e mortalidade em

nosso estudo foi de 6,3% e 1,8% respectivamente. Não encontramos diferenças na taxa de descarte e mortalidade entre os sistemas de produção, contrariando estudos anteriores que mostraram uma mortalidade inferior em rebanhos com acesso a pastagem (ALVÁSEN et al., 2012), diferença que pode ser explicada pelo número inferior de animais contemplado no nosso estudo, pelo tamanho reduzido de animais nas propriedades que podem dar mais assistência aos animais e por tenderem a descartar menos vacas devido à pouca reposição ou ainda pelo aumento do número de animais no rebanho. A proporção de vacas mortas pode ser uma consequência de diferenças sociopsicológicas entre países e regiões em termos de práticas em torno da eutanásia e morte (BOULTON et al., 2017). Ao nível da vaca, a mortalidade mais elevada foi associada com a produção de leite inferior (PINEDO et al., 2010) e aumento do número de partos (RABOISSON et al., 2011), semelhante aos dados do nosso estudo no qual vacas múltiparas apresentaram maiores taxas de descarte e mortalidade.

5.6 Bem-estar animal

Os resultados do nosso estudo demonstraram que animais em sistema de confinamento com acesso ao pasto tem pior desempenho produtivo para alguns parâmetros que foram possíveis ser analisados quando comparado com a maioria dos estudos a respeito que comparam animais com e sem acesso à pastagem (WASHBURN et al., 2002; REGULA et al., 2004; MATTIELLO et al., 2009; BUROW et al., 2011; DECHOW et al., 2011; OSTOJIC-ANDRIĆ et al., 2011; BOND, et al., 2012; MADDOZ et al., 2013; POPESCU et al., 2013). Essas diferenças podem ter ocorrido porque muitas pesquisas que comparam as associações foram realizadas em regiões de clima temperado e subárticos, onde mesmo no verão a temperatura ambiente não atinge níveis tão elevados quando comparados ao Brasil e onde os sistemas de produção diferem com relação ao manejo. O único trabalho que está em concordância com o nosso foi realizado no Uruguai onde os sistemas de produção comparados foram semelhantes e o clima é igualmente comparável (ASTESSIANO et al., 2015). Para tanto, minimizar os efeitos prejudiciais do ambiente sobre os animais em países de clima tropical e subtropical deve ser uma preocupação constante (LEME et al., 2005), porque vacas leiteiras de alta produção são mais sensíveis aos efeitos do estresse térmico, e em condições ambientais estressantes,

vacas de produção elevada podem ter o seu consumo alimentar mais reduzido, não tendo as suas necessidades nutricionais atendidas, implicando em queda na produtividade (COLLIER et al., 2006; KADZERE et al., 2002). Como as vacas do presente estudo são animais de alta produção, é preciso reavaliar o manejo do sistema de confinamento com acesso ao pasto se ele atende as necessidades dos animais de conforto e produtividade. Diante de alguns resultados contraditórios faz-se necessária uma análise mais profunda a respeito do efeito do manejo na produção animal, pois somente o clima não teria efeitos tão deletérios na produtividade de vacas supostamente em um sistema de produção mais sustentável e que propicia um ambiente mais confortável e que atende as preferências dos animais.

Historicamente, os ganhos na produção de leite se originam, em parte, da seleção e do melhoramento genético (50-66%) e o restante dos avanços em nutrição e manejo (VANRADEN, 2004; SHOOK, 2006). Em uma revisão sobre bem-estar de vacas leiteiras, afirma-se que o sistema de produção leiteiro atual tem desenvolvido vacas estressadas, nas quais os controles biológicos normais são sobrecarregados (BROOM, 1999; OLTENACU e BROOM, 2010). Entretanto, o ciclo das fazendas leiteiras demonstrou que o aumento da produtividade é um componente importante para melhorar tanto a sustentabilidade quanto a lucratividade (GERBER et al., 2011; CAPPER e BAUMAN, 2013; FAO, 2013). Para que qualquer sistema seja verdadeiramente sustentável, ele deve, por definição, ser eficiente e, hoje, os rebanhos leiteiros com alta produção também têm excelente fertilidade, baixa contagem de células somáticas e problemas metabólicos mínimos (SANTOS et al., 2010; BAUMAN e CAPPER, 2011; FERGUSON e SKIDMORE, 2013). Inquestionavelmente, ao invés dos controles biológicos das vacas de alta produção estarem em desacordo com o aumento do desempenho, são as melhorias nos sistemas do controle biológico, práticas de manejo e a presença de estresse mínimo que permitem o aumento na produção de leite e ganhos na eficiência produtiva. De fato, quando ocorre um desequilíbrio, o bem-estar e o desempenho dos animais ficam comprometidos, ou seja, a produção de leite ideal e eficiente só pode ser alcançada quando o estresse é mínimo ou ausente, enquanto a presença de estresse impede a produção máxima porque aumenta os custos de manutenção e comprometem o bem-estar (BAUMGARD et al., 2017). Por isso acreditamos que mais estudos que comparam confinamento com acesso ao pasto com confinamento devam ser

realizados para elucidar as diferenças de manejo que estão ocorrendo quando mesclamos pastagens com *free-stall*, sendo que vacas leiteiras estão adaptadas para responderem a alta produção sem prejuízos para a saúde animal (BAUMAN e ELLIOT, 1983; VERNON, 1989; BELL, 1995; CHILLIARD, 1999; DRACKLEY, 1999; MCNAMARA, 2015). Nós não podemos afirmar que o sistema de produção influencia negativamente na saúde dos animais, porém existem indícios desses efeitos nocivos, para tanto, mais estudos com um número maior de fazendas e animais é proposto para que caso existam erros entre os sistemas produtivos, que elas sejam descobertos para adotarmos um melhor manejo havendo ganhos na produção, saúde e bem-estar animal.

6 CONCLUSÃO

Os objetivos desse estudo foram determinar a ocorrência da retenção de placenta, metrite, endometrite clínica e subclínica em fazendas do Rio Grande do Sul mediante uso do Metricheck e *cytobrush*. Além disso, determinar parâmetros metabólicos de vacas com diferentes graus de metrite e endometrite, bem como comparar taxa de concepção de animais saudáveis em relação aos animais que apresentaram doenças uterinas.

As vacas criadas sob os sistemas de produção mais comuns na região da Serra do Rio Grande do Sul possuem prevalências de doenças uterinas de 18,3% para retenção de placenta, 32,3% para metrite, 40,1% para endometrite clínica e 37,1% para endometrite subclínica. As incidências de metrite foram de 22,6%, 8,6% e 1% para primeira, segunda e terceira semana pós-parto respectivamente. As incidências de endometrite clínica foram de 33,7%, 5,3% e 2,5% para a quarta, quinta e sexta semana pós-parto. E por fim, as incidências de endometrite subclínica foram de 22,9% e 14,2% para a quarta e sexta semana pós-parto.

Os dados dessa pesquisa ainda demonstraram que indicadores metabólicos como cálcio, beta-hidroxibutirato e colesterol têm maior relação com casos de retenção de placenta e metrite. O escore de condição corporal é um método eficaz de monitoramento do balanço energético negativo acentuado e está relacionado com doenças uterinas e metabólicas.

Quanto à taxa de concepção, foram encontradas diferenças entre vacas primíparas que apresentaram melhor desempenho, quando comparadas com vacas múltíparas. Também se observam diferenças entre os sistemas de produção, de forma que os animais em confinamento com acesso ao pasto tiveram índices de gestação reduzidos na primeira inseminação artificial em relação às vacas em sistema de confinamento. E, por fim, apenas a endometrite clínica causou uma tendência de pior desempenho reprodutivo.

As vacas da serra do Rio Grande do Sul, Brasil, apresentam índices produtivos semelhantes aos de outras regiões do mundo, sendo as doenças uterinas um fator limitante na produção leiteira e que afeta o bem-estar animal. Mais estudos a respeito dos sistemas de produção brasileiros são propostos para elucidar questões de produção e saúde animal.

REFERÊNCIAS

- ABENI, F.; CALAMARI, L.; STEFANINI, L. Metabolic conditions of lactating Friesian cows during the hot season in the Po valley. 1. Blood indicators of heat stress. **International Journal of Biometeorology**, Amsterdam v. 52, n. 2, p. 87-96, Dec. 2007.
- ALVÅSEN, K. et al. Herd-level risk factors associated with cow mortality in Swedish dairy herds. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 95, n. 8, p. 4352-4362, Aug. 2012.
- ANDERSSON, B. E.; JÓNASSON, H. Temperature Regulation and Environmental Physiology, **Dukes' Physiology of Domestic Animals**. 1993.
- ARAVE, C. W., MILLER, R. H, LAMB, R. C. Genetic and environmental effects on serum cholesterol of dairy cattle of various ages. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 58, n. 3, p. 423-427. Mar. 1975.
- AREMENGOL R.; FRAILE L. F. Descriptive study for culling and mortality in five high-producing Spanish dairy cattle farms (2006–2016). **Acta Veterinaria Scandinavica**, Copenhagen, v. 60, n. 1, p. 45. July. 2018.
- ASTESSIONO, A. L. et al. Metabolic and endocrine profiles and hepatic gene expression of Holstein cows fed total mixed ration or pasture with different grazing strategies during early lactation. **Acta Veterinaria Scandinavica**, Copenhagen, v. 57, n. 1, p. 70, Oct. 2015.
- AYRES, G. F et al. Efeito da estação do ano sobre a taxa de concepção e perda gestacional em vacas leiteiras mestiças. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n.2, p. 866-872, Out. 2014.
- BACH, A.; PINTO, A.; BLANCH, M. Association between chelated trace mineral supplementation and milk yield, reproductive performance, and lameness in dairy cattle. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 182, p. 69-75, Dec. 2015.
- BARBOSA, C. F. et al. Inseminação artificial em tempo fixo e diagnóstico precoce de gestação em vacas leiteiras mestiças. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 40, n. 1, p. 79-84, jan. 2011.
- BARLUND, C. S. et al. A comparison of diagnostic techniques for postpartum endometritis in dairy cattle. **Theriogenology**, Stoneham, v. 69, n. 6, p. 714-723, Apr. 2008.
- BARLETTA, R. V. et al. Association of changes among body condition score during the transition period with NEFA and BHBA concentrations, milk production, fertility, and health of Holstein cows. **Theriogenology**, Stoneham, v. 104, p. 30-36, Dec. 2017.

BARTLETT, P. C. et al. Metritis complex in Michigan Holstein-Friesian cattle: incidence, descriptive epidemiology and estimated economic impact. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 4, n. 3, p. 235-248, Oct. 1986.

BAUMAN, D. E.; ELLIOT, J. M. Control of nutrient partitioning in lactating ruminants. **Biochemistry of Lactation**, Amsterdam, v. 14, p. 437-468, June. 1983.

BAUMAN, D. E.; CAPPER, J. L. Future challenges and opportunities in animal nutrition. *In: 26th Annual Southwest Nutrition & Management Conference Proceedings*. Tempe, Feb. 2011, p. 70-84.

BAUMGARD, L. H.; COLLIER, R. J.; BAUMAN, D. E. A 100-Year Review: Regulation of nutrient partitioning to support lactation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 100, n. 12, p. 10353-10366, Dec. 2017.

BELL, A. W. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 73, n. 9, p. 2804-2819, Sep.1995.

BELL, M. J. et al. Risk factors for culling in Holstein-Friesian dairy cows. **Veterinary Record**, London, v. 167, n. 7, p. 238-240, Aug. 2010.

BENDIXEN, P. H. et al. Disease frequencies of tied zero-grazing dairy cows and of dairy cows on pasture during summer and tied during winter. **Preventive veterinary medicine**, Amsterdam, v. 4, n. 4, p. 291-306, Dec. 1986.

BENZAQUEN, M. E. et al. Rectal temperature, calving-related factors, and the incidence of puerperal metritis in postpartum dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, n. 6, p. 2084-2814, June. 2007.

BEWLEY, J. M.; SCHUTZ, M. M. An interdisciplinary review of body condition scoring for dairy cattle. **The Professional Animal Scientist**, Champaign, v. 24, n. 6, p. 507-529, Dec. 2008.

BICALHO, M. L. S. et al. Association between virulence factors of *Escherichia coli*, *Fusobacterium necrophorum*, and *Arcanobacterium pyogenes* and uterine diseases of dairy cows. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 157, n. 1, p. 125-131, May. 2012.

BICALHO, M. L. S. et al. Effect of trace mineral supplementation on selected minerals, energy metabolites, oxidative stress, and immune parameters and its association with uterine diseases in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 97, n. 7, p. 4281-4295, July. 2014.

BONATO, G. L. et al. Sazonalidade da temperatura retal e da taxa de concepção de vacas Jersey leiteiras. **Boletim de Indústria Animal**, Nova Odessa, v.71, n.2, p.143-146, Fev. 2014

BOND, G. B. et al. Métodos de diagnóstico e pontos críticos de bem-estar de bovinos leiteiros. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 7, July. 2012.

BONDURANT, R. H. Inflammation in the bovine female reproductive tract. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 77, n. 2, p. 101-110, Feb. 1999.

BONNETT, B. N.; MARTIN, S. W.; MEEK, A. H. Associations of clinical findings, bacteriological and histological results of endometrial biopsy with reproductive performance of postpartum dairy cows. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 15, n. 2, p. 205-220, Feb. 1993.

BOULTON, A. C.; RUSHTON, J.; WATHES, D. C. An empirical analysis of the cost of rearing dairy heifers from birth to first calving and the time taken to repay these costs. **Animal**, Mountain View, v. 11, n. 8, p. 1372-1380, Jan. 2017.

BROOM, D. M. The welfare of dairy cattle. In: **25th International Dairy Congress**, Aarhus, p. 32–39, Sep. 1999.

BRUUN, J.; ERSBØLL, A. K.; ALBAN, L. Risk factors for metritis in Danish dairy cows. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 54, n. 2, p. 179-190, Mar. 2002.

BUROW, E. et al. The effect of grazing on cow mortality in Danish dairy herds. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 100, n. 3-4, p. 237-241, Apr. 2011.

BUTLER, W. R. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 60, p. 449-457, July. 2000.

BUTLER, W. Ronald. Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 83, n. 2-3, p. 211-218, Apr. 2003.

BUTLER, W. R. Efeito do balanço energético negativo na fertilidade de vacas leiteiras. *In: Anais do VII Curso de Novos Enfoques na Produção e Reprodução de Bovinos*, Uberlândia, Mar. 2004.

CAI, T. Q. et al. Association between neutrophil functions and periparturient disorders in cows. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v. 55, n. 7, p. 934-943, July. 1994.

CAIXETA, L. S. et al. The association of subclinical hypocalcemia, negative energy balance and disease with bodyweight change during the first 30 days post-partum in dairy cows milked with automatic milking systems. **The Veterinary Journal**, v. 204, n. 2, p. 150-156, Jan. 2015.

CAIXETA, L. S. et al. Association between subclinical hypocalcemia in the first 3 days of lactation and reproductive performance of dairy cows. **Theriogenology**, Stoneham, v. 94, p. 1-7, Jan. 2017.

CAPPER, J. L.; BAUMAN, D. E. The role of productivity in improving the environmental sustainability of ruminant production systems. **Annul Review of Animal Biosciences.**, v. 1, n. 1, p. 469-489, Jan. 2013.

CDIC. The Canadian Dairy Information Centre (CDIC). Disponível em: <http://dairyinfo.gc.ca/>. Acesso em: 20 jan. 2019.

CHAMBERLIN, W. G. et al. Subclinical hypocalcemia, plasma biochemical parameters, lipid metabolism, postpartum disease, and fertility in post parturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 96, n. 11, p. 7001-7013, Aug. 2013.

CHAPINAL, N.; DE PASSILLE, A. M.; RUSHEN, J. Correlated changes in behavioral indicators of lameness in dairy cows following hoof trimming. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 93, n. 12, p. 5758-5763, Sep. 2010.

CHAPINAL, N. et al. The association of serum metabolites with clinical disease during the transition period. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 94, n. 10, p. 4897-4903, June. 2011.

CHENAULT, J. R. et al. Efficacy of ceftiofur hydrochloride sterile suspension administered parenterally for the treatment of acute postpartum metritis in dairy cows. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Chicago, v. 224, n. 10, p. 1634-1639, May. 2004.

CHILLIARD, Y. Metabolic adaptations and nutrient partitioning in the lactating animal. **Biology of Lactation**, Saint-Genès-Champanelle, p. 503-552, 1999.

CHILIBROSTE, P. et al. Short term fasting as a tool to design effective grazing strategies for lactating dairy cattle: a review. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, Collingwood, v. 47, n. 9, p. 1075-1084, Jan. 2007.

CHEONG, S. H. et al. Cow-level and herd-level risk factors for subclinical endometritis in lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 94, n. 2, p. 762-770, Feb. 2011.

CHUNG, Y. M et al. Effects of prepartum dietary carbohydrate source and monensin on periparturient metabolism and lactation in multiparous cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 91, v. 7, p. 2744-2758, July. 2008.

CLARK, C. E. F. et al. The use of indicators to assess the degree of mobilization of body reserves in dairy cows in early lactation on a pasture-based diet. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 94, n. 3, p. 199-211, July. 2005.

COLLIER, R. J.; DAHL, G. E.; VANBAALE, M. J. Major advances associated with environmental effects on dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, n. 4, p. 1244-1253, Apr. 2006.

COMPTON, C. W. R. et al. Invited review: A systematic literature review and meta-analysis of mortality and culling in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 1, p. 1-16, Jan. 2017.

CORREA, M. T.; ERB H.; SCARLETT J. Path analysis for seven postpartum disorders of holstein cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 76, n. 5, p. 1305-1312, May. 1993.

CURTIS, C. R. et al. Association of parturient hypocalcemia with eight periparturient disorders in holstein cows. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Chicago, v. 183, n. 5, p. 559-561, Sep. 1983.

CURTIS, C. R. et al. Path analysis of dry period nutrition, postpartum metabolic and reproductive disorders, and mastitis in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 68, n. 9, p. 2347-2360, Sep. 1985.

DA. National service body for the Australian dairy industry. Dairy Australia. 2018. Disponível em: <https://www.dairyaustralia.com.au/>. Acesso em: 20 jan. 2019.

DECHOW, C. D.; SMITH, E. A.; GOODLING, R. C. The effect of management system on mortality and other welfare indicators in Pennsylvania dairy herds. **Animal Welfare**, v. 20, n. 2, p. 145-158, May. 2011.

DELAZARI, J. A. Desempenho reprodutivo, concentrações de progesterona e metabólitos lipídicos no pós-parto de vacas mestiças holandesas-zebu submetidas a uma dieta hiperlipidêmica. 1996. 74 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1996.

DIAS, C. C. et al. Progesterone concentrations, exogenous eCG and timing of prostaglandin F2a treatment affect fertility in postpuberal Nelore heifers. **Theriogenology**, Stoneham, v. 72, p. 378-85, Aug. 2009.

DINSMORE, R. P. et al. Oxytetracycline residues in milk after intrauterine treatment of cows with retained fetal membranes. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Chicago, v. 209, n. 10, p. 1753-1755, Nov. 1996.

DRACKLEY, J. K. Biology of dairy cows during the transition period: The final frontier? **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 82, n. 11, p. 2259-2273. Nov. 1999.

DRILLICH, M. et al. Evaluation of a systemic antibiotic treatment of toxic puerperal metritis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 84, n. 9, p. 2010-2017, Sep. 2001.

DRILLICH, M. Aetiology and therapy of retained fetal membranes in cattle-an overview on recent literature. **Wiener Tierärztliche Monatsschrift**, Wien, v. 98, n. 9-10, p. 195-202, 2011.

DUBUC, J. et al. Risk factors for postpartum uterine diseases in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 93, n. 12, p. 5764-71, Dec. 2010a.

DUBUC, J. et al. Definitions and diagnosis of postpartum endometritis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 93, n. 11, p. 5225-5233, Nov. 2010b.

DUBUC, J. et al. Effects of postpartum uterine diseases on milk production and culling in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 94, n. 3, p. 1339-1346, Mar. 2011.

DUFFIELD, T. F. et al. Efficacy of monensin for the prevention of subclinical ketosis in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 81, n. 11, p. 2866-2873, Nov. 1998.

DUFFIELD, T. F. Subclinical ketosis in lactating dairy cattle. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 16, n. 2, p. 231-253, July. 2000.

DUFFIELD, T. F. et al. Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, n. 2, p. 571-580. Feb. 2009.

EDMONSON, A. J. et al. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 72, n. 1, p. 68-78, Jan. 1989.

ERB, H. N.; MARTIN, S. W. Age, breed and seasonal patterns in the occurrence of ten dairy cow diseases: a case control study. **Canadian Journal of Comparative Medicine**, Ottawa, v. 42, n. 1, p. 1, Jan. 1978.

FAO. in: GERBER P. J., HENDERSON B., MAKKAR H. P. S. (Eds.) **Mitigation of Greenhouse Gas Emissions in Livestock Production**. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Italy; 2013.

FAYE, B. et al. Continuing eco-pathological survey: 10. Variation of pathological frequency in dairy cow stock as a function of season, year and number of lactations. **Annals of Veterinary Research**, Paris, v. 17, n. 3, p. 233-246, 1986.

FERGUSON, J. D.; GALLIGAN, D. T.; THOMSEN, N. Principal descriptors of body condition score in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 77, n. 9, p. 2695-2703, Sep. 1994.

FERGUSON, J. D.; SKIDMORE, A. Reproductive performance in a select sample of dairy herds. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 96, n. 2, p. 1269-1289, Feb. 2013.

FETROW, J. Mastitis: An economic consideration. In: **Annual meeting-national mastitis council incorporated**. **National Mastitis Council**; p. 3-47. 1999, Feb. 2000.

FRASER, D.; MATTHEWS, L. R. Preference and motivation testing. **The Humane Society Institute for Science and Policy Animal Studies Repository**, New York, p. 159-173, 1997.

FIorentin, E. L. et al. Occurrence of subclinical metabolic disorders in dairy cows from western Santa Catarina state, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 38, n. 4, p. 629-634, Abr. 2018.

FOURICHON, C.; SEEGERs, H.; MALHER, X. Effect of disease on reproduction in the dairy cow: a meta-analysis. **Theriogenology**, Stoneham, v. 53, n. 9, p. 1729-1759, June. 2000.

FOUZ, R. et al. Causas de eliminación en rebaños bovinos lecheros de raza frisona en Control Lechero Oficial. **Información Técnica Económica Agraria**, Zaragoza, v. 110, n. 2, p. 171-186, jun. 2014.

FRIGO, E. et al. The genetic relationship of body weight and early-lactation health disorders in two experimental herds. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 93, n. 3, p. 1184-1192, Mar. 2010.

GABLER, C. et al. Endometrial expression of selected transcripts involved in prostaglandin synthesis in cows with endometritis. **Theriogenology**, Stoneham, v. 71, n. 6, p. 993-1004, Apr. 2009.

GALVÃO, K. N. et al. Effect of intrauterine infusion of ceftiofur on uterine health and fertility in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, n. 4, p. 1532-1542, Apr. 2009.

GALVÃO, K. N. et al. Association between uterine disease and indicators of neutrophil and systemic energy status in lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 93, n. 7, p. 2926-2937, July. 2010.

GAUTAM, G. et al. Spontaneous recovery or persistence of postpartum endometritis and risk factors for its persistence in Holstein cows. **Theriogenology**, Stoneham, v. 73, n. 2, p. 168-179, Jan. 2010.

GERBER, P. et al. Productivity gains and greenhouse gas emissions intensity in dairy systems. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 139, n. 1-2, p. 100-108, July. 2011.

GHANEM, M. et al. Factors Leading to Endometritis in Dairy Cows in Egypt with Special Reference to Reproductive Performance. **Journal of Reproduction and Development**, Tokyo, v. 48, n. 4, p. 371-375, Aug. 2002.

GILBERT, R. O. et al. Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. **Theriogenology**, Stoneham, v. 64, n. 9, p. 1879-1888, Dec. 2005.

GILBERT, R. O. et al. The relationship between postpartum uterine bacterial infection (BI) and subclinical endometritis (SE). **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, p. 469-470, Jan. 2007.

GILD, C.; ALPERT, N.; VAN STRATEN, M. The influence of subclinical hypocalcemia on production and reproduction parameters in Israeli dairy herds. **Israel Journal of Veterinary Medicine**, Rishon le-Zion, v. 70, n. 1, p. 16-21, Mar. 2015.

GIULIODORI, Mauricio Javier et al. High NEFA concentrations around parturition are associated with delayed ovulations in grazing dairy cows. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 141, n. 2-3, p. 123-128, May. 2011.

GIULIODORI, M. J. et al. Clinical endometritis in an Argentinean herd of dairy cows: Risk factors and reproductive efficiency. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 96, n. 1, p. 210-218, Jan. 2013.

GIULIODORI, M. J. et al. Purulent vaginal discharge in grazing dairy cows: Risk factors, reproductive performance, and prostaglandin F₂ α treatment. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 100, n. 5, p. 3805-3815, May. 2017.

GOFF, J. P. et al. Field trials of an oral calcium propionate paste as an aid to prevent milk fever in periparturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 79, n. 3, p. 378-383, Mar. 1996.

GOFF, J. P.; HORST, R. L. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders^{1,2}. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 80, n. 7, p. 1260-1268, July. 1997.

GONZÁLEZ, C. J. et al. Descriptive characteristics of estrus in dairy cows during winter and summer in Puerto Rico. **Archivos Latinoamericanos de Producción Animal**, Mayaguez, v.1, n. 2, p.163-174, 1993.

GONZÁLEZ F. H. D.; SILVA S. C. **Introdução à Bioquímica Clínica Veterinária**. 2^a ed. Editora da UFRGS, Porto Alegre. 2006.

GORDON, J. L.; LEBLANC, S. J.; DUFFIELD, T. F. Ketosis treatment in lactating dairy cattle. **The Veterinary clinics of North America. Food animal practice**, Philadelphia, v. 29, n. 2, p. 433-445, July. 2013.

GOSHEN, T.; SHPIGEL, N. Y. Evaluation of intrauterine antibiotic treatment of clinical metritis and retained fetal membranes in dairy cows. **Theriogenology**, Stoneham, v. 66, n. 9, p. 2210-2218, Dec. 2006.

GRÖHN, Y. T. et al. Epidemiology of reproductive disorders in dairy cattle: associations among host characteristics, disease and production. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 8, n. 1, p. 25-39, Jan. 1990.

GRUMMER R. R. Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 76, n. 12, p. 3882-3896, Dec. 1993.

GRUMMER, R. R. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. **Journal of Animal Science**, Champaign. v. 73, n. 9, p. 2820-2833, Sep. 1995.

GURETZKY, N. A. J. et al. Lipid Metabolite Profiles and Milk Production for Holstein and Jersey Cows Fed Rumen-Protected Choline During the Periparturient Period. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, n. 1, p. 188-200, Jan. 2006.

GUSTAFSON, G. M. Effects of daily exercise on the health of tied dairy cows. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 17, n. 3-4, p. 209-223, Apr. 1993.

HAMMON, D. S. et al. Neutrophil function and energy status in Holstein cows with uterine health disorders. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam, v. 113, n. 1, p. 21-29, Sep. 2006.

HANSEN, P. J.; AREÉCHIGA, C. F. Strategies for managing reproduction in the heat-stressed dairy cow. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 77, n. suppl_2, p. 36-50, 1999.

HEMSWORTH, P. H. et al. The welfare of extensively managed dairy cattle: A review. **Applied Animal Behaviour Science**, Amsterdam, v. 42, n. 3, p. 161-182, Feb. 1995.

HERNANDEZ-MENDO, O. et al. Effects of pasture on lameness in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, n. 3, p. 1209-1214, Mar. 2007.

HOLTENIUS, P.; NISKANEN, R.; HOLTENIUS, K. Blood lipids and lipoproteins in cows with abomasal displacement. In: **14 World Buiatrics Congress**, Dublin. p. 47-51. 1986.

HORST, R. L. et al. Strategies for preventing milk fever in dairy cattle^{1,2}. **Journal of Dairy Science**, Champaign. 80, n. 7, p. 1269-1280, July. 1997.

HORTS, R. L.; GOFF, J. P.; MCCLUSKEY, B. J. Prevalence of subclinical hypocalcemia in US dairy operations. **Production diseases in farm animals**. Wageningen, The Netherlands, Wageningen Academic Publishers, p. 215, 2006.

HOSSEIN-ZADEH, N. G.; ARDALAN, M. Cow-specific risk factors for retained placenta, metritis and clinical mastitis in Holstein cows. **Veterinary Research Communications**, Dordrecht, v. 35, n. 6, p. 345-354, Aug. 2011.

HUZZEY, J. M. et al. Prepartum behavior and dry matter intake identify dairy cows at risk for metritis. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, n. 7, p. 3220-3233. July. 2007.

HUSSAIN, A. M. Bovine uterine defense mechanisms: a review. **Journal of Veterinary Medicine, Series B**, Berlin, v. 36, n. 1-10, p. 641-651, Nov. 1989.

INGVARTSEN, K. L.; MOYES, K. M. Factors contributing to immunosuppression in the dairy cow during the periparturient period. **Japanese Journal of Veterinary Research**, Sapporo, v. 63, n. Supplement 1, p. S15-S24, Feb. 2015.

KADZERE, C. T. et al. Heat stress in lactating dairy cows: a review. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 77, n. 1, p. 59-91, Oct. 2002.

KANEENE, J. B. et al. The association of serum nonesterified fatty acids and cholesterol, management and feeding practices with peripartum disease in dairy cows. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam. v. 31, n. 1-2, p. 59-72, July. 1997.

KANEKO J. J.; HARVEY J. W.; BRUSS M. L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 6^a ed. Academic Press, San Diego. p. 916. 2008.

KASIMANICKAM, R. et al. Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. **Theriogenology**, Stoneham, v. 62, n. 1, p. 9-23, July. 2004.

KASIMANICKAM, R. et al. The effect of a single administration of cephalosporin or cloprostenol on the reproductive performance of dairy cows with subclinical endometritis. **Theriogenology**, Stoneham, v. 63, n. 3, p. 818-830, Feb. 2005.

KATAGIRI, S.; TAKAHASHI, Y. Changes in EGF concentrations during estrous cycle in bovine endometrium and their alterations in repeat breeder cows. **Theriogenology**, Stoneham, v. 62, n. 1-2, p. 103-112, July. 2004.

KAUFMANN, T. B. et al. Prevalence of bovine subclinical endometritis 4 h after insemination and its effects on first service conception rate. **Theriogenology**, Stoneham, v. 71, n. 2, p. 385-391, Jan. 2009.

KELTON, D. F.; LISSEMORE, K. D.; MARTIN, R. E. Recommendations for recording and calculating the incidence of selected clinical diseases of dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 81, n. 9, p. 2502-2509, Sept. 1998.

KIM, I. H.; NA, K. J.; YANG, M. P. Immune responses during the peripartum period in dairy cows with postpartum endometritis. **Journal of Reproduction and Development**, Tokyo, v. 51, n. 6, p. 757-764, Dec. 2005.

KIMURA, K.; REINHARDT, T. A.; GOFF, J. P. Parturition and Hypocalcemia Blunts Calcium Signals in Immune Cells of Dairy Cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, n. 7, p. 2588-2595, July. 2006.

KOCH, G. M. S. **Incidência e consequências da hipocalcemia subclínica no pós-parto de vacas leiteiras**. 2013. 69 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária). Universidade de Lisboa, Lisboa, 2013.

KÖNYVES, L. et al. Risk assessment of postpartum uterine disease and consequences of puerperal metritis for subsequent metabolic status, reproduction and milk yield in dairy cows. **Acta Veterinaria Hungarica**, Budapest, v. 57, n. 1, p. 155-169, Mar. 2009.

KRAUSE, A. R. T. et al. Efeito da reutilização de CIDR na taxa de concepção de vacas leiteiras em protocolo de IATF. In: XIII Encontro de Pós-graduação da UFPel, 2011, Pelotas. XIII Encontro de Pós-graduação da UFPel, 2011.

KROHN, Christian C. Behaviour of dairy cows kept in extensive (loose housing/pasture) or intensive (tie stall) environments. III. Grooming, exploration and abnormal behaviour. **Applied Animal Behaviour Science**, Amsterdam, v. 42, n. 2, p. 73-86, Sep. 1994.

KRISTULA, M.; SMITH, B.; SIMEONE, A. The use of daily postpartum rectal temperatures to select dairy cows for treatment with systemic antibiotics. **The Bovine Practitioner**, Merelbeke, v. 35, n. 2, p. 117-125, Jan. 2001.

KAUFMANN, T. B. et al. Correlations between periparturient serum concentrations of non-esterified fatty acids, beta-hydroxybutyric acid, bilirubin, and urea and the occurrence of clinical and subclinical postpartum bovine endometritis. **BMC Veterinary Research**, London, v. 6, n. 1, p. 47, Oct. 2010.

LAMMOGLIA, M. A. et al. Effects of dietary fat and season on steroid hormonal profiles before parturition and on hormonal cholesterol, triglycerides, follicular patterns, and postpartum reproduction in Brahman cows. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 74, n. 10, p. 2253-2262. Sep. 1996.

LAVEN, R. A.; PETERS, A. R. Bovine retained placenta: aetiology, pathogenesis and economic loss. **Veterinary Record**, London, v. 139, n. 19, p. 465-471, Nov. 1996.

LEBLANC, S. J. et al. Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 85, n. 9, p. 2223-2236, Sep. 2002.

LEBLANC, S. J. et al. Major advances in disease prevention in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, n. 4, p. 1267-1279, Apr. 2006.

LEBLANC, S. J. Postpartum uterine disease and dairy herd reproductive performance: a review. **The Veterinary Journal**, London, v. 176, n. 1, p. 102-114, Apr. 2008.

LEBLANC, S. J. Interactions of metabolism, inflammation, and reproductive tract health in the postpartum period in dairy cattle. **Reproduction in Domestic Animals**, Berlin, v. 47, p. 18-30, Aug. 2012.

LEGRAND A. L., VON KEYSERLINGK M. A. G.; WEARY D. M. Preference and usage of pasture versus free-stall housing by lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, n. 8, p. 3651-3658, Apr. 2009.

LEME, T. M. S. P. et al. Comportamento de vacas mestiças Holandês x Zebu, em pastagem de *Brachiaria decumbens* em sistema silvipastoril. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 3, p. 668-675, mai. 2005.

MACHADO, V. S. et al. A novel diagnostic technique to determine uterine health of Holstein cows at 35 days postpartum. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 95, n. 3, p. 1349-1357, Mar. 2012.

MADOZ, L. V. et al. The relationship between endometrial cytology during estrous cycle and cutoff points for the diagnosis of subclinical endometritis in grazing dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 96, n. 7, p. 4333-4339, Mar. 2013.

MADOZ, L. V. et al. Endometrial cytology, biopsy, and bacteriology for the diagnosis of subclinical endometritis in grazing dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 97, n. 1, p. 195-201, Jan. 2014.

MAHER, P.; GOOD, M.; MORE, S. J. Trends in cow numbers and culling rate in the Irish cattle population, 2003 to 2006. **Irish Veterinary Journal**, London, v. 61, n. 7, p. 455, July. 2008.

MARTEL, C. A. **Fertility after timed AI insemination in response to a controlled internal drug release (CIDR) insert in lactating dairy cows**. 2008. 59 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária). Kansas State University, Manhattan, 2008.

MARTINEZ, N. et al. Evaluation of peripartal calcium status, energetic profile, and neutrophil function in dairy cows at low or high risk of developing uterine disease. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 95, n. 12, p. 7158-7172, Aug. 2012.

MARKUSFELD, O.; GALON, N.; EZRA, E. Body condition score, health, yield and fertility in dairy cows. **Veterinary Record**, London, v. 141, n. 3, p. 67-72, Aug. 1997.

MATTIELLO, Silvana et al. Welfare problems in alpine dairy cattle farms in Alto Adige (Eastern Italian Alps). **Italian Journal of Animal Science**, Palermo, v. 8, n. sup2, p. 628-630, Dec. 2009.

MASSUQUETO, S. et al. Acompanhamento médico veterinário de vacas leiteiras de elevada produção, das raças holandesa preta e branca, vermelha e branca e pardo-suíça, recém-paridas. **Revista Acadêmica: Ciência Animal**, Curitiba, v. 5, n. 3, p. 243-248, jul. 2007.

MCCONNELL C. S. et al. Evaluation of factors associated with increased dairy cow mortality on United States dairy operations. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 95, n. 4, p. 1423-1432, Apr. 2008.

MCART, J. A. A.; NYDAM, D. V.; OETZEL, G. R. Epidemiology of subclinical ketosis in early lactation dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 95, n. 9, p. 5056-5066, Sep. 2012.

MCDUGALL, S.; MACAULAY, R.; COMPTON, C. Association between endometritis diagnosis using a novel intravaginal device and reproductive performance in dairy cattle. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 99, n. 1-2, p. 9-23, May. 2007.

MCNAMARA, J. P. Systems biology of regulatory mechanisms of nutrient metabolism in lactation. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 93, n. 12, p. 5575-5585, Dec. 2015.

MEE, J. F. Managing the dairy cow at calving time. **The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 20, n. 3, p. 521-546, Nov. 2004.

MELLENDEZ, P.; RISCO, C.A. Management of transition cows to optimize reproductive efficiency in dairy herds. **The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 21, n. 2, p. 485-501. July. 2005.

MEJÍA, M. E.; LACAU-MENGIDO, I. M. Endometritis treatment with a PGF 2α analog does not improve reproductive performance in a large dairy herd in Argentina. **Theriogenology**, Stoneham, v. 63, n. 5, p. 1266-1276, Mar. 2005.

MORROW, D. A. Fat cow syndrome. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 59, n. 9, p. 1625-1629, Sep. 1976.

MULLIGAN, F. et al. Production diseases of the transition cow: Milk fever and subclinical hypocalcemia. **Irish Veterinary Journal**, London, v. 59, n. 12, p. 697, Dec. 2006.

MURRAY, R. D. et al. Historical and current perspectives on the treatment, control and pathogenesis of milk fever in dairy cattle. **Veterinary Record**, London, v. 163, n. 19, p. 561-565, Nov. 2008.

NASCIMENTO, G. V. et al. Indicadores produtivos, fisiológicos e comportamentais de vacas de leite. **Agropecuária Científica no Semiárido**, Campina Grande, v. 9, n. 4, p. 28-36, out. 2013.

NEWTON, C. D., NUNAMAKER, D. M. Calcium-Regulating Hormones and Metabolic Bone Disease. **Textbook of Small Animal Orthopedics**, Ithaca, Cap. 42, p. 1-17. Jan. 1985.

NEVES, R. C. et al. Association of immediate postpartum plasma calcium concentration with early-lactation clinical diseases, culling, reproduction, and milk production in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 101, n. 1, p. 547-555, Jan. 2018.

NOR, N. M.; STEENEVELD, W.; HOGVEEN, H. The average culling rate of Dutch dairy herds over the years 2007 to 2010 and its association with herd reproduction, performance and health. **Journal of Dairy Research**, London, v. 81, n. 1, p. 1-8, Feb. 2014.

O'HARA, L. A.; BÅGE, R.; HOLTENIUS, K. The impact of body condition after calving on metabolism and milk progesterone profiles in two breeds of dairy cows. **Acta Veterinaria Scandinavica**, Copenhagen, v. 58, n. 1, p. 68, Oct. 2016.

OLMOS, G. et al. Hoof disorders, locomotion ability and lying times of cubicle-housed compared to pasture-based dairy cows. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 125, n. 2-3, p. 199-207, Nov. 2009.

OLTENACU, P. A.; BROOM D. M. The impact of genetic selection for increased milk yield on the welfare of dairy cows. **Animal Welfare**, Hertfordshire v. 19, n. 1, p. 39-49, May. 2010.

ORDELL, Anna et al. A longitudinal cohort study of acute puerperal metritis cases in Swedish dairy cows. **Acta Veterinaria Scandinavica**, Copenhagen, v. 58, n. 1, p. 79, Nov. 2016.

ORR, W. N.; COWAN, R. T.; DAVISON, T. M. Factors affecting pregnancy rate in Holstein-Friesian cattle mated during summer in a tropical upland environment. **Australian Veterinary Journal**, Victoria, v. 70, n. 7, p. 251-256, July. 1993.

OSPINA, P. A et al. Evaluation of Nonesterified Fatty Acids and Beta-hydroxybutyrate in Transition Dairy Cattle in the Northeastern United States: Critical Thresholds for Prediction of Clinical Diseases. **Journal of Dairy Science**, Champaign. v. 93, n. 2, p. 546-54. Feb. 2010.

OSTOJIĆ-ANDRIĆ, D. et al. Dairy cows welfare quality in loose vs tie housing system. **Biotechnology in Animal Husbandry**, Belgrade, v. 27, n. 3, p. 975-984, Oct. 2011.

OVERTON, T. R.; WALDRON, M. R. Nutritional management of transition dairy cows: strategies to optimize metabolic health. **Journal of dairy science**, Champaign, v. 87, p. E105-E119, July. 2004.

OVERTON, M.; FETROW, J. Economics of postpartum uterine health. In: **Dairy Cattle Reproduction Council Convention**, Omaha, p. 39-44, Nov. 2008.

PARK, C. S.; RAFALOWSKI, W.; MARX, G. D. Effect of dietary fat supplement on lipid metabolism of Holsteins heifers. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 66, n. 3, p. 528-534. Mar. 1983.

PEREIRA, M. H. C. et al. Effect of adding a gonadotropin-releasing-hormone treatment at the beginning and a second prostaglandin F2 α treatment at the end of an estradiol-based protocol for timed artificial insemination in lactating dairy cows during cool or hot seasons of the year. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 98, n. 2, p. 947-959, Nov. 2015.

PINEDO, P. J.; DE VRIES, A.; WEBB, D. W. Dynamics of culling risk with disposal codes reported by Dairy Herd Improvement dairy herds. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 93, n. 5, p. 2250-2261, May. 2010.

PINTO A. M.; ROSA S. M. Resposta inflamatória. **Fisiopatologia – fundamentos e aplicações**. 2ª ed., p. 184-218. 2013.

PLETICHA, S.; DRILLICH, M.; HEUWIESER, W. Evaluation of the Metricheck device and the gloved hand for the diagnosis of clinical endometritis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, n. 11, p. 5429-5435, Nov. 2009.

PLÖNTZKE, J. et al. Subclinical endometritis and its impact on reproductive performance in grazing dairy cattle in Argentina. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 122, n. 1-2, p. 52-57, Oct. 2010.

PONCHEKI, J. K. et al. Analysis of daily body weight of dairy cows in early lactation and associations with productive and reproductive performance. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 44, n. 5, p. 187-192, maio. 2015.

POPESCU, S. et al. Dairy cows welfare quality in tie-stall housing system with or without access to exercise. **Acta Veterinaria Scandinavica**, Copenhagen, v. 55, n. 1, p. 43, June. 2013.

POTTER, T. J. et al. Risk factors for clinical endometritis in postpartum dairy cattle. **Theriogenology**, Stoneham, v. 74, n. 1, p. 127-134, July. 2010.

PRUNNER, I. et al. Dynamics of bacteriologic and cytologic changes in the uterus of postpartum dairy cows. **Theriogenology**, Stoneham, v. 82, n. 9, p. 1316-1322, Dec. 2014.

PURSLEY, J. R.; MEE, M. O.; WILTBANK, M. C. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2 α and GnRH. **Theriogenology**, Stoneham, v. 44, n. 7, p. 915-923, Nov. 1995.

QU, Y. et al. Potential risk indicators of retained placenta and other diseases in multiparous cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 97, n. 7, p. 4151-4165, July. 2014.

QUIROZ-ROCHA, G. F. et al. Effect of sampling time relative to the first daily feeding on interpretation of serum fatty acid and β -hydroxybutyrate concentrations in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 93, p. 2030–2033. May. 2010.

RABOISSON, D.; MOUNIÉ, M; MAIGNÉ, E. Diseases, reproductive performance, and changes in milk production associated with subclinical ketosis in dairy cows: A meta-analysis and review. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 97, n. 12, p. 7547-7563, Dec. 2014.

RADOSTITIS, O. M. et al. General systemic states. In O. M. Radostits, C. C. Gay, K. W. Hinchcliff e P. D. Constable (Eds.), **Veterinary medicine: A textbook of the diseases**

of Cattle, Horse, Sheep, Pigs and Goats: Part I General Medicine, Chapter 6: Diseases of the alimentary tract-II. 10 ed., Philadelphia: Elsevier Saunders. p.60-63. 2007.

RAJALA, P. J.; GRÖHN, Y. T. Effects of dystocia, retained placenta, and metritis on milk yield in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 81, n. 12, p. 3172-3181, Dec. 1998.

RAJALA-SCHULTZ, P. J.; GRÖHN, Y. T. Culling of dairy cows. Part I. Effects of diseases on culling in Finnish Ayrshire cows. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 41, n. 2-3, p. 195-208, July. 1999.

RAPHAEL B. C.; DIMICK P. S.; PUPPIONE D. L. Lipid characterization of bovine serum lipoproteins throughout gestation and lactation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 56, n. 8, p. 1025-1032. Aug. 1973.

REINHARDT, T. A. et al. Prevalence of subclinical hypocalcemia in dairy herds. **The Veterinary Journal**, London, v. 188, n. 1, p. 122-124, Apr. 2011.

REGULA, G. et al. Health and welfare of dairy cows in different husbandry systems in Switzerland. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 66, n. 1-4, p. 247-264, Dec. 2004.

RIBEIRO, E. S. et al. Prevalence of periparturient diseases and effects on fertility of seasonally calving grazing dairy cows supplemented with concentrates. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 96, n. 9, p. 5682-5697, Sep. 2013.

RABOISSON, Didier et al. Herd-level and contextual factors influencing dairy cow mortality in France in 2005 and 2006. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 94, n. 4, p. 1790-1803, Apr. 2011.

ROCHE, J. R.; BERRY, D. P.; KOLVER, E. S. Holstein-Friesian strain and feed effects on milk production, body weight, and body condition score profiles in grazing dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, n. 9, p. 3532-3543, Sep. 2006.

ROCHE, J. R. et al. Invited review: Body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and welfare. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 92, n. 12, p. 5769-5801, Dec. 2009.

RODRÍGUEZ, E. M.; ARÍS, A.; BACH, A. Associations between subclinical hypocalcemia and post parturient diseases in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 100, n. 9, p. 7427-7434, Sep. 2017.

RUEGG, P. L. et al. Relation among body condition score, serum urea nitrogen and cholesterol concentrations, and reproductive performance in high-producing Holstein dairy cows in early lactation. **American Journal of Veterinary Research.**, Chicago, v. 53, n. 1, p. 10-14. Jan. 1992.

RUKKWAMSUK, T.; KRUIP, T. A. M.; WENSING, T. Relationship between overfeeding and over conditioning in the dry period and the problems of high producing dairy cows during the post parturient period. **Veterinary Quarterly**, Dordrecht, v. 21, n. 3, p. 71-77, June. 1999.

RUNCIMAN, D. J. et al. Use of postpartum vaginoscopy (visual vaginal) examination of dairy cows for the diagnosis of endometritis and the association of endometritis with reduced reproductive performance. **Australian Veterinary Journal**, Victoria, v. 86, n. 6, p. 205-213, June. 2008.

RUTHERFORD, A. J.; OIKONOMOU, G.; SMITH, R. F. The effect of subclinical ketosis on activity at estrus and reproductive performance in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 99, n. 6, p. 4808-4815, June. 2016.

SANTOS, J. E. P. **Effect of degree of fatness prepartum on lactational performance and follicular development of early lactating dairy cows**. 1996. 107p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - University of Arizona, Tucson, 1996.

SANTOS, J. E. P.; RUTIGLIANO, H. M.; SÁ FILHO, M. F. Risk factors for resumption of postpartum estrous cycles and embryonic survival in lactating dairy cows. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 110, n. 3-4, p. 207-221, Feb. 2009.

SANTOS, J. E. P. et al. Applying nutrition and physiology to improve reproduction in dairy cattle. **Reproduction in Domestic Ruminants VII**, Anchorage, v. 67, p. 387-403, Sep. 2011.

SANTSCHI, D. E. et al. Incidence of metabolic disorders and reproductive performance following a short (35-d) or conventional (60-d) dry period management in commercial Holstein herds. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 94, n. 7, p. 3322-3330, July. 2011.

SEDÓ, S. U. et al. Associations of subclinical hypocalcemia with fertility in a herd of grazing dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 101, n. 11, p. 10469-10477, Nov. 2018.

SEEGERS, H. et al. Reasons for culling in French Holstein cows. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 36, n. 4, p. 257-271, Oct. 1998.

SEEGERS, H.; FOURICHON, C.; BEAUDEAU, F. Production effects related to mastitis and mastitis economics in dairy cattle herds. **Veterinary Research**, Paris, v. 34, n. 5, p. 475-491, Oct. 2003.

SHAHID, M. Q. et al. Cow-and herd-level risk factors for on-farm mortality in Midwest US dairy herds. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 98, n. 7, p. 4401-4413, July. 2015.

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

SHELDON, I. M.; RYCROFT, A.N.; ZHOU, C. Association between post-partum pyrexia and uterine bacterial infection in dairy cattle. **The Veterinary Record**, London, v. 154, n. 10, p. 289-293, Mar. 2004.

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

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

SHOOK, G. E. Major advances in determining appropriate selection goals. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 89, n. 4, p. 1349-1361, Apr. 2006.

SILVA, N. C. et al. Taxa de concepção de vacas leiteiras submetidas à inseminação artificial em tempo fixo em diferentes épocas do ano. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 4, p. 1177-1182, jul. 2014.

SOUZA, A. H. et al. A new presynchronization system (Double-Ovsynch) increases fertility at first postpartum timed AI in lactating dairy cows. **Theriogenology**, Stoneham, v. 70, n. 2, p. 208-215, July. 2008.

STENGÄRDE, L. et al. Metabolic profiles in five high-producing Swedish dairy herds with a history of abomasal displacement and ketosis. **Acta Veterinaria Scandinavica**, Copenhagen, v. 50, n. 1, p. 31, Aug. 2008.

STEVENS, R. D.; DINSMORE, R. P.; CATTELL, M. B. Evaluation of the use of intrauterine infusions of oxytetracycline, subcutaneous injections of fenprostalene, or a combination of both, for the treatment of retained fetal membranes in dairy cows. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Chicago, v. 207, n. 12, p. 1612-1615, Dec. 1995.

SUTHAR, V. et al. Factors associated with body temperature of healthy Holstein dairy cows during the first 10 days in milk. **Journal of Dairy Research**, London, v. 79, n. 2, p. 135-142, May. 2012.

TENHAGEN, B-A. et al. Use of Ovsynch in dairy herds—differences between primiparous and multiparous cows. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 81, n. 1-2, p. 1-11, Mar. 2004.

THOMSEN, P. T.; HOUE, H. Dairy cow mortality. A review. **Veterinary Quarterly**, Dordrecht, v. 28, n. 4, p. 122-129, Dec. 2006.

THOMSEN, P. T. et al. Herd-level risk factors for the mortality of cows in Danish dairy herds. **Veterinary Record**, London, v. 158, n. 18, p. 622-626, May. 2006.

VAN DEN TOP, A. M. et al. Fatty liver in dairy cows post-partum is associated with decreased concentration of plasma triacylglycerols and decreased activity of lipoprotein lipase in adipocytes. **Journal of Dairy Research**, London, v. 72, n. 2, p. 129-137, May. 2005.

URTON, G. M. A. G.; VON KEYSERLINGK, M. A. G.; WEARY, D. M. Feeding behavior identifies dairy cows at risk for metritis. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 88, n. 8, p. 2843-2849, Aug. 2005.

USDA. Dairy 2007, Part I: Reference of Dairy Cattle Health and Management Practices in the United States, 2007. **Center for Epidemiology and Animal Health (CEAH)**, Fort Collins, Oct. 2007.

VALTORTA, S.; GALLARDO, M. El estrés por calor en producción lechera. **Miscelánea**, v.81, p. 173-185, 1996.

VAN STRATEN, M.; SHPIGEL, N. Y.; FRIGER, M. Analysis of daily body weight of high-producing dairy cows in the first one hundred twenty days of lactation and associations with ovarian inactivity. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 91, n. 9, p. 3353-3362, Sep. 2008.

VANRADEN, P. M. Invited review: Selection on net merit to improve lifetime profit. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 87, n. 10, p. 3125-3131, Oct. 2004.

VOYVODA, H.; ERDOGAN, H. Use of a hand-held meter for detecting subclinical ketosis in dairy cows. **Research in Veterinary Science**, London, v. 89, n. 3, p. 344-351, Dec. 2010.

WALSH, R. B. et al. The effect of subclinical ketosis in early lactation on reproductive performance of postpartum dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, n. 6, p. 2788-2796, June. 2007.

WASHBURN, S. P. et al. Reproduction, mastitis, and body condition of seasonally calved Holstein and Jersey cows in confinement or pasture systems. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 85, n. 1, p. 105-111, Jan. 2002.

WHITEFORD L. C.; SHELDON I. M. Association between clinical hypocalcemia and postpartum endometritis. **The Veterinary Record**, London, v. 157, n. 7, p. 202-203, Aug. 2005.

WILLIAMS, Erin J. et al. Clinical evaluation of postpartum vaginal mucus reflects uterine bacterial infection and the immune response in cattle. **Theriogenology**, Stoneham, v. 63, n. 1, p. 102-117, Jan. 2005.

WILLIAMS, E. J. Drivers of Post-partum Uterine Disease in Dairy Cattle. **Reproduction in Domestic Animals**, Berlin, v. 48, p. 53-58, Sep. 2013.

WHITAKER, D. A.; MACRAE, A. I.; BURROUGH, E. Disposal and disease rates in British dairy herds between April 1998 and March 2002. **Veterinary Record**, London, v. 155, n. 2, p. 43-47, July. 2004.

WITTROCK, J. M. et al. Short communication: Metritis affects milk production and cull rate of Holstein multiparous and primiparous dairy cows differently. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 94, n. 5, p. 2408-2412, May. 2011.

VOGEL, K. D. et al. Effect of water and feed withdrawal and health status on blood and serum components, body weight loss, and meat and carcass characteristics of Holstein slaughter cows. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 89, n. 2, p. 538-548, Oct. 2011.

ZAHRAZADEH, M. et al. Effects of close-up body condition score and selenium-vitamin E injection on lactation performance, blood metabolites, and oxidative status in high-producing dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 101, n. 11, p. 10495-10504, Aug. 2018.

ZINICOLA, M. et al. Effects of pegbovigrastim administration on periparturient diseases, milk production, and reproductive performance of Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 101, n. 12, p. 11199-11217, Oct. 2018.