

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



UNIVERSIDADE
DE LISBOA



ACHADOS ECOGRÁFICOS EM VACAS LEITEIRAS NÃO GESTANTES AO FIM DE 200
DIAS PÓS-PARTO

GABRIEL FELIPPE

ORIENTADORA:
Doutora Inês Rebelo

COORIENTADOR:
Doutor José Ricardo Dias Bexiga

2025

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



UNIVERSIDADE
DE LISBOA



ACHADOS ECOGRÁFICOS EM VACAS LEITEIRAS NÃO GESTANTES AO FIM DE 200
DIAS PÓS-PARTO

GABRIEL FELIPPE

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

JÚRI

PRESIDENTE:

Doutor Luís Filipe Lopes da Costa

ORIENTADORA:

Doutora Inês Rebelo

VOGAIS:

Doutor José Ricardo Dias Bexiga
Doutor João Nestor Chagas e Silva

COORIENTADOR:

Doutor José Ricardo Dias Bexiga

2025

DECLARAÇÃO RELATIVA ÀS CONDIÇÕES DE REPRODUÇÃO DA DISSERTAÇÃO

Nome: Gabriel Vieira Lisboa Leite Felipe

Título da Tese ou Dissertação: Achados ecográficos em vacas leiteiras não gestantes ao fim de 200 dias pós-parto

Ano de conclusão (indicar o da data da realização das provas públicas): 2025

Designação do curso de

Mestrado ou de

Doutoramento:

Mestrado integrado em Medicina Veterinária

Área científica em que melhor se enquadra (assinale uma):

Clínica

Produção Animal e Segurança Alimentar

Morfologia e Função

Sanidade Animal

Declaro sobre compromisso de honra que a tese ou dissertação agora entregue corresponde à que foi aprovada pelo júri constituído pela Faculdade de Medicina Veterinária da ULISBOA.

Declaro que concedo à Faculdade de Medicina Veterinária e aos seus agentes uma licença não-exclusiva para arquivar e tornar acessível, nomeadamente através do seu repositório institucional, nas condições abaixo indicadas, a minha tese ou dissertação, no todo ou em parte, em suporte digital.

Declaro que autorizo a Faculdade de Medicina Veterinária a arquivar mais de uma cópia da tese ou dissertação e a, sem alterar o seu conteúdo, converter o documento entregue, para qualquer formato de ficheiro, meio ou suporte, para efeitos de preservação e acesso.

Retenho todos os direitos de autor relativos à tese ou dissertação, e o direito de a usar em trabalhos futuros (como artigos ou livros).

Concordo que a minha tese ou dissertação seja colocada no repositório da Faculdade de Medicina Veterinária com o seguinte estatuto (assinale um):

- Disponibilização imediata do conjunto do trabalho para acesso mundial;
- Disponibilização do conjunto do trabalho para acesso exclusivo na Faculdade de Medicina Veterinária durante o período de 6 meses, 12 meses, sendo que após o tempo assinalado autorizo o acesso mundial*;


* Indique o motivo do embargo (OBRIGATÓRIO)

Nos exemplares das dissertações de mestrado ou teses de doutoramento entregues para a prestação de provas na Universidade e dos quais é obrigatoriamente enviado um exemplar para depósito na Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa deve constar uma das seguintes declarações (incluir apenas uma das três):

- É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTA TESE/TRABALHO APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.
- É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO PARCIAL DESTA TESE/TRABALHO (indicar, caso tal seja necessário, nº máximo de páginas, ilustrações, gráficos, etc.) APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.
- DE ACORDO COM A LEGISLAÇÃO EM VIGOR, (indicar, caso tal seja necessário, nº máximo de páginas, ilustrações, gráficos, etc.) NÃO É PERMITIDA A REPRODUÇÃO DE QUALQUER PARTE DESTA TESE/TRABALHO.

Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, 23 de julho de 2025

(indicar aqui a data da realização das provas públicas)

Assinatura: 

Agradecimentos

Ao Doutor Ricardo Bexiga, pela generosidade em me acolher como seu orientando, pelo enorme apoio e atenção ao longo de todo o trabalho, bem como pelos valiosos ensinamentos transmitidos.

À Doutora Inês Rebelo, pela forma tão acolhedora com que me recebeu, pela imensa paciência ao ensinar-me a utilizar o ecógrafo e também pelos momentos de amizade que partilhámos.

Aos meus pais e avós, pelo apoio incondicional e pela enorme dedicação ao longo de todos os anos da minha jornada académica. A eles, que sempre acreditaram nos meus sonhos e me incentivaram a seguir em frente, mesmo nos momentos de maior dificuldade, expresso a minha gratidão.

À minha namorada e à sua família, pelo apoio constante e pela ajuda preciosa ao longo da minha formação.

Aos meus amigos da faculdade, nomeadamente João, Henrique, Manuel, Guilherme, Cláudia, Mariana, Carolina, Dimitri e a todos os outros que de alguma forma me apoiaram durante esses últimos anos.

Por fim, mas não menos importante, ao Doutor Manuel Pinheiro, Doutor José Vilela, Doutora Rita Vinha, Doutora Mariana Toscano, Doutora Sónia Martins e a toda a equipa Proleite, pela simpatia e pelo apoio fundamental ao longo deste percurso.

Achados ecográficos em vacas leiteiras não gestantes ao fim de 200 dias pós-parto

Resumo

A presente dissertação teve como objetivo identificar os achados ecográficos em vacas leiteiras não gestantes ao fim de 200 dias pós-parto, em 122 animais, com o intuito de compreender as possíveis causas que contribuem para o atraso reprodutivo.

Após um enquadramento teórico sobre o funcionamento do ecógrafo e os fundamentos necessários para compreender a fisiologia reprodutiva bovina, foi realizada a apresentação do trabalho observacional. Utilizando a ecografia como ferramenta de diagnóstico, foi possível identificar alterações uterinas e ováricas em 40,16% dos animais presentes no estudo. Alterações essas incluem quistos (13,93%), endometrite (22,95%) e anestro (3,28%), que comprometem a fertilidade e a eficiência reprodutiva.

Com base nos resultados obtidos, constatou-se que, além dos achados ecográficos, existem diversos outros fatores que impactam a fertilidade dos animais, evidenciando o caráter multifatorial da problemática. Adicionalmente, foi observada uma associação estatisticamente significativa entre a contagem de células somáticas e a ocorrência de anestro, indicando que elevados valores de células somáticas (sinal de mastite) estão consistentemente presentes em casos de anestro.

Por fim, o autor reforça a importância da ecografia na gestão reprodutiva, promovendo estratégias de manejo que visam melhorar a viabilidade econômica das explorações leiteiras.

Palavras-chave: Ecografia, endometrite, anestro, quistos, vacas, vacas repetidoras

Ultrasonographic findings in non-pregnant dairy cows beyond 200 days postpartum

Abstract

The present dissertation aimed to identify ultrasonographic findings in non-pregnant dairy cows beyond 200 days postpartum, in a total of 122 animals, in order to understand the potential causes contributing to reproductive delay.

Following a theoretical framework on ultrasound machine operation and the fundamental principles necessary for understanding bovine reproductive physiology, an observational study was presented. Using ultrasonography as a diagnostic tool, it was possible to identify uterine and ovarian changes in 40.16% of the animals included in the study. These changes include cysts (13.93%), endometritis (22.95%), and anestrus (3.28%), all of which compromise fertility and reproductive efficiency.

Based on the results obtained, it was found that, in addition to the ultrasonographic findings, several other factors impact animal fertility, highlighting the multifactorial nature of the problem. Additionally, a statistically significant association was observed between somatic cell count and the occurrence of anestrus, indicating that elevated somatic cell counts (a sign of mastitis) are consistently present in cases of anestrus.

Finally, the author reinforces the importance of ultrasonography in reproductive management, promoting management strategies aimed at improving the economic viability of dairy farms.

Keywords: Ultrasonography, endometritis, anestrus, cysts, cows, repeat breeders.

ÍNDICE GERAL

Sumário

Agradecimentos	iii
Resumo	iv
Abstract	v
Índice de figuras	viii
Índice de tabelas	viii
Índice de gráficos	ix
Índice de abreviaturas	x
Índice de símbolos	x
Objetivos	xi
1. Relatório das atividades desenvolvidas no período de estágio	12
2. Aspectos gerais sobre a ecografia	13
2.1. Estrutura e princípios sobre o funcionamento do ecógrafo	13
2.2. Fundamentos da ecografia	14
2.2.1. Formação dos ecos	14
2.2.2. Formação das ondas sonoras de alta frequência	15
3. Aspectos gerais da ecografia reprodutiva	15
3.1. Anatomia e fisiologia	15
3.1.1. Cérvix	16
3.1.2. Útero	16
3.1.3. Ovário	17
3.2. Fisiologia do ciclo éstrico	18
3.2.1. Metaestro	19
3.2.2. Diestro	20
3.2.3. Pró-estro	20
3.2.4. Estro	21
3.2.5. Anestro	22
3.2.6. Dinâmica folicular	22
3.3. Ecografia do útero	23
3.3.1. Determinação da fase do ciclo éstrico	23
3.3.2. Doenças do útero	24

3.4.	Ecografia dos ovários	26
3.4.1.	Estruturas fisiológicas	26
3.4.1.1.	Folículos	26
3.4.1.2.	Corpo lúteo	27
3.4.2.	Estruturas patológicas	28
3.4.2.1.	Estruturas quísticas	28
3.4.2.2.	Tumores da granulosa e da teca	29
3.4.3.	Morte embrionária	29
3.5.	Hormonas	30
3.5.1.	Gonadoliberina	30
3.5.2.	Prostaglandina	31
3.5.3.	Estradiol	31
3.5.4.	Progesterona	31
3.6.	Protocolos hormonais	32
3.6.1.	Protocolos hormonais com deteção de cio	32
3.6.2.	Protocolos hormonas com inseminação em tempo fixo	33
3.7.	Vacas repetidoras	35
3.7.1.	Fatores que determinam a sua existência	35
3.7.2.	Impactos económicos das vacas repetidoras	38
4.	Trabalho experimental	39
4.1.	Materiais e métodos	39
4.1.1.	Vacarias	39
4.1.2.	Método de recolha dos dados	40
4.2.	Análise estatística	42
4.3.	Resultados	42
4.4.	Discussão	48
4.4.1.	Análise dos casos sem causa identificada	48
4.4.2.	Relação entre a variáveis “anestro” e “CCS”	49
4.4.3.	Relação entre as variáveis “endometrite” e “condição corporal não apropriada”	49
4.4.4.	Relação entre as variáveis “anestro” e “claudicação”	51
4.4.5.	Relação entre as variáveis “endometrite” e “número de partos”	52
4.4.6.	Relação entre as variáveis “quisto folicular” e “número de partos”	52
4.4.7.	Relação entre as variáveis “anestro” e “produção de leite”	53
4.4.8.	Relação entre as variáveis “endometrite” e “CCS”	54
4.4.9.	Relação entre as variáveis “endometrite” e “claudicação”	54

4.4.10. Relação entre as variáveis “quisto folicular” e “condição corporal não apropriada”	55
4.4.11. Relação entre as variáveis “anestro” e “condição corporal não apropriada”	55
4.4.12. Relação entre as variáveis “quisto folicular” e “endometrite”	56
5. Conclusão	56
6. Referências Bibliográficas.....	58
7. Anexos	63

Índice de figuras

Figura 1. Esboço do trato reprodutivo da vaca. Adaptado de Rich e Turman (2006).	15
Figura 2. Útero, ovário e um oviduto com tecido conjuntivo ao redor. Adaptado de Carter e Rhinehart (2020).	18
Figura 3. Fases do ciclo éstrico da vaca. Adaptado de Peter et al. (2009a). ...	19
Figura 4. Ciclo de duas ondas foliculares. Adaptado de Adams et al. (2008). .	23
Figura 5. Imagem ecográfica do útero durante o estro, em corte transversal. Adaptado de DesCôteaux et al. (2010).	24
Figura 6. Imagem ecográfica de um útero com metrite. Original do autor.	26
Figura 7. Ovário com um corpo lúteo cavitário (C) a esquerda, e um folículo (F) a direita. Original do autor.	27
Figura 8. Imagem ecográfica do ovário contendo um corpo lúteo (1) e um folículo (2). Original do autor.	28
Figura 9. Imagem ecográfica de um quisto folicular de aproximadamente 4 cm. Original do autor.	29
Figura 10. Curvas de lactação em vacas normais e vacas repetidoras. As VR têm menos partos, e, portanto, uma menor produção leiteira. Adaptado de Pérez-Marín et al. (2012).	38
Figura 11. Folha de campo utilizada para recolher os dados. Original do autor.	41

Índice de tabelas

Gráfico 1. Frequência do número de lactações.	42
Gráfico 2. Frequência do número de inseminações artificiais	43

Índice de gráficos

Tabela 1. Frequência e a percentagem da condição corporal dos animais observados.	44
Tabela 2. Frequência e a percentagem da pontuação atribuída ao grau de claudicação dos animais presentes no estudo.	44
Tabela 3. Frequência e percentagem dos achados ecográficos.	45
Tabela 4. Resultados dos testes de qui-quadrado de Pearson para avaliação da associação entre variáveis reprodutivas, produtivas e de saúde em 122 vacas não gestantes.	46
Tabela 5. Escala da condição corporal. Adaptado de Wildman et al. (1982)....	63
Tabela 6. Classificação do grau de claudicação. Adaptado do Welfare Quality®.	63

Índice de abreviaturas

AGNE - ácidos gordos não esterificados
ADS - Agrupamento de Defesa Sanitária
CL - corpo lúteo
CC - condição corporal
CCS – contagem das células somáticas
ES - endometrite subclínica
FSH - hormona folículo-estimulante
GnRH – gonadoliberina
IATF - inseminação artificial em tempo fixo
IA - inseminação artificial
IGF-I - fator de crescimento insulínico tipo 1
LH - hormona luteinizante
P4 - progesterona
PGF2 α - prostaglandina F2-alfa
PGs - prostaglandinas
PMN - neutrófilos polimorfonucleares
VR – vacas repetidoras

Índice de símbolos

% - Percentagem
° C - Graus Celsius
® - Marca registada
US\$ - Dólar americano

Objetivos

Identificar os achados ecográficos em vacas leiteiras não gestantes ao fim de 200 dias pós-parto, com o intuito de compreender as possíveis causas que contribuem para o atraso reprodutivo e, assim, propor estratégias que possam melhorar a eficiência reprodutiva. O conhecimento gerado a partir desses achados pode auxiliar na formulação de práticas de manejo reprodutivo mais assertivas, visando reduzir os impactos negativos causados por problemas reprodutivos prolongados.

O aumento dos custos de produção e a consequente redução das margens de lucro nas explorações leiteiras têm levado os produtores a investir em práticas cada vez mais profissionalizadas, buscando estratégias que garantam a sustentabilidade e a rentabilidade das suas atividades. Nesse contexto, a maximização da eficiência reprodutiva destaca-se como um fator essencial para assegurar a produtividade do rebanho, uma vez que a manutenção de bons índices reprodutivos está diretamente relacionada com o aumento da produção de leite e a longevidade produtiva das vacas.

A ecografia tem-se consolidado como uma ferramenta imprescindível no diagnóstico precoce e na gestão reprodutiva de vacas leiteiras, permitindo identificar de forma precisa fatores que levam à diminuição da fertilidade, como a presença de quistos ováricos, endometrite, animais em anestro, entre outros. A utilização sistemática desse método de diagnóstico possibilita a tomada de decisões rápidas e fundamentadas, contribuindo para o estabelecimento de protocolos de intervenção eficazes.

Esses achados ecográficos podem fornecer informações valiosas sobre os aspectos de manejo que necessitam ser aprimorados na exploração leiteira, oferecendo suporte técnico para a adoção de práticas que minimizem o surgimento de problemas reprodutivos.

Além disso, o estudo também teve como objetivo contribuir para o desenvolvimento das competências práticas do autor em palpação e ecografia reprodutiva, promovendo um aprimoramento técnico contínuo na interpretação dos achados ecográficos.

1. Relatório das atividades desenvolvidas no período de estágio

O estágio curricular foi realizado na Proleite - Cooperativa Agrícola de Produtores de Leite, ao longo de aproximadamente 4 meses (de 2 de setembro de 2024 até 31 de dezembro de 2024), na área de bovinos leiteiros, na região de Aveiro.

Durante este período o autor teve a oportunidade de acompanhar a sua orientadora, Dr^a Inês Bento Rebelo, e os outros médicos-veterinários que trabalham na cooperativa, nas saídas de campo.

O estágio curricular desenvolveu-se ao longo de diferentes atividades e experiências práticas relacionadas com reprodução, clínica e sanidade animal.

Durante o período de estágio, houve a oportunidade de acompanhar a rotina de reprodução bovina, assistindo inicialmente a exames ecográficos realizados pelos médicos-veterinários. Posteriormente, com mais experiência, houve a oportunidade de realizar as ecografias de forma independente. O autor participou também na colocação de dispositivos intravaginais de progesterona e na administração de antibióticos intrauterinos em casos indicados.

No âmbito da clínica, houve a oportunidade de realizar exames físicos em bovinos, administrar fármacos e recolher amostras para exames complementares. O autor assistiu ao diagnóstico e resolução de diversos casos clínicos, incluindo, cetoses, diarreias, pneumonias, metrites, mastites, lesões podais, traumatismos, atonia ruminal, prolapso uterino e torção uterina, entre outros. Houve ainda a oportunidade de presenciar e auxiliar em cirurgias para correção de deslocamento do abomaso, hérnias umbilicais e cesarianas. Adicionalmente, o autor participou de visitas para vacinação e descorna de animais, bem como acompanhou duas auditorias internas de bem-estar animal.

Durante o estágio, o autor acompanhou as intervenções realizadas pelos veterinários do Agrupamento de Defesa Sanitária (ADS), nomeadamente as vacinações contra a língua azul, a realização da Prova de Tuberculização Intradérmica Comparada, a recolha de sangue para diagnóstico de brucelose e a colocação de brincos de identificação.

2. Aspectos gerais sobre a ecografia

A ecografia é uma técnica de diagnóstico por imagem que recorre a ondas sonoras de alta frequência para produzir imagens em tempo real das estruturas internas do organismo (Ginther, 2007; Nogueira et al., 2009). Adicionalmente, trata-se de um procedimento relativamente seguro e simples, tanto para o operador como para o animal. A sua utilização pode, no entanto, ser limitada pela falta de experiência e qualificação do utilizador, bem como pelo custo do equipamento (Nogueira et al., 2009).

No contexto da reprodução animal, esta tecnologia permite a avaliação morfológica detalhada do aparelho genital da fêmea, sendo amplamente utilizada no diagnóstico de gestação, monitorização folicular, avaliação da atividade lútea e deteção de alterações uterinas (Quintela et al., 2012).

2.1. Estrutura e princípios sobre o funcionamento do ecógrafo

O ecógrafo é composto pela unidade de formação de imagem ou monitor e pelo transdutor ou sonda (Nogueira et al., 2009; Medana e Abd El-Aty, 2010). As ondas sonoras são geradas por vibrações em cristais específicos (cristais piezoelétricos) que se encontram no interior do transdutor (Díaz-Rodríguez et al., 2007; Medana e Abd El-Aty, 2010). Os cristais, ao receberem corrente elétrica proveniente do gerador, contraem-se e dilatam-se, originando as vibrações, ou seja, convertem impulsos elétricos em ondas sonoras (Díaz-Rodríguez et al., 2007; Nogueira et al., 2009).

As ondas propagam-se pelos tecidos de forma distinta, sendo refletidas ou transmitidas de acordo com a resistência acústica dos tecidos (Nogueira et al., 2009).

As imagens do ecógrafo aparecem no monitor e são geradas em 256 tonalidades de cinzento, variando entre o preto e o branco (Díaz-Rodríguez et al., 2007; Nogueira et al., 2009).

O transdutor não emite ondas sonoras de alta frequência de forma contínua, mas em grupos de ciclos de ondas, chamados de pulsos (Williams, 2012). No monitor, os pulsos são intensificados, ajustados para uniformizar as diferenças de intensidade e processados por um receptor para criar uma imagem em duas dimensões (Nogueira et al., 2009).

Os líquidos aparecem como áreas negras (anecoicos), pois não refletem as ondas sonoras de alta frequência. Já os tecidos mais densos, como os ossos, refletem a maior parte das ondas e apresentam-se como áreas brancas ("hiperecóicos"). Outras estruturas variam em tons de cinzento, de acordo com a sua densidade (Nogueira et al., 2009).

Quanto maior a frequência utilizada, menor o alcance (profundidade) do aparelho e maior a resolução da imagem. Uma sonda de 8 MHz visualiza estruturas com diâmetro inferior a 5 mm a uma profundidade de exploração de 4 a 5 cm, enquanto sondas de 5 MHz detectam estruturas maiores que 5 mm a uma profundidade de até 12 cm (Murcia, 2022). Normalmente, para a avaliação do aparelho reprodutor da vaca, transdutores de 5,0 MHz e 7,5 MHz são ideais para avaliar os ovários, o útero e diagnosticar a gestação precoce e a sexagem fetal (Dimenstein et al., 2022).

2.2. Fundamentos da ecografia

2.2.1. Formação dos ecos

Os ecos retornados fazem os cristais piezoelétricos vibrarem, gerando sinais elétricos que são processados para formar a imagem ecográfica. A reflexão ocorre na interface entre tecidos com diferentes propriedades acústicas, onde parte da onda reflete para o transdutor e a outra se propaga para camadas mais profundas (Palgrave e Kidd, 2022). A quantidade de onda refletida depende da impedância acústica dos tecidos, das características da interface entre eles e do ângulo de incidência onda sonora de alta frequência (Palgrave e Kidd, 2022). Cada tecido tem uma resistência particular à propagação do som, a impedância acústica, dada pela equação: Impedância acústica = velocidade x densidade do tecido (Schäberle, 2005; Palgrave e Kidd, 2022).

Tecidos densos, como os ossos, apresentam uma impedância acústica elevada (7,8), enquanto o ar possui valores muito baixos (0,0004). Tecidos moles, como o rim, apresentam valores intermédios, como 1,62 (Palgrave e Kidd, 2022). É a diferença na impedância acústica entre os diferentes tipos de tecidos que define o grau de reflexão em uma interface (Mannion, 2006; Palgrave e Kidd, 2022). Quanto maior a diferença de impedância acústica entre dois tecidos, maior será a reflexão da onda sonora de alta frequência e menor será a transmissão para as camadas mais profundas do tecido (Schäberle, 2005; Mannion, 2006). Por exemplo, as interfaces entre osso e tecido mole, ou entre ar e tecido mole, apresentam diferenças marcantes nos valores de impedância acústica. Essas interfaces são altamente reflexivas, fazendo com que a maior parte das ondas seja refletida de volta para o transdutor (Nyland et al., 2002; Palgrave e Kidd, 2022).

Os ecos refletidos serão processados para gerar a imagem somente se a interface for perpendicular ao feixe de ondas sonoras de alta frequência, com ângulos de incidência e de reflexão adequados (Palgrave e Kidd, 2022). Estruturas perpendiculares ao feixe, aparecem mais brilhantes, pois refletem a maior parte dos ecos (Schäberle, 2005).

2.2.2. Formação das ondas sonoras de alta frequência

As ondas sonoras de alta frequência compartilham características com as ondas sonoras audíveis, embora apresentem frequências mais elevadas, tornando-se inaudíveis ao ouvido humano. Ambas são geradas pela vibração de um objeto, o que provoca o movimento das moléculas ao seu redor. No caso da ecografia, a vibração é induzida pela aplicação de corrente elétrica em cristais piezoelétricos no transdutor, fazendo-os vibrar (Palgrave e Kidd, 2022). A ecografia fundamenta-se no princípio do pulso-eco, onde a imagem é formada a partir dos ecos que retornam ao transdutor provenientes de diferentes profundidades, após a emissão de um pulso de ondas sonoras de alta frequência com uma frequência específica (Schäberle, 2005; Palgrave e Kidd, 2022). A imagem bidimensional é gerada pela combinação de linhas ecográficas adjacentes, utilizando pulsos curtos para maximizar a resolução espacial (Schäberle, 2005).

3. Aspectos gerais da ecografia reprodutiva

3.1. Anatomia e fisiologia

Compreender a anatomia reprodutiva das vacas é essencial para entender as estratégias de gestão e manejo reprodutivo. O trato reprodutivo das vacas pode ser visto como um sistema de tubos biológicos concebido para cumprir todos os desafios necessários à formação de um novo vitelo, desde a concepção até ao parto. Este sistema de tubos apresenta aspetos e funções diferentes consoante a região onde se encontra, desempenhando uma função específica, e por isso cada secção de tubos tem diferentes nomes (Carter e Rhinehart, 2020). À exceção da vulva, todas as outras partes do aparelho reprodutor estão no interior do corpo do animal. Conforme se avança pelo trato reprodutivo, as partes encontradas incluem o vestíbulo vaginal, a vagina, o cérvix, o útero, os ovidutos e os ovários (Prange e Duby, 2007) (Figura 1).

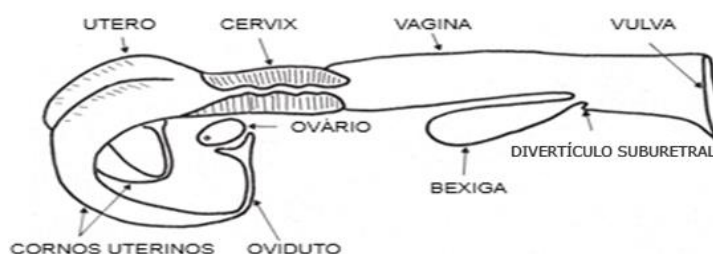


Figura 1. Esboço do trato reprodutivo da vaca. Adaptado de Rich e Turman (2006).

3.1.1. Cérvix

O cérvix atua como uma linha de defesa entre a vagina e o útero. Pode ser considerado um canal estreito e de difícil passagem que ajuda a impedir a entrada de material estranho no útero a partir da vagina (Carter e Rhinehart, 2020). Num animal adulto, tem entre 2 e 4 cm de diâmetro e cerca de 8 a 10 cm de comprimento (Evangelista, 2018). Apresenta uma forma cilíndrica, de consistência firme, com paredes espessas e uma pequena abertura, sendo esta difícil de penetrar devido à presença de 2 a 4 pregas transversais ou sobrepostas (Rich e Turman, 2006; Evangelista 2018). Durante a gestação, o cérvix é normalmente preenchido por uma secreção espessa que funciona como tampão, protegendo o útero de infecções provenientes da vagina (Rich e Turman, 2006). Quando a vaca ou a novilha está em estro, este canal dilata-se e o muco torna-se mais fino, facilitando o movimento do sêmen (Carter e Rhinehart, 2020).

3.1.2. Útero

O útero é constituído por um corpo, que está adjacente ao cérvix, e por dois cornos (Cooke, 2009). Na vaca, o corpo do útero é curto e pouco desenvolvido, com cerca de 5 cm, enquanto os cornos uterinos são longos e bem desenvolvidos, com cerca de 30 a 40 cm em animais adultos (Rich e Turman, 2006; Prange e Duby, 2007; Evangelista, 2018). O corpo do útero, juntamente com os dois cornos uterinos, formam uma estrutura em “Y”.

O útero desempenha muitas funções durante o processo reprodutivo. Neste órgão, o feto será alojado, nutrido e protegido durante toda a gestação. As paredes do útero são compostas por glândulas secretoras e por várias camadas de músculos contráteis, que ajudam no transporte e viabilidade do sêmen, contribuem para a expulsão do feto e das membranas fetais durante o parto e também são responsáveis por produzir hormonas que controlam a função reprodutiva da vaca, como a prostaglandina F2-alfa (PGF2 α) (Cooke, 2009).

Cada corno uterino possui estruturas ao longo do revestimento interno chamadas carúnculas. Estruturas da placenta, chamadas cotilédones, ligam-se a essas áreas durante a gestação, formando os placentomas. Estas áreas podem ser facilmente sentidas por palpação a partir da metade da gestação, e a sua presença ou ausência pode ser usada para ajudar a diagnosticar o estado de gravidez. Os vasos sanguíneos nessas regiões transferem nutrientes do sangue da mãe para a placenta, que são depois

transportados para o feto através do cordão umbilical, e removem os produtos residuais do sangue fetal (Carter e Rhinehart, 2020).

3.1.3. Ovário

O principal órgão reprodutor na fêmea é o ovário (Prange e Duby, 2007). É um órgão par, com um no lado esquerdo e outro no direito, localizados na cavidade pélvica ou abdominal, sendo que cada ovário tem uma forma oval, semelhante a uma amêndoa (Cooke, 2009; Evangelista, 2018). Têm cerca de 10 a 20 g de peso e de 3 a 5 cm de diâmetro. São constituídos por duas camadas: a medular, camada interna com funções de suporte e vascularização, e a cortical, camada mais externa, sendo responsável pela formação corpo amarelo ou corpo lúteo (CL) e dos folículos (Evangelista, 2018).

Os ovidutos, frequentemente referidos como trompas de Falópio, salpinges ou trompas uterinas, são canais tubulares com cerca de 15 a 25 cm de comprimento e 1 a 2 mm de diâmetro (Evangelista, 2018). São responsáveis por estabelecer a ligação entre a extremidade do corno uterino e os ovários (Evangelista, 2018; Carter e Rhinehart, 2020). O oviduto divide-se em três partes: o infundíbulo, que corresponde à extremidade mais proximal ao ovário, possui a forma de um funil. É responsável por captar o oócito e transportá-lo até ao segmento intermédio, a ampola (Prange e Duby, 2007; Evangelista, 2018). É nesta região que, 12 horas após a ovulação, ocorre a fecundação (Prange e Duby, 2007; Carter e Rhinehart, 2020). O istmo é uma região mais estreita, responsável por estabelecer a comunicação com o corno uterino (Evangelista, 2018).

O ovário tem duas funções principais: produção do oócito e de hormonas como progesterona (P4) e estrogénios (Rich e Turman, 2006). Os ovários possuem milhares de oócitos, estando cada um no interior de um folículo. É possível que, num ciclo éstrico, a vaca ovule mais do que um oócito, embora geralmente apenas um seja libertado (Cooke, 2009; Evangelista, 2018). A maioria dos folículos primários não completa o seu desenvolvimento, em vez disso, sofrem atresia e degenerescência, sendo posteriormente absorvidos pelo ovário. Este processo de atresia reduz gradualmente a reserva folicular, à medida que novos grupos de folículos primordiais são recrutados para iniciar o desenvolvimento (Rich e Turman, 2006). Quando um folículo primário completa o seu desenvolvimento, chama-se folículo maduro e pode ser pré-ovulatório (Evangelista, 2018).

Após a ovulação, o oócito é capturado pelo infundíbulo e transportado para o oviduto, onde pode haver fecundação caso existam espermatozoides viáveis (Rich e Turman, 2006) (Figura 2). Posteriormente, as células foliculares, sob a influência da hormona luteinizante (LH), diferenciam-se, originando o CL, que será responsável pela produção de P4 (Rich e Turman, 2006; Prange e Duby, 2007). O CL atinge o seu

tamanho máximo por volta dos 12 dias após a ovulação e, caso não haja gestação, sofre luteólise 3 a 4 dias antes da próxima ovulação (Prange e Duby, 2007).

Para que ocorra o reconhecimento da gestação, é necessário que o embrião produza uma proteína chamada interferão tau, que irá inibir a liberação da $\text{PGF2}\alpha$. Na ausência da inibição da liberação de $\text{PGF2}\alpha$, o CL irá sofrer luteólise, o que reduziria os níveis de P4 e impediria a manutenção da gestação. (Prange e Duby, 2007; Lohuis et al., 2013). Além da produção de P4, o CL também é responsável por produzir a relaxina. Esta hormona é fundamental para o sucesso do parto, pois relaxa os ligamentos suspensores da região pélvica e o cérvix (Prange e Duby, 2007).

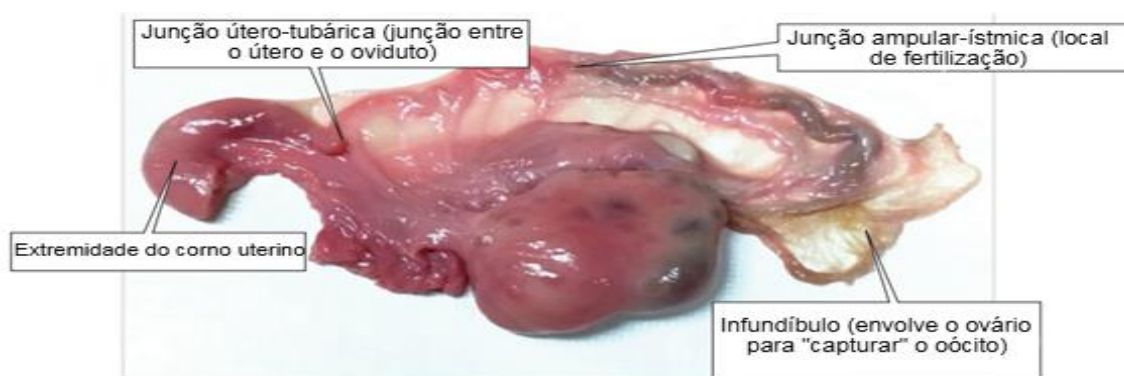


Figura 2. Útero, ovário e um oviduto com tecido conjuntivo ao redor. Adaptado de Carter e Rhinehart (2020).

3.2. Fisiologia do ciclo éstrico

A vaca é um animal poliéstrico contínuo, ou seja, na ausência de fecundação, o animal continua a ter vários ciclos éstricos ao longo de todo o ano, não havendo, portanto, sazonalidade (Pineda e Dooley, 2008). O ciclo éstrico na vaca é determinado por alterações cíclicas e morfológicas no aparelho reprodutor e no comportamento sexual, ocorrendo numa ordem definida durante um período médio de 21 dias (Rich e Turman, 2006; Neves et al., 2010).

Tradicionalmente, um ciclo é composto por quatro fases: metaestro, diestro, pró-estro e estro (Ball e Peters, 2004; Evangelista, 2018). Em termos endócrinos, o ciclo pode ser dividido em duas fases. A fase folicular, caracterizada pelo crescimento e maturação dos folículos, corresponde ao pró-estro e ao estro. A fase lútea, sendo a fase mais longa do ciclo éstrico, é caracterizada por um aumento dos níveis de P4 e equivale ao metaestro e diestro (Gordon, 2017; Murcia, 2022) (Figura 3). A transição entre a fase lútea e a fase folicular é marcada pela regressão do CL, enquanto a transição da fase folicular para a fase lútea é caracterizada pela ovulação (Gordon, 2017).

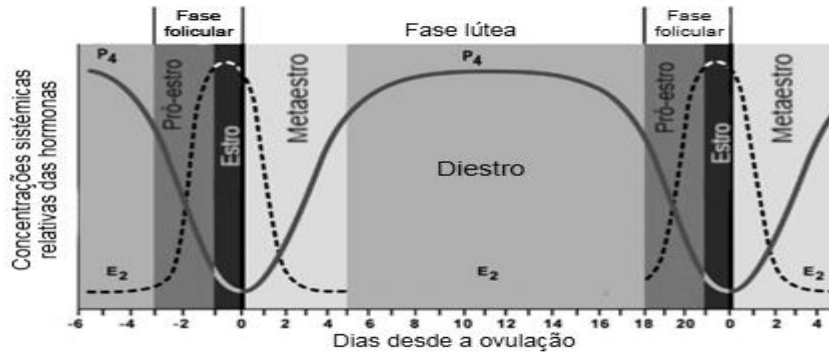


Figura 3. Fases do ciclo éstrico da vaca. Adaptado de Peter et al. (2009a).

3.2.1. Metaestro

O metaestro, que dura aproximadamente 6 dias nas vacas e 5 dias nas novilhas, é o período que ocorre imediatamente após o estro e pode ser descrito como o período inicial da fase lútea, que começa com a ovulação, seguido da evolução do corpo hemorrágico em CL e termina com o completo desenvolvimento do CL, no diestro (Gordon, 1996; Pineda e Dooley, 2008; Murcia, 2022). Durante esta fase, o ovário diminui a sua excreção de estradiol e passa a excretar P4, e o aparelho reprodutivo fica sob domínio da P4 (Pineda e Dooley, 2008).

No metaestro, ocorre a luteinização das células do antigo folículo dominante (FD) que ovulou. Durante a luteinização, há remodelação do tecido do estroma, para além da transformação bioquímica e celular das células da granulosa, responsáveis pela produção de estradiol, e das células da teca, responsáveis pela produção de androgénios, em células produtoras de P4 (Murcia, 2022).

As células que dão origem ao CL podem ser divididas em grandes e pequenas. As células grandes são responsáveis por produzir P4 e oxitocina e são responsivas à PGF2 α . Já as células pequenas também produzem P4 e são responsivas à LH (Gordon, 1996). A LH, produzida na hipófise, além de promover a maturação folicular e a ovulação, também é responsável pela diferenciação das células foliculares em células produtoras de P4 (Evangelista, 2018).

Nesta fase, durante o 1.º ou 2.º dia, pode ser observado um corrimento sanguíneo, chamado de corrimento metaéstrico, que ocorre devido a microrroturas a nível dos capilares do endométrio. Este fenómeno acontece devido a perdas do tónus muscular que ocorrem após o ingurgitamento e a tensão a que os vasos estiveram sujeitos durante o estro. O corrimento sanguinolento é um fenómeno que aparece mais em novilhas do que em vacas (Evangelista, 2018).

Por vezes, é possível que se forme um corpo lúteo em que tenha persistido líquido no seu interior, chamado corpo lúteo cavitário. Este fenómeno é mais comum em

vacas do que em novilhas, não representa uma patologia ovárica e não afeta qualquer parâmetro reprodutivo (Murcia, 2022).

3.2.2. Diestro

O diestro é a fase mais longa, podendo prolongar-se por 12 a 14 dias, e é marcado pelo período de atividade do CL, sendo a P4 a hormona predominante no aparelho reprodutor (Ball e Peters, 2004; Pineda e Dooley, 2008; Evangelista, 2018). Começa após o metaestro e, caso não tenha ocorrido concepção, termina com a regressão do CL (Ball e Peters, 2004; Pineda e Dooley, 2008).

Os níveis de P4 aumentam rapidamente após a ovulação, atingindo o pico (valores periféricos superiores a 4 ng/mL aproximadamente 4 a 7 dias após a ovulação, e permanecem altos até que ocorra a luteólise, no final do diestro (Ball e Peters, 2004). Sob a influência da P4, a amplitude dos pulsos da hormona folículo-estimulante (FSH) aumenta relativamente à LH, permitindo o crescimento folicular. Além disso, os altos níveis de P4 inibem a libertação de LH e da gonadoliberina (GnRH), impedindo assim a maturação do folículo (Peter et al., 2009a).

A principal função da P4 durante o diestro é preparar o útero para receber o embrião, caso o ócito libertado na ovulação tenha sido fecundado (Ball e Peters, 2004). A nível endócrino, a partir do momento em que o CL deixa de ser funcional, ou seja, quando as concentrações periféricas de P4 estão abaixo de 1 ng/mL, termina o diestro e começa o pró-estro (Silva, 2022).

3.2.3. Pró-estro

O pró-estro é a parte inicial da fase folicular e é caracterizado pela ausência de um CL funcional, bem como pelo desenvolvimento e maturação do folículo que irá ovular, o FD (Peter et al., 2009a; Silva, 2022). Numa vaca não gestante, a regressão do CL é provocada pela libertação da PGF2 α pelo útero, o que resultará na diminuição da concentração de P4 (Peter et al., 2009a; Gordon, 2017; Evangelista, 2018).

O início da síntese e secreção de PGF2 α ocorre através de uma interação entre o CL, os folículos e o útero (Silva, 2022). Existem recetores específicos para a oxitocina nas células do endométrio e, quando ocorre a ligação da oxitocina a esses recetores, dá-se uma estimulação para a conversão do ácido araquidónico em PGF2 α (Ball e Peters, 2004). A secreção inicial de oxitocina, de origem hipotalâmica, é responsável por desencadear o primeiro pulso de PGF2 α . Os pulsos subsequentes são estimulados pela oxitocina proveniente do CL (Silva, 2022).

No final do diestro, a P4 e o estradiol proveniente dos folículos em crescimento, estimulam a produção de recetores para a oxitocina no endométrio (Ball e Peters, 2004;

Silva, 2022). O fator de necrose tumoral também induz a produção de PGF2 α pelo endométrio, evidenciando assim a sua participação na luteólise (Gordon, 2017).

A diminuição dos níveis de P4 conduzirá a um aumento da frequência dos pulsos de LH (Ball e Peters, 2004; Silva, 2022). Os pulsos ocorrem com intervalos de seis a oito horas, sendo necessários de cinco a seis episódios para que a luteólise ocorra (Silva, 2022). Concentrações elevadas de LH resultarão na maturação folicular e num aumento da produção de estradiol (Evangelista, 2018; Silva, 2022).

3.2.4. Estro

O estro corresponde ao período mais curto de todo o ciclo éstrico, com duração de apenas algumas horas, com extremos de 6 a 26 horas (Evangelista, 2018). Nesta fase, as concentrações de estradiol atingem o seu valor máximo, o que conduz ao comportamento de estro (Gordon, 1996; Peter et al., 2009a; Palomares, 2021).

O principal sinal de cio é o reflexo de imobilização, em que as fêmeas permanecem imóveis quando são montadas por outras, sendo que apenas 2 a 3% dos animais não demonstram esta alteração (Ball e Peters, 2004; Evangelista, 2018). Durante o estro, cerca de 90% dos animais exibem comportamento de monta (Peter et al., 2009a). Os animais também podem apresentar sinais secundários de cio, como aumento da locomoção, cheirar a genitália de outros animais, maior vocalização, aumento da frequência de micção e redução do apetite (Ball e Peters, 2004; Peter et al., 2009a; Evangelista, 2018; Palomares, 2021). Algumas alterações físicas também podem ser observadas, nomeadamente congestão e edema da vulva, aumento da temperatura corporal entre 0,3 e 1 °C, presença de muco vulvar e diminuição da produção de leite. A identificação visual do comportamento de cio muitas vezes não é realizada com sucesso, pois qualquer alteração na saúde do animal pode impactar negativamente a manifestação do cio (Evangelista, 2018).

Durante o estro, por feedback positivo, os altos níveis de estradiol provenientes do FD estimulam o hipotálamo a libertar GnRH (Ball e Peters, 2004; Peter et al., 2009a). Além disso, por feedback negativo, os elevados níveis de estradiol influenciam a hipófise a reduzir a secreção de FSH, uma vez que o folículo já não necessita de continuar a crescer, mas sim iniciar o seu processo de maturação final (Evangelista, 2018). Os pulsos de GnRH desencadeiam um pico pré-ovulatório de LH cerca de 24 horas antes da ovulação, permanecendo elevado por 7 a 8 horas. A LH induz a maturação final do folículo e a ovulação, ativando uma resposta inflamatória que torna a sua parede mais fina, levando à ruptura (Peter et al., 2009a; Evangelista, 2018; Silva, 2022).

3.2.5. Anestro

Anestro é um termo amplo que se refere à ausência de sinais de estro, mesmo quando a detecção é realizada de forma rigorosa. Embora a falta de manifestações comportamentais e fisiológicas do estro possa ser classificada como anestro, a condição verdadeira é caracterizada principalmente pela anovulação (Peter et al., 2009a). A classificação do anestro ou da anovulação baseia-se nas características do folículo durante as fases de recrutamento, seleção e dominância. É importante destacar que a ovulação silenciosa (ausência de sinais evidentes de estro) e o estro não observado (falhas na detecção do estro) podem aparentemente aumentar a incidência de anestro em uma vacaria, no entanto, esses casos não são incluídos na classificação, pois o primeiro é de natureza comportamental e o segundo resulta de deficiências no manejo (Peter et al., 2009a; Peter et al., 2009b).

No anestro tipo I, há crescimento folicular até à fase de recrutamento (4 mm), não evoluindo para a fase de seleção e de dominância. A origem deste tipo ainda não é bem compreendida, porém acredita-se que esteja associada à subnutrição. Ovários com este tipo de anestro são, muitas vezes, denominados de “ovários inativos” (Peter et al., 2009a; Peter et al., 2009b).

No anestro tipo II, os folículos crescem até à fase de seleção (9 mm) e, depois, ocorre atresia folicular, o que resultará numa nova onda folicular passados 2 a 3 dias (Peter et al., 2009a; Peter et al., 2009b).

Já no anestro tipo III, ocorre o desenvolvimento até à fase de dominância, porém não há ovulação, e o FD torna-se um folículo persistente. Os folículos persistentes podem originar um quisto folicular (Peter et al., 2009a; Peter et al., 2009 b).

No anestro tipo IV, as vacas apresentam um estro e uma ovulação normais, entretanto, a fase lútea é prolongada devido à falta de regressão do corpo lúteo. Diversos fatores podem estar associados a este tipo de anestro, como, por exemplo, distócia, stress térmico, problemas de saúde no primeiro mês de lactação, assim como piómetra (Peter et al., 2009a; Peter et al., 2009b).

3.2.6. Dinâmica folicular

Nos bovinos, a maioria dos ciclos éstricos (95%) é composta por duas ou três ondas foliculares, enquanto padrões com uma ou quatro ondas são raros (Adams e Singh, 2021; Murcia, 2022). Fatores como nutrição, lactação e stress térmico influenciam o número de ondas foliculares por ciclo (Adams e Singh, 2021). Os ciclos com três ondas são mais longos (cerca de 23 dias) em comparação com os ciclos com duas ondas (19 a 20 dias) (Figura 4), e por isso frequentemente adota-se 21 dias como

a duração do ciclo éstrico na vaca, sendo uma média entre o ciclo de duas ondas e o ciclo de três ondas (Gordon, 2017; Adams e Singh, 2021; Murcia, 2022). Ciclos mais longos apresentam folículos menores em relação aos ciclos mais curtos (Murcia, 2022). Nos ciclos compostos por duas ou três ondas, a primeira onda folicular ocorre no dia da ovulação (dia 1). A segunda onda geralmente ocorre no dia 9 ou 10 em ciclos de duas ondas, e no dia 8 em ciclos de três ondas. No dia 15 ou 16, ocorre a terceira onda em ciclos com três ondas (Adams e Singh, 2021; Murcia, 2022).

O desenvolvimento de uma onda folicular envolve três fases. Durante o recrutamento, 8 a 41 pequenos folículos (3-4 mm) crescem sob influência das gonadotrofinas por 2 a 3 dias (Adams et al., 2008; Peter et al., 2009a; Murcia, 2022). Na fase de seleção, um grupo de folículos associados a uma onda folicular continua a crescer até que apenas um deles se diferencie, tornando-se o FD (dominância), enquanto os demais, os folículos subordinados, param o seu crescimento. Posteriormente, o FD atinge o tamanho pré-ovulatório (cerca de 10 mm), momento em que ocorre a supressão da secreção de FSH, e os folículos subordinados iniciam sua regressão (Peter et al., 2009a; Murcia, 2022).

Os folículos dominantes apresentam um aumento na vascularização e na formação de receptores de LH nas células da granulosa. O crescimento dos folículos tem um componente hereditário, com o maior folículo do grupo mantendo sua posição de liderança durante toda a fase de crescimento até se tornar o FD (Murcia, 2022).

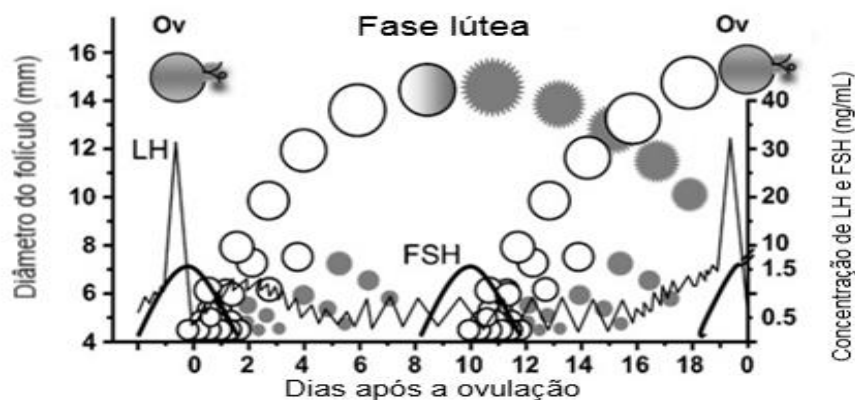


Figura 4. Ciclo de duas ondas foliculares. Adaptado de Adams et al. (2008).

3.3. Ecografia do útero

3.3.1. Determinação da fase do ciclo éstrico

O útero é examinado em toda a sua extensão, obtendo cortes longitudinais, transversais e oblíquos (Torres, 2000). Durante o ciclo éstrico, o útero apresenta diferentes aparências na ecografia. Estas diferenças são causadas pelas hormonas

que modulam o ciclo, nomeadamente a P4 e o estradiol (DesCôteaux et al., 2010; Murcia, 2022). Durante o estro, devido ao edema dos tecidos causado pelo estradiol, é possível diferenciar o miométrio do endométrio (Murcia, 2022) (Figura 5).

Enquanto os níveis de estradiol permanecerem elevados, isto é, durante o pró-estro, o estro e o início do metaestro, o útero apresentará tónus aumentado, as paredes estarão mais espessadas e os cornos uterinos menos enrolados em comparação com o diestro (DesCôteaux et al., 2010). Estas alterações devem-se à secreção de muco pelas estruturas glandulares do endométrio durante o pró-estro e o estro, ao aumento da circulação sanguínea no útero e ao edema uterino, que geralmente volta ao normal quatro dias após o estro (Torres, 2000; DesCôteaux et al., 2010).

Estes fenómenos, a nível ecográfico, apresentam-se em tons cinzentos, heterogéneos, com a parede uterina em formato ondulado. Também é possível visualizar zonas mais anecoicas, o que indica aumento da vascularização ou presença de edema (DesCôteaux et al., 2010). O líquido acumulado no útero durante o estro geralmente não ultrapassa 3 cm de espessura. A presença de volumes maiores pode estar associada a outros processos, como mucometra, piómetra, endometrite ou gestação (Murcia, 2022). O muco no lúmen uterino forma uma roseta devido aos cortes transversais do endométrio. No centro dessa roseta, observa-se uma área anecoica em formato de estrela, indicando a presença de muco (DesCôteaux et al., 2010).

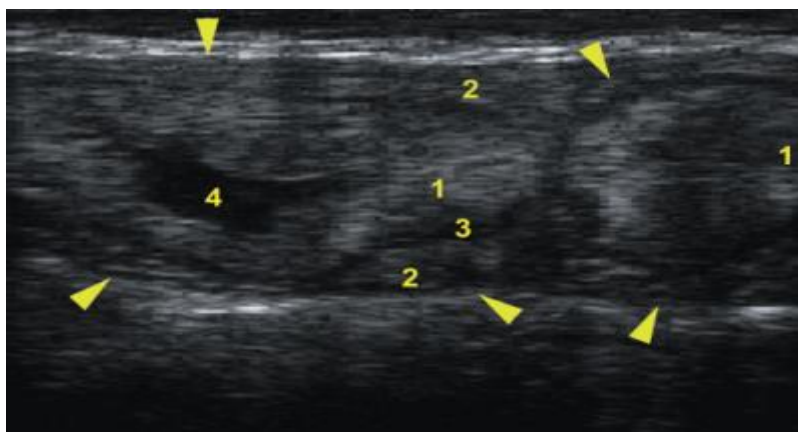


Figura 5. Imagem ecográfica do útero durante o estro, em corte transversal. Adaptado de DesCôteaux et al. (2010).

Legenda. 1: Endométrio 2: Miométrio 3: Porção vascular do útero 4: Lúmen do útero contendo muco. As setas delimitam as bordas do útero.

3.3.2. Doenças do útero

A ecografia permite diagnosticar diferentes doenças do útero bovino, nomeadamente endometrite, metrite e piómetra (Torres, 2000; Murcia, 2022). A infeção implica a adesão de microrganismos patogénicos à mucosa ou a penetração do epitélio

e/ou libertação de toxinas bacterianas que estabelecem a doença. A infecção do útero está associada a um aumento do intervalo entre o parto e o primeiro serviço, assim como à diminuição das taxas de concepção. As infecções uterinas subclínicas são as que mais frequentemente impactam negativamente o desempenho reprodutivo (Sheldon et al., 2006).

Diversos estudos compararam os resultados obtidos por vaginoscopia, palpação transretal e a ecografia com a citologia uterina, que é considerada o *gold standard* para o diagnóstico de patologias uterinas. Esses estudos concluíram que, entre os métodos avaliados, a seguir à citologia, a ecografia é a melhor alternativa para o diagnóstico (Quintela et al., 2012). No entanto, a citologia uterina não fornece resultados em tempo útil, o que limita a sua aplicabilidade na rotina prática. Nesse contexto, a ecografia destaca-se por permitir um diagnóstico imediato com um alto índice de fiabilidade (DesCôteaux et al., 2010).

A ideia mais consensual é que a infecção uterina no pós-parto seja de origem multifatorial. Primíparas são mais suscetíveis a partos distócicos e, portanto, apresentam maior predisposição para desenvolver metrite (Dadarwal e Palmer, 2021). As bactérias frequentemente isoladas incluem *Escherichia coli*, *Trueperella pyogenes*, *Fusobacterium necrophorum* e *Prevotella spp.* (Sheldon et al., 2006; Dadarwal e Palmer, 2021; Adnane e Chapwanya, 2022). Estas bactérias atuam em sinergia, ultrapassam as defesas do útero e causam doenças uterinas. Todas elas têm impacto negativo na fertilidade futura do animal (Sheldon et al., 2006; Dadarwal e Palmer, 2021).

A metrite é a inflamação das três camadas (endométrio, miométrio e serosa) da parede do útero (Dadarwal e Palmer, 2021; Murcia, 2022). A nível ecográfico, é possível visualizar líquido intrauterino, mais ecogénico do que o líquido da gestação, com aspeto de "neve" e um ponteadado branco (Torres, 2000) (Figura 6). A endometrite corresponde à inflamação da camada epitelial do útero, o endométrio (Sheldon et al., 2006; Murcia, 2022). No exame ecográfico, em algumas ocasiões, é possível observar pequenas acumulações de líquido purulento (Murcia, 2022). Caso a endometrite não seja acompanhada por líquido no interior do lúmen uterino, a precisão da ecografia para o diagnóstico de endometrite é reduzida (Kahn, 2004).

A piómetra é caracterizada pela acumulação de pus no interior do útero, na presença de um CL (Dadarwal e Palmer, 2021; Murcia, 2022). Através do exame ecográfico, é possível identificar a presença de um fluido de ecogenicidade variável, com material celular sob a forma de manchas acinzentadas, um CL e a ausência de gestação (Dadarwal e Palmer, 2021).

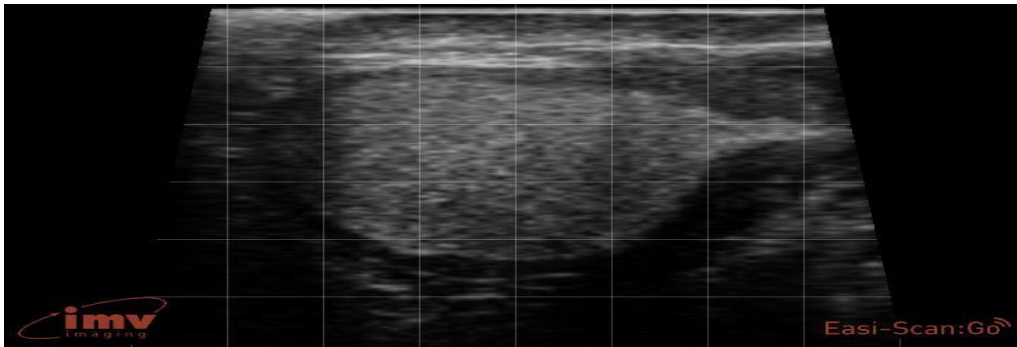


Figura 6. Imagem ecográfica de um útero com metrite. Original do autor.

3.4. Ecografia dos ovários

A ecografia é uma ferramenta indispensável para avaliar o aparelho reprodutor das vacas. Após a identificação do ovário, o transdutor pode ser cuidadosamente girado para capturar imagens em diferentes cortes, sejam transversais ou longitudinais (DesCôteaux et al., 2010).

Os folículos, com diferentes tamanhos consoante a fase do ciclo éstrico, e o CL em suas diversas fases de crescimento, são as estruturas que podem ser visualizadas na ecografia do ovário (Murcia, 2022). A ecografia dos ovários pode ser utilizada para analisar o retorno da atividade ovárica no período pós-parto e identificar a fase do ciclo éstrico. Além disso, possibilita a observação das distintas ondas foliculares que ocorrem na dinâmica folicular (Murcia, 2022).

3.4.1. Estruturas fisiológicas

3.4.1.1. Folículos

Nas imagens obtidas por meio da ecografia, pode identificar-se a presença de folículos como estruturas circulares e de conteúdo anecogénico (preto), por estarem cheios de líquido (Torres, 2000; Kahn, 2004; Murcia, 2022) (Figura 8). Nem todos os folículos são uniformemente esféricos (DesCôteaux et al., 2010). Tal ocorre devido à compressão criada por folículos adjacentes, pelo CL ou pela sonda (Torres, 2000; DesCôteaux et al., 2010). O fluido presente no interior do folículo geralmente não é refletido. Apenas em alguns casos individuais, o lúmen do folículo pode apresentar pontos ecogénicos próximos à parede. A parede do folículo não é distintamente visível como uma estrutura separada na ecografia, sendo inferida pelo contorno do fluido folicular. Ela é rodeada pelo estroma do ovário, que é hiperecogénico e constitui o tecido de fundo visível do ovário (Kahn, 2004).

Os vasos sanguíneos, quando visualizados em corte transversal, podem ser confundidos com pequenos folículos. Durante a fase lútea, como resultado do aumento do fluxo sanguíneo para o CL, os vasos sanguíneos estão dilatados. Diferentemente

dos folículos, os vasos sanguíneos podem ser seguidos por uma extensão maior e são normalmente localizados na periferia do ovário (DesCôteaux et al., 2010).

O tamanho mínimo do folículo que a sonda consegue captar é de 3 milímetros, sendo que a precisão para identificar folículos muito pequenos depende principalmente da qualidade da imagem gerada pelo aparelho e da experiência do operador. Caso o exame seja realizado cuidadosamente, folículos com 5 a 10 mm podem ser facilmente identificáveis (Kahn, 2004).

A nível de diagnóstico diferencial, é necessário saber diferenciar um folículo de um corpo lúteo cavitário. Na imagem ecográfica, o corpo lúteo cavitário possui, tal como o folículo, um líquido anecóico no seu interior. Contudo, o fluido no interior do corpo lúteo cavitário é cercado por uma parede lútea moderadamente ecogénica, com alguns milímetros de espessura (Kahn, 2004) (Figura 7).

Após a ovulação, não há qualquer sinal ecográfico que permita identificar que esta tenha ocorrido. No início do metaestro, a imagem ecográfica obtida corresponde a um ovário sem qualquer estrutura funcional detetável (Kahn, 2004).

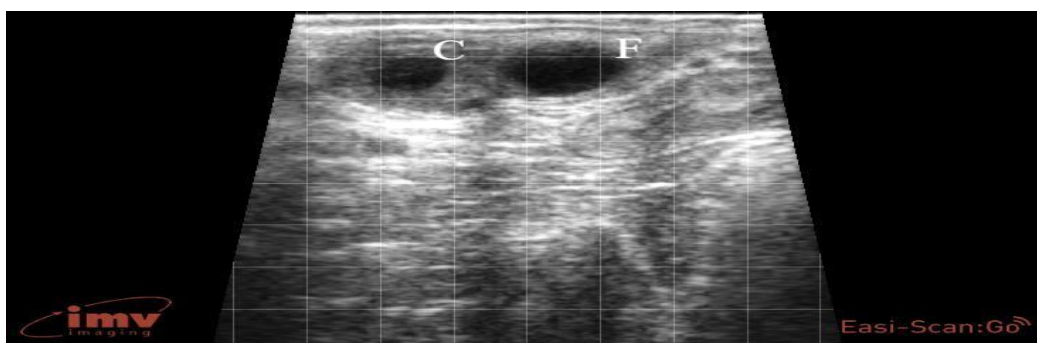


Figura 7. Ovário com um corpo lúteo cavitário (C) a esquerda, e um folículo (F) a direita. Original do autor.

3.4.1.2. Corpo lúteo

Imediatamente após a ovulação, no início do metaestro, o desenvolvimento do corpo hemorrágico não pode ser detectado (Kahn, 2004; Murcia, 2022). O CL jovem pode ser identificado pelo ecógrafo a partir do 2º ao 4º dia após a ovulação (Torres, 2000; Kahn, 2004; Murcia, 2022). Para identificar a fase do ciclo éstrico em que a vaca se encontra, avaliar o CL e determinar a sua idade é tão crucial quanto examinar os folículos ováricos. Excluindo a medição da concentração de P4 no sangue ou no leite, a ecografia é o método mais fiável para confirmar a presença de um CL no ovário bovino (Quintela et al., 2012).

O corpo hemorrágico forma-se a partir da transformação do folículo após a ovulação, caracterizando-se pelo crescimento para o interior da camada granulosa e pela presença de fibrina na cavidade interna. Com o tempo, essa cavidade vai reduzindo

de tamanho, enquanto a camada granulosa aumenta. A nível ecográfico, apresenta-se como uma estrutura hiperecogénica (Murcia, 2022).

Na ecografia, o CL apresenta-se com uma forma circular e uma ecogenicidade variável, dependendo da sua consistência (Murcia, 2022) (Figura 8). No diestro, o CL exibe-se como uma estrutura cinzento-escura, ecogénica e com uma configuração granular (Kahn, 2004; DesCôteaux et al., 2010; Murcia, 2022). No final do ciclo éstrico, o CL começa a sua regressão por ação de prostaglandinas F2-alfa endógenas ou exógenas, o que conduz à diminuição do tamanho e da produção de P4, além de se tornar mais flácido e mais hiperecogénico, o que dificulta a sua diferenciação do estroma ovárico (DesCôteaux et al., 2010; Quintela et al., 2012; Murcia, 2022).

Entre 25 e 80% dos CL apresentam uma cavidade central, com cerca de 2 a 20 mm de diâmetro, com uma região anecóica composta pelo líquido do folículo que deu origem a este corpo lúteo cavitário, sendo rodeada por tecido lúteo (Torres, 2000) (Figura 7). A ecogenicidade da cavidade é similar à do folículo (Kahn, 2004). Este CL é fisiológico e não há diferenças significativas na concentração de P4 de vacas com CL cavitário comparativamente com CL não cavitário (Torres, 2000; Murcia, 2022). Pode-se assumir que, quando um CL tem cavidade, é mais provável que a vaca esteja na primeira metade do ciclo éstrico do que na segunda metade (Quintela et al., 2012). O desaparecimento da cavidade ocorre em cerca de 70% dos CL, embora alguns CL possam manter a cavidade até à sua luteolise (Murcia, 2022).

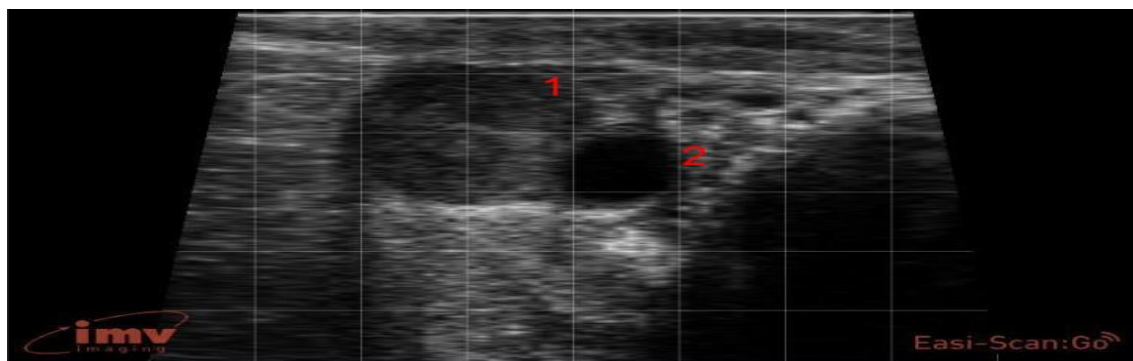


Figura 8. Imagem ecográfica do ovário contendo um corpo lúteo (1) e um folículo (2). Original do autor.

3.4.2. Estruturas patológicas

3.4.2.1. Estruturas quísticas

As patologias ováricas são um dos principais motivos de infertilidade nas vacas (Murcia, 2022). O quisto folicular tem origem num FD persistente que, na ausência de um CL funcional, aumenta de tamanho até atingir um diâmetro de pelo menos 2,5 cm, sendo capaz de manter a produção de estradiol (Quintela et al., 2012; Murcia, 2022).

Os quistos foliculares possuem geralmente uma parede mais fina (<3 mm), enquanto os quistos luteínicos apresentam uma parede mais espessa (>3 mm) (Quintela et al., 2012).

Os quistos luteínicos conseguem manter a concentração circulante de P4 semelhante aos níveis observados durante a fase lútea (Torres, 2000; Murcia, 2022). O exame ecográfico permite distinguir, com muito mais eficiência, os quistos foliculares dos luteinizados em comparação com a palpação rectal (Quintela et al., 2012). Na ecografia, os quistos aparecem como estruturas arredondadas, anecoicas, semelhantes a um folículo grande (Torres, 2000; Kahn, 2004; Murcia, 2022) (Figura 9).

Tradicionalmente, os quistos foliculares eram tratados com GnRH e os quistos luteínicos com PGF2 α . Atualmente, tratamentos combinados, como Ovsynch ou Ovsynch associado a um dispositivo de libertação lenta de P4, tornaram-se mais comuns para tratar quistos ováricos, e a diferenciação entre quistos foliculares e luteínicos passou a ter menos relevância (Quintela et al., 2012).



Figura 9. Imagem ecográfica de um quisto folicular de aproximadamente 4 cm. Original do autor.

3.4.2.2. Tumores da granulosa e da teca

Os tumores das células da granulosa e da teca são os tumores do ovário mais comuns nas vacas, no entanto, são raros (<0,5%). Estes tumores apresentam variações na sua conformação, podendo ser pequenos e sólidos ou grandes e cavitários (Quintela et al., 2012; Murcia, 2022). O seu peso pode variar entre 11,9 g e 12,3 Kg (Quintela et al., 2012). Podem provocar disfunção hormonal, com produção elevada de estradiol e efeitos masculinizantes ou crescimento mamário. O diagnóstico baseia-se nos sinais clínicos, palpação e ecografia (Murcia, 2022).

A imagem ecográfica pode variar consoante o aspeto do tumor; no entanto, uma aparência semelhante a um favo de mel é frequentemente visualizada devido à presença de lesões cavitárias preenchidas com líquido no interior (Quintela et al., 2012).

3.4.3. Morte embrionária

A maioria dos casos de morte embrionária ocorre durante a duração de um ciclo estrico (21 dias), sendo a maior incidência em animais mais jovens (Inskeep e Dailey,

2005). Nas múltíparas, 67% das mortes embrionárias ocorrem por volta do 8.º dia, enquanto nas nulíparas, 92% dos casos ocorrem no 8.º dia. O mesmo acontece nas vacas repetidoras, em que a maioria dos casos ocorre entre o 6.º e o 7.º dia (Inskeep e Dailey, 2005). Nas vacas leiteiras, concentrações baixas de P4 têm um papel fundamental nas falhas reprodutivas. A P4 pode estar baixa devido à secreção insuficiente pelo CL ou a um aumento do seu metabolismo, nomeadamente a nível hepático (Inskeep e Dailey, 2005).

A nível ecográfico, o primeiro sinal de morte embrionária é a presença de um embrião com um tamanho inferior ao esperado e uma quantidade reduzida de fluido alantoide (Kahn, 2004). Um diagnóstico mais fiável de morte embrionária é feito quando há ausência de batimento cardíaco (Kahn, 2004; Quintela et al., 2012). Por vezes, quando a morte embrionária ocorre entre o 25º e 40º dias, é possível detectar um atraso no crescimento antes de observar a morte embrionária, quando deixa de haver batimento cardíaco (Kahn, 2004). Quando começa a haver reabsorção, o fluido alantoide diminui, e surgem fragmentos de membrana a flutuar livremente num fluido turvo (Kahn, 2004; Quintela et al., 2012).

3.5. Hormonas

3.5.1. Gonadoliberina

A secreção da GnRH, pelo hipotálamo, na circulação portal hipotálamo-adenohipofisária é considerada o principal mecanismo endocrinológico que regula a síntese e libertação de gonadotrofinas (LH e FSH) (González, 2002; Williams e Cardoso, 2021). Fatores internos (hormonas gonadais e metabólicos, fatores de crescimento e moléculas de sinalização) e fatores externos (produtos químicos ambientais, agentes causadores de stress e o fotoperíodo) são percebidos a nível do sistema nervoso central e controlam a secreção de GnRH diretamente ou por meio de vias intermediárias (Williams e Cardoso, 2021). Estas duas gonadotrofinas chegam às gónadas através da circulação sanguínea e atuam nos ovários, estimulando o crescimento e a maturação dos folículos, a ovulação do folículo pré-ovulatório, bem como a síntese de hormonas esteróides e peptídicas gonadais (Williams e Cardoso, 2021). As hormonas gonadais, por sua vez, exercem ações de feedback negativo para controlar a liberação de GnRH. Esse mecanismo regulatório leva a mudanças dinâmicas nas concentrações circulantes das hormonas reprodutivas durante o ciclo éstrico (Williams e Cardoso, 2021). Existem agonistas sintéticos da GnRH que são utilizados com fins terapêuticos na prática veterinária. Um deles, a busserelina, é 17 vezes mais potente do que a GnRH natural devido à sua menor taxa de degradação e, conseqüentemente, à sua maior semi-vida.

Outro agonista da GnRH, a fertirelina, é sintetizado por substituição de aminoácidos nas posições 3, 6 e 9 (González, 2002).

3.5.2. Prostaglandina

As prostaglandinas (PGs) são ácidos gordos de 20 átomos de carbono. Seis grupos de PGs foram identificados: A, B, C, D, E e F. A PGF2 α é derivada do ácido araquidónico e é produzida no endométrio (González, 2002). O estradiol do folículo pré-ovulatório desencadeia a libertação de oxitocina hipofisária, que, por sua vez, estimula a libertação de uma pequena quantidade de PGF2 α uterina. Inicia-se, portanto, um ciclo de feedback positivo envolvendo a libertação de oxitocina lútea adicional e PGF2 α de origem lútea e uterina (González, 2002; Williams e Cardoso, 2021).

Em vacas leiteiras, o seu uso é mais frequente no tratamento de infeções uterinas, sincronização de cios, retenção placentária, quistos ováricos, indução de partos e abortos. As PGs também participam na lactogénese, provavelmente por efeito central sobre a libertação de oxitocina da neuro-hipófise. A PGF2 α , associada à oxitocina, também é responsável por causar a contração do miométrio (González, 2002).

3.5.3. Estradiol

A unidade funcional do ovário, os folículos, são responsáveis pela produção de estradiol. Esta hormona produz as mudanças típicas do estro no trato genital e no comportamento, permitindo a receptividade sexual (González, 2002). O estradiol é frequentemente utilizado para promover o controlo farmacológico do ciclo éstrico, uma vez que, na ausência de P4, a sua administração pode estimular a libertação de GnRH e LH, causando a ovulação do FD (Sobreira et al., 2017).

3.5.4. Progesterona

A P4 é uma hormona esteróide secretada principalmente pelas células luteínicas do CL, originado do folículo ovulado, e pela placenta (Wiltbank et al., 2014; Santos et al., 2020). Esta hormona sexual é essencial para o equilíbrio ovárico, prepara o endométrio para a manutenção de uma nova gestação, impede a motilidade uterina, inibe o estro e o pico pré-ovulatório de LH, e contribui para o desenvolvimento da glândula mamária. É de total importância para a manutenção da gestação na fêmea bovina (Niciura, 2008; Santos et al., 2020).

Outro fator-chave que regula a P4 circulante é a sua taxa de metabolismo, principalmente pelo fígado. A regulação primária desse metabolismo ocorre através de alterações no fluxo sanguíneo hepático. Um aumento do fluxo hepático de 1000 para

2000 L/h pode reduzir as concentrações circulantes de P4 em 50%, mesmo sem alterações na sua produção (Wiltbank et al., 2014).

3.6. Protocolos hormonais

Uma ampla gama de maneios reprodutivos é praticada em explorações leiteiras. Esses maneios podem variar desde nenhuma intervenção hormonal (vacas inseminadas após o estro observado), a baixa intervenção hormonal (vacas com maior dificuldade de ficarem gestantes são tratadas), até alta intervenção hormonal, onde os ciclos reprodutivos são controlados através de hormonas e todas as vacas são submetidas à inseminação artificial em tempo fixo. Em alguns casos, é praticado um período de não intervenção, onde as vacas após o período voluntário de espera são inseminadas após o estro observado. As vacas não observadas em cio são então tratadas com o objetivo de induzir a ovulação (Lucy, 2004).

3.6.1. Protocolos hormonais com detecção de cio

Desde a descoberta da PGF2 α como agente luteolítico em bovinos, esta tem sido o tratamento mais frequentemente utilizado para a indução eletiva da regressão lútea e/ou sincronização do estro (Kasimanickam, 2021). O mecanismo de ação da prostaglandina é a luteólise e, portanto, a aplicação de um programa de prostaglandina está restrita apenas a vacas cíclicas com CL maduro e funcional (Kasimanickam, 2021).

Animais com FD funcional geralmente demoram entre dois e três dias para responder ao tratamento. A PGF2 α não consegue induzir de forma eficaz a luteólise durante o pró-estro e o estro (devido à ausência de um corpo lúteo funcional) nem nos primeiros cinco ou seis dias após o estro (devido à imaturidade dos recetores de PGF2 α em corpos lúteos recém-formados) (Kasimanickam, 2021).

A administração de uma dose luteolítica de PGF2 α (25 mg) ou dos seus análogos sintéticos (por exemplo, 500 μ g de cloprostenol) provoca a regressão do CL na maioria dos estádios do diestro, induzindo o estro em mais da metade (55–65%) das vacas cíclicas. Uma segunda injeção, administrada 11 a 14 dias depois, deve resultar numa melhor sincronização do estro nos animais, pois as vacas que responderam à primeira injeção estarão entre o 6.^o e o 15.^o dia do ciclo, com a maioria situando-se entre os dias 7 e 9 (Kasimanickam, 2021).

As vacas tratadas unicamente com PGF2 α devem passar por um período de detecção de estro após a sua administração. A falha dos protocolos que utilizam apenas a PGF2 α pode ser explicada, em parte, por ineficiências na expressão ou detecção do estro. A expressão do estro está reduzida em vacas com balanço energético negativo (BEN) (Lucy et al., 2004). Aproximadamente 25% das vacas que estavam no 6.^o dia do

ciclo respondem ao tratamento com PGF2 α ; no 7.^o dia, 33% dos animais respondem; e pouco menos de 100% das vacas que estavam entre os dias 8 e 16 do ciclo respondem (Kasimanickam, 2021).

Protocolos com duração de 7 a 14 dias utilizando P4 podem ser realizados através de dispositivos intravaginais de progesterona, como o dispositivo intravaginal libertador de progesterona (PRID) e o dispositivo de libertação intravaginal controlada (CIDR) (Lucy et al., 2004; Kasimanickam, 2021). Como a ovulação é inibida por até 14 dias, o folículo que ovula após este protocolo é um folículo envelhecido e, conseqüentemente, tem fertilidade reduzida. A PGF2 α pode ser administrada 24 horas antes ou logo após a remoção da P4. Os animais são observados por dois a quatro dias após o tratamento com a PGF2 α para detecção do estro (Kasimanickam, 2021).

A administração de GnRH induz um aumento imediato de LH e FSH, cuja magnitude é independente da concentração de P4 ou do estágio da onda folicular. O efeito da GnRH na onda folicular existente depende da presença ou ausência de um FD. A GnRH administrada após a seleção do FD provoca a sua ovulação, com o surgimento de uma nova onda 1,5 a 2,0 dias depois (Kasimanickam, 2021).

No entanto, quando a GnRH é administrada antes da seleção, não tem efeito sobre a onda folicular existente e haverá um aumento transitório da concentração FSH, com o surgimento de novas ondas dentro de 1 a 2 dias (Lucy et al., 2004; Kasimanickam, 2021). A GnRH é utilizada em protocolos hormonais para sincronizar e induzir a ovulação em folículos dependentes de LH, com melhor eficácia em folículos com diâmetro entre 8 e 10 mm (Driancourt, 2001). A correta dosagem de GnRH pode ser crítica para obter a resposta esperada (Lucy et al., 2004). O uso subsequente de PGF2 α para causar a regressão do CL induzido é obrigatório quando a GnRH é utilizada para sincronizar as ondas foliculares (Kasimanickam, 2021).

3.6.2. Protocolos hormonas com inseminação em tempo fixo

A inseminação artificial (IA) tem sido amplamente utilizada para melhorar a genética dos animais. No entanto, fatores como nutrição, manejo e a eficiência na detecção do estro afetam o uso dessa tecnologia (Bó e Baruselli, 2014). Durante anos, a IA, após a utilização de um protocolo de sincronização, baseava-se na detecção do cio ou, alternativamente, na dupla inseminação em dois dias consecutivos. Atualmente, a adoção de programas que envolvem duas inseminações consecutivas está descartada devido aos elevados custos associados (Taponen, 2009). O uso de protocolos que controlam o desenvolvimento folicular e a ovulação, comumente conhecidos como protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF), tem a vantagem de permitir a aplicação das tecnologias de reprodução assistida sem a necessidade de detecção de

estro (Bó e Baruselli, 2014). Existem, atualmente, dois tipos principais de protocolos de IATF utilizados em bovinos: protocolos baseados na GnRH e protocolos baseados no estradiol, ambos combinados com dispositivos de progesterona. A preferência por cada um desses protocolos pelos profissionais está relacionada com a acessibilidade dessas hormonas num determinado país. Os programas à base de GnRH são amplamente utilizados na América do Norte e na Europa, enquanto os programas à base de estradiol são utilizados na América do Sul (Bó e Baruselli, 2014). Atualmente, o uso de protocolos hormonais com base em estradiol é inviável em Portugal, uma vez que a comercialização dessa substância está proibida por legislação nacional (Decreto-Lei n.º 150/99, de 7 de maio).

Um protocolo utilizando GnRH ou seus agonistas e PGF2 α ou seus agonistas, denominado Ovsynch, foi desenvolvido para sincronizar a ovulação em bovinos leiteiros. O objetivo do protocolo Ovsynch é sincronizar a ovulação, permitindo uma boa fertilidade para IATF, sem a necessidade de deteção de cio (Taponen, 2009). O protocolo consiste em três administrações hormonais. A primeira, GnRH, é administrada para sincronizar as ondas foliculares. A segunda, PGF2 α , administrada 7 dias depois, promove a luteólise do CL. A terceira, uma nova dose de GnRH, é administrada 36 a 48 horas após a aplicação de PGF2 α para induzir a ovulação. A inseminação artificial é realizada entre 16 e 24 horas após a segunda aplicação de GnRH. É importante destacar que podem ocorrer variações nos intervalos de tempo entre os tratamentos (Taponen, 2009; Bó e Baruselli, 2014). A eficiência do protocolo Ovsynch, medida pela taxa de concepção, é amplamente influenciada por fatores como a condição corporal (CC), o stress térmico e o número de partos. Embora a literatura reporte uma vasta gama de resultados, as taxas de concepção geralmente se situam entre 30% e 50% em sistemas de produção de leite (Sá Filho et al., 2013). Contudo, em condições específicas de manejo ou para populações selecionadas, taxas mais elevadas podem ser alcançadas (Rodrigues et al., 2024). Das novilhas submetidas ao Ovsynch, 20% apresentaram estro antes da injeção de PGF2 α , o que reduziu acentuadamente a fertilidade do protocolo. A prevenção das ovulações precoces passa pela adição de um dispositivo intravaginal de liberação de progesterona ao protocolo durante 7 dias. Portanto, algumas vacas e novilhas sincronizadas com protocolos do tipo Ovsynch também podem receber um dispositivo de libertação de progesterona entre a primeira aplicação de GnRH (dia 0 do protocolo Ovsynch) e PGF2 α (Bó e Baruselli, 2014). Estudos recentes mostraram que a primeira aplicação de GnRH resultou em ovulação em 44% a 54% das vacas leiteiras. Se a primeira administração de GnRH não sincronizar a emergência da onda folicular, a ovulação após a segunda aplicação de GnRH (dia 9 do protocolo Ovsynch) pode ser mal sincronizada, resultando em taxas de

prenhez decepcionantes (Bó e Baruselli, 2014). Uma variação do Ovsynch é o CO-Synch, que consiste em realizar a IATF no momento da segunda dose de GnRH, ao contrário do Ovsynch, em que a inseminação é realizada entre 16 e 24 horas após a segunda aplicação de GnRH (Bó e Baruselli, 2014; Bó et al., 2018). Em geral, os protocolos de Co-Synch também incluem a inserção de um dispositivo intravaginal de progesterona para superar as baixas taxas de ovulação após o primeiro GnRH (Bó et al., 2018). Outra abordagem para aumentar as concentrações de P4 durante o Ovsynch inclui a administração de GnRH 6 ou 7 dias antes do início do protocolo. Esses tratamentos são chamados de Double Ovsynch (Bó e Baruselli, 2014).

Em alternativa, mas ainda com o intuito de realizar IATF, pode-se palpar os animais com o intuito de perceber quais possuem CL funcional e quais possuem folículo ovárico dominante. Os animais que tiverem um CL funcional recebem PGF2 α , e a GnRH é administrado 12 a 14 dias depois. Já os animais com folículo ovárico grande recebem apenas GnRH (Bó e Baruselli, 2014).

3.7. Vacas repetidoras

3.7.1. Fatores que determinam a sua existência

A produção de bovinos leiteiros tem exigido uma intensificação significativa, o que tem resultado em impactos negativos na eficiência reprodutiva. O objetivo reprodutivo em vacas leiteiras é alcançar um intervalo de partos ideal de aproximadamente 12 meses (cerca de 365). Para tal, as vacas devem conceber após a IA, manter a gestação até ao parto e, após um intervalo de 50 dias, estar aptas para uma nova IA (Pérez-Marín et al., 2012).

As vacas conhecidas como vacas repetidoras (VR) formam um grupo heterogéneo de animais com baixa fertilidade, que, na ausência de anomalias anatómicas visíveis ou de doenças infecciosas, apresentam diferentes distúrbios reprodutivos de forma consistente ao longo de três ou mais ciclos éstricos consecutivos de duração normal (Pérez-Marín et al., 2012; Pothmann et al., 2015; Pérez-Marín e Quintela, 2023).

A etiologia das VR é multifatorial, envolvendo a vaca, o touro, fatores ambientais e manejo, frequentemente sobrepostos, dificultando a identificação da origem primária (Pérez-Marín et al., 2012; Wagener et al., 2017). Entre as principais causas incluem-se desequilíbrios hormonais, perturbações com sede nos ovidutos ou no útero, má qualidade do oócito, má expressão dos sinais de estro ou deteção inadequada de cio, quistos ováricos, doenças inflamatórias como endometrite e mastite, deficiências nutricionais ou má técnica de IA. A endometrite subclínica (ES) foi considerada um fator

particularmente relevante, uma vez que frequentemente passa despercebida pelos produtores, devido à ausência de sinais clínicos (Pothmann et al., 2015; Pérez-Marín e Quintela, 2023; Villar et al. 2025). Estas causas são influenciadas por vários fatores de risco, incluindo idade, CC, produção de leite, número de partos, condições ambientais, parto distócico, retenção placentária, infecção uterina no pós-parto, entre outros (Pothmann et al., 2015; Wagener et al., 2017; Pérez-Marín e Quintela, 2023).

Em algumas ocasiões, estas vacas com baixa fertilidade podem eventualmente conceber após três ou mais ciclos, mas o impacto económico da concepção tardia exige frequentemente o refugio destes animais, que se tornam uma fonte de prejuízo. No caso das vacas leiteiras, podem produzir menos leite do que o custo da sua manutenção (Pérez-Marín e Quintela, 2023; Villar et al. 2025).

A frequência geral de VR nas vacarias da Suécia foi de 10,1% (Gustafsson e Emanuelson, 2002). Estudos mostraram maiores percentagens de VR em instalações em que os animais estavam presos à manjedoura (*tie-stall*) e em vacarias onde o tratamento hormonal para controlo reprodutivo não era utilizado (Pérez-Marín e Quintela, 2023).

A endometrite subclínica é definida como a inflamação do endométrio sem a presença de sinais clínicos (Wagener et al., 2017). Esta pode passar despercebida pelos produtores e médicos-veterinários, mas quando um programa de diagnóstico é aplicado à vacaria, esta afeção é frequentemente encontrada (Pérez-Marín e Quintela, 2023). A citologia uterina é utilizada para diagnosticar a endometrite subclínica (Pothmann et al., 2015; Pérez-Marín e Quintela, 2023). A citologia pode ser realizada através da técnica de *cytobrush* ou da técnica de lavagem uterina (Salasela et al., 2010). A proporção de neutrófilos polimorfonucleares (PMN) no número total de células endometriais é utilizada para avaliar a presença de ES (Pothmann et al., 2015; Wagener et al., 2017).

A literatura estabelece diferentes limiares de PMN para definir a presença de ES (Pothmann et al., 2015; Pérez-Marín e Quintela, 2023). É importante ressaltar que a proporção de PMN diminui progressivamente após o pós-parto (Pérez-Marín e Quintela, 2023). Considerando o limiar de 3% de neutrófilos no útero de vacas leiteiras com 190 (± 40) dias de parto, a prevalência de ES em VR foi de 52,7% (Salasela et al., 2010). Valores obtidos por estudos mais recentes variam entre os 17,2% e os 22%% (Pothmann et al., 2015; Wagener et al., 2017; Bedewy e Rahawy, 2019; Villar et al., 2025). Diferenças nos desenhos dos estudos e definições inconsistentes para ES dificultam uma comparação válida dos resultados. Além disso, diferentes valores de limiar de PMN foram utilizados para a identificação de ES (Salasela et al., 2010).

A inflamação do útero, como ocorre na ES, leva à produção excessiva da proteína mucina 1. Esta proteína atua como uma molécula "antiaderente", impactando

a fase de pré-fixação e implantação do embrião. Estudos preliminares em vacas com ES identificaram a presença de macrófagos no endométrio, o que pode levar à morte embrionária (Pérez-Marín e Quintela, 2023). O tratamento da ES pode incluir antibióticos, anti-inflamatórios, antissépticos ou lavagem uterina (Pérez-Marín e Quintela, 2023).

A mastite é uma das doenças clínicas mais prevalentes em vacas leiteiras, com uma taxa de incidência estimada no Reino Unido entre 50 a 70 casos por 100 vacas-ano (Hudson et al., 2012). Sua ocorrência tem sido associada à perda gestacional e à redução da fertilidade das vacas, sendo mediada pela presença de endotoxinas ou pela ativação de respostas inflamatórias que podem prejudicar o crescimento folicular, o desenvolvimento embrionário ou a manutenção do CL. Vacas acometidas por mastite apresentam níveis elevados de PGF 2α , fator de necrose tumoral α (TNF α), interferão- α (IFN- α) e interleucinas (IL) 1 α , 1 β e 6 (Dahl et al., 2018). O TNF α , uma citocina pró-inflamatória amplamente envolvida em processos inflamatórios como a mastite, exerce efeitos prejudiciais sobre o endométrio e o epitélio do oviduto, podendo induzir a lise de células do blastocisto e contribuir para a morte embrionária (Jackson et al., 2012). Além disso, a IL-6 e o TNF α interferem na síntese de esteroides pelas células da granulosa e da teca, afetando diretamente a fertilidade do animal (Jackson et al., 2012; Samir et al., 2017). O IFN- α , por sua vez, inibe a resposta das células da granulosa à FSH, resultando em uma menor produção de estradiol, o que pode levar a um atraso no desenvolvimento folicular e na manifestação do estro (Spicer e Alpizar, 1994).

Defeitos nos ovidutos, como estenose ou oclusão, têm sido associados às VR. Estas condições impedem o movimento de oócitos e espermatozoides através dos ovidutos e, caso ocorra a fertilização, a passagem do embrião para o útero será dificultada (Pérez-Marín et al., 2012; Pérez-Marín e Quintela, 2023).

A desnutrição ou obesidade podem levar à disfunção reprodutiva e à baixa fertilidade devido a uma função metabólica inadequada (Pérez-Marín e Quintela, 2023). Dietas com alta energia levam a um aumento significativo nas concentrações plasmáticas de insulina e do fator de crescimento insulínico tipo 1 (IGF-I). Apesar destes nutrientes desempenharem um papel importante no crescimento e desenvolvimento folicular, um excesso conduz a uma redução na qualidade dos oócitos (Sinclair, 2010).

Vacas em BEN apresentam baixas concentrações séricas de glicose e insulina, o que estimulam a mobilização do tecido adiposo. Isso resulta num aumento dos ácidos gordos não esterificados (AGNE), que servem como fonte de energia para os animais. Altos níveis de AGNE podem afetar negativamente o desempenho reprodutivo, levando à ausência de ovulação, taxas reduzidas de concepção e maior perda de embriões (Pérez-Marín et al., 2012; Pérez-Marín e Quintela, 2023).

Vacas com três ou mais partos apresentam uma maior prevalência de VR, indicando que a idade afeta negativamente a fertilidade, o que pode ser atribuído à baixa viabilidade dos oócitos (Pérez-Marín et al., 2012; Pérez-Marín e Quintela, 2023).

Cada parto representa um risco para a atividade reprodutiva, que pode ser comprometida por dificuldades de parto (cesariana ou membranas fetais retidas) ou doenças pós-parto (involução uterina inadequada ou inflamação) (Pérez-Marín e Quintela, 2023).

3.7.2. Impactos económicos das vacas repetidoras

Dado o elevado nível de exigência para alcançar a eficiência reprodutiva desejada em vacas leiteiras, a ocorrência de VR representa um impacto económico significativo para a indústria de produção leiteira (Salasela et al., 2010; Pérez-Marín et al., 2012). As perdas económicas associadas às VR incluem custos sobretudo com refugo precoce, redução da produção de leite (Figura 10) e ainda com custos com diagnóstico, terapêutica e elevado número de inseminações, entre outros (Pérez-Marín e Quintela, 2023; Villar et al., 2025).

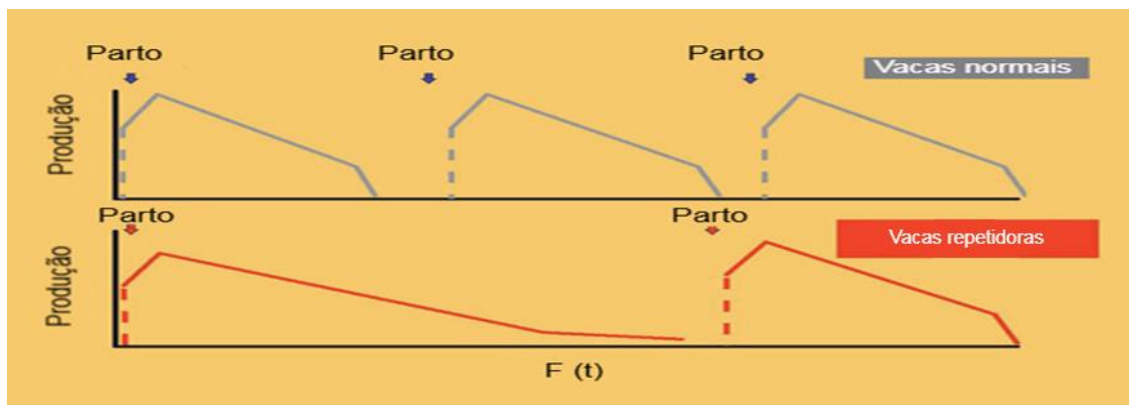


Figura 10. Curvas de lactação em vacas normais e vacas repetidoras. As VR têm menos partos, e, portanto, uma menor produção leiteira. Adaptado de Pérez-Marín et al. (2012).

Para estimar o custo das VR, os modelos levam em consideração parâmetros como diminuição na produção de leite, custo dos médicos veterinários, despesas com medicamentos, custos com sêmen, custos de mão de obra, redução da produção de vitelos, perdas devido ao refugo e perdas resultantes de intervalos prolongados entre partos (Salasela et al., 2010; Pérez-Marín e Quintela 2023). Estima-se que cada dia aberto custe cerca de US\$ 5 ao produtor, e o custo das VR aumenta quanto mais inseminações falham. Estima-se que o refugo desses animais custe cerca de US\$ 500 a US\$ 1000 por vaca. Para entender a importância do tratamento de VR para a

viabilidade económica da vacaria leiteira, é relatado um lucro de US\$ 30,2 por animal tratado com GnRH (Pérez-Marín e Quintela 2023).

A questão sobre as VR também deve ser discutida no âmbito do bem-estar animal e do impacto ambiental, com o intuito de determinar a vida útil produtiva mais adequada para as vacas, levando em consideração fatores além da viabilidade económica. Ao melhorar o bem-estar animal das vacas melhora-se também a eficiência reprodutiva o que pode oferecer oportunidades para prolongar a vida útil das vacas, aumentando assim a lucratividade e melhorando a aceitação social da produção leiteira (Pérez-Marín e Quintela 2023).

4. Trabalho experimental

4.1. Materiais e métodos

4.1.1. Vacarias

Este trabalho foi realizado em bovinos leiteiros, no distrito de Aveiro, centro litoral de Portugal, tendo sido visitadas 44 vacarias que entregam o leite à Proleite - Cooperativa de produtores de leite, das quais em 34 explorações foi possível recolher dados para o estudo, obtendo um total de 122 animais, enquanto 10 vacarias não possuíam animais com mais de 200 dias em leite. Os dados foram recolhidos durante o período setembro de 2024 até o fim deste ano.

Das 44 explorações, à exceção de uma que utiliza touro, todas recorriam a inseminação artificial para tentar fazer com que as vacas ficassem gestantes.

As vacarias incluídas no estudo apresentavam uma grande variação em termos de dimensão, com a maior contando aproximadamente 850 animais em produção e a menor cerca de 75. A média de animais em produção por vacaria foi de 220.

O manejo reprodutivo também variou significativamente entre as explorações. Algumas vacarias demonstravam um excelente manejo, adotando protocolos hormonais bem estabelecidos, possuindo um bom sistema de deteção de cio e mantendo uma organização geral eficiente. No entanto, a maioria das vacarias analisadas carecia de um manejo reprodutivo adequado, evidenciando práticas menos estruturadas e com margem significativa para melhorias.

A recolha de dados foi realizada durante as visitas de acompanhamento reprodutivo. O número de visitas a cada vacaria variou sobretudo conforme o tamanho da exploração. Explorações de maiores dimensões eram visitadas semanalmente enquanto vacarias menores eram visitadas mensalmente. As que possuíam um tamanho intermédio eram visitadas a cada duas semanas.

Segundo a literatura mais recente, as vacas em atraso reprodutivo englobam os animais que falham em três ou mais tentativas de concepção, apesar de apresentarem ciclos éstricos de duração normal, exibirem comportamento de cio e não possuírem alterações anatómicas ou infecções uterinas aparentes. Levando esses números como base e adaptando a realidade das explorações onde o estudo foi realizado, definiu-se como 200 dias pós-parto o número ideal para selecionar os animais que iriam participar no estudo. O número de dados recolhidos por vacaria, ou seja, o número de animais com mais de 200 dias pós-parto, variou entre 0 a 15 animais por exploração sendo a média de 3,6 animais.

4.1.2. Método de recolha dos dados

A recolha de dados foi estruturada em três pilares distintos:

O primeiro pilar consistiu na avaliação do aparelho reprodutor feminino por meio de exames ecográficos. Foi utilizado um ecógrafo da marca IMV ® technologies, modelo Easi-Scan GO, com uma sonda linear transrectal a uma frequência de 7,0 MHz. Durante os exames ecográficos, foram avaliados: o cérvix (diâmetro e eventuais anomalias), o útero (simetria, diâmetro, presença de anomalias e fluidos anormais) e ambos os ovários (identificação e medição de estruturas, como folículos, corpos lúteos e quistos, além de possíveis anomalias).

As vacas cuja ecografia revelava parede uterina hiperecogénica (indicativo de inflamação), mais espessada e presença de pequena quantidade de conteúdo intrauterino ecogénico (sob a forma de “pontos brilhantes”), em animais que não se encontravam em estro, foram classificadas como portadoras de endometrite.

As vacas classificadas como em anestro apresentavam ovários de dimensões reduzidas, sem estruturas funcionais visíveis (folículos ou corpos lúteos). A ausência de fluido no lúmen uterino permitiu distinguir estes animais de vacas que haviam ovulado recentemente, nas quais o útero pode conter pequena quantidade de fluido anecóico. A superfície ovárica apresentava-se lisa e uniforme, sem evidência de ovulação recente, e não foram observadas alterações compatíveis com a fase luteal.

Foram classificadas como portadoras de quisto folicular as vacas cuja ecografia evidenciava uma estrutura arredondada ou oval, anecóica, bem delimitada, com contornos finos e regulares, localizada no ovário, com diâmetro superior a 2,5 cm e na ausência de corpo lúteo.

As duas vacas com diagnóstico de fibrose cervical foram assim classificadas por apresentarem espessamento da parede do cérvix, com contornos irregulares ou pouco definidos, ecogenicidade aumentada (hiperecogénica), e menor compressibilidade, conferindo-lhe um aspeto heterogéneo e compatível com alterações fibróticas.

4.2. Análise estatística

Os dados recolhidos ao longo do estudo foram armazenados e analisados no programa informático Microsoft Office Excel 365®, onde se procedeu inicialmente a uma análise estatística descritiva, permitindo o cálculo das médias, frequências e percentagens das diferentes variáveis, bem como a elaboração de tabelas e gráficos.

As variáveis analisadas eram categóricas, maioritariamente binárias, incluindo, entre outras, a presença de claudicação, diagnóstico de endometrite, anestro, presença de quistos ováricos, categoria de condição corporal (alta ou baixa), número de partos (primíparas versus múltiparas) e nível de produção leiteira (alta ou baixa).

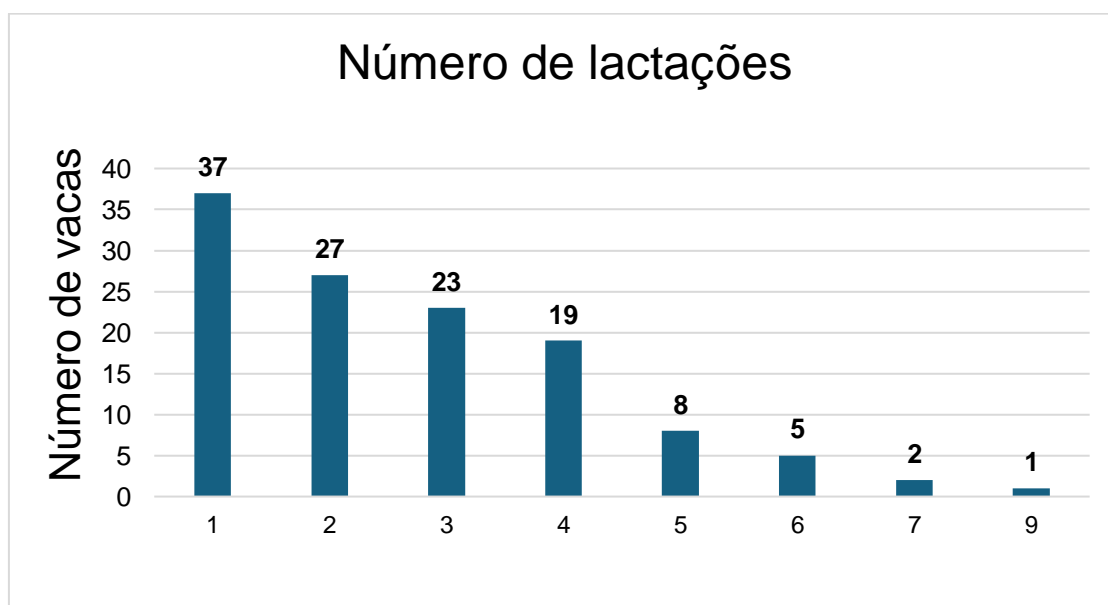
Posteriormente, com recurso ao programa R, foram construídas tabelas de contingência, o que possibilitou a aplicação do teste de qui-quadrado de Pearson. A escolha deste teste justifica-se pela sua adequação à análise de variáveis categóricas, uma vez que permite avaliar a existência de uma associação estatisticamente significativa entre duas variáveis qualitativas.

Foi adoptado um nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$). Assim, valores-p inferiores a 0,05 indicam evidência estatística suficiente para rejeitar a hipótese nula, sendo esta definida como a ausência de associação entre as variáveis em estudo.

4.3. Resultados

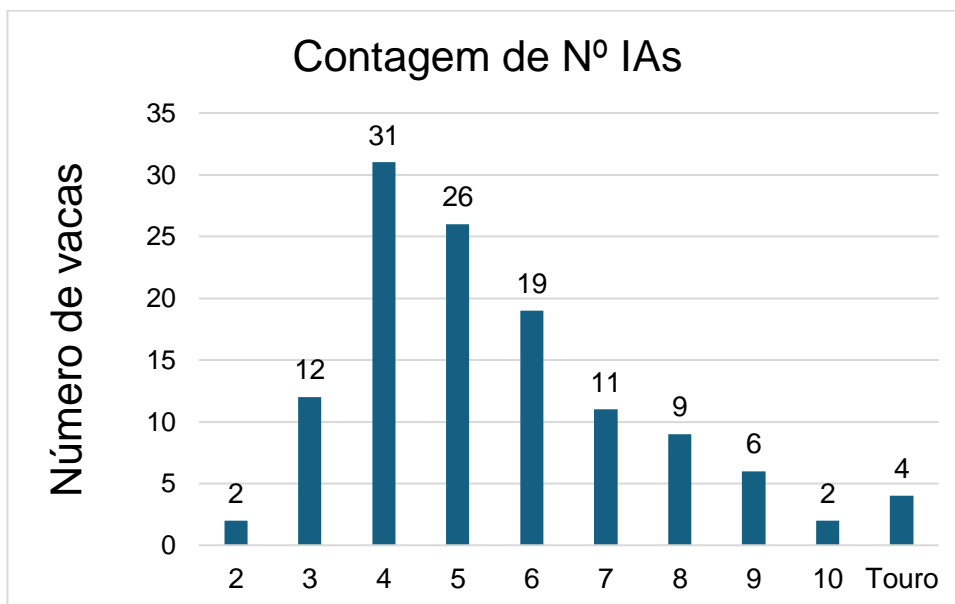
O Gráfico 1 apresenta a frequência do número de lactações das vacas incluídas no presente estudo. O eixo X representa o número de lactações, enquanto o eixo Y indica o número de vacas em cada categoria.

Gráfico 1. Frequência do número de lactações.



O Gráfico 2 ilustra a distribuição da frequência do número de inseminações artificiais a que as vacas foram submetidas. O eixo X representa o número de inseminações e o eixo Y indica o número de vacas por categoria. Destaca-se uma única exploração que não utilizava inseminação artificial, recorrendo exclusivamente ao touro presente na vacaria.

Gráfico 2. Frequência do número de inseminações artificiais



Foi calculada a média de produção leiteira diária de cada vacaria (considerando todas as vacas da exploração e não apenas os animais em atraso reprodutivo). Posteriormente, determinou-se a média geral entre todas as vacarias incluídas no estudo, a qual foi de 30,8 litros por vaca por dia. Com base neste valor, as vacas foram classificadas em dois grupos: “alta produtora” (produção superior a 30,8 L/dia) e “baixa produtora” (produção igual ou inferior a 30,8 L/dia). No total, 33,60% (41/122) das vacas foram consideradas de alta produção e 66,39% (81/122) de baixa produção.

Relativamente à CCS, as vacas que apresentaram, no dia do contraste, uma contagem superior a 200.000 células/mL foram classificadas como tendo “CCS alta”, enquanto aquelas com contagem igual ou inferior a 200.000 células/mL foram classificadas como “CCS baixa”. Neste contexto, 30,32% (37/122) das vacas apresentaram CCS alta, e 69,68% (85/122) apresentaram CCS baixa.

O número de dias em aberto, apresentou uma média de 274,3 dias, com um valor máximo de 415 dias e mínimo de 201 dias.

No que respeita à CC, a pontuação mínima observada foi de 2 e a máxima de 5. A tabela 1 apresenta a distribuição da frequência e percentagem da condição corporal dos animais avaliados.

Tabela 1. Frequência e a percentagem da condição corporal dos animais observados.

Classificação da Condição Corporal (CC)

Classificação	Frequência (n)	Percentagem (%)
1	0	0,00%
2	34	27,87%
3	76	62,30%
4	10	8,20%
5	2	1,64%
Total	122	100,00%

A tabela 2 apresenta a frequência e a percentagem da pontuação atribuída ao grau de claudicação das vacas no estudo.

Tabela 2. Frequência e a percentagem da pontuação atribuída ao grau de claudicação dos animais presentes no estudo.

Pontuação	Frequência (n)	Percentagem (%)
0	69	56,60%
1	42	34,40%
2	11	9%
Total	122	100%

Verificou-se que 56,56% (69/122) dos animais não apresentavam claudicação (pontuação 0), enquanto 43,44% (53/122) evidenciavam algum grau de claudicação (pontuação 1 ou 2).

Os principais achados ecográficos identificados neste estudo estão discriminados na Tabela 3. Estes resultados refletem as alterações reprodutivas observadas durante a avaliação ecográfica realizada nas vacas não gestantes com mais de 200 dias pós-parto.

Tabela 3. Frequência e percentagem dos achados ecográficos.

Achados Ecográficos	Frequência (n)	Percentagem (%)
Endometrite	28	22,95
Quisto folicular	17	13,93
Anestro	4	3,28
Fibrose cervical	2	1,64
Fibrose uterina	1	0,82
Sem achados	73	59,83
Total	122	100

Foram realizados diversos testes de qui-quadrado de Pearson com o objetivo de avaliar a existência de associações estatisticamente significativas entre as variáveis analisadas.

A variável condição corporal foi inicialmente abordada dividindo os animais em dois grupos: Alta CC (valores superiores a 3/5) e baixa CC (valores inferiores a 3/5). No entanto, ao realizar os testes estatísticos com essa categorização, não se observou associação estatisticamente significativa. Diante disso, o autor optou por uma nova categorização dicotômica, considerando como "condição corporal apropriada" todos os animais com nota 3/5 e como "condição corporal inadequada" os animais com as demais notas. Com essa reformulação, foi possível identificar uma tendência associativa entre a variável condição corporal não apropriada e a presença de endometrite. Conforme ilustra a tabela 1, 62,30% (76/122) das vacas foram classificadas como apropriada enquanto 37,70% (46/122) foram classificadas como não apropriada.

A variável "claudicação" também foi transformada em dicotômica, sendo atribuída a classificação "claudicam" aos animais com pontuação 1 e 2, e "não claudicam" àqueles com pontuação 0.

Na tabela 4 apresentam-se os resultados obtidos para as diferentes combinações de variáveis submetidas ao teste de qui-quadrado.

A maioria dos testes não revelou evidência estatística suficiente para rejeitar a hipótese nula, apresentando valores-p superiores ao nível de significância adotado (5%; $p < 0,05$). Contudo, observou-se que 100% (4/4) das vacas em anestro apresentavam contagem elevada de células somáticas no leite. Foi encontrada evidência estatística para rejeitar a hipótese nula de ausência de associação entre anestro e a contagem de células somáticas ($p = 0,0021$).

Reconhecendo as limitações inerentes a estudos com amostras moderadas e a natureza exploratória da investigação, valores de p situados entre 0,05 e 0,20 foram também considerados como indicativos de uma possível tendência para associação. Esta interpretação é frequentemente utilizada em estudos exploratórios nas áreas da Medicina Veterinária e da Biologia, especialmente quando existe plausibilidade biológica subjacente ou quando se pretende gerar hipóteses para investigações futuras. Assim, os resultados que apresentaram p-valores entre 0,05 e 0,20 foram destacados e discutidos como potenciais áreas de interesse para estudos posteriores, embora não sejam considerados associações estatisticamente confirmadas no presente trabalho.

Entre os animais diagnosticados com endometrite, 50% (14/28) apresentavam condição corporal inadequada. Apesar de não ter sido encontrada evidência estatística suficiente para rejeitar a hipótese nula ($p = 0,1263$), os dados sugerem uma possível tendência para associação entre a condição corporal não apropriada e a ocorrência de endometrite.

Verificou-se que 75% (3/4) dos animais em anestro apresentavam claudicação. Embora o teste de qui-quadrado de Pearson não tenha indicado associação estatisticamente significativa ($p = 0,1954$), foi observada uma tendência que poderá ser relevante para investigações futuras.

Tabela 4. Resultados dos testes de qui-quadrado de Pearson para avaliação da associação entre variáveis reprodutivas, produtivas e de saúde em 122 vacas não gestantes.

Variável X	Variável Y	Valor-p	Interpretação
Endometrite	Baixa CC	0,2916	Sem evidência estatística
Endometrite	Alta CC	0,3677	Sem evidência estatística
Endometrite	CC não apropriada	0,1263	Tendência ($p < 0,20$)
Endometrite	CCS	0,4795	Sem evidência estatística
Endometrite	Claudicação	0,3471	Sem evidência estatística

Endometrite	Número de partos	0,8129	Sem evidência estatística
Quistos	Número de partos	0,9287	Sem evidência estatística
Quistos	CC não apropriada	0,3909	Sem evidência estatística
Quistos	Endometrite	0,2371	Sem evidência estatística
Anestro	CC não apropriada	0,594	Sem evidência estatística
Anestro	Claudicação	0,1954	Tendência ($p < 0,20$)
Anestro	Produção de Leite	0,711	Sem evidência estatística
Anestro	CCS	0,0021	Evidência estatística ($p < 0,05$)
Anestro	Alta CC	0,5018	Sem evidência estatística
Anestro	Baixa CC	0,8963	Sem evidência estatística

Entre as alterações encontradas, 22,95% (28/122) dos animais apresentavam endometrite, 13,93% (17/122) tinham quisto folicular, 3,28% (4/122) estavam em anestro, 1,64% (2/122) exibiam fibrose a nível do cérvix, e 0,82% (1/122) apresentava fibrose uterina.

No total, em 40,16% dos animais (49/122) foram identificadas pelo menos uma causa ecográfica aparente que poderia impactar negativamente a fertilidade. Em três animais foram detectadas duas causas concomitantes (um animal apresentava endometrite associada a anestro, e dois animais apresentavam endometrite associada a quisto folicular).

Em 59,84% dos animais (73/122) não foram identificadas causas ecográficas aparentes com potencial impacto na fertilidade.

4.4. Discussão

4.4.1. Análise dos casos sem causa identificada

Nos casos em que não foi possível identificar uma causa evidente para a ausência de gestação, este resultado poderá estar relacionado com o facto de nem todos os fatores que influenciam a fertilidade terem sido incluídos na análise. Entre os fatores que não foram contemplados, destacam-se as doenças inflamatórias e infecciosas, como as causadas por *Mycoplasma* spp., vírus da diarreia viral bovina (BVD), *Leptospira* spp., *Brucella* spp., *Campylobacter fetus*, *Coxiella burnetii* (agente da febre Q) e *Chlamydia* spp., as quais são conhecidas por comprometerem a função reprodutiva. Além disso, questões relacionadas com o manejo, como o stress térmico, sobrelotação dos parques, conforto inadequado e bem-estar animal precário, também podem interferir negativamente na fertilidade.

Outro aspecto relevante é o manejo reprodutivo. Deficiências como má técnica de inseminação artificial, armazenamento inadequado do sémen, utilização de sémen de baixa qualidade, falhas na deteção de estro e a baixa adoção de protocolos hormonais de sincronização podem resultar em taxas reduzidas de concepção. Além disso, a nutrição desempenha um papel fundamental na fertilidade das vacas leiteiras. A adequada suplementação nutricional deve ser considerada como parte do manejo reprodutivo para melhorar os resultados reprodutivos.

Dessa forma, torna-se evidente a necessidade de novos estudos que considerem esses fatores adicionais, a fim de fornecer uma avaliação mais abrangente das causas da infertilidade em vacas leiteiras.

Na opinião do autor, um dos principais fatores que pode justificar a elevada proporção de vacas não gestantes sem causa aparente identificada é o manejo reprodutivo inadequado por parte dos produtores. Foi possível observar uma limitada utilização de protocolos hormonais, ou, quando aplicados, o uso de protocolos simples e com menor taxa de sucesso em comparação com protocolos mais complexos e eficazes. Observou-se ainda uma relutância em descartar animais com histórico reprodutivo desfavorável, como casos de infeções uterinas crónicas, abortos recorrentes ou múltiplas inseminações sem sucesso, o que pode perpetuar a presença de vacas com baixa fertilidade nos efetivos.

4.4.2. Relação entre a variáveis “anestro” e “CCS”

Neste estudo, observou-se uma associação estatisticamente significativa entre a ocorrência de anestro e a CCS no leite ($p = 0,0021$). Vacas com contagens mais elevadas de células somáticas apresentaram maior frequência de anestro, sugerindo que infecções subclínicas, clínicas e crônicas da glândula mamária podem interferir negativamente na retoma da atividade ovárica.

Este achado está em consonância com os resultados de Pinedo et al. (2009), que, ao analisarem um elevado número de dados de vacas leiteiras no Chile, identificaram que animais com CCS elevada apresentavam intervalos mais longos entre o parto e o primeiro serviço, menor taxa de concepção e maior risco de aborto. Tais efeitos reprodutivos adversos foram atribuídos à resposta inflamatória sistêmica provocada por mastites clínicas.

Do ponto de vista fisiopatológico, Sheldon et al. (2009) explicam que clínicas podem desencadear uma cascata inflamatória sistêmica caracterizada pela produção de citocinas pró-inflamatórias, como IL-1, IL-6 e TNF- α . Esta inflamação interfere com a secreção de GnRH e LH, suprime o crescimento folicular e a produção de estradiol, e compromete a ovulação. Adicionalmente, a alteração do ambiente uterino favorece a síntese de prostaglandinas luteolíticas, dificultando a manutenção do corpo lúteo e, por conseguinte, da gestação.

Assim, vacas com CCS elevada não apenas apresentam maior risco de anestro, como também enfrentam dificuldades acrescidas na concepção e na manutenção da gestação. Estes achados reforçam a importância da monitorização da saúde mamária por meio da CCS, mesmo em animais sem sinais clínicos evidentes. Estratégias de manejo destinadas à redução da CCS, como a higiene dos tetos antes e após a ordenha (*pré-dipping* e *pós-dipping*), a boa manutenção do equipamento de ordenha (pulsadores, borrachas, níveis de vácuo), e o uso de camas secas e limpas, devem ser implementadas também como medidas para melhorar a eficiência reprodutiva dos animais. Pode, no entanto, também considerar-se que são fatores relacionados, sem haver causalidade, isto é, vacas mais velhas e em fases mais tardias da lactação têm mais frequentemente CCS mais elevadas e não estão gestantes, sem que uma seja causa ou fator de risco para a outra.

4.4.3. Relação entre as variáveis “endometrite” e “condição corporal não apropriada”

No presente estudo, observou-se uma tendência de associação entre a ocorrência de endometrite e a condição corporal não apropriada, embora esta não tenha

atingido significância estatística ($p = 0,1263$). Este resultado sugere que vacas com condição corporal alterada (seja alta ou baixa) podem apresentar maior predisposição ao desenvolvimento de endometrite, o que está em consonância com estudos prévios.

Kadivar et al. (2014) observaram maior incidência de endometrite em vacas com CC baixa, relacionando o BEN à disfunção imunológica uterina e à produção local de citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-6 e TNF- α), o que torna a baixa CC um fator de risco importante para o desenvolvimento de endometrite.

Foi possível observar que 27,87% (34/122) das vacas avaliadas apresentavam CC baixa, valor que vai ao encontro dos resultados de López-Gatius et al. (2003), os quais demonstraram que vacas com CC inferior a 2,5 no momento da inseminação exibiram uma redução significativa na taxa de concepção e um aumento significativo no intervalo entre partos.

Vacas em BEN apresentam uma redução na secreção do GnRH pelo hipotálamo, o que compromete a libertação de LH e, conseqüentemente, a produção de estradiol pelos folículos ováricos. Esta disfunção hormonal pode levar à anovulação e a distúrbios no ciclo éstrico. Além disso, os AGNE, que se encontram aumentados durante o BEN, podem exercer efeitos deletérios sobre os oócitos e embriões, afetando negativamente a qualidade embrionária e a taxa de sobrevivência. O BEN também compromete a função imunitária, nomeadamente a atividade dos neutrófilos e macrófagos, o que favorece o desenvolvimento de infeções uterinas. A combinação destes fatores contribui significativamente para a redução da fertilidade em vacas leiteiras

Adicionalmente, verificou-se que 9,84% (12/122) dos animais apresentavam condição corporal elevada. Este achado poderá estar relacionado com o facto de que vacas com condição corporal elevada, especialmente na altura do parto, apresentam maior propensão para desenvolver cetose. Neste estado metabólico adverso ocorre a produção excessiva de corpos cetónicos, como o β -hidroxibutirato, que compromete a função dos neutrófilos e macrófagos, elementos fundamentais na defesa uterina. Esta imunossupressão favorece o aparecimento de metrite, que, quando não tratada de forma adequada, pode evoluir para endometrite nas semanas subsequentes ao parto.

Contudo, a ausência de significância estatística na associação entre condição corporal e endometrite pode ser atribuída ao tamanho da amostra, ou à variabilidade individual. Ainda assim, a tendência observada reforça a relevância do acompanhamento sistemático da condição corporal como ferramenta preventiva no manejo reprodutivo de vacas leiteiras. Recomenda-se a realização de estudos futuros com um maior número de animais e controlo mais rigoroso de variáveis adicionais, com o intuito de clarificar esta possível associação. Deve ser considerado que a condição corporal é dinâmica, ou seja, as observações realizadas no momento da ecografia

reprodutiva podem não corresponder à condição corporal pela qual esses animais passaram noutras alturas na presente lactação.

4.4.4. Relação entre as variáveis “anestro” e “claudicação”

Com base nos dados analisados, observou-se uma tendência de associação entre a presença de claudicação e a ocorrência de anestro em vacas leiteiras ($p = 0,1954$). Embora o valor- p não tenha atingido o nível de significância estatística estabelecido ($p < 0,05$), esta tendência sugere que a claudicação poderá estar relacionada com a interrupção da atividade cíclica ovárica, o que está em consonância com dados previamente descritos na literatura científica.

Segundo Morris et al. (2011), vacas que apresentam claudicação no período pós-parto evidenciam uma maior incidência de anestro, atribuída a alterações no eixo hipotálamo-hipófise-gonadal. O aumento dos níveis de cortisol associado à dor crônica contribui para a diminuição das concentrações de GnRH e para a redução da frequência dos pulsos de LH, interferindo na dinâmica folicular e na ovulação.

Além disso, animais claudicantes frequentemente não manifestam os sinais de estro, não apenas devido à possível supressão hormonal, mas também pelo desconforto locomotor, o que dificulta a detecção do momento ideal para a inseminação artificial. Estes resultados estão de acordo com as observações de Walker et al. (2008), que demonstraram que a claudicação compromete a expressão de estro, a ovulação e a concepção, intensificando negativamente os impactos reprodutivos.

Importa ainda referir que vacas com claudicação tendem a reduzir a ingestão de alimento, o que pode predispor a um BEN. Como referido anteriormente, este estado metabólico adverso interfere negativamente na função reprodutiva dos animais.

Apesar da ausência de significância estatística, o potencial impacto da claudicação na função reprodutiva não deve ser negligenciado. Deve ser considerado que a claudicação é uma condição dinâmica, podendo apresentar variações de intensidade ao longo do tempo. Assim, as observações realizadas no momento da ecografia reprodutiva podem não refletir a condição locomotora desses animais em fases anteriores. Além disso, a claudicação pode variar em intensidade ao longo do dia ou em diferentes situações (como em pisos distintos), o que dificulta uma avaliação precisa e uniforme.

A prevenção das doenças podais em vacas leiteiras baseia-se no aparo regular dos cascos, uso de pedilúvios, manutenção de pisos limpos e secos, e numa nutrição equilibrada, com adequada suplementação de minerais como o zinco, e de biotina. O conforto das instalações e a detecção precoce de alterações na locomoção também são

fundamentais para reduzir a incidência de claudicação e melhorar o desempenho reprodutivo e produtivo dos animais.

4.4.5. Relação entre as variáveis “endometrite” e “número de partos”

Segundo os achados do presente trabalho, não houve associação significativa entre a presença de endometrite e o número de partos ($p = 0,8129$). O objetivo de testar essa correlação foi verificar se, conforme observado por Coelho et al. (2023), haveria alguma associação entre a ocorrência de endometrite e o número de partos. No estudo referido, foi observada uma maior prevalência de endometrite em vacas primíparas em comparação com multíparas, sugerindo que o número de partos pode influenciar a suscetibilidade a esta enfermidade.

Este achado pode estar relacionado ao facto de as vacas primíparas estarem a vivenciar pela primeira vez as exigências fisiológicas do parto e do início da lactação, estando sujeitas a um maior stress metabólico e adaptativo. Este stress pode comprometer temporariamente a competência imunitária, favorecendo o surgimento de doenças uterinas. Além disso, as primíparas estão mais predispostas a partos distócicos devido à menor experiência paritária e ao desenvolvimento incompleto da bacia pélvica. Essas dificuldades durante o parto podem resultar em lesões no canal do parto e retenção de membranas fetais, fatores que favorecem o desenvolvimento de metrite no período pós-parto. A metrite, quando não tratada adequadamente, pode evoluir para endometrite em momentos posteriores, comprometendo a saúde uterina e a eficiência reprodutiva.

A ausência de associação significativa no presente estudo pode ser atribuída a várias condições, incluindo o fato de que a amostra analisada consistiu apenas de vacas com mais de 200 dias de parto. Essas vacas já passaram um período mais longo desde o parto, o que pode resultar em uma adaptação fisiológica mais robusta, com menor impacto do stress metabólico e adaptativo, e, portanto, um sistema imunológico mais eficiente. Portanto, embora estudos anteriores sugiram uma possível relação entre o número de partos e a ocorrência de endometrite, os resultados obtidos indicam que, neste caso específico, não há evidência estatística que suporte essa correlação.

4.4.6. Relação entre as variáveis “quisto folicular” e “número de partos”

De acordo com os dados obtidos, não houve associação significativa entre a presença de quistos foliculares e o número de partos ($p = 0,9287$). O objetivo desta análise foi investigar se, conforme sugerido por Nelson et al. (2010), existiria uma relação entre o número de partos e a ocorrência de quistos foliculares em vacas leiteiras. No estudo mencionado, observou-se maior prevalência de quistos foliculares em vacas

multíparas, sugerindo que o número de partos pode influenciar na suscetibilidade a esta condição. No presente estudo, das 17 vacas diagnosticadas com quisto folicular, apenas 5 eram primíparas enquanto as 12 restantes eram múltíparas.

Esta associação pode ser explicada por alterações fisiológicas que ocorrem com o avanço da idade e das lactações sucessivas. Vacas múltíparas, sobretudo as de alta produção leiteira, podem apresentar uma redução na frequência e na amplitude dos picos de LH, o que compromete o mecanismo ovulatório e favorece a formação de quistos. Tal disfunção pode ser influenciada por diversos fatores incluindo estado nutricional, balanço energético negativo e stress, que inibem a secreção de GnRH pelo hipotálamo. Além disso, a elevada metabolização hepática do estradiol em vacas de alta produção pode interferir na sinalização hormonal necessária para o desencadeamento do pico de LH, culminando na persistência folicular.

Diferenças nas condições de manejo, ambiente, genética dos animais ou outros fatores específicos da população estudada podem ter influenciado os resultados. Assim, embora a literatura sugira uma possível relação entre o número de partos e disfunções foliculares, os dados aqui analisados não evidenciam tal associação estatisticamente.

4.4.7. Relação entre as variáveis “anestro” e “produção de leite”

Na presente investigação, a análise estatística não revelou associação significativa entre a presença de anestro e o nível de produção de leite ($p = 0,711$). No entanto, o objetivo desta análise foi investigar se, conforme sugerido por Dobson et al. (2007), existiria uma relação entre a elevada produção leiteira e alterações na função reprodutiva, como o anestro. No estudo mencionado, observou-se que vacas de alta produção apresentaram estros de menor duração e expressaram menos comportamentos típicos de cio, o que pode dificultar a sua detecção. Isso sugere que altos níveis de produção de leite podem afetar a função reprodutiva.

Vacas de alta produção tendem a entrar mais facilmente em BEN e a apresentar condição corporal reduzida, fatores que, como já discutido anteriormente, têm impacto direto sobre a fertilidade e o reinício da ciclicidade ovárica.

É importante destacar que 66,39% (81/122) dos animais avaliados foram classificados como de baixa produção, o que reforça a preocupação com o impacto económico associado à ausência prolongada de gestação. Nestes animais, além da fertilidade comprometida, observa-se uma tendência para a natural queda progressiva na produção leiteira, tornando-os menos rentáveis para a exploração.

Contudo, a ausência de associação significativa no presente estudo pode ser atribuída à influência de outros fatores, como o manejo nutricional, o estado de saúde das vacas e as práticas de manejo reprodutivo adotadas na exploração, que podem

mitigar os efeitos negativos da alta produção de leite sobre a função reprodutiva. Assim, embora a literatura sugira uma possível relação entre alta produção de leite e anestro, os dados aqui analisados não evidenciam tal associação estatisticamente.

4.4.8. Relação entre as variáveis “endometrite” e “CCS”

De acordo com os dados deste trabalho, não houve associação significativa entre a presença de endometrite e a contagem de células somáticas ($p = 0,4795$). No entanto, o objetivo desta análise foi investigar se existiria uma possível relação entre estas duas variáveis, considerando que ambas estão associadas a processos inflamatórios e comprometem a fertilidade das vacas.

Egyedy et al. (2022) sugerem que uma CCS elevada (>200.000 células/mL) pode refletir um estado inflamatório sistêmico, predispondo os animais a outras infecções, incluindo a endometrite. Como explicado anteriormente, este fenômeno pode estar relacionado com o aumento na expressão de citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-6 e o TNF- α), que comprometem a eficácia do sistema imunitário, tornando o útero mais suscetível a infecções. Tanto a endometrite quanto a CCS elevada têm impacto negativo comprovado sobre a fertilidade, atrasando o reinício da ciclicidade e reduzindo as taxas de concepção.

Embora os dados do presente estudo não tenham evidenciado uma associação estatística entre essas variáveis, os mecanismos fisiopatológicos que interligam inflamações mamárias e uterinas justificam a continuidade da investigação nesta área.

4.4.9. Relação entre as variáveis “endometrite” e “claudicação”

Nesta avaliação, verificou-se que não houve associação significativa entre a presença de endometrite e a ocorrência de claudicação ($p = 0,3471$). Ainda assim, esta análise foi realizada com base na hipótese de que a claudicação, por provocar dor e stress, poderia contribuir indiretamente para o desenvolvimento de alterações uterinas. Como já discutido anteriormente, o aumento do cortisol, consequência do stress e da dor, aliado à perda de condição corporal frequentemente observada em vacas claudicantes, favorece um estado de imunodepressão que compromete a capacidade do útero de eliminar agentes patogênicos, predispondo à endometrite. Além disso, níveis elevados de cortisol inibem a liberação de GnRH e, por consequência, de LH, afetando negativamente a função reprodutiva.

Embora a literatura não documente amplamente essa associação, Souza et al. (2006) observaram maior incidência de metrites em vacas claudicantes comparadas com não claudicantes. Os autores sugerem que os mesmos fatores mencionados, a dor, o stress e a baixa condição corporal, podem explicar essa relação. Assim, apesar da

ausência de associação estatística neste estudo, é plausível considerar a claudicação como fator de risco indireto para o desenvolvimento de endometrite.

4.4.10. Relação entre as variáveis “quisto folicular” e “condição corporal não apropriada”

No âmbito deste estudo, constatou-se que não houve associação estatística significativa entre a presença de quistos foliculares e a condição corporal não apropriada ($p = 0,3909$). Ainda assim, o objetivo deste teste foi investigar se, conforme sugerido por Motta et al. (2019), existe uma correlação entre essas variáveis. De acordo com estes autores, vacas com condição corporal não adequada, isto é, diferente da pontuação 3, apresentaram maior predisposição à formação de quistos foliculares. Especificamente, animais com condição corporal inferior a 3 tiveram um risco substancialmente mais elevado de apresentarem quistos em comparação com vacas com condição corporal elevada.

Como já discutido anteriormente, a baixa condição corporal esta associada a alterações metabólicas e hormonais que comprometem a dinâmica folicular e a ovulação, podendo favorecer assim, o surgimento de folículos persistentes.

Em relação aos animais com CC elevada, conforme descrito por Sinclair (2010), que referiu que vacas com CC alta tendem a desenvolver resistência à insulina, o que compromete a qualidade dos oócitos e, conseqüentemente, a fertilidade. Estes dados reforçam que não apenas a condição corporal baixa, mas também a alta, representa um risco a saúde reprodutiva do animal.

Os resultados descritos na literatura indicam uma base fisiológica coerente para a correlação entre condição corporal inadequada e ocorrência de quistos foliculares, o que justifica a continuidade de estudos com maior poder amostral ou com avaliação contínua dos perfis metabólicos.

4.4.11. Relação entre as variáveis “anestro” e “condição corporal não apropriada”

A análise estatística realizada neste estudo não revelou associação significativa entre a ocorrência de anestro e a condição corporal não apropriada das vacas avaliadas ($p = 0,594$). No entanto, essa análise teve como propósito investigar se, conforme sugerido na literatura, a condição corporal poderia influenciar a ocorrência de anestro. Estudos como os de Ugyen et al. (2021) indicam que tanto a condição corporal baixa quanto a excessivamente alta podem estar associadas a disfunções reprodutivas. Embora a maioria dos trabalhos destaque os efeitos negativos da condição corporal inferior a 3, também foi relatado que vacas com condição corporal elevada podem

apresentar alterações metabólicas que comprometem a ciclicidade ovárica. Assim, apesar de não ter sido observada uma correlação estatística significativa no presente estudo, é importante considerar que a condição corporal continua a ser um indicador de risco relevante, podendo influenciar o estado reprodutivo de forma indireta, através de mecanismos fisiológicos previamente discutidos.

4.4.12. Relação entre as variáveis “quisto folicular” e “endometrite”

Os dados obtidos neste estudo não revelaram associação significativa entre a presença de quistos foliculares e a ocorrência de endometrite ($p = 0,2371$). O objetivo deste teste foi investigar se, conforme sugerido por Magata et al. (2014), a inflamação uterina poderia interferir na dinâmica folicular. De acordo com estes autores, vacas com endometrite, particularmente quando causada por bactérias Gram-negativas, podem apresentar redução na produção de estrogénios pelos folículos devido à presença de lipopolissacarídeos (LPS) no fluido folicular. Essa exposição compromete a esteroidogénese e, em paralelo, a libertação de citocinas pró-inflamatórias reduz a amplitude dos picos de LH, inibindo a ovulação e favorecendo a persistência folicular.

Além disso, é importante considerar que ambas as condições podem surgir a partir de mecanismos fisiopatológicos comuns, como o balanço energético negativo e a imunossupressão, já discutidos anteriormente, o que pode justificar a sua coexistência em alguns animais.

A ausência de uma associação estatisticamente significativa no presente estudo pode estar relacionada com diversos fatores, incluindo o tamanho limitado da amostra, a variação individual na resposta imunológica e endócrina das vacas, bem como o facto de nem todos os casos de endometrite apresentarem a mesma etiologia ou intensidade inflamatória.

5. Conclusão

A presente dissertação sintetiza os principais achados do estudo sobre 122 vacas não gestantes ao fim de 200 dias pós-parto, enfatizando a relevância dos achados ecográficos na identificação de fatores que comprometem a fertilidade e a eficiência reprodutiva. Além dos achados ecográficos, é importante destacar que diversos outros fatores podem influenciar direta e indiretamente a fertilidade dos animais, evidenciando que as causas do atraso reprodutivo são multifatoriais.

Os resultados obtidos confirmam a relevância da ecografia como ferramenta indispensável no diagnóstico e monitorização reprodutiva de vacas leiteiras. Através desta técnica, foi possível identificar alterações uterinas ou ováricas em 40,16% das

vacas avaliadas, nomeadamente quistos (13,93%), endometrite (22,95%) e anestro (3,28%), todas elas condições associadas ao atraso na concepção. Este atraso reprodutivo traduz-se num impacto económico significativo para a exploração, sobretudo pela redução da produção leiteira e pelo aumento do refugo precoce de animais.

É importante ainda destacar que, em 59,84% das vacas avaliadas não foram identificados achados ecográficos que justificassem a ausência de gestação. No entanto, é importante considerar que diversas causas extraecográficas, não abordadas nesta investigação, podem estar associadas à falha reprodutiva nestes animais. Entre estas causas incluem-se doenças infecciosas e inflamatórias, bem como fatores relacionados com o manejo, como a sobrelotação dos parques, o stress térmico e práticas reprodutivas inadequadas. Tais fatores podem explicar a ausência de alterações detetáveis por ecografia.

O presente estudo contribuiu para o aprofundamento do conhecimento sobre as causas que levam à ausência prolongada de gestação em vacas leiteiras e reforça a importância da prática ecográfica na rotina clínica, consolidando-se como um recurso valioso na tomada de decisões relacionadas à reprodução bovina.

Assim, espera-se que os resultados apresentados possam incentivar a adoção de estratégias que visem reduzir os fatores que impactam a fertilidade, tornando as explorações leiteiras economicamente mais viáveis. Entre as estratégias sugeridas, destaca-se o uso de protocolos hormonais mais eficientes, a manutenção da condição corporal adequada e uma prevenção mais eficaz contra mastites.

6. Referências Bibliográficas

- Adams GP, Jaiswal R, Singh J, Malhi P. 2008. Progress in understanding ovarian follicular dynamics in cattle. *Theriogenology*. doi:10.1016/j.theriogenology.2007.09.026.
- Adams GP, Singh J. 2021. Ovarian follicular and luteal dynamics in cattle. In: Hopper R, editor. *Bovine reproduction*. 2nd ed. Hoboken (NJ): Wiley-Blackwell. p. 292–324.
- Adnane M, Chapwanya A. 2022. A review of the diversity of the genital tract microbiome and implications for fertility of cattle. *Animals*. 12:460. <https://doi.org/10.3390/ani12040460>.
- Amiridis GS, Belibasaki S, Leontides L, Lyberopoulos A, Vainas E. 2000. Reproductive efficiency of three estrus synchronization schemes comprising fixed-time insemination in dairy cows. *Theriogenology*. 53(2):379–389.
- Ball PJH, Peters AR. 2004. *Reproduction in cattle*. 3rd ed. Oxford: Blackwell Publishing.
- Bedewy RB, Rahawy MA. 2019. Comparative study for detection of subclinical endometritis in local cows. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*. 7(4):289-294. <https://doi.org/10.17582/journal.aavs/2019/7.4.289.294>.
- Bó GA, Baruselli PS. 2014. Synchronization of ovulation and fixed-time artificial insemination in beef cattle. *Animal*. <https://doi.org/10.1017/S1751731114000822>.
- Bó GA, Huguenine E, de la Mata JJ, Núñez-Olivera R, Baruselli PS, Menchaca A. 2018. Programs for fixed-time artificial insemination in South American beef cattle. In: *Proceedings of the 10th International Ruminant Reproduction Symposium (IRRS 2018)*; Sep 16–20; Foz do Iguaçu (PR), Brazil. p. 7.
- Carter C, Rhinehart J. 2020. Reproductive anatomy of the cow/heifer: a basic introduction to the components of the reproductive tract with discussion about their importance in managing cows and heifers. *University of Tennessee Extension*.
- Coelho MC, Damasceno MD, Oliveira PFR, Guimarães AS, Carvalho BC. 2024. Avaliação da prevalência de endometrite citológica no pós-parto de vacas leiteiras alojadas em sistemas Compost barn. Juiz de Fora: *Embrapa Gado de Leite*. Comunicado Técnico, 163. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1169619>.
- Cooke RF. 2009. Basics of reproductive function in beef cows. *Oregon State University, Beef Cattle Library, Beef Cattle Sciences*.
- Dadarwal D, Palmer C. 2021. Postpartum uterine infection. In: Hopper R, editor. *Bovine reproduction*. 2nd ed. Hoboken (NJ): Wiley-Blackwell. p. 639–655.
- Dahl MO, De Vries A, Maunsell FP, Galvão KN, Risco CA, Hernandez JA. 2018. Epidemiologic and economic analyses of pregnancy loss attributable to mastitis in primiparous Holstein cows. *J Dairy Sci*. 101:1–9. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14619>.
- DesCôteaux L, Colloton J, Gnemmi G. 2010. *Practical atlas of ruminant and camelid reproductive ultrasonography*. Wiley-Blackwell.
- Dimenstein R, Botelho MZ, Lykawka R, Medeiros RF, Pelegrini FR, Bortolotto MV, Mazzola AA, Grach BE, Hirata T, Bacelar A. 2022. *Bases físicas e tecnológicas em diagnóstico por imagem*. São Paulo: Colégio Brasileiro de Radiologia e Diagnóstico por Imagem.
- Díaz-Rodríguez N, Garrido-Chamorro RP, Castellano-Alarcón J. 2007. Ecografía: principios físicos, ecógrafos e linguagem ecográfica. *SEMERGEN*. 33(7):362–369.
- Dobson H, Smith RF, Royal MD, Knight CH, Sheldon IM. 2007. The high producing dairy cow and its reproductive performance. *Reprod Domest Anim*. 42(Suppl 2):17–23. doi:10.1111/j.1439-0531.2007.00906.x.
- Driancourt MA. 2001. Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals: implications for manipulation of reproduction. *Theriogenology*. 55(6):1211–1239. doi:10.1016/S0093-691X(01)00479-6.

Egyedy A, Barahona Rosales E, Ametaj BN. 2022. Association of high somatic cell counts prior to dry off to the incidence of periparturient diseases in Holstein dairy cows. *Animals*. 12(19):2592. <https://doi.org/10.3390/ani12192592>.

Evangelista J. 2018. *Inseminação artificial de bovinos*. 1ª ed. Lisboa: Publicações Ciência e Vida.

Ginther OJ. 2007. *Ultrasonic imaging and animal reproduction: Color-Doppler ultrasonography*. Cross Plains (WI): Equiservices Publishing.

González FHD. 2002. *Introdução a endocrinologia reprodutiva veterinária*. Porto Alegre: UFRGS. 83 p.

Gordon I. 1996. *Controlled reproduction in cattle and buffaloes*. Wallingford (UK): CAB International.

Gordon I. 2017. *Reproductive technologies in farm animals*. 2ª ed. Wallingford, Oxfordshire (UK): CABI.

Gustafsson H, Emanuelson U. 2002. Characterisation of the repeat breeding syndrome in Swedish dairy cattle. *Acta Vet Scand*. 43(2):115–125.

Hudson CD, Bradley AJ, Breen JE, Green MJ. 2012. Associations between udder health and reproductive performance in United Kingdom dairy cows. *J Dairy Sci*. 95:3683–3697. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4629>.

Inskeep EK, Dailey RA. 2005. *Embryonic death in cattle*. Division of Animal and Veterinary Sciences, College of Agriculture, Forestry, and Consumer Sciences, West Virginia University.

Jackson LR, Farin CE, Whisnant S. 2012. Tumor necrosis factor alpha inhibits in vitro bovine embryo development through a prostaglandin mediated mechanism. *J Anim Sci Biotechnol*. 3:7.

Kadivar M, Aghamohammadi M, Mianji G, Aliarabi H, Arzani H. 2014. Effects of body condition score on reproductive performance in Holstein dairy cows. *J Dairy Sci*. 97(10):6640–6649. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8455>.

Kahn W, Volkmann D, Kenney RM. 2004. *Veterinary reproductive ultrasonography*. Hannover: Schlütersche.

Kasimanickam R. 2021. Pharmacological intervention of estrous cycles. In: Hopper RM, editor. *Bovine reproduction*. 2ª ed. Hoboken (NJ): Wiley-Blackwell. p. 458–470.

Lohuis M, Rombouts E, van der Meer R, et al. 2013. The use of early pregnancy markers in dairy cows. *Animal Frontiers*. 3(2):16–21. <https://doi.org/10.2527/af.2013-0033>.

Lucy MC, McDougall S, Nation DP. 2004. The use of hormonal treatments to improve the reproductive performance of lactating dairy cows in feedlot or pasture-based management systems. *Anim Reprod Sci*. 82–83:495–512. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2004.04.009>.

López-Gatiús F, Yáñez JL, Madriles-Helm D. 2002. Effects of body condition score and score change on the reproductive performance of dairy cows: a meta-analysis. *Theriogenology*. 57(6):1243–1261. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(01\)00710-X](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(01)00710-X).

Magata F, Horiuchi M, Echizenya R, Miura R, Chiba S, Matsui M, Miyamoto A, Kobayashi Y, Shimizu T. 2014. Lipopolysaccharide in ovarian follicular fluid influences the steroid production in large follicles of dairy cows. *Anim Reprod Sci*. 144(1–2):6–13. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2013.11.005>.

Mannion P, editor. 2006. *Diagnostic ultrasound in small animal practice*. Oxford (UK): Blackwell Publishing. Chapter 1. 240 p. <https://doi.org/10.1002/9780470752357>.

Medana MS, Abd El-Aty AM. 2010. Advances in ultrasonography and its applications in domestic ruminants and other farm animals reproduction. *Theriogenology*. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.02.003>.

Morris MJ, Kaneko K, Walker SL, Jones DN, Routly JE, Smith RF, Dobson H. 2011. Influence of lameness on follicular growth, ovulation, reproductive hormone concentrations and estrus behavior in dairy cows. *Theriogenology*. 75(4):658–670. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.10.011>.

Motta AC, Pires PF, Mendonça LGD, Lima MM. 2019. Prevalência de cistos ovarianos em vacas de alta produção submetidas a sistema de confinamento e dieta total. *Rev Ciênc Agrovet.* 18(2):244–249.

Murcia FJ. 2022. Atlas de ecografía reproductiva en vacuno. 1st ed. Zaragoza: Amazing Books.

Nelson ST, Martin AD, Østerås O. 2010. Risk factors associated with cystic ovarian disease in Norwegian dairy cattle. *Acta Vet Scand.* 52:60. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-52-60>.

Neves JP, Miranda KL, Tortorella RD. 2010. Progresso científico em reprodução na primeira década do século XXI. *Revista Brasileira de Zootecnia.*

Niciura SCM. 2008. Anatomia e fisiologia da reprodução de fêmeas bovinas. *Boletim Técnico IAC. Série Tecnologia APTA.* Campinas: Instituto Agrônomo. p. 15–27.

Nogueira É, Mingoti GZ, Nicacio A, Silva JCB, Fernandes CAC, Rodrigues WB, Júnio HRM. 2009. Utilização da ultrassonografia na reprodução de fêmeas bovinas. *Infoteca Embrapa.* Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br>.

Nyland TG, Mattoon JS, Herrgesell EJ, Wisner ER. 2002. Physical principles, instrumentation, and safety of diagnostic ultrasound. In: Mattoon JS, editor. *Veterinary ultrasound.* 2ª ed. St. Louis (MO): Saunders Elsevier. p. 1–35.

Palgrave K, Kidd J. 2022. Introduction. In: Kidd JA, Lu KG, Frazer ML, editores. *Atlas of equine ultrasonography.* 2ª ed. Hoboken (NJ): Wiley-Blackwell. p. 1–23.

Palomares RA. 2021. Estrus detection. In: Hopper R, editor. *Bovine reproduction.* 2ª ed. Hoboken (NJ): Wiley-Blackwell. p. 431–447.

Pérez-Marín CC, Moreno LM, Calero GV. 2012. Clinical approach to the repeat breeder cow syndrome. In: Pérez-Marín CC, editor. *A bird's-eye view of veterinary medicine.* Córdoba (Spain): University of Córdoba. p. 337–362.

Pérez-Marín CC, Quintela LA. 2023. Current insights in the repeat breeder cow syndrome. *Animals.* 13(13):2187. <https://doi.org/10.3390/ani13132187>.

Peter AT, Levine H, Drost M, Bergfelt DR. 2009a. Compilation of classical and contemporary terminology used to describe morphological aspects of ovarian dynamics in cattle. *Theriogenology.* 71(3):374–381. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.12.026>.

Peter AT, Vos PLAM, Ambrose DJ. 2009b. Postpartum anestrus in dairy cattle. *Theriogenology.* 69(4):557-570. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.11.012>.

Pineda M, Dooley MP. 2008. *McDonald's veterinary endocrinology and reproduction.* 5ª ed. Ames (IA): Iowa State Press.

Pinedo PJ, Melendez P, Villagomez-Cortes JA, Risco CA. 2009. Effect of high somatic cell counts on reproductive performance of Chilean dairy cattle. *J Dairy Sci.* 92(10):4719–4725. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2125>.

Pothmann H, Prunner I, Wagener K, Jaureguiberry M, de la Sota RL, Erber R, Aurich C, Ehling-Schulz M, Drillich M. 2015. The prevalence of subclinical endometritis and intrauterine infections in repeat breeder cows. *Theriogenology.*

Portugal. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas. Decreto-Lei n.º 150/99, de 7 de maio. Transpõe para a ordem jurídica interna a Diretiva n.º 96/22/CE do Conselho, de 29 de abril, relativa à proibição da utilização de determinadas substâncias de efeito hormonal nos animais de criação. *Diário da República.* Série I-A. 1999 maio 7;(106).

Prange RW, Duby RT. 2007. Anatomy of the cow's reproductive tract. *The Cattle Site.* [accessed 2024 Oct 30]. Disponível em: <https://www.thecattlesite.com/articles/1031/anatomy-of-the-cows-reproductive-tract/>.

Quintela L, Barrio M, Peña A, Becerra J, Cainzos J, Herradón P, Díaz C. 2012. Use of ultrasound in the reproductive management of dairy cattle. *Reprod Domest Anim.* 47:34–44. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2012.02032.x>.

Rich TD, Turman EJ. 2006. Reproductive tract anatomy and physiology of the cow. *Oklahoma State University Extension Service.*

- Rodrigues FMS, Pimentel VJ, Lourenço Júnior JB, Sobrinho JRS, Lourenço JB. 2024. Análise da eficiência reprodutiva dos protocolos hormonais Presynch e Ovsynch em vacas holandesas. *Scientia Generalis*. <https://doi.org/10.22289/sg.V5N2A12>.
- Sá Filho MF, Monteiro PLJ, Pires PF, Bisinotto RS, Chebel RC, Wiltbank MC. 2013. Ovsynch and its variants for dairy and beef cattle. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*. 29(1):117–131.
- Salasela B, Mokhtarib A, Taktazc T. 2010. Prevalence, risk factors for and impact of subclinical endometritis in repeat breeder dairy cows. *Theriogenology*. doi:10.1016/j.theriogenology.2010.05.033.
- Samir M, Glister C, Mattar D, Laird M, Knight PG. Follicular expression of pro-inflammatory cytokines tumour necrosis factor- α (TNF α), interleukin 6 (IL6) and their receptors in cattle: TNF α , IL6 and macrophages suppress thecal androgen production *in vitro*. *Reproduction*. 2017 Jul;154(1):35-49. doi: 10.1530/REP-17-0053. Epub 2017 Apr 21. PMID: 28432091.
- Santos IS de O, Graciosa MG, Souza ILG de. 2020. Utilização de progesterona de longa ação injetável em vacas leiteiras submetidas à inseminação artificial em tempo fixo (IATF). *Rev Bras Reprod Anim*. 44(2):127–134.
- Schäberle W. 2005. Fundamental principles. In: *Ultrasonography in vascular diagnosis: a therapy-oriented textbook and atlas*. Berlin; New York: Springer.
- Sheldon IM, Cronin JG, Healey GD. 2009. Defining postpartum uterine disease and the mechanisms of infection and immunity in the female reproductive tract in cattle. *Theriogenology*. 70(3):383–392. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.10.014>
- Sheldon IM, Lewis GS, LeBlanc SJ, Gilbert RO. 2006. Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology*. 65(8):1516–1530. doi:10.1016/j.theriogenology.2005.08.021.
- Silva EIC. 2022 [estimado]. Fisiologia clínica do ciclo estral de vacas leiteiras: desenvolvimento folicular, corpo lúteo e etapas do estro. [Internet]. [accessed 2024 Nov 26]. Disponível em: <https://philarchive.org/archive/EMAFDR-5>.
- Sinclair KD. 2010. Declining fertility, insulin resistance and fatty acid metabolism in dairy cows: developmental consequences for the oocyte and pre-implantation embryo. In: *Anais do 38º Congresso da Sociedade Brasileira de Reprodução Animal*; Porto Seguro (BA). Disponível em: https://www.ufrgs.br/actavet/38-suple-2/13_SBTE_SINCLAIR.pdf.
- Sobreira RR, Almeida IC, Oliveira FA, Siqueira JB, Barioni G, Lima DV, Siqueira LA. 2017. Cipionato de estradiol e benzoato de estradiol em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo em novilhas mestiças. *Vet Zootec*. 24(3):581–591.
- Souza RC, Ferreira PM, Molina LR, Carvalho AU, Facury Filho EJ. 2006. Perdas econômicas ocasionadas pelas enfermidades podais em vacas leiteiras confinadas em sistema free stall. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 58(6):976–982. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352006000600002>
- Spicer LJ, Alpizar E. 1994. Effects of cytokines on FSH-induced estradiol production by bovine granulosa cells in vitro. *Biol Reprod*. 50(1):38–43.
- Taponen J. 2009. Fixed-time artificial insemination in beef cattle. *Acta Vet Scand*. Disponível em: <https://actavetscand.biomedcentral.com/articles/10.1186/1751-0147-51-48>.
- Torres M. 2000. *La ecografía como meio diagnóstico e avaliação dos processos reprodutivos no bovino*. Zaragoza: Servet.
- Ugyen P, Penjor, Dorji R. 2021. Effects of body condition score on postpartum oestrus cycle in dairy cows. *J Anim Health Prod*. 9(2):206–211.
- Villar SL, Pérez-Marín CC, Álvarez J, Yáñez U, Becerra JJ, Peña AI, Herradón PG, Quintela LA. 2025. Evaluation of prevalence, risk factors, and therapeutic approach for subclinical endometritis and oviductal occlusion in repeat breeder Holstein cattle. *Research in Veterinary Science*. 183:105511. doi:10.1016/j.rvsc.2024.105511.
- Wagener K, Pothmann H, Prunner I, Peter S, Erber R, Aurich C, Drillich M, Gabler C. 2017. Endometrial mRNA expression of selected pro-inflammatory factors and mucins

in repeat breeder cows with and without subclinical endometritis. *Theriogenology*. 87:254-260. doi:10.1016/j.theriogenology.2016.12.013.

Walker SL, Smith RF, Routly JE, Jones DN, Morris MJ, Dobson H. 2008. Lameness, activity time-budgets, and estrus expression in dairy cattle. *J Dairy Sci*. 91(12):4552–4559. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1048>

Wildman EE, Jones GM, Wagner PE, Boman RL, Troutt HF, Lesch TN. 1982. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. *J Dairy Sci*. 65(3):495-501.

Williams DJ. 2012. The physics of ultrasound. *Anaesthesia & Intensive Care Medicine*. 13(6):264–268. doi:10.1016/j.mpaic.2012.03.010.

Williams GL, Cardoso RC. 2021. Neuroendocrine control of estrus and ovulation. In: Hopper R, editor. *Bovine reproduction*. 2nd ed. Hoboken (NJ): Wiley-Blackwell. p. 269–292.

Wiltbank MC, Souza AH, Carvalho PD, Cunha AP, Giordano JO, Fricke PM, Baez GM, Diskin MG. 2014. Physiological and practical effects of progesterone on reproduction in dairy cattle. *Animal*. doi:10.1017/S175173111400058

7. Anexos

Tabela 5. Escala da condição corporal. Adaptado de Wildman et al. (1982).

Condição corporal	
1/5	Extremamente magro
2/5	Magro
3/5	Apropriado
4/5	Sobrepeso moderado
5/5	Sobrepeso acentuado

Tabela 6. Classificação do grau de claudicação. Adaptado do Welfare Quality®.

Pontuação	Descrição
0	Não claudicante
1	Moderadamente claudicante
2	Gravemente claudicante