



**X CURSO NOVOS ENFOQUES
NA PRODUÇÃO E
REPRODUÇÃO DE BOVINOS**

LEITE

FACTORS AFFECTING REPRODUCTIVE EFFICIENCY IN U.S. DAIRY HERDS

*Milo C. Wiltbank,
Kent A. Weigel,
Daniel Z. Caraviello,
Alexandre Souza*

INTRODUCTION

Reproductive efficiency is declining on U.S. dairy herds. There are numerous factors that affect reproductive efficiency on individual farms. These include heat detection rate, heat stress, semen quality, bull fertility, AI technique, nutrition, body condition score, clinical and subclinical mastitis, cow comfort, and many other factors related to whole farm management, individual farm managers and laborers, and individual cows. This manuscript will attempt to describe the factors affecting reproductive efficiency from a recent study that evaluated numerous factors simultaneously to determine the factors most related to reproductive performance. This manuscript will briefly summarize some of the results from a study by Daniel Caraviello who used a machine learning technique to simultaneously evaluate numerous factors that may be affecting reproductive efficiency on U.S. dairies. Next, will be presented more in-depth results for one of these factors, body condition score and a system that we developed during these studies to evaluate the impact of BCS on reproductive performance in U.S. dairies.

FACTORS AFFECTING PERCENTAGE OF COWS PREGNANT AT 150 DAYS

This section is based on the research of Daniel Caraviello that he did to receive his Ph.D. degree from University of Wisconsin-Madison (Caraviello, 2005). He was working with Dr. Kent Weigel on his Ph.D. research and he also involved a number of us in helping to analyze and interpret the data from this research. He used a machine learning technique (Freund and Mason, 1999) to analyze reproductive data from 153 large commercial dairies that participate in the Alta Advantage progeny-testing program. After editing, the data set had 17,587 lactation records from 9,516 cows that calved from 2000 to 2004 on 153 large (average of 613 ± 46 lactating cows), commercial dairies across the United States. We collected as many different variables as possible using production records from DHI, on-farm computer records of reproduction and other variables, temperature information from weather stations located within 25 miles of each farm, body condition score collected by a single trained evaluator, and finally a comprehensive survey completed with the help of Alta Advantage consultants. There were a total of 341 potential explanatory variables that were included in the analysis including: general management issues, sire selection, reproductive management, inseminator training and techniques, heat abatement, facility design, nutrition, employee management, animal health etc. An alternating decision tree algorithm was used to determine the variables and relationship between variables that helped to explain the differences in reproductive performance between cows and between herds.

There are many different measures of reproductive performance including: days open, conception rate at first service or other services, 21-day pregnancy rate, reproductive culling rate, days to first AI, calving interval among others. For this study we chose to use percentage of cows that were pregnant at 150 days in milk. In our research this has been found to be a very robust variable for determining the reproductive efficiency on farms. It is close to mid-gestation, it encompasses heat detection efficiency and conception rate during

multiple breeding periods. It also is robust to heterogeneity between farms in reproductive management methods (synchronization programs, heat detection methods) and selected length of the voluntary waiting period. In addition, there are good economic reasons to select percentage pregnant by 150 days because after this time there are much more substantial losses for each day open than found before this time (our unpublished results).

The decision tree that was eventually selected contained 25 key variables that best explained the percentage of cows pregnant at 150 days. To test the decision tree, a portion of the records were held out (10%) during the development of the model and then the model was used to test the accuracy of prediction using these records. The selected model was accurate in selecting pregnancy status at 150 days for 71.4% of the cows. Overall, 60.7% of the cows were pregnant at 150 days but there were substantial differences between farms. The decision tree helped in accurately predict the variables that were associated with lack of pregnancy in the 39.3% of cows that were not pregnant at 150 days in milk.

The complete report of this study will be published during the next few months in *Journal of Dairy Science* and it is not my objective to repeat the data that are contained in that complete manuscript. However, I will mention the top variables that were found to be particularly informative in predicting reproductive performance.

The first node (node 1) of the decision tree corresponded to amount of bunk space per cow in the breeding pen. Thus, cows that were overcrowded (<36 cm of bunk space/cow) had a much lower percentage of cows that were pregnant at 150 days in milk than cows with more bunk space. The predicted percentage of cows that were pregnant by 150 days tended to increase linearly as bunk space increased from 30 to 60 cm (from 35% to 70%). Again this is only one value but it had good predictive ability.

Node 2 was built only on the node of cows with >36 cm of bunk space. This node used temperature for thawing semen. Unfortunately, it had very few cows that could be evaluated because few producers reported this variable (only 965 cows included). Thus, this was not a very useful node even though it appeared to have predictive value. This demonstrates that nodes must be carefully evaluated because the machine learning technique is powerful in dealing with missing values but may allow overcompensation when a value has few values recorded.

Node 3 is body condition score faults for the herd. In other words, the percentage of cows that were not in the correct body condition score at a given stage of lactation for a given herd. This variable is discussed in depth in Section III below because it was found to be a particularly informative variable.

Node 4 was for maximum number of cows in the maternity pen. When number of cows was more than 22.5 cows there was a negative effect on the predicted percentage of cows pregnant at 150 days. This value tended to have a linear decrease in value as number of cows in the maternity pen increased from 10 to 25.

Nodes 6, 9 and 15 were all concerned with milk yield near first insemination. Cows that had lower milk yield (< 30.8 kg/d tended to have lower percentage pregnant at 150 days perhaps due to this value reflecting somewhat the disease state of some cows. In addition, cows with milk yields > 51.3 kg/d also had lower predicted percentage pregnant at 150 days than other groups. The group with milk yield from 35.9 to 40.3 kg/d had the greatest percentage pregnant at 150 days.

Thus, there are many variables that are associated with reproductive efficiency in individual cows and on individual dairy farms. We found pregnancy status at 150 days to be a very useful variable for measuring reproductive performance and for determining what factors are associated with reproductive performance. Clearly variables associated with overcrowding (bunk space, number of cows in maternity pens) were very important predictors of reproductive performance. The body condition scores of the herd and the milk yield of individual cows were also key predictors. It should be noted that the associations found in this study do

not indicate a “cause and effect” relationship. There could be numerous reasons for these associations that are unrelated to the particular variable that we found associated with reproductive performance.

BODY CONDITION SCORE (BCS) AND REPRODUCTIVE PERFORMANCE

There is substantial evidence linking BCS to reproductive performance in dairy cows. Pryce et al. (2000), evaluating records from 44,674 first lactation cows, found that BCS at 1 mo after parturition had estimated genetic correlations with calving interval of -0.40 and -0.22, before and after adjusting for milk yield, respectively. They also reported that, although the change in BCS between 1 mo and 4 mo postpartum had a high genetic correlation with fertility, the average or absolute BCS for a given cow had an even stronger relationship with fertility. These authors indicated that a single BCS measured early in lactation could be used as an indirect selection criterion for fertility. Other authors have also reported a genetic relationship between BCS and fertility (Dechow et al., 2004; Pryce et al., 2001).

The negative impact of low BCS on female fertility could be due to a number of factors, including a longer time from parturition to onset of ovarian activity among cows with low BCS. Veerkamp et al. (2000) used a milk progesterone assay to indicate the onset of luteal activity and obtained an estimated genetic correlation of -0.54 between onset of luteal activity and body weight (which is highly correlated with BCS) at 100 d postpartum. The same study reported an estimated genetic correlation of -0.80 between onset of luteal activity and body weight change from calving to 100 d postpartum. Royal et al. (2002) later reported an estimated genetic correlation of -0.84 between commencement of luteal activity and BCS.

It appears that BCS measured 30-60 d postpartum has the strongest relationship with reproductive performance, and that multiple BCS measurements can increase this relationship (Dechow et al., 2001; Pryce et al., 2000). Nevertheless, it may be impractical to measure BCS repeatedly at specific stages of lactation for every cow in a herd. Therefore, comparing BCS collected at different points during the lactation to predetermined standards or thresholds may provide valuable, cost-effective information for herd managers and dairy consultants. Therefore, the objectives of this study were two fold. First, to develop a BCS fault system that can predict reproductive performance both at the herd level and at the individual cow level. Second, to compare the predictive ability of BCS faults (or lack thereof) on the day of insemination with BCS treated as a continuous variable.

We used the farms discussed in Section II to determine the normal body condition scores in these herds and to set a “normal” value for all stages of lactation that could be used to determine the “BCS status” of each herd. Mean BCS for dry cows was 3.22; this declined to 2.88 by 30 d postpartum and declined further to 2.70 by 50 d postpartum. Mean BCS subsequently increased to 2.75 by 80 d postpartum and stabilized at around 2.85 by 200 d postpartum. These data were used to calculate a fourth-degree polynomial curve representing average BCS throughout the lactation, and this curve, together with the curve representing the thresholds developed during this study are superimposed on the BCS scatter plots for example herds in Figures 1, 2, and 3. Figure 1 shows the distribution of BCS values for an above average herd. Most cows in this herd fell above the polynomial curve, and the percentage of BCS faults was only 2%. Figure 2 shows an example herd with substantial variation in BCS, such that many cows fall well above or well below the polynomial curve. The overall percentage of BCS faults in this herd was 15%. Lastly, Figure 3 shows a herd with very poor BCS; few cows in this herd are above the polynomial curve, and the overall fault rate in this herd was 54%.

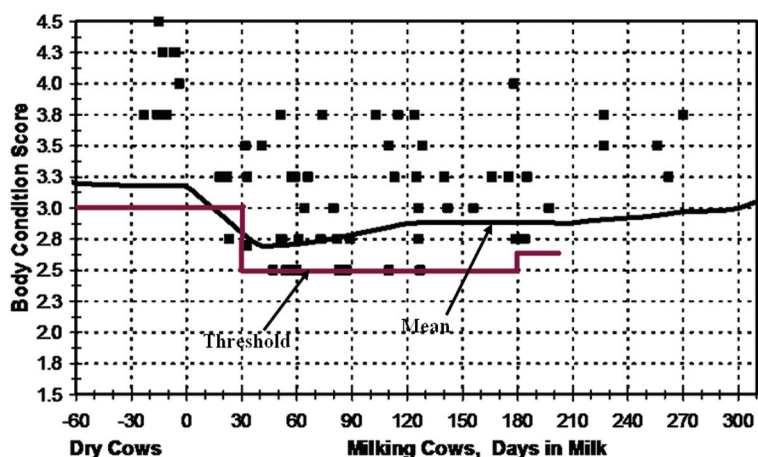


Figure 1. Scatter plot for an example herd with above average body condition scores (BCS). The lines indicate the calculated mean (fourth degree polynomial) of BCS at different times postpartum for all herds in the study, and the threshold developed on this study. Each box represents the BCS for an individual cow.

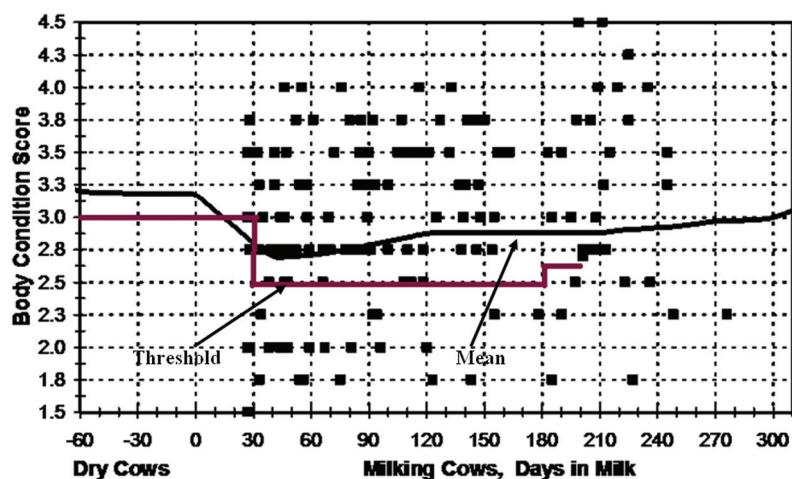


Figure 2. Scatter plot for an example herd with intermediate average, and tremendous variation, for body condition scores (BCS). The lines indicate the calculated mean (fourth degree polynomial) of BCS at different times postpartum for all herds in the study, and the threshold developed on this study. Each box represents the BCS for an individual cow.

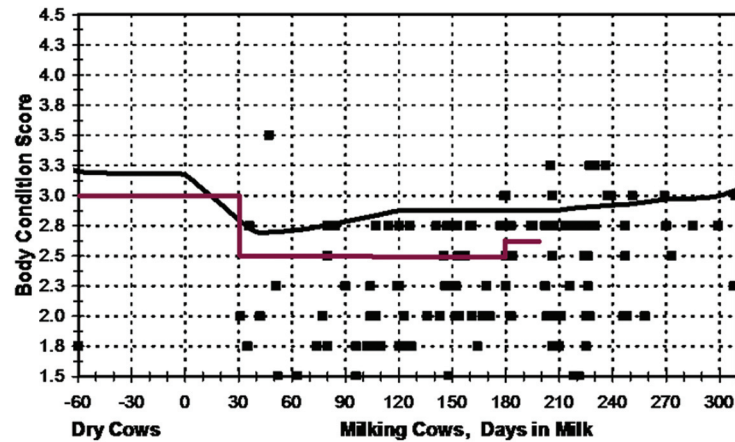


Figure 3. Scatter plot for an example herd with below average body condition scores (BCS). The lines indicate the calculated mean (fourth degree polynomial) of BCS at different times postpartum for all herds in the study, and the threshold developed on this study. Each box represents the BCS for an individual cow.

The 63 herds in this study ranged from nearly 0% to more than 60% BCS faults. The relationship between percentage of BCS faults and reproductive performance was evaluated at the herd level by comparing herd BCS status with the percentage of cows pregnant by 150 d postpartum. Pregnancy status at 150 d postpartum was chosen as the dependent variable, because, as discussed above, it is a robust measure of overall herd reproductive performance. In addition to the herd level analysis, we also evaluated BCS status at the individual cow level by comparing pregnancy status at 150 d and conception rate at first service with the presence or absence of a BCS fault for an individual cow.

Application of a logistic regression model at the herd level showed that the proportion of cows pregnant by 150 d postpartum decreased linearly as the percentage of BCS faults increased (Fig 4). The probability of pregnancy by 150 d postpartum was 0.80 for herds with 15% BCS faults, as compared with 0.53 for herds with $\geq 45\%$ BCS faults.

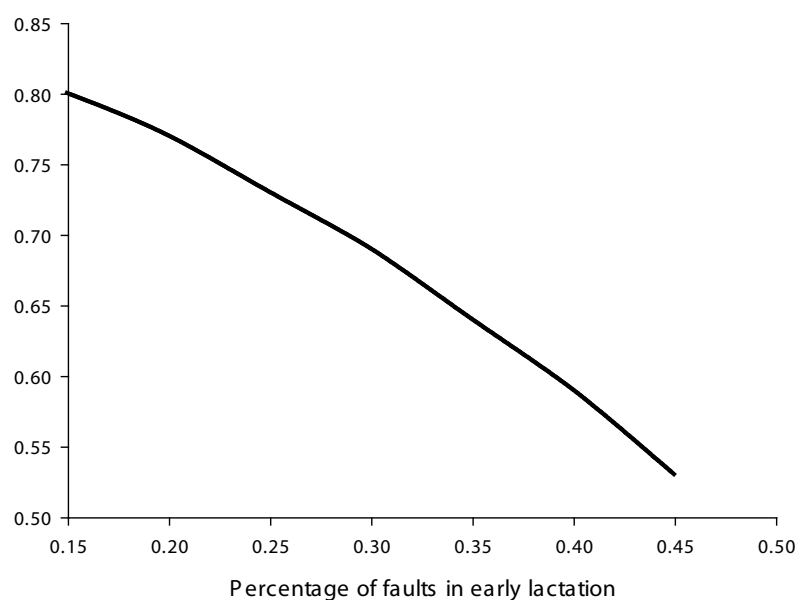


Figure 5. Probability of pregnancy by 150 d postpartum according to percentage of faults in the herd level analysis. The plot is calculated from the logistic regression using lactation number = 1.5 and maximum daily temperature = 85 °F.

Cow level evaluation of the relationship between BCS faults and probability of pregnancy by 150 d postpartum confirmed trends that were observed at the herd level. Individual cows with BCS faults had significantly ($P < 0.05$) lower probability of becoming pregnant by 150 d postpartum (0.61) than cows without faults (0.74).

Thus, we have developed a simple system to separate herds according to BCS status determined at a single farm visit. This BCS “fault” system can be used to identify herds with poor overall reproductive performance, as measured by the proportion of cows pregnant by 150 d postpartum or predict reproductive performance of individual cows.

REFERENCES

- Caraviello, D.Z. 2005. Development and evaluation of models for predicting reproductive performance in large commercial dairy herds. Thesis submitted as partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy. University of Wisconsin, Madison.
- Dechow, C.D., G.W. Rogers, L. Klei, T.J. Lawlor, and P.M. VanRaden. 2004. Body condition scores and dairy form evaluations as indicators of days open in US Holsteins. *J. Dairy Sci.* 87:3534-3541.
- Freund, Y., and L. Mason. 1999. The alternating decision tree learning algorithm. Pages 124-133 *in* Proc. 16th Intl. Conf. on Machine Learning, Bled, Slovenia.
- Pryce, J.E., M.P. Coffey, and G. Simm. 2001. The relationship between body condition score and reproductive performance. *J. Dairy Sci.* 84:1508-1515.
- Pryce, J.E., M.P. Coffey, and S. Brotherstone. 2000. The genetic relationship between calving interval, condition score and linear type and management traits in pedigree registered Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* 83:2664-2671.
- Royal, M.D., J.E. Pryce, J.A. Woolliams, and A.P.F. Flint. 2002. The genetic relationship between commencement of luteal activity and calving interval, body condition score, production, and linear type traits in Holstein-Friesian dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 85:3071-3080.
- Veerkamp R.F., J.K. Oldenbroek, H.J. Van Der Gaast, and J.H.J. Van Der Werf. 2000. Genetic correlation between days until start of luteal activity and milk yield, energy balance, and live weights. *J. Dairy Sci.* 83:577-583.

ESTRATÉGIAS PARA MELHORAR A FERTILIDADE DE VACAS LEITEIRAS EM LACTAÇÃO

Nora M. Bello e J. Richard Pursley

Departamento de Zootecnia

Michigan State University

INTRODUÇÃO

A reprodução eficiente é uma peça fundamental da produção lucrativa de leite. A sustentabilidade das granjas leiteira a longo prazo depende em grande parte da programação das parições e do benefício representado pelas conseqüências fisiológicas que se seguem. O objetivo desta apresentação é examinar novos achados na fisiologia ovariana que se correlacionam com o desempenho reprodutivo de vacas leiteiras e aplicá-los ao desenvolvimento de novos métodos para controlar a função folicular e lútea, que podem otimizar a eficiência reprodutiva das vacas leiteiras em lactação.

Durante os últimos 50 anos, a eficiência reprodutiva de vacas leiteiras em lactação diminuiu progressivamente devido principalmente a uma taxa de concepção baixa e em constante declínio e a baixas taxas de detecção de estro (Heersche e Nebel, 1994; Washburn et al., 2002).

Nas vacas, a taxa de concepção diminuiu de aproximadamente 70% (Foote, 1952; Herman, 1956) para 35% (Lopez-Gatius, 2003; Macfarlane e Pursley, 2003) durante este período. A eficiência reprodutiva em vacas em lactação é comprometida ainda mais pelas baixas taxas de detecção de estro. Os atuais relatos indicam que a taxa de detecção de estro é de aproximadamente 32% nas vacas em lactação (MI DHIA Dezembro 2005, resumo do relatório mensal).

A natureza do baixo desempenho reprodutivo das vacas leiteiras parece ser multifatorial. Os fatores que potencialmente contribuem para isso incluem: genética e raça (Fonseca et al., 1983), idade e paridade (Pursley et al., 1997), retomada da ciclicidade ovariana depois do parto (Thatcher e Wilcox, 1973), nutrição (Butler, 2000), nível de produção de leite (Butler e Smith, 1989; Peters e Pursley, 2002), uso de somatotropina bovina (Moreira et al., 2001; Santos et al., 2004), saúde uterina (LeBlanc et al., 2002; Gilbert et al., 2005), condições ambientais (Rensis e Scaramuzzi, 2003) e práticas de manejo (Jordan e Fourdraine, 1993; Nebel et al., 1994), entre outros. Estes fatores têm um efeito direto ou estão indiretamente associados com a fisiologia ovariana em nível de desenvolvimento e função folicular e lútea (Burke et al., 1995; Butler, 2000; Lucy, 2000; Sartori et al., 2004; Sheldon e Dobson, 2004). A fisiologia ovariana alterada pode ser uma via comum para uma interrupção do desempenho reprodutivo em vacas leiteiras em lactação.

TAXA DE DETECÇÃO DE ESTRO E SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO

Em cada 3 vacas leiteiras em estro, cerca de 2 não são identificadas (MI DHIA Dezembro 2005, resumo do relatório mensal). Até uma década atrás, a observação do estro com aceitação de cobertura era o único indicador de cobertura. Assim, uma baixa taxa de serviço era a primeira limitação da eficiência reprodutiva em vacas leiteiras.

Controle da taxa de serviço com Ovsynch

Em 1995, Pursley et al. desenvolveram o programa hormonal Ovsynch para sincronizar a ovulação de vacas leiteiras em lactação (Ovsynch; Pursley 1995). Ovsynch permitiu a programação da inseminação das vacas independente do estro detectado. Como consequência, tornou-se possível controlar o tempo até a primeira IA e a subsequente, maximizando a taxa de serviço e melhorando a taxa geral de detecção de estro. Desde 1995, Ovsynch tem sido amplamente aceito como uma ferramenta de manejo reprodutivo em granjas leiteiras.

Ovsynch tem como base três injeções programadas de hormônio. Uma primeira injeção de hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) tem por objetivo provocar a ovulação/luteinização de qualquer folículo dominante funcional presente no ovário e induzir a emergência subsequente de uma nova onda folicular, aproximadamente 1,5 a 2 dias depois (Pursley et al., 1995). Se não houver nenhum folículo dominante presente no momento da primeira injeção de GnRH, presume-se a sincronicidade da emergência espontânea de uma nova onda folicular dentro dos 3 dias anteriores. Permite-se o desenvolvimento da nova onda folicular que passa pela seleção e dominância nos 7 dias seguintes. A prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) é administrada no dia 7 para induzir a luteólise, permitindo que haja crescimento e maturação do folículo dominante. Finalmente, uma segunda injeção de GnRH é administrada 48 horas depois da $PGF_{2\alpha}$ para induzir um pico pré-ovulatório de LH, que desencadeia a ovulação dentro de um período de 8 horas, iniciando-se aproximadamente 24 horas depois da injeção (Pursley et al., 1995).

Ovsynch: Limitações

As vacas tratadas com Ovsynch tiveram taxas de concepção globais similares às obtidas depois da cobertura com estro detectado (37 e 39 %, respectivamente; $P > 0,05$) (Pursley et al., 1997). Uma importante limitação de Ovsynch, entretanto, é a ampla variabilidade das taxas de sincronização (definidas com tendo um CL regredido e ovulação após a GnRH final) em vacas tratadas com Ovsynch. Até 30% das vacas podem não sincronizar (Vasconcelos et al., 1999; DeJarnette et al., 2001; Macfarlane e Pursley, 2003; Peters e Pursley, 2003). É pouco provável que as vacas não sincronizadas sejam inseminadas em um momento adequado em relação à ovulação, diminuindo desta forma suas probabilidades de apresentarem estro com aceitação de cobertura.

A variação entre as vacas leiteiras com relação à sua taxa de sincronização com Ovsynch foi atribuída principalmente ao estágio do ciclo estral em que Ovsynch é iniciado (Vasconcelos et al., 1999). Quando Ovsynch é iniciado na metade do ciclo (dia 5-9 do ciclo), as vacas têm probabilidade maior de sincronização com Ovsynch, e, portanto, maior possibilidade de concepção do que as vacas em qualquer outro estágio do ciclo estral (Vasconcelos et al., 1999; Moreira et al., 2000). As razões fisiológicas chave para o aumento da taxa de sincronização na metade do ciclo são: 1) presença de um FD funcional, capaz de ovular com a primeira injeção de GnRH no Ovsynch, e 2) a presença de um CL que permaneceu funcional durante o período de 7 dias entre a primeira administração de GnRH e a $PGF_{2\alpha}$ de Ovsynch. A ovulação com a primeira administração de GnRH de Ovsynch é seguida pela emergência de uma nova onda folicular. O folículo dominante desta nova onda geralmente se desenvolve para tornar-se o folículo ovulatório de Ovsynch. A presença de um CL funcional com a $PGF_{2\alpha}$ de Ovsynch reduz a ocorrência de ovulação espontânea antes do GnRH final do Ovsynch.

Por outro lado, durante a fase inicial (dia 1 a 4) ou final (dia >10) do ciclo estral os cenários fisiológicos folicular e lúteo não contribuem com a sincronização pelo Ovsynch. Se Ovsynch for iniciado no começo do ciclo estral (dia 1 a 4), a ovulação ao primeiro GnRH de Ovsynch é comprometido pela presença de uma onda folicular emergente (Vasconcelos et al., 1999; Moreira et al., 2000). É pouco provável que, 3 dias após a emergência, o folículo tenha os receptores LH para responder ao primeiro GnRH de Ovsynch com

ovulação (Sartori et al., 2001). Assim sendo, este folículo teria 10 dias de idade quando a $\text{PGF}_{2\alpha}$ de Ovsynch é administrada, e seria pouco provável que já estivesse sofrendo atresia. Quando o GnRH final de Ovsynch é administrado, uma outra onda folicular estaria emergindo e o folículo destinado a ser o dominante seria novo demais para ovular em resposta ao GnRH final de Ovsynch. Nestes casos, a ovulação deve ocorrer 3 a 5 dias depois da finalização de Ovsynch. Da mesma forma, quando as vacas começam Ovsynch em uma fase posterior do ciclo estral (dia 10), a presença de um FD funcional no momento do primeiro GnRH varia na dependência do padrão da onda folicular da vaca e o momento da emergência da onda folicular (Vasconcelos et al., 1999). Além disso, se as vacas iniciam o protocolo Ovsynch no final do ciclo estral, é provável que ocorra uma luteólise espontânea antes da $\text{PGF}_{2\alpha}$ de Ovsynch (Vasconcelos et al., 1999; Moreira et al., 2000). Em vacas com luteólise espontânea antes da $\text{PGF}_{2\alpha}$, é provável que o folículo dominante desencadeie a ovulação espontânea antes do GnRH final de Ovsynch. Resumindo, o sucesso da sincronização da ovulação é menos provável se Ovsynch tiver sido iniciado no começo ou no final do ciclo estral do que na metade do ciclo. Como a inseminação ocorre em tempo fixo depois do GnRH final do Ovsynch, as probabilidades de concepção com IA em tempo fixo são menores.

A resposta ovulatória ao primeiro GnRH de Ovsynch e a prevenção de luteólise prematura são fatores críticos para o sucesso da sincronização da ovulação em vacas leiteiras em lactação. O controle sobre o desenvolvimento folicular antes do início do Ovsynch pode estabelecer condições favoráveis a uma resposta ovulatória ao primeiro GnRH do Ovsynch. Além disso, o controle sobre a função lútea pode ajudar a prevenir a ocorrência de luteólise primária durante Ovsynch. Como resultado, poderiam ser esperadas taxas de sincronização mais elevadas com Ovsynch.

Abordagens anteriores para melhorar o desfecho com Ovsynch: Limitações

Diversas estratégias de pré-sincronização foram desenvolvidas baseadas na idéia de que controlar a função ovariana antes do início de Ovsynch poderia melhorar as taxas de sincronização com Ovsynch (Peters e Pursley, 2002; DeJarnette e Marshall, 2003; LeBlanc e Leslie, 2003; El-Zarkouny et al., 2004; Navanukraw et al., 2004). As estratégias de pré-sincronização mais populares basearam-se no uso de $\text{PGF}_{2\alpha}$ em momentos específicos, antes do início de Ovsynch. As conclusões sobre a efetividade das estratégias de pré-sincronização baseadas em $\text{PGF}_{2\alpha}$ para melhorar Ovsynch tiveram como base apenas o resultado em termos de prenhez e não foram consistentes entre os estudos. Infelizmente, a maioria destes estudos não trouxe os dados sobre o efeito das estratégias de pré-sincronização baseadas em $\text{PGF}_{2\alpha}$ sobre a resposta ovulatória ao primeiro GnRH do Ovsynch ou sobre a taxa de sincronização global com Ovsynch. Como o efeito de $\text{PGF}_{2\alpha}$ está limitado ao controle da duração da fase lútea, podemos especular que a pré-sincronização com $\text{PGF}_{2\alpha}$ não sincronizou de forma consistente o desenvolvimento folicular com o primeiro GnRH do Ovsynch. Outras pesquisas são necessárias para desenvolver e validar as estratégias para otimizar a taxa de sincronização com Ovsynch pelo aumento da resposta ovulatória ao primeiro GnRH e prevenindo a ocorrência de luteólise espontânea antes da $\text{PGF}_{2\alpha}$.

Deve-se observar que o impacto global positivo de Ovsynch sobre o desempenho reprodutivo de rebanhos leiteiros é mediado principalmente pela maximização da taxa de serviço. O atual esquema de injeção hormonal de Ovsynch não aumenta a taxa de concepção quando comparado com a inseminação após o estro detectado (Pursley et al., 1997).

FATORES QUE IMPACTAM AS TAXAS DE CONCEPÇÃO EM BOVINOS

Independente do desencadeador da inseminação (estro ou IA em tempo fixo para ovulação sincronizada), aproximadamente 2 em cada 3 vacas leiteiras não concebem, deixando de estabelecer uma prenhez depois da inseminação. Considerando a tendência decrescente das taxas de concepção durante os últimos 50 anos, podemos prever que a fertilidade de vacas leiteiras em lactação continuará sendo um grande desafio para o manejo lucrativo de um rebanho leiteiro. As razões fisiológicas exatas para a baixa fertilidade das vacas leiteiras em lactação não são conhecidas. Como mencionado anteriormente nesta revisão, o problema parece ser multifatorial. As evidências de diversos estudos apoiam uma associação entre as características funcionais e morfológicas do folículo ovulatório e a fertilidade.

Evidência de um efeito do tempo de vida e duração da dominância do folículo ovulatório sobre a fertilidade

Diversas linhas de evidências indicam que o tempo de vida e duração estendida da dominância são prejudiciais para a fertilidade, sendo que o modelo do folículo persistente traz evidências diretas. Um folículo persistente pode ser criado mantendo níveis sub-luteais de progesterona ($1-2 \text{ ng/ml}$; P_4) por um período prolongado (Sirois e Fortune, 1990; Adams et al., 1992; Savio et al., 1993; Mihm et al., 1994; Bridges e Fortune, 2003). Sob estas condições e impedindo-se temporariamente a sua ovulação, o folículo dominante é induzido a crescer de forma persistente e permanecer dominante por intervalos mais longos do que os períodos fisiológicos normais (Sirois e Fortune, 1990; Adams et al., 1992; Savio et al., 1993; Mihm et al., 1994; Bridges e Fortune, 2003). Quando finalmente se permite que os folículos persistentes ovulem, a fertilidade é diminuída em comparação com folículos ovulatórios mais jovens (Savio et al., 1993; Stock e Fortune, 1993; Mihm et al., 1994; 1996; Revah e Butler, 1996). Foi proposto que o efeito negativo do crescimento e da dominância prolongados do folículo ovulatório sobre a fertilidade está associado com o ambiente hormonal em que o folículo é induzido a persistir. Níveis sub-luteais de P_4 durante um período prolongado provocam um aumento da frequência da pulsatilidade de LH (Roberson et al., 1989; Kojima et al., 1992) e impedem a ocorrência de um pico pré-ovulatório de LH (Rahe et al., 1980; Cupp et al., 1992; Savio et al., 1993; Stock e Fortune, 1993). Como resultado, o oócito retoma a meiose enquanto ainda está contido no folículo e começa a sofrer a maturação nuclear prematura dissociada da maturação folicular e ovulação. As características histológicas de um folículo persistente indicam que o oócito sofre rompimento precoce da vesícula germinativa e continua progredindo pelo ciclo celular para metáfase I ou II (Revah e Butler, 1996; Mihm et al., 1999). Quando a ovulação é permitida, o oócito presente no folículo persistente já amadureceu e envelheceu, resultando em uma fertilidade menor (Fugo e Butcher, 1966; Butcher e Fugo, 1967). As razões potenciais para explicar a baixa fertilidade dos folículos persistentes incluem baixas taxas de fertilização (Fugo e Butcher, 1966; Butcher e Fugo, 1967), alta mortalidade embrionária precoce (Ahmad et al., 1995) ou ambos. Além disso, sabe-se que os folículos persistentes mantêm uma produção elevada e sustentada de estradiol, o que poderia alterar o ambiente intrafolicular, do oviduto e/ou uterino. Isto poderia comprometer o transporte dos espermatozóides e/ou oócito e o desenvolvimento embrionário (Savio et al., 1993; Stock e Fortune, 1993; Mihm et al., 1994; Revah e Butler, 1996; Mihm et al., 1999; Bridges e Fortune, 2003).

Outra evidência indireta também apóia uma associação entre fertilidade e a duração do tempo de vida do folículo e/ou duração da dominância. Um recente estudo indicou que o intervalo da emergência do folículo ovulatório até o estro era mais curto em vacas posteriormente diagnosticadas como prenhes do que em vacas diagnosticadas como não prenhes ($7,8 \pm 0,2 \text{ d}$ e $8,6 \pm 0,2 \text{ dias}$, respectivamente; $P < 0,01$) (Bleach et al., 2004). Um resultado chave deste mesmo estudo foi uma relação inversa significativa entre a duração da dominância folicular e as taxas de concepção. Quanto mais tempo o folículo ovulatório permanecia no ovário esperando pelo desencadeador da ovulação, menor era a probabilidade de estabelecer uma prenhez.

Uma evidência indireta adicional do efeito do tempo de vida do folículo sobre a fertilidade baseia-se na comparação do desenvolvimento folicular entre vacas em lactação e novilhas nulíparas. Nas novilhas, o folículo ovulatório sofre um período de dominância mais curto do que ocorre nas vacas (Sartori et al., 2004; Wolfenson et al., 2004; Burns et al., 2005). Ao mesmo tempo, está bem estabelecido que as novilhas são consistentemente mais férteis do que as vacas leiteiras (Pursley et al., 1997).

Evidência de uma associação entre a morfologia do folículo ovulatório e a fertilidade

Diversos estudos mostraram repetidamente a relação entre o tamanho do folículo ovulatório e a fertilidade. A ovulação de folículos pequenos resulta em taxas de concepção mais baixas (Lane et al., 2001; Vasconcelos et al., 2001; Macfarlane e Pursley, 2003; Mussard et al., 2003). Em um recente estudo em nosso laboratório, vacas tratadas com Ovsynch que ovularam folículos com diâmetros < 12 mm tiveram taxas de concepção significativamente menores em relação aos folículos ovulatórios com > 12 mm de diâmetro (Macfarlane e Pursley, 2003). Neste estudo, as vacas ovulando um folículo <12 mm representaram 34% do estudo. Por outro lado, folículos ovulatórios >18 mm de diâmetro também estiveram associados com menor fertilidade (Vasconcelos et al., 1999). Mais recentemente, foi identificada uma relação quadrática entre o tamanho folicular e a fertilidade: as taxas de concepção foram comprometidas depois da ovulação de folículos abaixo ou acima de um tamanho limiar (Perry et al., 2005). Considerados em conjunto, estes estudos indicam que a fertilidade está comprometida se um folículo pré-ovulatório for maior ou menor do que um tamanho limiar mínimo ou máximo correspondente. Assim, parece haver uma janela definida de tamanho de folículo ovulatório em que a fertilidade poderia ser otimizada.

O tamanho folicular está relacionado com o tempo de vida de um folículo (Ginther et al., 1989): quanto mais um folículo dominante crescer, maior se tornará. Assim, os folículos dominantes maiores do que um certo limiar têm a probabilidade de um tempo de vida maior e uma dominância mais prolongada. Assim sendo, a associação entre o tamanho folicular e a fertilidade indiretamente apóiam um efeito do tempo de vida do folículo e a duração da dominância sobre a fertilidade.

Evidência de uma associação entre a função ovariana e a fertilidade

O estradiol produzido pelo folículo dominante é chave para o funcionamento normal do eixo reprodutivo. O estradiol é necessário para o crescimento e o desenvolvimento do folículo, a manifestação do comportamento de estro, o desencadeamento da ovulação e maturação final do oócito (Greenwald e Roy, 1994). Uma diminuição das concentrações circulantes de estradiol na indução da ovulação foi associada com comprometimento da fertilidade (Perry et al., 2005). As menores concentrações de estradiol devidas a um folículo ovulatório mais jovem e menor também podem alterar o ambiente do útero e do oviduto, afetando a capacidade de sobrevivência do gameta ou do embrião (King et al., 1994; DeSouza e Murray, 1995; Murdoch e Van Kirk, 1998).

Finalmente, voltando mais uma vez para o modelo vaca-novilha para a fertilidade diferencial, as concentrações circulantes de estradiol observadas em novilhas foram mais altas do que em vacas (Sartori et al., 2004; Wolfenson et al., 2004). Deve-se reconhecer, entretanto, que as diferenças fisiológicas entre vacas e novilhas vão além da função folicular e incluem idade, paridade, produção de leite e saúde uterina, entre outros.

RESUMO

O baixo desempenho reprodutivo de vacas leiteiras em lactação é uma função da baixa taxa de detecção de estro/taxa de serviço e baixa taxa de concepção. A taxa de serviço pode ser maximizada pela sincronização da ovulação com Ovsynch e a inseminação das vacas de forma programada. A eficiência de Ovsynch em sincronizar a ovulação de forma efetiva em vacas leiteiras ainda pode ser melhorada. Uma maior proporção de vacas com ovulação sincronizada provavelmente resultaria em uma maior proporção de vacas prenhes com IA em tempo fixo. Por outro lado, as características funcionais e morfológicas do folículo ovulatório estão associadas com a fertilidade. O controle da função e da morfologia do folículo poderiam ajudar a melhorar a taxa de concepção das vacas leiteiras.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adams, G. P., R. L. Matteri, and O. J. Ginther. 1992. Effect of progesterone on ovarian follicles, emergence of follicular waves and circulating follicle-stimulating hormone in heifers. *J Reprod Fertil.* 96(2):627-640.
- Ahmad, N., F. N. Schrick, R. L. Butcher, and E. K. Inskeep. 1995. Effect of persistent follicles on early embryonic losses in beef cows. *Biol. Reprod.* 52(5):1129-1135.
- Bleach, E. C., R. G. Glencross, and P. G. Knight. 2004. Association between ovarian follicle development and pregnancy rates in dairy cows undergoing spontaneous oestrous cycles. *Reproduction.* 127(5):621-629.
- Bridges, P. J., and J. E. Fortune. 2003. Characteristics of developing prolonged dominant follicles in cattle. *Domest. Anim. Endocrinol.* 25(2):199-214.
- Burke, C. R., S. McDougall, and K. L. Macmillan. 1995. Effects of breed and calving liveweight on postpartum ovarian activity in pasture-fed dairy heifers. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production.* 55:76-78.
- Burns, D. S., F. Jimenez-Krassel, J. L. Ireland, P. G. Knight, and J. J. Ireland. 2005. Numbers of antral follicles during follicular waves in cattle: evidence for high variation among animals, very high repeatability in individuals, and an inverse association with serum follicle-stimulating hormone concentrations. *Biol. Reprod.* 73(1):54-62.
- Butcher, R. L., and N. W. Fugo. 1967. Overripeness and the mammalian ova. II. Delayed ovulation and chromosome anomalies. *Fertil Steril.* 18(3):297-302.
- Butler, W. R. 2000. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Anim Reprod Sci.* 60-61:449-457.
- Butler, W. R., and R. D. Smith. 1989. Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. *J Dairy Sci.* 72(3):767-783.
- Cooperative Regional Research Project. 1996. Relationship of fertility to patterns of ovarian follicular development and associated hormonal profiles in dairy cows and heifers. *J. Anim. Sci.* 74(8):1943-1952.
- Cupp, A. S., M. Garcia-Winder, A. Zamudio, V. Mariscal, M. Wehrman, N. Kojima, K. Peters, E. Bergfelt, P. Hernandez, T. Sanchez, R. Kittok, and J. Kinder. 1992. Two concentrations of progesterone (P4) in circulation have a differential effect on pattern of ovarian follicular development in the cow. *Biology of Reproduction.* 46(Supplement 1):106.
- DeJarnette, J. M., and C. E. Marshall. 2003. Effects of pre-synchronization using combinations PGF(2alpha) and (or) GnRH on pregnancy rates of Ovsynch- and Cosynch-treated lactating Holstein cows. *Anim Reprod Sci.* 77(1-2):51-60.
- DeJarnette, J. M., R. R. Salverson, and C. E. Marshall. 2001. Incidence of premature estrus in lactating dairy cows and conception rates to standing estrus or fixed-time inseminations after synchronization using GnRH and PGF(2alpha). *Anim Reprod Sci.* 67(1-2):27-35.
- DeSouza, M. M., and M. K. Murray. 1995. An estrogen-dependent secretory protein, which shares identity with chitinases, is expressed in a temporally and regionally specific manner in the sheep oviduct at the time of fertilization and embryo development. *Endocrinology.* 136(6):2485-2496.
- El-Zarkouny, S. Z., J. A. Cartmill, B. A. Hensley, and J. S. Stevenson. 2004. Pregnancy in dairy cows after synchronized ovulation regimens with or without presynchronization and progesterone. *J Dairy Sci.* 87(4):1024-1037.

- Fonseca, F. A., J. H. Britt, B. T. McDaniel, J. C. Wilk, and A. H. Rakes. 1983. Reproductive traits of Holsteins and Jerseys. Effects of age, milk yield, and clinical abnormalities on involution of cervix and uterus, ovulation, estrous cycles, detection of estrus, conception rate, and days open. *J. Dairy Sci.* 66(5):1128-1147.
- Foote, R. H. 1952. Survey of breeding efficiency on 2,700 New York state dairy herds. Cornell University, Mimeo.
- Fugo, N. W., and R. L. Butcher. 1966. Overripeness and the mammalian ova. I. Overripeness and early embryonic development. *Fertil Steril.* 17(6):804-814.
- Gilbert, R. O., S. T. Shin, C. L. Guard, H. N. Erb, and M. Frajblat. 2005. Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology.* 64(9):1879-1888.
- Ginther, O. J., J. P. Kastelic, and L. Knopf. 1989. Composition and Characteristics of follicular waves during the bovine estrous cycle. *Anim. Reprod. Sci.* 20:187-200.
- Greenwald, G. S., and S. K. Roy. 1994. Follicular development and its control. Pages 629-724 in *The Physiology of Reproduction*. Vol. 1. 2nd. ed. E. Knobil, and J. D. Neill, eds. Raven Press, New York.
- Heersche, G., Jr., and R. L. Nebel. 1994. Measuring efficiency and accuracy of detection of estrus. *J Dairy Sci.* 77(9):2754-2761.
- Herman, H. A. 1956. Age-fertility relationships in cattle serviced by artificial insemination. 3rd Int. Congr. Anim. Reprod. AI.:56.
- Jordan, E. R., and R. H. Fourdraine. 1993. Characterization of the management practices of the top milk producing herds in the country. *J Dairy Sci.* 76(10):3247-3256.
- King, R. S., S. H. Anderson, and G. J. Killian. 1994. Effect of bovine oviductal estrus-associated protein on the ability of sperm to capacitate and fertilize oocytes. *J Androl.* 15(5):468-478.
- Kojima, N., T. T. Stumpf, A. S. Cupp, L. A. Werth, M. S. Roberson, M. W. Wolfe, R. J. Kittok, and J. E. Kinder. 1992. Exogenous progesterone and progestins as used in estrous synchrony regimens do not mimic the corpus luteum in regulation of luteinizing hormone and 17 beta-estradiol in circulation of cows. *Biol Reprod.* 47(6):1009-1017.
- Lane, E. A., E. J. Austin, J. F. Roche, and M. A. Crowe. 2001. The effect of estradiol benzoate on synchrony of estrus and fertility in cattle after removal of a progesterone-releasing intravaginal device. *Theriogenology.* 55(9):1807-1818.
- LeBlanc, S. J., T. F. Duffield, K. E. Leslie, K. G. Bateman, G. P. Keefe, J. S. Walton, and W. H. Johnson. 2002. Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows. *J Dairy Sci.* 85(9):2223-2236.
- LeBlanc, S. J., and K. E. Leslie. 2003. Short communication: presynchronization using a single injection of PGF_{2α} before synchronized ovulation and first timed artificial insemination in dairy cows. *J Dairy Sci.* 86(10):3215-3217.
- Lopez-Gatius, F. 2003. Is fertility declining in dairy cattle? A retrospective study in northeastern Spain. *Theriogenology.* 60(1):89-99.
- Lucy, M. C. 2000. Regulation of ovarian follicular growth by somatotropin and insulin-like growth factors in cattle. *J Dairy Sci.* 83(7):1635-1647.
- Macfarlane, M., and J. R. Pursley. 2003. Effects of timing of artificial insemination and site of semen deposition on fertility in lactating dairy cows and gender ratio of resulting offspring. Master in Science, Michigan State University, East Lansing, MI.

- Mihm, M., A. Baguisi, M. P. Boland, and J. F. Roche. 1994. Association between the duration of dominance of the ovulatory follicle and pregnancy rate in beef heifers. *J. Reprod. Fertil.* 102(1):123-130.
- Mihm, M., N. Curran, P. Hyttel, P. G. Knight, M. P. Boland, and J. F. Roche. 1999. Effect of dominant follicle persistence on follicular fluid oestradiol and inhibin and on oocyte maturation in heifers. *J. Reprod. Fertil.* 116(2):293-304.
- Moreira, F., R. L. de la Sota, T. Diaz, and W. W. Thatcher. 2000. Effect of day of the estrous cycle at the initiation of a timed artificial insemination protocol on reproductive responses in dairy heifers. *J. Anim. Sci.* 78(6):1568-1576.
- Moreira, F., C. Orlandi, C. A. Risco, R. Mattos, F. Lopes, and W. W. Thatcher. 2001. Effects of presynchronization and bovine somatotropin on pregnancy rates to a timed artificial insemination protocol in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 84(7):1646-1659.
- Murdoch, W. J., and E. A. Van Kirk. 1998. Luteal dysfunction in ewes induced to ovulate early in the follicular phase. *Endocrinology.* 139(8):3480-3484.
- Mussard, M. L., C. R. Burke, C. L. Gasser, E. J. Behlke, K. A. Colliflower, D. E. Grum, and M. L. Day. 2003. Ovulatory response, luteal function and fertility in cattle induced to ovulate dominant follicles of early or late maturity. *Biol Reprod.* 68 (Suppl. 1):332-333.
- Navanukraw, C., D. A. Redmer, L. P. Reynolds, J. D. Kirsch, A. T. Grazul-Bilska, and P. M. Fricke. 2004. A modified presynchronization protocol improves fertility to timed artificial insemination in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87(5):1551-1557.
- Nebel, R. L., and M. L. McGilliard. 1993. Interactions of high milk yield and reproductive performance in dairy cows. *J Dairy Sci.* 76(10):3257-3268.
- Nebel, R. L., W. L. Walker, M. L. McGilliard, C. H. Allen, and G. S. Heckman. 1994. Timing of artificial insemination of dairy cows: fixed time once daily versus morning and afternoon. *J Dairy Sci.* 77(10):3185-3191.
- Perry, G. A., M. F. Smith, M. C. Lucy, J. A. Green, T. E. Parks, M. D. MacNeil, A. J. Roberts, and T. W. Geary. 2005. Relationship between follicle size at insemination and pregnancy success. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 102(14):5268-5273.
- Peters, M. W., and J. R. Pursley. 2002. Fertility of lactating dairy cows treated with Ovsynch after presynchronization injections of PGF2 alpha and GnRH. *J Dairy Sci.* 85(9):2403-2406.
- Peters, M. W., and J. R. Pursley. 2003. Timing of final GnRH of the Ovsynch protocol affects ovulatory follicle size, subsequent luteal function, and fertility in dairy cows. *Theriogenology.* 60(6):1197-1204.
- Pursley, J. R., M. O. Mee, and M. C. Wiltbank. 1995. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2alpha and GnRH. *Theriogenology.* 44:915-923.
- Pursley, J. R., M. C. Wiltbank, J. S. Stevenson, J. S. Ottobre, H. A. Garverick, and L. L. Anderson. 1997. Pregnancy rates per artificial insemination for cows and heifers inseminated at a synchronized ovulation or synchronized estrus. *J. Dairy Sci.* 80(2):295-300.
- Rahe, C. H., R. E. Owens, J. L. Fleeger, H. J. Newton, and P. G. Harms. 1980. Pattern of plasma luteinizing hormone in the cyclic cow: dependence upon the period of the cycle. *Endocrinology.* 107(2):498-503.
- Rensis, F. D., and R. J. Scaramuzzi. 2003. Heat stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow-a review. *Theriogenology.* 60(6):1139-1151.
- Revah, I., and W. R. Butler. 1996. Prolonged dominance of follicles and reduced viability of bovine oocytes. *J. Reprod. Fertil.* 106(1):39-47.

- Roberson, M. S., M. W. Wolfe, T. T. Stumpf, R. J. Kittok, and J. E. Kinder. 1989. Luteinizing hormone secretion and corpus luteum function in cows receiving two levels of progesterone. *Biol Reprod.* 41(6):997-1003.
- Santos, J. E., S. O. Juchem, R. L. Cerri, K. N. Galvao, R. C. Chebel, W. W. Thatcher, C. S. Dei, and C. R. Bilby. 2004. Effect of bST and reproductive management on reproductive performance of Holstein dairy cows. *J Dairy Sci.* 87(4):868-881.
- Sartori, R., P. M. Fricke, J. C. Ferreira, O. J. Ginther, and M. C. Wiltbank. 2001. Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. *Biol. Reprod.* 65(5):1403-1409.
- Sartori, R., J. M. Haughian, R. D. Shaver, G. J. Rosa, and M. C. Wiltbank. 2004. Comparison of ovarian function and circulating steroids in estrous cycles of Holstein heifers and lactating cows. *J. Dairy Sci.* 87(4):905-920.
- Savio, J. D., W. W. Thatcher, G. R. Morris, K. Entwistle, M. Drost, and M. R. Mattiacci. 1993. Effects of induction of low plasma progesterone concentrations with a progesterone-releasing intravaginal device on follicular turnover and fertility in cattle. *J Reprod Fertil.* 98(1):77-84.
- Sheldon, I. M., and H. Dobson. 2004. Postpartum uterine health in cattle. *Anim Reprod Sci.* 82-83:295-306.
- Sirois, J., and J. E. Fortune. 1990. Lengthening the bovine estrous cycle with low levels of exogenous progesterone: a model for studying ovarian follicular dominance. *Endocrinology.* 127(2):916-925.
- Stock, A. E., and J. E. Fortune. 1993. Ovarian follicular dominance in cattle: relationship between prolonged growth of the ovulatory follicle and endocrine parameters. *Endocrinology.* 132(3):1108-1114.
- Thatcher, W. W., and C. J. Wilcox. 1973. Postpartum estrus as an indicator of reproductive status in the dairy cow. *J Dairy Sci.* 56(5):608-610.
- Vasconcelos, J. L., R. Sartori, H. N. Oliveira, J. G. Guenther, and M. C. Wiltbank. 2001. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. *Theriogenology.* 56(2):307-314.
- Vasconcelos, J. L., R. W. Silcox, G. J. Rosa, J. R. Pursley, and M. C. Wiltbank. 1999. Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows. *Theriogenology.* 52(6):1067-1078.
- Washburn, S. P., W. J. Silvia, C. H. Brown, B. T. McDaniel, and A. J. McAllister. 2002. Trends in reproductive performance in Southeastern Holstein and Jersey DHI herds. *J Dairy Sci.* 85(1):244-251.
- Wolfenson, D., G. Inbar, Z. Roth, M. Kaim, A. Bloch, and R. Braw-Tal. 2004. Follicular dynamics and concentrations of steroids and gonadotropins in lactating cows and nulliparous heifers. *Theriogenology.* 62(6):1042-1055.

AS CHANCES NÃO EXISTEM

Richard Pursley

Professor Associado

Michigan State University

Mais uma vez, a ração foi trocada. As vacas estão fazendo uma boa transição pelo período de parição. As vacas estão com picos de produção de leite melhores do que nunca. É outono e o tempo está lindo. Então por que é tão incrivelmente difícil conseguir que as vacas engravidem? Fora as vacas com problemas de saúde, isto é, claudicação grave, transtornos uterinos, mastite, problemas ruminais, etc., as outras vacas não têm nenhuma desculpa. Certo? Infelizmente, é provável que a maioria das vacas saudáveis não irão engravidar na primeira inseminação artificial (IA). A fertilidade das vacas de leite está diminuindo e é o problema número 1 que os produtores de leite têm que enfrentar. Desde 1970, a taxa anual de concepção ao primeiro serviço (probabilidade de uma prenhez com uma IA) diminuiu de cerca de **60 %** para o valor atual ao redor de **37 %** (Spalding et al., 1974; Peters e Pursley, 2002). A razão (ou razões) fisiológica para a diminuição da fertilidade não está bem esclarecida.

O problema número 2 que afeta a produção de gestação é a baixa taxa de detecção de estro, isto é, não dar às vacas probabilidades suficientes para engravidarem. Recentes dados de rebanhos do Michigan do DHIA indicam que em cada período de 21 dias após uma espera voluntária, apenas 35% das vacas tiveram a chance de engravidar. Apenas 6% dos rebanhos tiveram uma taxa média de serviço de mais de 60%. Qual o segredo de seu sucesso? A maioria destes rebanhos está usando um programa de IA em tempo fixo para melhorar a taxa de serviço. Entendem que para melhorar a produção de gestações é imperativo ter um controle sobre a primeira IA e a subsequente. A alternativa é deixar a vaca controlar o momento da primeira IA e, como indicam os dados do DHIA, isto não é muito eficiente. Atualmente, o manejo intenso da IA em tempo fixo é a única maneira de atacar este problema, e manter uma porcentagem razoável das vacas do rebanho prenhes sem recorrer a um grande descarte e o alto custo da compra de animais de reposição.

O que é o manejo intenso da IA em tempo fixo? É assegurar que: 1) todas as vacas recebem uma IA durante a primeira semana após o período de espera voluntário, 2) todas as vacas que receberam uma IA têm a prenhez diagnosticada não mais do que 33 a 39 dias mais tarde, 3) todas as vacas diagnosticadas como não prenhes recebem uma IA subsequente dentro dos 10 dias seguintes, 4) todas as vacas com diagnóstico de prenhez são novamente verificadas um mês mais tarde, para encontrar as vacas que perderam a sua prenhez.

INTENSIFICANDO O MANEJO DOS PRIMEIROS SERVIÇOS

As atuais tecnologias de sincronização da ovulação têm o protocolo Ovsynch como base (Pursley et al., 1995, Pursley et al., 1997a, Pursley et al., 1997b, e Pursley et al., 1998; Figura 1). O protocolo Ovsynch original ainda parece ser o programa de IA em tempo fixo mais eficiente. Ovsynch permite alcançar taxas de concepção comparáveis às da IA depois do estro detectado e Ovsynch aumenta substancialmente o número de vacas prenhes com 60 e 100 dias de lactação (Tabela 1). Ovsynch também permite aos produtores inseminar todas as vacas durante a primeira semana após o período de espera voluntário. Aqui está o funcionamento de Ovsynch: primeiro, uma lista com todas as vacas qualificadas para a cobertura deve ser gerada todas as semanas. Vacas qualificadas para o primeiro serviço são definidas pelo período de espera voluntário. Como Ovsynch é um programa de 9 ou 10 dias, as vacas devem começar Ovsynch durante a última semana do período de espera voluntário. Por exemplo, se o melhor momento para a cobertura das vacas for na quinta-

feira pela manhã, Ovsynch deve ser iniciado em todas as vacas qualificadas com a primeira injeção de GnRH em uma segunda-feira.. A $\text{PGF}_{2\alpha}$ seria administrada na segunda feira seguinte e, subseqüentemente, a segunda administração de GnRH na quarta e IA na quinta de manhã. Este é um exemplo de um programa de 10 dias. O protocolo Ovsynch tem uma flexibilidade. A segunda injeção de GnRH pode ser dada a qualquer momento entre 36 e 48 horas depois da injeção de $\text{PGF}_{2\alpha}$. E a IA pode ser realizada a qualquer momento entre a segunda injeção de GnRH e 24 horas depois (Pursley et al., 1998). As diferenças nas taxas de parição foram mínimas durante este período (Tabela 2). Além disso, dois estudos indicam que a IA ao mesmo tempo que o GnRH pode aumentar os números de novilhas nascidas.

É importante observar que nem todas as vacas tratadas com Ovsynch terão uma ovulação sincronizada. Aproximadamente 10 a 15 % das vacas tratadas não irão sincronizar. A maioria das vacas que não sincronizam estarão em estro no dia antes ou no dia da injeção de $\text{PGF}_{2\alpha}$. Os dispositivos para a detecção de estro podem ajudar na detecção de estro nestas vacas. Se o estro for detectado neste momento, é aconselhável cobrir estas vacas e retirá-las do programa Ovsynch. A fertilidade deve ser normal nestas vacas. Também é aconselhável usar os dispositivos para ajudar na detecção de estro ao redor do período de 21 dias que se segue à IA e cobrir tantas destas vacas quanto for possível. Lembre-se, se apenas 35% das vacas engravidarem (taxa média de concepção) depois de uma IA, deve haver 65 % retornando ao estro aproximadamente 21 dias depois da primeira IA.

DIAGNÓSTICO PRECOCE DE PREENHEZ E RE-SINCRONIZAÇÃO

O diagnóstico precoce da prenhez é crítico em um sistema de manejo intensivo de IA. Quanto mais cedo as vacas puderem ser confirmadas como “vazias”, mais cedo poderão ser tomadas as medidas para uma nova inseminação. Ao invés de considerar o dia de saúde do rebanho como destinado principalmente a verificações de prenhez, vamos pensar neste dia como sendo o de verificações das vacas “vazias”. As vacas identificadas como “vazias” precisam ser re-sincronizadas o mais rápido possível. Na verdade, diversos estudos estão em andamento para testar a eficácia de uma re-sincronização precoce das vacas, iniciando 1 semana antes da verificação das vacas “vazias”. Uma injeção de GnRH é administrada a todas as vacas 1 semana antes da verificação das vacas “vazias”. As vacas diagnosticadas como “vazias” (1 semana depois) receberiam a $\text{PGF}_{2\alpha}$ naquele dia, GnRH 2 dias mais tarde, seguida pela IA. Neste cenário, as vacas “vazias” poderiam ser re-inseminadas 2 dias depois de diagnosticadas como “vazias”. É importante observar que a manipulação cuidadosa dos hormônios é essencial. Pode-se administrar GnRH (Cystorelin, Factrel, Fertagyl e OvaCyst) a vacas prenhes, mas $\text{PGF}_{2\alpha}$ (Lutalyse, Estrumate e Prostatae) **não pode!** Estes produtos de $\text{PGF}_{2\alpha}$ abortarão uma prenhez em fase inicial.

Para levar as coisas um pouco mais adiante, alguns veterinários estão usando ultrassom para determinar o status gestacional entre 24 e 28 dias após IA. O uso da tecnologia de ultrassom está se tornando cada dia vez mais fácil. Encontra-se hoje no mercado máquinas portáteis, leves, a bateria, e com boa resolução. Contudo, não são baratos. Ainda que os veterinários usando ultrassom certamente cobrarão honorários mais altos, é certamente algo a se considerar para o futuro.

REVERIFICAÇÃO DE VACAS PRENHES

É muito importante fazer uma reverificação de todas as vacas diagnosticadas como prenhes no momento da verificação das “vazias”. O nosso primeiro estudo deste tipo (Pursley et al., 1998) indicou que ocorria uma perda significativa de prenhez depois do diagnóstico inicial com 28 dias após a IA (Tabela 2). Em um estudo subseqüente, as perdas percentuais de prenhez foram similares às do primeiro estudo e a maior perda

porcentual ocorria entre 28 e 56 dias após a IA. Por isso, para identificar estas vacas “vazias” assume uma importância crítica a nova determinação do status gestacional aproximadamente um mês após a primeira verificação.

Resumindo, o manejo intensivo da IA em tempo fixo permite o controle ao longo do tempo da primeira inseminação e das inseminações subsequentes. As taxas de concepção usando Ovsynch são similares às da cobertura feita após o estro detectado visualmente. Contudo, as taxas de prenhez (detecção de estro taxa x taxa de concepção) de Ovsynch são quase duas vezes maiores do que a cobertura com a detecção de estro/manhã-tarde por causa das baixas taxas de detecção de estro em vacas leiteiras em lactação.

O manejo intensivo de IA em tempo fixo requer programas agressivos de diagnóstico da gestação para identificar as gestações precoces e as subsequentes perdas embrionárias. Quando seguidos, estes programas aumentam os números de gestações por mês, reduzindo desta forma os descartes reprodutivos e a dependência de compras de animais de reposição.

Tabela 1. Número medio de dias para 1ª e 2ª IA, taxas de concepção (TC) à 1ª e 2ª IA, porcentagem de prenhez com 60 e 100 dias pós-parto (PP), e número medio de dias até a concepção em vacas leiteiras em lactação inseminadas depois de um estro detectado (controle) x IATF (Ovsynch).

Tratamento	1º IA (n=298)		2º IA (n= 163)		% Prenhez		Mediana de dias até a concepção
	d PP	TC (%)	d PP	TC (%)	60 d PP	100 d PP	
Controle	83	39	128	45	5	35	118
Ovsynch	54	37	96	42	37	53	99

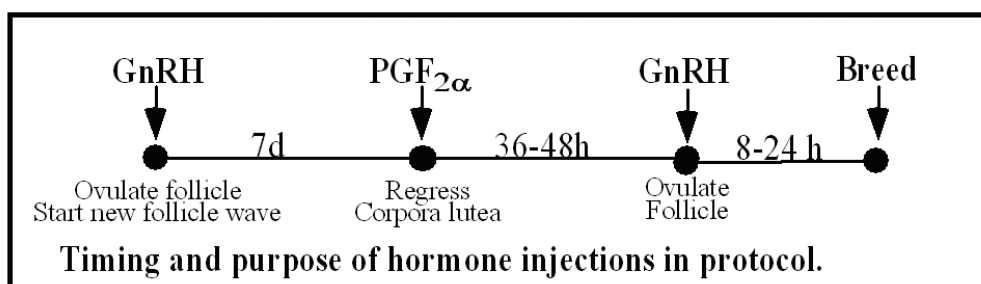


Figura 1. O protocolo Ovsynch: Momento e objetivo das injeções de hormônio para sincronizar a ovulação em vacas leiteiras em lactação.

Tabela 2. Medidas de fertilidade em vacas holandesas em lactação inseminadas em momentos específicos em relação à ovulação sincronizada (Ovsynch) e prenhez diagnosticada 28 dias após IA (n=732).

	Grupos de tratamento (horas desde 2ª GnRH)				
	0	8	16	24	32
Taxa de concepção (%)	37	41	45	41	32 ^a
Perda de prenhez (%) ^b	14	21	21	21	32 ^c
Taxa de parição (%)	32	34	36	32	23 ^a

a – Diferente ($P < 0,05$) quando comparado com outros grupos na mesma linha.

b – Porcentagem de gestações perdidas entre 28 d após IA e a parição.

c – Diferente ($P < 0,10$) quando comparado com outros grupos na mesma linha.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Spalding, RW., RW Everett, and RH Foote. 1974. Fertility in New York artificially inseminated Holstein herds in dairy herd improvement. *J. Dairy Sci.* 58:718.
- Peters, MW and JR Pursley. 2002. Fertility of Lactating Dairy Cows Treated with Ovsynch after Presynchronization Injections of PGF_{2α} and GnRH. *J. Dairy Sci.* 85: 2403-2406.
- Pursley JR, Kosorok MR, and Wiltbank MC. 1997a. Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation. *J. Dairy Sci.* 80:301-306.
- Pursley JR, Silcox RW, and Wiltbank MC. 1998. The effect of time of AI on pregnancy rates, calving rates, and pregnancy loss after synchronization of ovulation in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 81:2139-2144.
- Pursley, J. R., M. O. Mee, and M. C. Wiltbank. 1995. Synchronization of ovulation in dairy cattle using GnRH and PGF_{2α}. *Theriogenology* 44:915-923.
- Pursley JR, Wiltbank MC, Stevenson JS, Ottobre JS, Garverick HA, and Anderson LL. 1997b. Pregnancy rates of cows and heifers inseminated at a synchronized ovulation or synchronized estrus. *J. Dairy Sci.* 80:295-300.

SETE MANEIRAS INFALÍVEIS DE MELHORAR A FERTILIDADE DE VACAS LEITEIRAS

Dr. Richard Pursley, Departamento de Zootecnia

A baixa fertilidade de vacas leiteiras em lactação representa um importante desafio para a maioria dos produtores de leite. Na maioria dos rebanhos, as taxas de concepção das vacas são, quando muito, a metade da taxa das novilhas. Não está claro quais são os principais culpados por este problema. O que está claro, entretanto, é que quaisquer que sejam os fatores responsáveis por esta diminuição no desempenho é provável que tenham efeito sobre um dos três parâmetros: o espermatozóide, o óvulo e o ambiente no útero/oviduto. Este artigo apresenta sete maneiras infalíveis de melhorar a fertilidade de vacas leiteiras

- 1) As palhetas devem ser descongeladas adequadamente! É imperativo que o sêmen seja descongelado de acordo com as recomendações da central de IA que processou o sêmen. A maioria das centrais de IA recomenda o descongelamento de palhetas de 0,5 ml durante aproximadamente 45 segundos em banho-maria entre 35 e 36,5°C. A porcentagem de espermatozoides móveis em uma palheta diminui lentamente com o tempo passado no banho-maria e desde o carregamento até a deposição na vaca. Não descongele mais palhetas de sêmen que você possa utilizar nas vacas em um período de 15 minutos (do momento em que a palheta é colocada na bacia de IA até a deposição no útero). Se descongelar múltiplas unidades de sêmen, procure assegurar que as palhetas permanecem separadas durante o descongelamento. Procure manter as palhetas em “termo neutralidade” desde a sua remoção do descongelador até a colocação na vaca. O choque térmico pode reduzir dramaticamente a porcentagem de espermatozoides móveis depositados no útero.
- 2) Ela está pronta ou não para a cobertura? As vacas que não estão no cio (se estiver usando detecção de cio diariamente) ou que não foram sincronizadas (se estiver usando Ovsynch) não têm nenhuma probabilidade de engravidar. Para melhorar a detecção de estro, use técnicas auxiliares como tinta ou giz na cauda, ou dispositivos que mudam de cor com a monta (1). O seu uso junto com uma observação cuidadosa aumentam as probabilidades de uma gestação.

Para maximizar as taxas de sincronização com Ovsynch (2), as injeções tanto de $\text{PGF}_{2\alpha}$ como de GnRH devem ser intramusculares profundas. Em quase todos os estudos com Ovsynch, a nossa experiência indica que injetar no músculo semitendinoso (atrás dos membros posteriores, abaixo do ísquio) com uma agulha de 3,8 cm, calibre 20, minimiza os erros da injeção. Quando aplicar injeções, assegure que as vacas estão sob contenção. Não seria necessário dizer que você deve assegurar que as injeções estão sendo dadas no momento adequado. Injetar GnRH, sete dias depois injetar $\text{PGF}_{2\alpha}$, 36 a 48 horas depois administrar a injeção final de GnRH. Não prolongar para 72 horas o intervalo entre $\text{PGF}_{2\alpha}$ e GnRH. Em certas situações, este tempo maior pode resultar em uma diminuição da fertilidade.

- 3) inseminar as vacas no momento ótimo antes da ovulação. A inseminação de vacas aproximadamente 12 horas antes da ovulação resulta nas maiores taxas de concepção. As vacas ovulam aproximadamente 28 horas depois do início da aceitação de monta ou após o GnRH final de Ovsynch. Isto significa que as vacas com estro detectado por observação visual ainda devem ser inseminadas pela regra manhã/tarde. Em vacas sincronizadas com Ovsynch (GnRH, 7 dias mais tarde $\text{PGF}_{2\alpha}$, e então GnRH 48 h mais tarde), inseminar 16 horas depois do GnRH final para obter a fertilidade máxima.

- 4) Técnica IA. O local de deposição dos espermatozóides tem um efeito sobre a fertilidade de vacas leiteiras em lactação. O sêmen deve ser depositado próximo do corpo do útero ou dividido entre os cornos uterinos. Dados do laboratório do Dr. Ray Nebel de Virginia Tech (3) indicam que a deposição do sêmen no colo reduz a fertilidade em aproximadamente 20 %. Obtivemos dados em diversas granjas em Michigan, indicando que a IA profunda no corno uterino aumenta a fertilidade. Em um estudo em colaboração com o Dr. Michael Diskin na Irlanda, a IA profunda no corno uterino aumentou a fertilidade de vacas leiteiras holandesas em lactação. É interessante que houve um efeito do inseminador. Alguns inseminadores profissionais consistentemente aumentam a fertilidade, alguns não têm nenhum efeito e um chegou a diminuir a fertilidade com a IA profunda no corno uterino. Este estudo teve um número suficiente de vacas para poder interpretar o impacto de cada inseminador sobre a fertilidade. Inicialmente pensamos que a deposição do espermatozóide na parte mais anterior do corno uterino traria os melhores resultados. Para conseguir isto, entretanto é preciso que os cornos sejam submetidos a uma manipulação intensa. Nós agora advertimos contra esta manipulação. Ao invés disto, depositamos o sêmen o mais profundamente possível com um mínimo de manipulação. Simplesmente levantar o trato para endireitar os cornos pode ser o suficiente para alcançar a grande curvatura dos dois cornos (dividindo o sêmen entre os cornos).
- 5) Se possível, incorpore touros de alta fertilidade ao seu programa reprodutivo. É importante observar que a seleção de touros de alta fertilidade deve ser secundária à de seleção de touros com base no Mérito Líquido US\$ (ver o artigo da Dra. Kathy Lee no de Julho de 2004). Para ter um impacto sobre a fertilidade, recomendamos usar touros com valor +2 ou maior de taxa de concepção relativa estimada (ERCR) com repetibilidade > 90%. É fácil encontrar os valores ERCR dos touros em <http://www.drms.org/sire.htm>.
- 6) Reduzir o stress calórico do verão, que claramente reduz as taxas de concepção mesmo nos estados mais ao norte dos Estados Unidos. Os ventiladores são absolutamente necessários no sistema free-stall. Sistemas de sprinkler podem ser uma alternativa em casos de clima extremamente quente. Os umidificadores não são recomendados para climas como o de Michigan, onde a umidade pode ser um problema.
- 7) Usar CIDRS em vacas que não estão ciclando no grupo com inseminação em tempo fixo com Ovsynch. Os CIDRs são dispositivos de liberação de progesterona que são inseridos na vagina das vacas para ajudar a induzir as vacas que não estão ciclando a ciclarem. Os CIDRs parecem melhorar a fertilidade em vacas que não estão ciclando e que são inseminadas em tempo fixo usando Ovsynch. Uma das principais razões para a baixa fertilidade do rebanho quando se usa Ovsynch é que há numerosas vacas que não estão ciclando no grupo reprodutivo. As vacas que não estão ciclando têm taxas de concepção mais baixas com Ovsynch quando comparadas com as vacas cíclicas. Para identificar as vacas que não estão ciclando, recomendamos que o veterinário do rebanho examine rotineiramente os grupos Ovsynch nas 2 semanas que precedem o início do Ovsynch. Se as vacas não forem diagnosticadas como tendo a presença de um corpo lúteo (CL) funcional ou regredido, devem receber um CIDR no momento do primeiro GnRH do Ovsynch. O CIDR deve ser retirado 7 dias depois, quando for dada a injeção PGF_{2α}. Pode-se esperar uma melhora de 10 a 15% nas taxas de concepção com o uso de CIDR em vacas que não estão ciclando e entram no programa Ovsynch.

O meu laboratório está trabalhando atualmente com duas questões hipotéticas diferentes, para melhor entender o problema de fertilidade das vacas leiteiras. Primeiro, as vacas leiteiras retêm números suficientes de espermatozóides depois da inseminação artificial (IA), de forma a permitir a fertilidade normal? Muitas vacas têm dificuldade de ter uma involução uterina normal após a parição. Um ambiente sadio no útero e no oviduto maximiza o transporte de espermatozóides, otimizando desta forma a probabilidade de que o óvulo ovulado seja fertilizado. A baixa saúde uterina provavelmente seria com um “bloqueio na estrada”, minimizando o número de espermatozóides que chegam até à junção útero-tubária antes do momento

da ovulação, o que poderia minimizar o sucesso da fertilização. Segundo, a fertilidade do óvulo está comprometida em vacas leiteiras em lactação se comparadas com as novilhas? O óvulo fica alojado em um folículo até o momento da ovulação. Sabemos agora que há diferenças entre o crescimento folicular e o ambiente hormonal a que o óvulo está sujeito em vacas e em novilhas, e poderiam ser um fator limitante para a fertilidade da vaca leiteira (4).

Estas questões e muitas outras apresentadas por diversos pesquisadores irão, um dia, resultar em maneiras de se melhorar as taxas de concepção em vacas leiteiras em lactação. Ainda que a comunidade científica não tenha encontrado a bala mágica para curar os problemas de fertilidade das vacas leiteiras, há ainda numerosas estratégias comprovadas que podem ajudar a manter a fertilidade máxima das vacas leiteiras.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Foote, R.H., Estrus detection and estrus detection aids. J Dairy Sci, 1975. **58**(2): p. 248-56.

Pursley, J.R., M.O. Mee, and M.C. Wiltbank, Synchronization Of Ovulation In Dairy Cows Using PGF_{2α} and GnRH. Theriogenology, 1995. **44**: p. 915-923.

Williams, B.L., et al., Impact of site of inseminate deposition and environmental factors that influence reproduction of dairy cattle. J Dairy Sci, 1988. **71**: p. 2278.

Sartori, R., et al., Fertilization and early embryonic development in heifers and lactating cows in summer and lactating and dry cows in winter. J Dairy Sci, 2002. **85**(11): p. 2803-2812.

A ARTE DE GRATIFICAR A VACA

Richard Pursley

Departamento de Zootecnia

Você deu uma gratificação a alguma vaca recentemente? Dar uma gratificação tornou-se uma moda e tanto... isso mesmo, eu disse dar uma gratificação! Se você digitar “cow tipping” no Google.com (um mecanismo de busca da Internet), você vai encontrar pelo menos 8 mil sites que lidam diretamente com “cow tipping”. Infelizmente, pesquisei todos eles e nenhum se referia diretamente a dar uma gratificação a vacas como um meio de recompensá-las por um trabalho bem feito. Tenho certeza que você já deu uma gratificação a um garçom por ter feito bem o seu trabalho. Certo? E você está recompensando suas vacas por um trabalho bem feito? Bem, na verdade, fica claro que as vacas que melhores gratificações recebem são provavelmente aquelas que estão em rebanhos com melhor manejo.

Estes rebanhos produzem mais leite e mais leite significa mais lucros, de acordo com os dados Telfarm 2001 de Michigan. A receita líquida da granja por vaca aumentou de forma linear de US\$ 524 para US\$ 879 com o aumento da produção de 8.600 quilos para 13.150 quilos de leite vendido/vaca/ano. Estamos forçando os limites do potencial genético mais do que nunca. A somatotropina bovina (bST), ordenhas três ou quatro vezes por dia, aumento no mérito genético e novas tecnologias vão continuar forçando os limites de produção das vacas leiteiras. A questão é: Você está cuidando com amor e carinho das suas vacas como elas precisam para alcançar todo o seu potencial? Você está dando uma gratificação para suas vacas?

Há numerosos rebanhos que estão alcançando a marca de 13.500 quilos e até mais. Estas granjas estão alcançando estes marcos pela genética ou por um manejo mais intenso? É interessante que a diferença na produção de leite devido à genética em um rebanho com 6.810 kg e um com 13.500 kg é de apenas 454 kg. A diferença restante é devida principalmente ao manejo. Em outras palavras, há um grande potencial a ser alcançado na produção de leite pela intensificação do manejo de nossos rebanhos. Isto quer dizer que a genética não é importante? Claro que não! Uma produção adicional de 454 kg por ano significa US\$120 por vaca e é um aumento permanente na produção. Em muitos rebanhos, este é um valor significativo na margem de lucros.

A PRODUÇÃO DE LEITE E A REPRODUÇÃO CAMINHAM LADO A LADO

Diversos estudos durante as duas últimas décadas indicam que quanto maior a produção de leite de um rebanho, maior é a dificuldade em fazer com que as vacas emprenhem. Mas isto significa que as vacas de produção mais alta são que têm mais dificuldade de emprenhar? Não necessariamente! Dados recentes de nosso laboratório indicam diferente (Peters e Pursley, 2000). Em um estudo desenhado para testar uma versão modificada de Ovsynch em relação a Ovsynch, encontramos algumas informações interessantes sobre a relação entre a produção de leite e a fertilidade. As taxas de concepção foram similares para a versão modificada de Ovsynch vs Ovsynch tradicional. Para analisar a relação entre a produção de leite e a reprodução, dividimos todo o grupo com base na produção média diária de leite por vaca de acordo com os dados coletados no dia de avaliação mais recente. A inseminação artificial (IA) foi realizada 2 semanas depois do dia de avaliação. Todos os dados eram da primeira inseminação, entre os dias 65 e 71 da lactação. Resultado final: vacas com produção de leite acima da média tinham taxas de concepção maiores do que as vacas com produção abaixo da média (Tabela 1). Por que? Provavelmente porque eram mais saudáveis e provavelmente porque mais vacas do grupo abaixo da média tinham um problema ligado à saúde na parição ou no início da lactação.

Tabela 1. Relação entre produção de leite e taxas de concepção em vacas leiteiras em lactação.

Paridade	Alta	Baixa	Total
Primeira (%)	59,7* (n = 67)	37,3 (n = 75)	48,2 (n = 142)
Segunda (%)	35,6 (n = 55)	43,4 (n = 53)	38,9 (n = 108)
Terceira + (%)	42,4* (n = 92)	24,7 (n = 85)	33,9 (n = 177)
Total	45,8* (n = 214)	33,8 (n = 213)	39,9 (n = 427)

^aDados agrupados por pico de produção diária de leite acima da paridade média (Alta) ou abaixo da paridade média (Baixa). Primeira paridade: < 34 kg/dia = Baixa e ≥ 34 kg/dia = Alta. Segunda paridade: < 49,5 kg/dia = Baixa e ≥ 49,5 kg/dia = Alta. Terceira + paridade: < 49,94 kg/dia = Baixa e ≥ 49,94 kg/dia = Alta.

Há duas maneiras pelas quais a reprodução pode afetar a produção de leite: 1) Transtornos reprodutivos podem diminuir o pico de produção de leite, 2) Ineficiências reprodutivas como a baixa detecção de estro e taxas de concepção, lactação prolongada, período seco e intervalo entre partos.

Os transtornos reprodutivos que podem reduzir o pico de produção de leite (1) incluem: partos gemelares, natimortos, distocia (partos difíceis), retenção de placenta, metrite e piometra (infecção uterina). Mesmo as vacas com cetose e torção do abomaso têm maior probabilidade de ter uma infecção uterina (1).

Entre estes transtornos, os partos gemelares podem ter o efeito mais profundo sobre a produção de leite e o desempenho reprodutivo subsequentes. As vacas que têm gêmeos têm maior probabilidade de ter retenção de placenta, metrite, piometra, redução do pico de leite e um maior potencial para problemas reprodutivos (1,2). Mesmo as vacas com cetose e torção do abomaso têm maior probabilidade de ter uma infecção uterina (1).

Diversos rebanhos leiteiros tiveram um aumento substancial no número de partos gemelares nos últimos anos. Dados de Wisconsin sugerem que está ligado a um aumento na produção de leite através de um maior número de ovulações duplas. A maioria dos problemas associados a gêmeos podem ser atenuados pela intensificação do manejo de vacas com prenhez gemelar. Assim o preparo destas vacas para a lactação subsequente assume grande importância. Obviamente, é muito importante saber que as vacas estão prenhes de gêmeos. Se o seu veterinário já não estiver procurando gêmeos no diagnóstico de prenhez, isto é algo que você poderá solicitar. Muitos veterinários estão usando ultrassom com transdutor de 5 MHz para diagnóstico de prenhez para obter maior precisão de diagnóstico, porque o ultrassom permite diagnóstico mais precoce de gêmeos do que a palpação. Não dispomos atualmente de maneiras de diminuir os números de ovulações duplas, mas há algumas coisas que podem ser feitas para permitir um melhor início para estas vacas. Uma vez identificadas as vacas com prenhez gemelar, esta informação pode ser usada para assegurar que haja tempo suficiente no grupo de vacas pré-parição (lembre-se, vacas com prenhez gemelar geralmente parem mais cedo), para garantir que as vacas tenham o escore de condição corporal ideal à parição (estas vacas geralmente estão magras à parição), e para assegurar que haja um cuidado especial para a vaca no momento da parição. Avaliar dieta e administração de BST ao final da lactação são importantes não apenas em vacas com prenhez gemelar, mas também para outras vacas que podem estar muito gordas ou muito magras nesta época. Transtornos que resultam das dificuldades na parição, como metrite e piometra, podem algumas vezes ser inevitáveis. Mas na maioria dos casos podem ser evitados pela limpeza e higienização adequadas das baias de parição.

Resumindo, gaste um pouco do dinheiro ganho a duras penas sob forma de uma gratificação para as suas vacas. Dê a elas o tratamento que merecem e elas retribuirão cuidando de você. A produção de leite e a reprodução caminham lado a lado. Cuide das estratégias de manejo que melhoram a reprodução e, por sua vez, a produção de leite, a saúde e a felicidade das vacas serão maximizadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Grohn, Y. T., S. W. Eicker, V. Ducrocq, and A. J. Hertl. 1998. Effect of diseases on culling of Holstein dairy cows in New York State. *J. of Dairy Science*, 81:966.
- Lewis, G. S. 1997. Uterine health and disorders. *J. of Dairy Science*, 80:984.
- Peters, MW and JR Pursley. 2001. Fertility of lactating dairy cows inseminated during mid-luteal phase of the estrous cycle. *J. Dairy Sci.* (accepted).

ESTRATÉGIAS PARA REDUÇÃO DO PERÍODO SECO

Ric R. Grummer, Robin R. Rastani e Rick Watters

Department of Dairy Science, University of Wisconsin-Madison

INTRODUÇÃO

A redução do período seco para menos de 60 dias já vem sendo promovida nos últimos anos. Uma das principais razões foi a realização de alguns estudos recentes indicando que as perdas no rendimento leiteiro ou no leite corrigido para gordura na lactação seguinte podem ser menores se o período seco for reduzido de aproximadamente 60 para 30 dias. Entretanto, a decisão de se implantar um período seco curto pode ser mais complexa do que simplesmente examinar os lucros adicionais obtidos com o leite ao se prolongar a lactação X a perda potencial na renda obtida do leite na lactação seguinte. A redução do período seco pode incluir alterações no agrupamento de estratégias e instalações, a modificação de dietas e seus ingredientes, mudanças na incidência de distúrbios e doenças metabólicas e efeitos na eficiência reprodutiva. Todos esses fatores têm relevância econômica e também devem influenciar a decisão de reduzir ou não o período seco. Infelizmente, pouco se sabe sobre as consequências do período seco além de seus efeitos no rendimento leiteiro. A discussão abaixo tem como objetivo examinar algumas questões importantes que devem ser consideradas ao se optar pela redução do período seco.

DURAÇÃO DO PERÍODO SECO

Conforme mencionado acima, a maioria dos dados disponíveis para se determinar a duração do período seco baseia-se nos dados da produção de leite. A maioria dos estudos é antiga e consiste em uma análise retrospectiva de registros (por exemplo, DHI), nos quais observou-se o rendimento leiteiro em função do número de dias secos. Tais estudos não incluem vacas cujo manejo foi intencionalmente direcionado ao período seco curto e, portanto, muitas das observações para períodos secos reduzidos representam vacas com gestação gemelar, com datas de parição inadequadamente previstas, ou vacas que abortaram ou que apresentaram gestações anormalmente curtas. Em minha última visita ao Brasil, sugeri que tais fatos poderiam causar vieses nas conclusões referentes a períodos secos curtos. Agora já temos vários estudos planejados e desenvolvidos especificamente para comparar períodos de 30 x 60 dias. Os resultados desses estudos foram comparados aos da análise retrospectiva dos dados das granjas (Tabela 1).

Na realidade, os resultados são bem semelhantes, indicando uma queda de aproximadamente 6% na produção leiteira da lactação seguinte quando o período seco é reduzido de 60 para 30 dias.

Tabela 1. Comparação das medições da produção de leite e da produção de leite como porcentagem do controle (60 a 70 d) para vacas com período seco reduzido (30 d) e para dados de análises retrospectivas de granjas comerciais e experimentos planejados.

Citação	Produção de leite, % do Controle
Análises Retrospectivas	
Mazuka e McDaniel, 1996; Vacas do Zimbábue	95,4%
Mazuka e McDaniel, 1996; Vacas da Carolina do Norte	93,1%
Dias e Allaire, 1982 ¹	97,6%
Schaeffer e Henderson, 1971 ¹	95,6%
Wilton et al., 1967 ¹²	95,5%
Klein e Woodward, 1943 ¹	92,2%
Sanders, 1928 ¹²	91,3%
MÉDIA	94,4%
Experimentos Planejados	
Rastani et al., 2005	89,3%
Annen et al., 2004 ²	92,3%
Gulay et al., 2003	94,9%
Bachman, 2002	98,1%
Sorensen e Enevoldsen, 1991	87,6%
Lotan e Adler, 1976	93,4%
Coppock et al., 1974	99,9%
MÉDIA	93,6%

¹ Valores extrapolados das curvas de regressão de rendimento leiteiro x dias secos.

² Valores médios para produção de leite de vacas na segunda lactação e vacas com três ou mais lactações.

Considerando a semelhança dos tratamentos entre os estudos (aproximadamente 60 x 30 dias secos), uma importante questão permanece sem resposta: Qual a duração ideal do período seco? É possível reduzir mais que 30 dias? Se o período seco for reduzido para 35 ou 40 dias, a perda não será de 6% no rendimento leiteiro da próxima lactação? No início dos anos setenta, pesquisadores de Cornell realizaram o único estudo determinando a titulação dos dias secos. Vacas de 65 granjas leiteiras comerciais (tamanho médio de 65 vacas) foram designadas a períodos de 20, 30, 40, 50 ou 60 dias secos durante 42 meses. A secagem das vacas ocorreu independentemente do tratamento quando a produção de leite era inferior a 9 kg/d. Consequentemente, poucas vacas designadas ao período seco estavam realmente qualificadas para o tratamento. Nas vacas que corresponderam aos dias secos designados houve uma perda líquida no rendimento leiteiro (considerando-se o leite adicional da lactação anterior) de aproximadamente 5% quando o período seco foi reduzido para menos de 40 dias (Figura 1). Estes dados indicam os possíveis benefícios de um período seco de 40 dias. A maioria dos produtores de leite dos EUA que adotou um período seco curto tinha como meta um período seco de 40 a 45 dias, que lhes daria uma margem de segurança para vacas que parissem antes do período esperado.

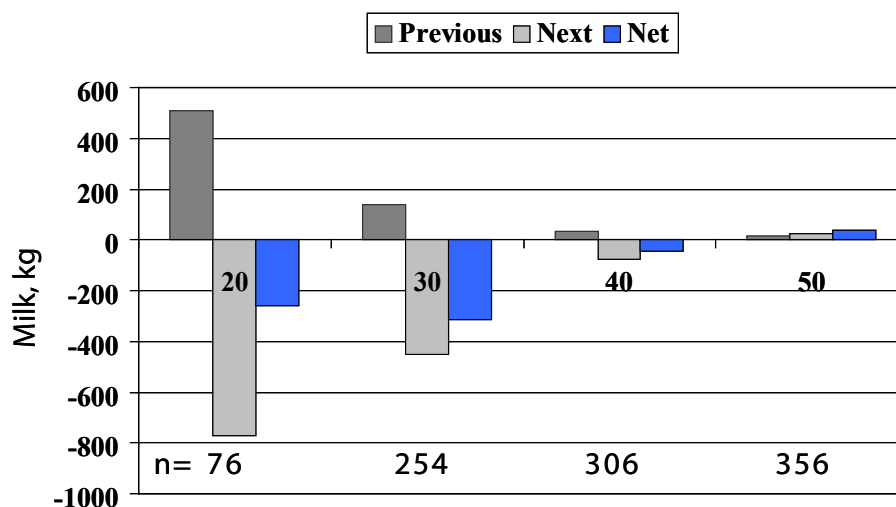


Figura 1. Efeitos de períodos secos com duração planejada (20, 30, 40 ou 50 dias) no rendimento leiteiro de vacas de granjas leiteiras comerciais (Coppock et al., 1974).

ESTRATÉGIAS DE AGRUPAMENTO

A redução do período seco de 30 a 45 dias elimina a necessidade de duas dietas durante o período seco e, portanto, de um grupo de vacas secas distante da parição e outro de transição pré-parição (ver discussão abaixo). Isto possibilita ter apenas um grupo de vacas secas. A implantação bem sucedida de um grupo de vacas secas é bem mais adequada se todas as vacas responderem de forma semelhante (e favorável) a períodos secos reduzidos. Infelizmente, sabemos muito pouco sobre as interações potenciais entre as vacas e a duração do período seco. No caso de determinados grupos de vacas com maior probabilidade de serem negativamente afetadas por períodos secos mais curtos, deve-se considerar o agrupamento separado e, portanto, a possível criação de três grupos de vacas secas (grupo seco de curta duração, grupo seco de longa duração /distantes do pré-parto e grupo seco de longa duração /transição). (A exceção à regra será discutida abaixo.)

As pesquisas não são consistentes quanto à interação parição e duração do período seco. No entanto, uma vez agrupados, os dados (Tabela 2) revelam que períodos secos curtos (30 dias) podem ser mais prejudiciais às vacas que se aproximam da segunda lactação do que àquelas com três lactações ou mais.

Tabela 2. Comparação de medições da produção de leite e da produção de leite como porcentagem do controle (60 d) para vacas na segunda lactação e vacas com três lactações ou mais, com redução do período seco (30 d).

Citação	Produção de Leite, % do Controle
Vacas na segunda lactação	
Rastani et al., 2005	86,2%
Annen et al., 2004	86,8%
Wilton et al., 1967 ¹	93,6%
Sanders, 1928 ¹	89,6%
AVERAGE	89,1%
Vacas com três ou mais lactações	
Rastani et al., 2005	92,3%
Annen et al., 2004	97,7%
Wilton et al., 1967 ¹	97,3%
Sanders, 1928 ¹	93,0%
MÉDIA	95,1%

¹Valores extrapolados de curvas de regressão do rendimento leiteiro x dias secos.

Como a queda da produção leiteira é aproximadamente duas vezes maior nas vacas mais jovens, talvez a exposição a um período seco reduzido não seja aconselhável neste caso. Uma análise retrospectiva dos dados das granjas que incluíram altos números de vacas também corrobora este conceito (Figura 2, Dias e Allaire, 1982).

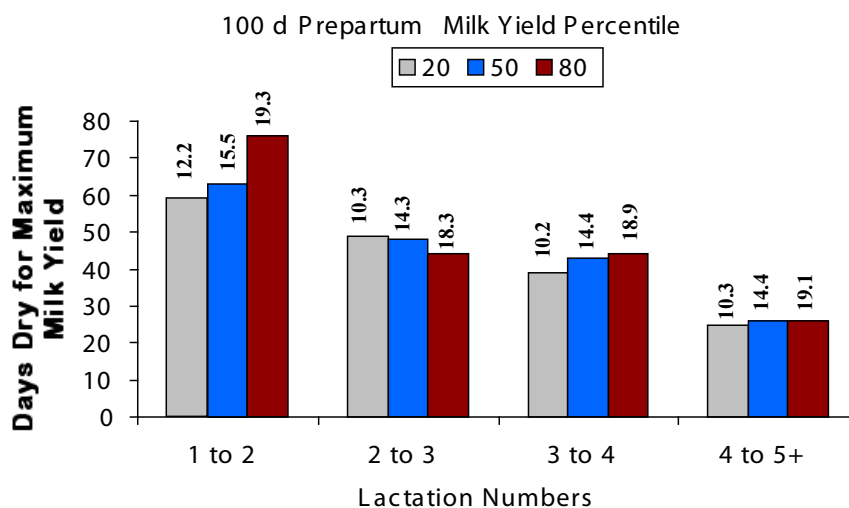


Figura 2. Efeitos do número de lactações e rendimento leiteiro 100 dias antes da parição sobre o número de dias secos necessários para atingir o rendimento leiteiro máximo na lactação seguinte (Dias e Allaire, 1982). Os números no alto das barras representam o rendimento leiteiro (kg/d) das vacas no 20o, 50o, and 80o, percentil, a 100 dias da parição.

Embora alguns já tenham sugerido que as vacas com alta produtividade podem necessitar de um período seco mais prolongado, há poucas pesquisas disponíveis para determinar a veracidade desta afirmação. Uma comparação entre os rendimentos leiteiros da segunda e primeira lactação revelou que os rebanhos de baixa produtividade beneficiaram-se mais de um período seco mais longo que os de alta produtividade (Dickerson e Chapman, 1939). Os autores supuseram que rebanhos de baixa produtividade recebiam um nível de nutrição inferior e que as vacas sub-alimentadas necessitavam de um período de repouso mais longo. Por outro lado, um estudo posterior indicou que vacas com produtividade mais elevada (avaliação 100 dias antes da data de parição esperada) precisavam de um período seco mais longo para atingir o pico leiteiro na lactação seguinte, embora tal relação só se tornasse evidente nas vacas entre a primeira e a segunda lactações (Figura 2; Dias e Allaire, 1982). Outros estudos precisam ser realizados antes de se chegar a qualquer conclusão sobre a interação entre o nível da produção de leite e a duração do período seco.

Há registros de uma interação muito forte entre o intervalo entre partos e a duração do período seco para se obter o rendimento leiteiro máximo na lactação seguinte (Figura 3; Dias e Allaire, 1982). As vacas com intervalos maiores entre partos precisavam de menos dias secos e a relação tornava-se mais intensa à medida que as vacas envelheciam. É importante lembrar que os dados nesta situação são estimativas de análises estatísticas e as predições são menos confiáveis no caso das vacas com características nos extremos do espectro (por exemplo, vacas mais velhas com o intervalo entre partos mais longos). Entretanto, se a granja é suficientemente grande e flexível para providenciar uma baía especial para vacas boas candidatas a um período seco curto, deverá selecionar as vacas mais velhas com intervalos entre partos mais longos.

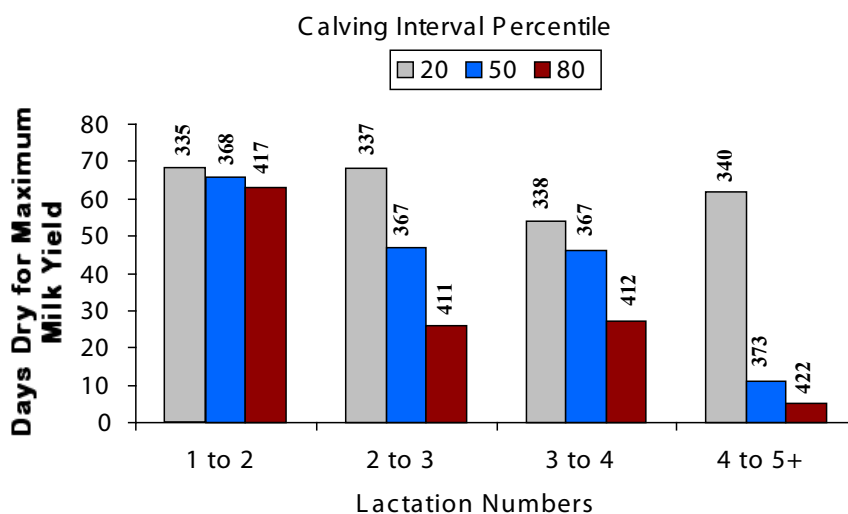


Figura 3. Efeitos do número de lactações e intervalo entre partos sobre o número de dias necessários para atingir o rendimento leiteiro máximo na lactação seguinte (Dias e Allaire, 1982). Os números no alto das barras representam o intervalo entre partos (em dias) das vacas no 20o., 50o. e 80o. percentil.

ESTRATÉGIAS NUTRICIONAIS

O manejo nutricional típico das vacas em um período seco de 8 semanas inclui uma dieta para vacas secas distantes da parição e uma dieta de transição pré-parição. A dieta para o grupo distante da parição contém baixa densidade energética e tem como objetivo manter a condição corporal da vaca nas primeiras cinco semanas do período seco, enquanto que a dieta de transição pré-parição é fornecida nas últimas três semanas do período seco para adaptar a vaca e os microorganismos ruminais à dieta de lactação com alto teor de energia que será fornecida após a parição. Esta estratégia tradicional envolve duas mudanças no agrupamento e duas alterações na dieta em um período de três semanas. Em alguns casos, pode aumentar o stress associado ao agrupamento e às mudanças nutricionais, quedas além das esperadas na ingestão de ração e complicações metabólicas no pós-parto.

A adoção de uma única dieta durante todo o período seco de 8 semanas pode ajudar a reduzir esta situação. Contudo, o fornecimento de uma dieta do tipo transição com teores moderados de energia durante 8 semanas pode tornar as vacas super-condicionadas e aumentar a incidência de distúrbios metabólicos (Rukkwamsuk et al., 1999). A utilização de uma única dieta rica em fibras durante todo o período seco pode ser uma alternativa de sucesso. Entretanto, ainda há dúvidas se a mudança de uma dieta rica em fibras para outra com baixos teores de fibras na parição seria melhor para a vaca ou para os microorganismos ruminais. O fornecimento de uma dieta por um período seco de 60 dias possibilitará o uso de uma única dieta de vacas secas para períodos secos de durações variadas.

Uma estratégia intermediária pode consistir na redução do período seco e no fornecimento de uma dieta relativamente rica em energia durante todo o período. A densidade energética esperada para esta dieta variaria dependendo da duração do período seco. Em outras palavras, à medida que o período seco diminuiu, a densidade energética da dieta pode aumentar devido ao menor tempo disponível para acumular excesso de condição corporal.

Em minha primeira visita ao Brasil descrevi um estudo realizado para testar a hipótese de que uma dieta rica em energia (tipo lactação) poderia ser fornecida durante todo o período seco se este fosse reduzido para 4 semanas (Rastani et al., 2005). Vacas multíparas receberam uma dieta de lactação no período de -90 a -57 dias anterior à data de parição esperada. As vacas foram secas e designadas aos tratamentos no dia -56 do pré-parto. Os 3 tratamentos corresponderam a: 1) 56 dias secos; vacas alimentadas com uma dieta para grupo distante da parição e baixo teor de energia dos dias -56 to -29 dias do pré-parto e uma dieta de transição pré-parto do dia -28 até o parto; 2) 28 dias secos; manutenção das vacas na dieta de lactação (sem tamponante) durante todo o período seco; e 3) 0 dias secos; manutenção das vacas na dieta de lactação (sem tamponante) até a parição. Após a parição, todos os animais receberam uma dieta de lactação pós-parto. A continuação da ordenha resultou em ingestões mais elevadas de matéria seca antes da parição. Entretanto, mesmo as vacas no tratamento de 0 dias secos apresentaram uma queda na ingestão de ração à medida que a parição se aproximava. As diferenças na ingestão de ração entre os tratamentos prosseguiram, porém em grau menor, após a parição. Não houve diferença significativa na produção de leite corrigido para gordura (4%) entre os tratamentos de 56 e 28 dias; as vacas no tratamento de 0 dias secos produziram cerca de 5 kg a menos de leite corrigido para gordura por dia em comparação às do tratamento de 28 dias. As vacas no tratamento de 28 dias produziram leite com maior teor de gordura. Consequentemente, houve diferenças no rendimento leiteiro entre as vacas nos 56 e 28 dias.

As perdas de score de condição corporal e peso corporal pós-parto aumentaram conforme o número de dias, refletindo um balanço energético mais favorável à medida que o número de dias secos diminuía. Como era de se esperar, a redução do período seco diminuiu os teores séricos de ácidos graxos não-esterificados (AGNE) e triglicérides (TG) hepáticos. Entretanto, as diferenças foram significativas apenas entre as vacas com 0 e 28 dias secos. O número insuficiente de animais nos impediu de fazer uma análise estatística dos dados de distúrbios metabólicos.

ESTRATÉGIAS DE TRATAMENTO DE VACAS SECAS

Há poucos dados disponíveis para se desenvolver uma estratégia de tratamento para vacas secas. A terapia de vacas secas pode ser mais eficaz em vacas com períodos secos reduzidos e tal redução, por sua vez, pode levar à queda na taxa de novas infecções (Natzke et al., 1975; Rindsig et al., 1978). Infelizmente, a terapia de vacas secas pode gerar um efeito residual de antibióticos no leite após a parição. As terapias de vacas secas adotadas atualmente destinam-se a vacas com período seco de 45 a 60 dias. Os antibióticos da terapia de vacas secas permanecem nas vacas muito mais tempo do que no caso das vacas em lactação. Conseqüentemente, se as vacas são submetidas a um tratamento de vacas secas com um período seco inferior a 45 dias, os resíduos de antibióticos podem estar presentes no leite após a parição. A adoção de um período seco curto com o uso de antibioticoterapia padrão para vacas secas deve ser acompanhada por testes para identificação de resíduos no leite no pós-parto. Uma abordagem razoável poderia ser o uso conjunto de antibióticos para vacas em lactação durante as últimas ordenhas e de um selante para os tetos após a ordenha final.

ESTRATÉGIAS REPRODUTIVAS

Um dos efeitos mais dramáticos do nosso estudo descrito acima foi na reprodução. A dinâmica ovariana foi monitorada por ultra-som três vezes por semana. Sem dúvida alguma, a redução do período seco acelerou o reinício da atividade ovariana (13,2^a, 23,8^b e 31,9^b dias para 0, 28 e 56 dias secos; $P < 0,05$; Gumen et al., 2003). Embora este estudo tenha sido concluído no 70^o. dia após o parto, o desempenho reprodutivo das vacas foi monitorado após o 70^o. dia. As vacas do tratamento com 0 dias secos apresentaram taxas mais elevadas de concepção no primeiro serviço (55^a, 26^{ab} e 20^b% para 0, 28 e 56 dias secos; $P < 0,05$), menos serviços por concepção (1,7^a, 2,4^{ab} e 3,0^b para 0, 28 e 56 dias secos; $P < 0,05$) e menos dias vazios (94^a, 121^{ab}, 145^b para 0, 28 e 56 dias secos; $P < 0,05$). Entretanto, como essas vacas não participaram do experimento após o 70^o. dia e o estudo incluiu um número limitado de vacas, tais resultados devem ser interpretados com cautela. Não se sabe se tais diferenças no desempenho reprodutivo resultaram de diferenças no número de dias secos, balanço energético ou rendimento leiteiro. Taxas de concepção mais elevadas poderiam ocasionar aumentos no período de espera voluntário, uma vez que seriam necessárias menos coberturas por prenhez.

Tentamos verificar esses dados utilizando uma granja leiteira comercial com um grande número de animais. Aproximadamente 700 vacas holandesas de um rebanho de 3000 vacas foram distribuídas aleatoriamente em um período de 34 ou 55 dias secos aos 170 dias de gestação. As vacas designadas ao grupo de 55 dias receberam uma dieta para grupo distante da parição do dia 55 ao 35 pré-parição, passando posteriormente a uma dieta pré-parto. As vacas no grupo de 34 dias receberam uma dieta pré-parto do dia 34 até a parição. Houve um período de espera de 45 dias e as vacas não cobertas naturalmente até o dia 70 foram submetidas ao protocolo Ovsynch. Amostras sanguíneas foram coletadas das vacas 1 vez/semana para se determinar o momento da ovulação. Os dados preliminares sobre a reprodução encontram-se na Tabela 3. Tais dados não indicam qualquer benefício da redução do período seco na reprodução. Entretanto, talvez o tratamento com redução do período seco não tenha sido suficientemente curto para gerar uma resposta significativa.

Tabela 3. Efeito de 34 x 55 dias secos nos parâmetros reprodutivos das vacas de uma grande granja comercial (resultados preliminares).

	34 dias (n=310)	55 dias (n = 304)
Dias até a primeira ovulação	39,0 ± 1,0a	43,9 ± 0,9b
Dias até a primeira IA	62,9 ± 0,4	63,8 ± 0,4
Taxa de concepção no primeiro serviço ¹ , %	29,2	28,6

^{a, b} diferença P < 0,001.

¹Taxa de concepção entre 45 e 70 dias em lactação.

ESTRATÉGIAS FUTURAS PARA REDUZIR A DURAÇÃO DO PERÍODO SECO

Os dados disponíveis indicam que a ordenha contínua (sem período seco) leva a perdas significativas no rendimento leiteiro na lactação seguinte (aproximadamente 20% de perda, Tabela 4).

Tabela 4. Comparação de medidas da produção de leite e da produção de leite como porcentagem do controle (60 d) para vacas ordenhadas continuamente (período seco de 0 a 10 d) para dados de análises retrospectivas de granjas comerciais e experimentos planejados.

Citação	Produção de leite, % do Controle
Análises Retrospectivas	
Dias e Allaire, 1982 ¹	93,1%
Schaefer e Henderson, 1971 ¹	87,6%
Wilton et al., 1967 ¹²	88,7%
Klein e Woodward, 1943 ¹	70,6%
Sanders, 1928 ¹²	79,7%
MÉDIA	83,9%
Experimentos planejados	
Rastani et al., 2005	79,9%
Annen et al., 2004 ²	85,3%
Remond et al., 1997	77,7%
Remond et al., 1992	87,7%
Smith et al., 1967	77,2%
Swanson, 1965	71,0%
MÉDIA	79,8%

¹ Valores extrapolados de curvas de regressão do rendimento leiteiro x dias secos.

² Valores médios para produção de leite de vacas na segunda lactação e de vacas com três lactações ou mais.

Será que haverá estratégias no futuro que permitam reduzir o período seco além de 30 dias sem provocar perdas significativas no rendimento leiteiro subsequente? Pesquisas da Universidade do Arizona revelam que a perda pode ser evitada em vacas multíparas - mas não primíparas - caso sejam tratadas sistematicamente com bST. No entanto, neste caso o uso foi “off label” e não incluiu um tratamento controle no qual as vacas com período seco de 60 dias tivessem sido sistematicamente tratadas com bST. Outros estudos revelaram

que prostaglandina E_2 (Annen et al., 2004) ou 4 ordenhas no pós-parto (Fitzgerald et al., 2004) não foram suficientes para prevenir a perda de rendimento associada à ordenha contínua das vacas primíparas. Recentemente, examinamos os efeitos da frequência de ordenha (ordenha contínua nas últimas quatro semanas de prenhez) na produção de leite no período pós-parição (dados não publicados). Vinte e oito dias antes da data de parição esperada as vacas foram designadas a 0 (período seco de 28 dias), 1 ou 4 ordenhas por dia até a parição. Antes ou após o período de tratamento todas as vacas foram ordenhadas 2 vezes/dia. Os resultados indicam que 4 ordenhas /dia nas últimas 4 semanas de gestação podem eliminar as perdas de produção associadas ao período seco de 0 dias em vacas maduras, porém não nas que se encontram na segunda parição (Figura 4 e 5).

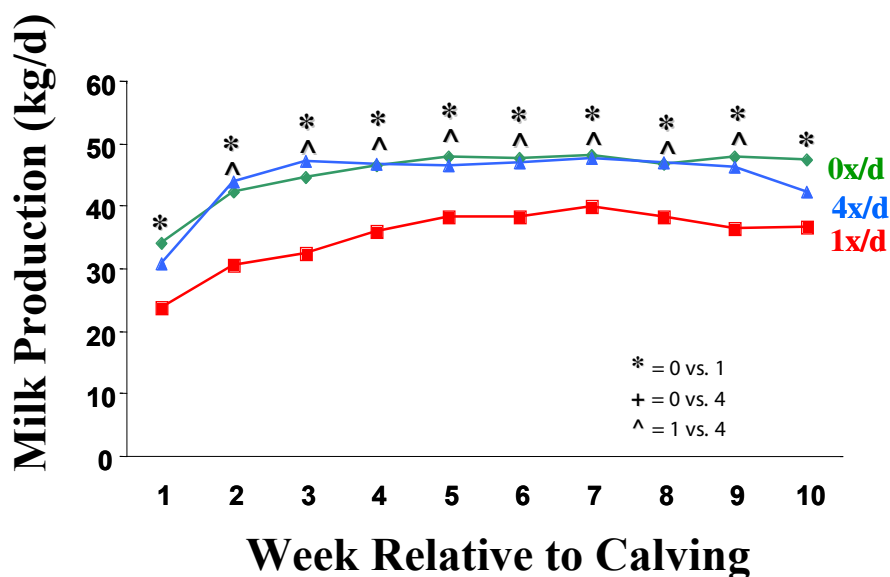


Figura 5. Rendimento leiteiro de vacas na terceira lactação (ou com mais lactações) após 0, 1, ou 4 ordenhas /dia nos últimos 28 dias de gestação (Rastani et al., dados não publicados). * = 0 x 1 ordenha /dia, + = 0 x 4 ordenhas /dia, ^ = 1 x 4 ordenhas /dia; $P < 0,05$.

O balanço energético das vacas ordenhadas continuamente permanece linear e não se tornou negativo durante o período de transição (Figura 6).

Estes dados corroboram nosso estudo anterior (Rastani et al., 2005). Caso seja possível estabelecer estratégias de manejo para ordenhar as vacas continuamente sem provocar perdas substanciais na produção de leite, os benefícios de se evitar um balanço energético negativo poderão ser enormes, sem falar na redução no número de distúrbios pós-parto e na melhor função reprodutiva das vacas leiteiras, uma vez que eliminariam as drásticas oscilações metabólicas que afetam as vacas atualmente. Outras pesquisas básicas são necessárias para investigar os fatores que afetam a persistência da lactação, inclusive a proliferação e a morte de células mamárias, permitindo o desenvolvimento de outras estratégias para eliminar o período seco.

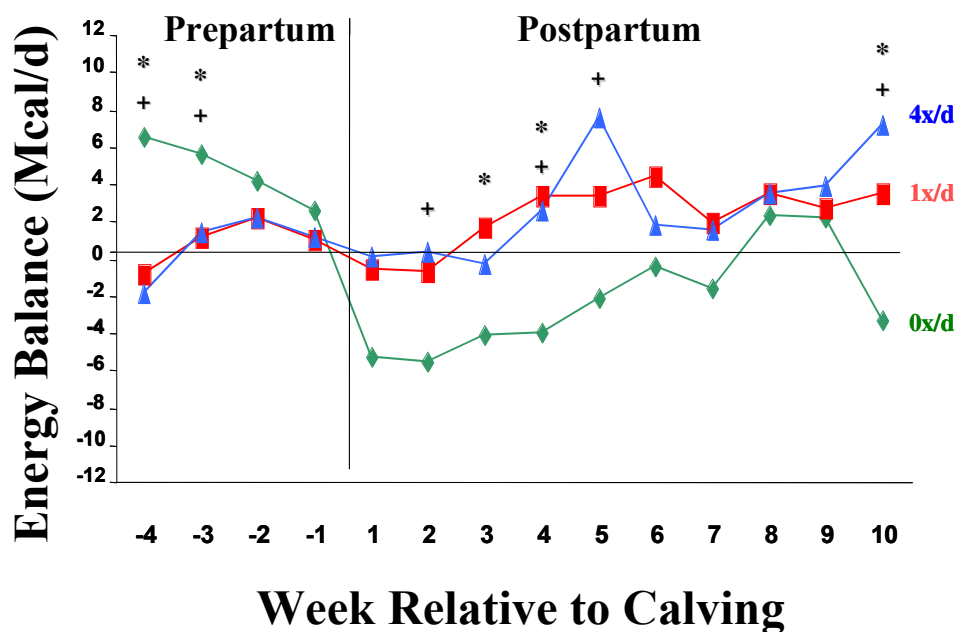


Figura 6. Balanço energético das vacas ordenhadas 0, 1 ou 4 vezes / dia nos últimos 28 dias de gestação (Rastani et al., dados não publicados). *= 0 x 1 ordenha /dia, + = 0 x 4 ordenhas /dia, = 1 x 4 ordenhas /dia; $P < 0,05$.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Annen, E. L. 2004. Effects of dry period length on milk yield and mammary epithelial cells. *J. Dairy Sci.* E. Suppl.:E66-E67.
- Annen, E. L., M. A. McGuire, J. L. Vicini, and R. J. Collier. 2003. Effect of Posilac (bST) and dry period management strategy on milk yield. *J. Dairy Sci.* 86(Suppl. 1):154.
- Annen, E. L., C. M. Stiening, M. E. Dwyer, B. A. Crooker, A. C. Fitzgerald, and R. J. Collier. 2004. Effects of continuous milking and prostaglandin E2 on milk yield and composition. *J. Dairy Sci.* (Suppl. 1):132 (Abstr.).
- Bachman, K. C. 2002. Milk production of dairy cows treated with estrogen at the onset of a short dry period. *J. Dairy Sci.* 85:797-803.
- Coppock, C. E., R. W. Everett, R. P. Natzke, and H. R. Ainsle. (1974) Effect of dry period length on Holstein milk production and selected disorders at parturition. *J. Dairy Sci.* 57:712-718.
- Dias, F. M. and F. R. Allaire. 1982. Dry period to maximize milk production over two consecutive lactations. *J. Dairy Sci.* 65:136-145.
- Dickerson, G. E. and A. B. Chapman. 1939. The effect of age and dry period on production at different levels of producing ability. *Amer. Soc. Anim. Prod.*:73-76.
- Fitzgerald, A. C., E. L. Annen, P. C. Gentry, L. H. Baumgard, and R. J. Collier. 2004. Effects of continuous milking, bST and early-lactation milking frequency on mammary development, milk yield and composition in primiparous cows. *J. Dairy Sci.* Suppl. 1:425 (Abstr.).
- Funk, D. A., A. E. Freeman, and P. J. Berger. 1987. Effects of previous days open, previous days dry, and present days open on lactation yield. *J. Dairy Sci.* 70:2366-2373.
- Gulay, M. S., M. J. Hayen, K. C. Bachman, T. Belloso, M. Liboni, and H. H. Head. 2003. Milk production and feed intake of Holstein cows given short (30-d) or normal (60-d) dry periods. *J. Dairy Sci.* 86:2030-2038.
- Gumen, A., R. R. Rastani, R. R. Grummer, and M. C. Wiltbank. 2003. Effects of varying dry period length and prepartum diet on reproduction in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 86(Suppl. 1):239 (Abstr.).
- Keown, J. E. and R. W. Everett. 1986. Effect of days carried calf, days dry, and weight of first calf heifers on yield. *J. Dairy Sci.* 69:1891-1896.
- Klein, J. W. and T. E. Woodward. (1943) Influence of length of dry period upon the quantity of milk produced in the subsequent lactation. *J. Dairy Sci.* 26:705-713.
- Lotan, E. and J. H. Adler. 1976. Observations on the effect of shortening the dry period on milk yield, body weight, and circulating glucose and FFA levels in dairy cows. *Tijdschr. Diergeneesk.* 101(2):77-82.
- Makuza, S. M. and B. T. McDaniel. (1996) Effects of days dry, previous days open, and current days open on milk yields of cows in Zimbabwe and North Carolina. *J. Dairy Sci.* 79:702-709.
- Natzke, R. P., R. W. Everett, and D. R. Bray. 1975. Effect of drying off practices on mastitis infection. *J. Dairy Sci.* 58:1828-1835.
- Rastani, R. R., R. R. Grummer, S. J. Bertics, A. Gumen, M. C. Wiltbank, D. G. Mashek, and M. C. Schwab. 2005. Reducing dry period length to simplify feeding of transition cows: Milk production, energy balance, and metabolic profiles. *J. Dairy Sci.* Accepted.
- Rastani, R. R., R. R. Grummer, S. J. Bertics, A. Gumen, W. C. Wiltbank, D. G. Mashek, and M. C. Rich. 2003. Effects of varying dry period length and prepartum metabolic profiles and lactation of periparturient dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 86(Suppl. 1):154 (Abstr.).

- Remond, B., A. Ollier, and G. Miranda. (1992) Milking of cows in late pregnancy: Milk production during this period and during the succeeding lactation. *J. Dairy Res.* **59**:233-241.
- Remond, B., J. Rouel, N. Pinson, and S. Jabet. (1997) An attempt to omit the dry period over three consecutive lactations in dairy cows. *Ann. Zootech.* **46**:399-408.
- Rindsig, R. B., R. G. Rodewald, A. R. Smith, and S. L. Spahr. 1978. Complete versus selective dry cow therapy for mastitis control. *J. Dairy Sci.* 61:1483-1497.
- Rukkwamsuk, T., T. A. Kruip, G. A. L. Meijer, and T. Wensing. 1999. Hepatic fatty acid composition in periparturient dairy cows with fatty liver induced by intake of a high energy diet in the dry period. *J. Dairy Sci.* 82:280-287.
- Sanders, H. G. 1928. The variations in milk yields caused by season of the year, service, age, and dry period, and their elimination. *J. Agric Sci. (Camb.)*. 18:209-251.
- Schaeffer, L. R. and C. R. Henderson. (1972) Effects of days dry and days open on Holstein milk production. *J. Dairy Sci.* **55**:107-112.
- Sorensen, J. T. and C. Enevoldsen. 1991. Effect of dry period length on milk production in subsequent lactation. *J. Dairy Sci.* 74:1277-1283.
- Smith, A., J. V. Wheelock, and F. H. Dodd. (1967) The effect of milking throughout pregnancy on milk secretion in the succeeding lactation. *J. Dairy Res.* **34**:145-150.
- Swanson, E. W. (1965) Comparing continuous milking with sixty-day dry periods in successive lactations. *J. Dairy Sci.* **48**:1205-1209.
- Wilton, J. W., E. B. Burnside, and J. C. Rennie. 1967. The effects of days dry and days open on the milk and butterfat production of Holstein-Friesian cattle. *Can. J. Anim. Sci.* 47:85-90.

MUDANÇAS NO MANEJO REPRODUTIVO PARA COMPENSAR OS EFEITOS DO ALTO CONSUMO DE ENERGIA EM VACAS LEITEIRAS EM LACTAÇÃO

Milo Wiltbank, Hernando Lopez, Roberto Sartori, Ahmet Gument

Departamento de Ciência Leiteira, Universidade de Wisconsin-Madison

INTRODUÇÃO

Sete anos depois de se formar pela Universidade de Wisconsin-Madison, John Smith (nome fictício) percebeu que não conseguia se livrar das dores de cabeça relacionadas à administração de uma granja leiteira de 500 animais. Construiu um novo freestall graças a um empréstimo obtido no banco e aumentou o rebanho com 100 vacas leiteiras adquiridas de seu pai e de outros produtores da região. Sua granja operou a plena capacidade nos últimos três anos. Enfrentou problemas de drenagem da lagoa de decantação, que resultou em algumas inundações do estábulo, mas à parte disso, estava satisfeito com as novas instalações. A nova sala de ordenha em Duplo 8 paralelo era extremamente eficiente, o que permitiu que passasse a ordenhar as vacas 3 vezes ao dia e aumentar a produção de leite para utilizar o equipamento de ordenha a plena capacidade. O balanceamento da dieta estava a cargo de um nutricionista local e os resultados eram bastante satisfatórios. A produção de leite era em média de 45 kg/vaca/dia com 3,51% de gordura e 3,01% de proteína. A contagem de células somáticas havia sido reduzida para 142.000, resultando em leite de boa qualidade. Seu problema era a contínua necessidade de adquirir novilhas de reposição para manter a granja em plena produção. No ano anterior, havia adquirido 45 novilhas e parecia que precisaria adquirir o mesmo número novamente. Ainda que já tivessem passado mais de 3 anos da construção das novas instalações e expansão do rebanho, ainda não conseguia produzir novilhas em número suficiente para manter a granja em plena produção.

John sabia que seu rebanho apresentava problemas reprodutivos, mas não conseguia identificar como resolvê-los. Achava que parte do problema era a dieta extremamente rica em energia que o nutricionista havia recomendado há 11 meses. Desde então, percebeu que a incidência de claudicação aumentou entre as vacas. Implementou a Inseminação Artificial (IA) em todo o rebanho e considerava sua técnica bastante boa; entretanto, dividia a palhetas (inseminava 2 vacas com 1 dose de sêmen) em mais de 50% das inseminações. Nosso grupo da Universidade de Wisconsin-Madison foi solicitado a avaliar sua granja (esta atividade esta no currículo de graduação e pós-graduação). Nesta atividade, os alunos trabalham com membros do corpo docente no diagnóstico de problemas e formulação de propostas de soluções práticas a serem apresentadas aos produtores participantes.

Na primeira visita, os alunos observaram que o produtor dividia as doses de sêmen e acharam que este era provavelmente o principal problema. Pedi a eles que continuassem a estudar os registros para obter dados relacionados a este potencial problema ou outros eventuais problemas. Depois de 2 semanas de análise dos registros do computador e visitas à granja, os alunos chegaram a uma conclusão totalmente diferente.

Embora John afirmasse que estava usando Ovsynch para a IA em tempo fixo das vacas, nenhuma das vacas estava sendo inseminada depois do Ovsynch antes dos 150 dias de lactação. Em outras palavras, ele somente iniciava o Ovsynch caso não identificasse estro na vaca depois de mais de 100 dias de detecção visual de estro. Na verdade, algumas destas vacas ainda não haviam sido inseminadas nenhuma vez aos 200 dias de lactação. O número médio de dias para a primeira inseminação era de 169. Os alunos haviam

certamente identificado o verdadeiro problema reprodutivo da granja de John. Perguntamos ao John o que estava acontecendo com seu programa de detecção de estro e ele respondeu que o problema da claudicação havia reduzido muito a eficiência de detecção de vacas em estro. Os alunos, entretanto, avaliaram os escores de claudicação e não os consideraram altos demais. John nos contou que era responsável pela detecção de estros, mas como administrador da granja, várias outras responsabilidades ocupavam grande parte de seu tempo. Tentava observar as vacas pelo menos 2 vezes ao dia por 15 minutos em cada ocasião, mas nem sempre conseguia fazê-lo com consistência. Perguntamos por que não iniciava o programa Ovsynch em fase mais precoce de lactação, mas a resposta foi de que não tinha tempo de programar as injeções dos hormônios. Era responsável por todos os aspectos da reprodução e da administração geral da granja e o dia era muito curto para acomodar todas as tarefas. Além disso, não queria gastar dinheiro em hormônios se existia a possibilidade de pegar a vaca em cio natural.

Os alunos avaliaram as taxas de concepção das vacas em lactação e o número era de 41%, até superior ao de muitas granjas que avaliamos, considerando especialmente o alto nível de produção de leite. Também não observaram nenhuma diferença entre as vacas inseminadas com uma dose inteira de sêmen ou meia dose. Assim, a divisão da dose de inseminação foi descartada como causa do problema reprodutivo.

O que havia acontecido com a reprodução na granja de John Smith? Provavelmente uma combinação de fatores que convergiram para causar “uma tempestade” na reprodução deste rebanho leiteiro. Quando trabalhava na pequena granja leiteira de sua família, John cuidava bem da reprodução, pois tinha todo o tempo para se dedicar a este único trabalho. Agora, as várias responsabilidades administrativas tinham prioridade, deixando-lhe pouco tempo livre para se dedicar à reprodução. Assim, errou ao não delegar responsabilidades a outras pessoas (talvez pudesse ter contratado uma empresa de IA para ajudá-lo com a reprodução). Também não foi agressivo o suficiente na utilização de novas tecnologias de manejo reprodutivo em fase precoce de lactação para obter o pleno benefício por elas proporcionado. Além disso, a produção de leite de suas vacas cresceu rapidamente, afetando o desempenho reprodutivo. Ele deveria ter adotado medidas de manejo que permitissem acompanhar estas mudanças na eficiência reprodutiva. Infelizmente, ele estava gastando US\$ 100.000 ao ano na aquisição de novilhas e esta despesa não tinha previsão de término, pois não conseguia produzir o número suficiente de novilhas a partir de seu próprio rebanho. John tinha tantas vacas vazias em fase tardia de lactação que provavelmente teria que descartar muitas delas nos próximos meses. Este era um problema que não poderia ser resolvido de imediato, mas poderia ser resolvido ao longo dos próximos 2-3 anos através da implementação imediata de estratégias bastante agressivas de manejo reprodutivo.

Será que o problema da granja de John Smith estaria na genética das vacas? Talvez, em parte, mas os problemas reprodutivos se manifestaram nestas vacas somente quando a produção de leite cresceu significativamente. Será que o problema era a nutrição? Talvez, em parte, mas o maior problema nutricional não eram deficiências e sim que o foco da nutrição era o aumento e manutenção da alta produção de leite. Será que o problema era o manejo? Esta era definitivamente uma parte importante do problema. Ele poderia ter contratado um especialista em manejo reprodutivo por um salário relativamente alto e ainda ter tido um bom retorno sobre o investimento. Claramente deveria delegar as responsabilidades do manejo reprodutivo a outra pessoa, contratando pessoal para ajudar na detecção dos cios e administrar as injeções de hormônios. Também precisava mudar a estratégia de manejo para incorporar programas de IA em tempo fixo em uma fase mais precoce da lactação (provavelmente antes de 100 dias em leite). Estas 2 mudanças poderiam ajudá-lo a identificar de maneira mais eficiente as vacas em estro e inseminá-las mais precocemente. Também precisava diagnosticar a prenhez mais precocemente e estabelecer uma estratégia de ressincronização.

Infelizmente, os problemas reprodutivos na granja de John Smith são muito comuns. Todas as granjas leiteiras estão sob constante pressão para utilizar os recursos de mão de obra de maneira eficiente e controlar custos para melhorar o desempenho reprodutivo. Esta revisão irá discutir as principais mudanças que estão ocorrendo na reprodução de vacas de alta produção e estratégias de manejo reprodutivo para lidar com estas mudanças.

MUDANÇAS NO MANEJO REPRODUTIVO DE VACAS EM LACTAÇÃO

Tempo até a primeira ovulação

O uso de ultra-sonografia, combinado com ensaios hormonais permitiu compreender melhor a função ovariana durante o período entre o parto e a primeira ovulação. Após o parto, ocorre um pico de FSH circulante na primeira semana [18], provavelmente resultante da redução nos níveis de estradiol. Em seguida, ocorre a primeira onda folicular, em média aos 4 [18] a 12 [10,19] dias pós-parto. Algumas vacas ovulam esta primeira onda folicular, mas de maneira geral a primeira ovulação é adiada em muitas das vacas leiteiras em lactação e o tempo decorrido até a primeira ovulação é em média de $33,3 \pm 2,1$ dias em vacas holandesas nos EUA (compilação de 10 estudos relatada em [20]). Vacas leiteiras mantidas a pasto apresentaram, em média, 4,2 ondas de crescimento folicular antes da primeira ovulação, com aumento do diâmetro máximo do maior folículo à medida que se aproximava a primeira ovulação [21]. Este atraso na primeira ovulação é geralmente atribuído ao período de balanço energético negativo durante o início da lactação e redução dos pulsos de LH necessários para estimular os estágios finais do crescimento folicular e produção de estradiol [8,11,15,19,22,23].

Embora este atraso na primeira ovulação esteja associado a balanço negativo de energia durante o início da lactação, não está claramente associado ao nível de produção de leite. Vacas selecionadas para alta produção de leite, comparadas a linhagens controle (menor mérito genético para rendimento leiteiro), apresentam intervalo mais longo até a primeira ovulação pós-parto (+14 dias, revisão de [1]; +8 dias [24]) e até o primeiro estro detectado pós-parto (+4,5 dias, [25]). Entretanto, em estudo recente, não detectamos correlação entre o nível de produção de leite e a porcentagem de vacas “anovulatórias” aos 71 dias em leite [26], com cerca de 25% das “anovulatórias”, independentemente do nível de produção (25 a 60 kg leite/dia entre 50 a 71 dias pós-parto). A taxa bastante alta de vacas anovulatórias deste estudo não é inconsistente com outros estudos recentes [27-29]. Infelizmente, estes estudos não relataram nenhuma relação potencial entre o nível de produção de leite e anovulação. Erb [30] revisou quatro estudos norte-americanos em que foram comparados os níveis de produção de leite ou potencial genético para produção de leite entre vacas ovulatórias e anovulatórias. O autor concluiu que alta produção de leite não causa anovulação em vacas leiteiras holandesas, mas vacas anovulatórias produziam mais leite que as demais companheiras de rebanho [30].

Recentemente, sugerimos que a anovulação pode ser classificada em categorias funcionais em base do diâmetro máximo do maior folículo em crescimento e níveis séricos de estradiol [16]. Consistente com esta classificação, vacas com escores de condição corporal mais baixos (ECC de 2,5 ou inferior, em uma escala até 5) apresentam maior probabilidade de anovulação e tamanho máximo de folículos menor. Ainda assim, a maioria das vacas anovulatórias (63%) apresentavam ECC satisfatório e diâmetros foliculares médios acima do diâmetro ovulatório (>20 mm). Por exemplo, 20% das vacas com ECC de 3,25 eram anovulatórias. Assim, balanço negativo de energia e crescimento folicular inadequado podem explicar uma parte da anovulação das vacas, mas não explica todos os casos de anovulação. Da mesma maneira, não parece haver uma correlação direta entre anovulação e nível de produção de leite. Desta forma, modelos fisiológicos mais complexos são necessários para explicar a anovulação em vacas leiteiras [16,31].

Taxa de concepção

A maior parte dos estudos de reprodução em gado leiteiro estão focados em taxa de concepção e perda de prenhez, dadas as implicações econômicas destas para as granjas leiteiras comerciais (para revisões, consultar [1,32]). Ainda assim, a relação entre as várias medidas de fertilidade (taxa de concepção) e nível de produção de leite permanece controversa. Washburn et al. [3] analisaram a relação entre taxa de concepção e produção de leite durante um período de mais de 20 anos (1976 a 1999) em rebanhos leiteiros

no sudeste dos EUA. As taxas de concepção caíram de ~ 55% para ~ 35% durante este período e a produção de leite cresceu dramaticamente. Entretanto, diferenças em sistemas de registro de dados também podem ser parcialmente responsáveis por estas diferenças [1]. Faust et al. [33] demonstraram uma clara relação entre o nível de produção de leite e a taxa de concepção em novilhas holandesas primíparas. Por outro lado, Peters e Pursley [34] relataram que vacas de alta produção apresentavam taxas mais elevadas de concepção após uso de protocolos Ovsynch que vacas de baixa produção. A maior parte dos bancos de dados demonstram uma relação antagônica entre produção de leite e fertilidade, mas a dimensão deste efeito tem sido questionada [1,9,35]. Ainda assim, parece óbvio supor que vacas leiteiras de alta produção tenham taxas de concepção mais baixas que novilhas [1-3,27,32,34,36]. Por exemplo, Pursley et al. [5] relataram taxas mais elevadas de concepção em novilhas (74,4%) que em vacas leiteiras em lactação (38,9%). Em um recente estudo, comparamos a qualidade do embrião no 5 dia após a ovulação de vacas leiteiras em lactação ovulando naturalmente com vacas leiteiras de idade e peso semelhantes, porém secas [37]. Embora a taxa de fertilização tenha sido semelhante (88 a 90%), a porcentagem de embriões viáveis foi muito mais baixa em vacas em lactação (52,8%) que em vacas secas (82,3%) [37]. Este estudo foi conduzido durante o inverno, de forma que estresse térmico não foi problema. A coleta de embriões de vacas em lactação sofrendo de estresse térmico demonstrou redução da taxa de fertilização (55,3%) e redução ainda maior na porcentagem de embriões viáveis (33,3%) [37]. Um importante efeito da produção de leite sobre a fertilidade é observado durante épocas de estresse térmico e pode não se manifestar em épocas do ano de temperaturas mais amenas [32]. Isto se deve provavelmente ao aumento da temperatura corporal, que é maior em vacas de alta produção que em vacas leiteiras de menor produção expostas às mesmas temperaturas [37]. Entretanto, as taxas de concepção reduzidas em vacas leiteiras em lactação, até mesmo durante épocas frias do ano, sugerem que nem toda a extensão da redução de fertilidade pode ser explicada pelo estresse térmico. Obviamente, a fertilidade é uma característica complexa e está relacionada a uma série de fatores, tais como infecções uterinas, balanço negativo de energia, concentrações séricas de uréia, vitaminas, fertilidade do touro, precisão da detecção de estro, técnica de inseminação, etc. [1-3,7-9,11,15,20,23,24,28,29,32,33]. Por exemplo, aumento na taxa de dupla ovulação em vacas leiteiras de alta produção (demonstrado abaixo) aumentaria as chances de prenhez, apesar dos possíveis efeitos negativos da alta produção de leite na qualidade dos ovócitos. Assim, parece improvável que haja uma simples correlação entre produção de leite e taxas de concepção.

Duração do estro

Está claro que baixas taxas de detecção de estro estão reduzindo a eficiência reprodutiva em granjas leiteiras comerciais. Washburn et al. [3] relatam uma redução de 50,9% em 1985 para 41,5% em 1999 nas taxas de detecção de estro em rebanhos de vacas holandesas no sudeste dos EUA. Entretanto, estudos observaram tanto uma correlação negativa entre o nível de produção de leite [38,39] como nenhuma correlação [40,41] usando observação visual duas vezes ao dia para determinar a manifestação de estro. Recentemente completamos um estudo em que avaliamos a duração do estro em um grupo de vacas leiteiras em lactação usando o sistema HeatWatch [4]. O sistema permite monitoramento contínuo de todas as montas 24 h por dia e pode ser usado para calcular a duração do estro em vacas leiteiras individuais. Vacas com produção de leite acima da média do rebanho (~ 40 kg/d) apresentaram estro de duração mais curta ($P < 0,001$) ($6,2 \pm 0,5$ h) que vacas de produção mais baixa de leite ($10,9 \pm 0,7$ h). Este efeito não foi atribuído a número de partos, pois as vacas primíparas e múltíparas foram analisadas separadamente e o efeito da produção de leite foi o mesmo. A Fig. 1 demonstra a relação entre o nível de produção de leite e a duração do estro. Para observar de forma consistente esta forte correlação entre nível de produção de leite e duração do estro, é fundamental que os dados sobre a produção de leite sejam coletados em época próxima ao estro, sejam utilizados apenas dados de ovulações após a primeira ovulação pós-parto (a primeira ovulação tem baixa expressão de estro), todas as ovulações sejam consistentemente monitoradas durante o período de observação (para evitar falsos estros ou não detecção de ovulações) e que a duração do estro seja monitorada continuamente através de um sistema eletrônico de monitoramento de cios.

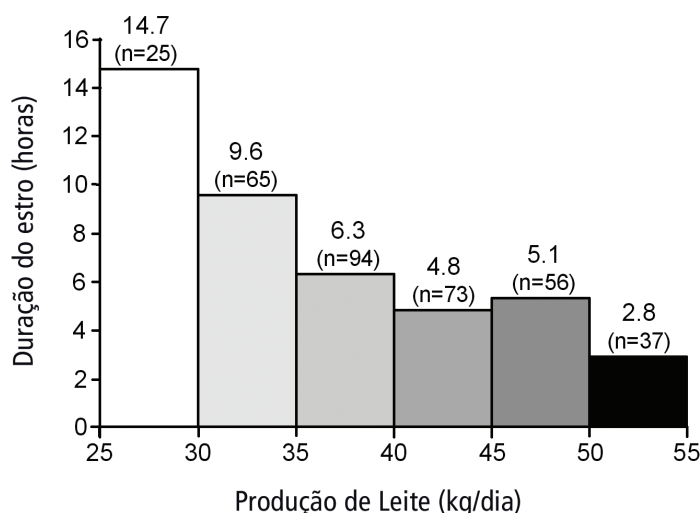


Figura 1. Relação entre o nível de produção de leite e a duração do estro. A análise incluiu todas as ovulações ($n = 350$), com exceção da primeira ovulação pós-parto. A produção média de leite foi calculada para os 10 dias anteriores ao estro [4].

Em um subconjunto destas vacas ($n = 71$), analisamos o diâmetro máximo do folículo e concentrações séricas de estradiol no dia do estro [4]. Vacas de alta produção ($46,8 \text{ kg/d}$) produziram folículos maiores ($18,6 \pm 0,3$ vs $17,4 \pm 0,2 \text{ mm}$ de diâmetro; $P < 0,01$), mas níveis mais baixos de estradiol ($6,8 \pm 0,5$ vs $8,6 \pm 0,5 \text{ pg/mL}$; $P < 0,01$) em comparação a vacas de baixa produção ($32,3 \pm 0,6 \text{ kg/d}$). As correlações foram avaliadas entre uma série de diferentes valores. Surpreendentemente, não se detectou nenhuma relação entre o diâmetro folicular máximo e concentrações de pico de estradiol ($r = -0,17$; $P = 0,15$). Como esperado, a duração do estro apresentou correlação positiva com concentrações de pico de estradiol ($r = 0,57$; $P < 0,0001$) e negativa com a produção de leite ($r = -0,51$; $P < 0,0001$). O nível de produção de leite também apresentou correlação negativa com diâmetro folicular ($r = -0,45$; $P < 0,0001$). Como já foi discutido, nossa teoria é que alta produção de leite resulta em redução das concentrações séricas de estradiol, resultando em estro de duração mais curta. A redução do estradiol também poderia resultar em aumento do diâmetro folicular pelo atraso da indução do estro pela ação do estradiol, pico de GnRH/LH e ovulação em vacas de alta produção.

Taxa de dupla ovulação

Outra característica reprodutiva que está diretamente relacionada à produção de leite é a taxa de dupla ovulação (para revisão mais completa consultar [26,42]). Do ponto de vista prático, a taxa de dupla ovulação parece ser a causa do maior número de partos gemelares em vacas leiteiras, com 93% de gêmeos não idênticos [43]. Diversos fatores foram identificados como possíveis reguladores das gestações gemelares, tais como idade da vaca, estação do ano, genética, uso de hormônios reprodutivos ou antibióticos, cistos ovarianos, dias abertos e pico de produção de leite [revisão em 42]. Em um grande estudo sobre fatores de risco para produção de gêmeos, Kinsel et al. [44] concluíram, “que o principal fator (> 50%) para o aumento em partos gemelares é o aumento do pico de produção de leite”. Conduzimos um estudo em que avaliamos a taxa de dupla ovulação em 240 vacas leiteiras [45] que foram submetidas à sincronização da ovulação com o protocolo Ovsynch [46,47]. A ovulação foi determinada por ultra-sonografia transretal no momento da segunda injeção de GnRH e 48 horas depois. A produção média de leite, determinada 3 dias antes da

ovulação, foi de $40,7 \pm 0,8$ kg/d e as vacas foram segregadas em grupos acima ou abaixo da média. A taxa de dupla ovulação em vacas que apresentavam produção acima da média foi de 20,2%, contra 6,9% nas de produção abaixo da média ($P < 0,05$) [45]. Esta diferença se manteve, independentemente do número de lactações. Recentemente, relatamos resultados de um estudo [26] que avaliou vacas de ovulação natural e foi observada uma correlação semelhante entre produção de leite e taxa de dupla ovulação (Fig. 2). Vacas que produziam menos de 40 kg/dia apresentavam índice muito baixo de dupla ovulação, enquanto vacas produzindo acima de 50 kg/dia apresentavam mais de 50% de taxa de dupla ovulação. É surpreendente observar o dramático ponto de inflexão na taxa de dupla ovulação a partir de uma produção de leite acima de 40 kg/dia, mas ainda não sabemos quais alterações fisiológicas ocorrem com o aumento da produção de leite além deste valor crítico. Este aumento na taxa de dupla ovulação e de gestações gemelares será provavelmente observado em todos os rebanhos que aumentarem significativamente a produção de leite. Está claro que este efeito da produção de leite está mais relacionado ao nível de produção nas 2 semanas anteriores à ovulação da vaca e não à produção total de leite durante toda a lactação. Este efeito também foi semelhante quando vacas multíparas e primíparas foram avaliadas separadamente, [26]. Assim como com a duração do estro, a primeira ovulação pós-parto diferiu das demais ovulações, demonstrando que a dupla ovulação estava relacionada à produção de leite [26].

Figura 2. Relação entre a incidência de ovulação múltipla e produção de leite. A análise incluiu todas as ovulações ($n = 463$) exceto a primeira ovulação pós-parto. A produção média de leite equivale aos 14 dias antes do estro [26].

ESTERÓIDES SÉRICOS E SEU METABOLISMO EM VACAS LEITEIRAS EM LACTAÇÃO

Diversos estudos avaliaram os teores séricos de hormônios em vacas leiteiras em lactação. Como discutido acima, vacas com alta produção de leite ovulam folículos maiores, mas apresentam concentrações reduzidas de estradiol sérico [4]. Além disso, vacas leiteiras de alta produção têm maior volume de tecido lúteo, mas contrações reduzidas de progesterona [26]. A Tabela 1 demonstra a comparação entre novilhas e vacas leiteiras em lactação que foram monitoradas diariamente por meio de ultra-sonografia ovariana e análises hormonais [14]. As vacas ovularam folículos maiores, mas suas concentrações de 17 β -estradiol eram mais baixas. Isto é de certa forma surpreendente, pois seria de se esperar que vacas com folículos maiores tendessem a produzir mais 17 β -estradiol folicular. Outro paradoxo é que as vacas em lactação apresentavam maior volume de tecido lúteo e teores séricos reduzidos de progesterona. Este estudo também demonstrou taxa de dupla ovulação muito mais elevada nas vacas. Outros estudos também relataram alterações nos níveis de hormônios circulantes e dimensão de estruturas ovarianas em vacas em lactação [48,49].

Tabela 1. Comparação (médias \pm EP e porcentagens) entre todas (ovulação de um e múltiplos folículos), novilhas (n = 27) e vacas em lactação (n = 14) com intervalos interovulatórios típicos [14]

	Novilhas	Vacas em lactação	Valor de P
Intervalo interovulatório (dias)	22,0 \pm 0,4	22,9 \pm 0,7	0,2774
Dia da luteólise	18,5 \pm 0,4	18,9 \pm 0,6	0,5261
Ciclos com duas ondas; % (no./no.)	55,6 (15/27)	78,6 (11/14)	0,1468
Ciclos com três ondas; % (no./no.)	33,3 (9/27)	14,3 (2/14)	0,1918
Ciclos com quatro ondas; % (no./no.)	11,1 (3/27)	7,1 (1/14)	0,6847
Dia da emergência da segunda onda folicular	8,9 \pm 0,3	11,1 \pm 0,6	0,0003
Intervalo (dias) entre a emergência da última onda e a ovulação	10,1 \pm 0,5	10,9 \pm 0,5	0,2927
Dias entre luteólise e ovulação	4,6 \pm 0,1	5,2 \pm 0,2	0,0064
Incidência de folículos co-dominantes durante a primeira onda; % (no./no.)	3,7 (1/27)	35,7 (5/14)	0,0127
Taxa de múltipla ovulação; % (no./no.)	1,9 (1/54)	17,9 (5/28)	0,0162
Diâmetro máximo do maior folículo ovulatório (mm)	14,9 \pm 0,2	16,8 \pm 0,5	<0,0001
Pico de estradiol que antecedeu a ovulação (pg/mL)	11,3 \pm 0,6	7,9 \pm 0,8	<0,0001
Volume máximo de tecido lúteo (mm ³)	7303 \pm 308	11120 \pm 678	<0,0001
Pico de progesterona (ng/mL)	7,3 \pm 0,4	5,6 \pm 0,5	0,0080

Parece haver duas explicações possíveis para esta aparente falta de conexão entre hormônios esteróides circulantes e diâmetro dos folículos e do CL. A primeira explicação seria que os folículos e o CL são menos ativos em termos de esteroidogênese em vacas leiteiras em lactação, por insuficiência de hormônios estimulatórios circulantes, falta de substrato para a esteroidogênese ou de vias esteroidogênicas intracelulares. As vacas em lactação apresentaram maior número de pulsos de LH que vacas secas de estrutura corporal semelhante [50], sugerindo que o LH não é provavelmente a causa da redução da esteroidogênese. Além disso, o substrato primário para a esteroidogênese ovariana bovina é a lipoproteína de alta densidade, especialmente elevada em vacas leiteiras em lactação [51]. Ocorre uma redução nos teores de IGF-1 em vacas leiteiras em lactação, o que poderia estar relacionado à depressão da esteroidogênese [52]. Apesar de todas estas observações, como a hipótese da menor produção de esteróides pelas estruturas ovarianas de vacas leiteiras em lactação ainda não foi adequadamente investigada, não pode ser defendida nem descartada neste momento.

Uma explicação mais provável é que as vacas leiteiras em lactação apresentam maior metabolização de hormônios esteróides à medida que a produção de leite aumenta. As concentrações de hormônios circulantes são determinadas pela diferença entre a taxa de produção e de metabolização do hormônio. Sabe-se que o maior consumo de ração, como ocorre durante a lactação, altera os níveis de progesterona e a excreção de metabólitos de progesterona em estudos de administração contínua de progesterona [53-56]. A maior metabolização dos esteróides decorrente do alto consumo de ração poderia alterar a fisiologia reprodutiva de qualquer espécie, mas pode alterar especialmente a reprodução em espécies com aumentos extremos de consumo de ração, tais como vacas leiteiras em lactação. Nossa hipótese é que algumas destas mudanças

reprodutivas em vacas leiteiras em lactação são causadas pelo dramático aumento da metabolização de esteróides decorrente do aumento do consumo de ração e fluxo sanguíneo hepático.

Em experimentos recentes, testamos a hipótese de que o maior fluxo de sangue para o fígado resultante do elevado consumo de ração em vacas leiteiras em lactação, poderia estimular o metabolismo de esteróides [57]. Observamos que antes da refeição, o fluxo de sangue hepático era maior em vacas em lactação (1561 ± 57 L/h) que em vacas secas de porte e idade equivalentes (747 ± 47 L/h). O fluxo de sangue hepático e o metabolismo de progesterona e estrógeno aumentavam imediatamente após consumo de qualquer volume de ração em vacas secas e em lactação [57]. O metabolismo de estrógeno e progesterona era muito maior (2,3 X) em vacas em lactação que em vacas secas [57,58]. Assim, as alterações no metabolismo de estrógeno e progesterona em resposta à alimentação são imediatas e parecem estar relacionadas a variações agudas no fluxo de sangue hepático. Em vacas em lactação, o contínuo alto consumo de ração parece elevar cronicamente o fluxo sanguíneo hepático e o metabolismo de hormônios esteróides até cerca do dobro observado em vacas de porte e idade equivalentes, porém não lactantes. Estes resultados indicam que até mesmo com um nível semelhante de produção de hormônios, os níveis circulantes acabam sendo menores em vacas leiteiras em lactação devido à maior metabolização.

Será que este metabolismo acelerado de esteróides pode explicar o paradoxo da redução dos teores circulantes de esteróides apesar de maior diâmetro folicular e de corpo lúteo? Se usarmos os dados da Tabela 1 para calcular uma razão resultante entre a concentração de progesterona circulante dividida pelo volume do corpo lúteo, observamos que novilhas têm basicamente o dobro do valor que é calculado para vacas em lactação (1,0 vs 0,5 ng/mL de progesterona por cm³ de volume lúteo). Um cálculo semelhante para estradiol circulante e volume folicular também resulta em valores duas vezes mais elevados em novilhas que em vacas (6,5 vs 3,2 pg/mL de estradiol circulante por cm³ de volume folicular). Estes valores correspondem à aumento de 2 vezes do metabolismo de estrógeno e progesterona que observamos comparando vacas lactantes vs não lactantes [57,58]. Uma análise recente de um grande grupo de vacas em lactação usando este índice demonstrou maior correlação entre este índice (hormônio circulante/volume de tecido) com produção de leite ($R^2 = 0,44$ a $0,47$; $P < 0,01$) que o observado quando se comparam isoladamente os níveis de hormônios circulantes ou volume folicular ou de corpo lúteo com produção de leite [26]. Assim, embora não se possa descartar a importância das alterações em produção de esteróides pelo tecido do corpo lúteo e do folículo, parece razoável supor que as alterações em estradiol e progesterona podem ser decorrentes da maior metabolização hepática dos hormônios esteróides em vacas em lactação.

Resumimos estas informações em um modelo de trabalho simplificado (Fig. 3). Vacas em lactação necessitam de mais energia que vacas secas (por exemplo, a vaca que produz 50 kg de leite por dia precisa de 53 Mcal/dia de energia, enquanto uma vaca não lactante necessita de 12,5 Mcal/dia; NRC, 2001). O alto consumo de ração necessário para satisfazer esta necessidade de energia resulta em drástico aumento do fluxo sanguíneo hepático [57,58], que por sua vez resulta em maior metabolização tanto de estrógeno quanto de progesterona, levando à redução dos níveis circulantes destes hormônios, até mesmo em face da alta produção destes hormônios esteróides pelo folículo ou CL.



Figura 3. Diagrama da potencial via fisiológica que pode resultar em alterações da fisiologia reprodutiva observadas em vacas leiteiras em lactação de alta produção.

Este modelo simples poderia potencialmente explicar alguns dos resultados descritos anteriormente. A Fig. 4 apresenta um modelo que discute as alterações em hormônios circulantes e diâmetro folicular e lúteo que ocorrem em decorrência do maior metabolismo de esteróides em vacas em lactação com elevada produção de leite. Em vacas leiteiras em lactação de alta produção, a taxa de crescimento folicular poderia ser a mesma da de vacas de menor produção, mas os níveis de estradiol aumentariam mais lentamente devido ao maior metabolismo de esteróides. Assim, o estradiol continuaria aumentando até que atingisse um nível suficientemente elevado para induzir um pico de GnRH/LH. O pico de LH provavelmente ocorre em vacas leiteiras de alta produção quando o folículo atinge um diâmetro maior e provavelmente com uma concentração mais baixa de estradiol (de acordo com nossos resultados anteriores). Além disso, provavelmente a redução de estradiol ao início do estro ocorre mais rapidamente após o pico de LH devido ao metabolismo mais elevado. Assim, faz sentido supor que uma vaca de alta produção tenha um estro de duração mais curta devido ao metabolismo mais acelerado de esteróides. Desta forma, este modelo constitui uma explicação lógica e provável para as diferenças em duração do estro e para o paradoxo de níveis mais reduzidos de esteróides circulantes na presença de estruturas ovarianas de maior volume observados em vacas leiteiras em lactação. Além disso, estabelece o cenário para explicar como a maior metabolização de esteróides em vacas de alta produção de leite poderia reduzir a fertilidade. O folículo e ovócito pré-ovulatório estariam expostos a um período mais longo de pulsos elevados de LH que poderiam levar à ovulação de um ovócito

superestimulado e reduzir a fertilidade [49,59,60]. Por outro lado, a elevação mais lenta da progesterona após a ovulação também poderia contribuir para reduzir a fertilidade, como foi sugerido por outros autores [49,61,62,63]. Este modelo, entretanto, não explica como a produção muito alta de leite (> 40 kg/dia) pode resultar em drástico aumento da taxa de dupla ovulação. Nosso recente estudo sobre variações hormonais associadas com a seleção de um, dois ou três folículos dominantes em vacas leiteiras em lactação demonstra que a redução do estradiol circulante na fase próxima à seleção do folículo não é responsável por múltiplos folículos dominantes [64], como havíamos proposto originalmente [42]. Ainda assim, o nível de progesterona está reduzido e os níveis de LH e FSH aumentam próximo ao momento da seleção, fazendo com que as variações hormonais não possam ser descartadas como tendo certo papel neste processo.

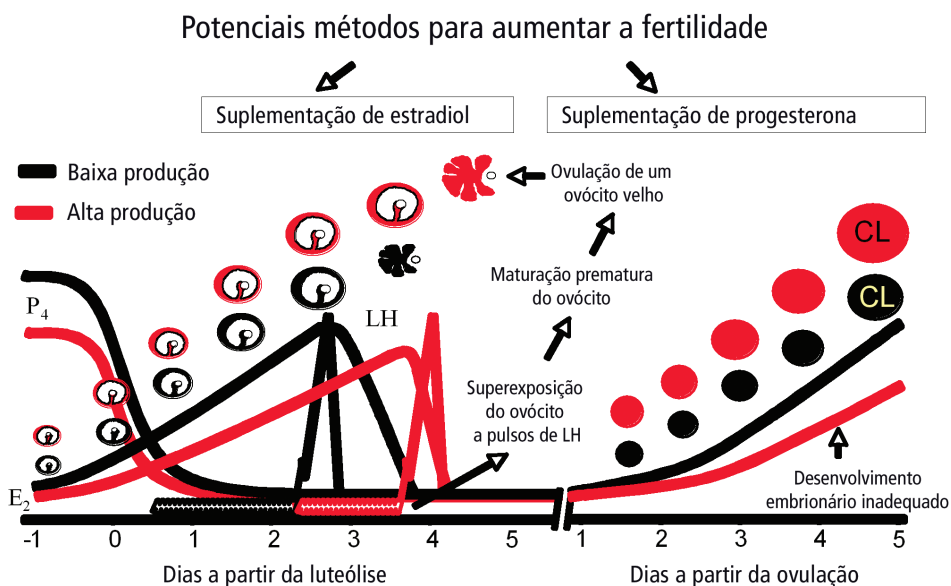


Figura 4. Modelo fisiológico demonstrando as alterações em níveis de estradiol, LH e progesterona circulantes, assim como os padrões de crescimento do folículo pré-ovulatório e do CL em vacas leiteiras em lactação com alto ou baixo nível de produção de leite. Também são demonstradas as possíveis razões e potenciais tratamentos para a baixa fertilidade em vacas leiteiras em lactação de alta produção, de acordo com este modelo.

A participação crítica do estrógeno e da progesterona em praticamente todos os aspectos da fisiologia reprodutiva faz com que variações no metabolismo de esteróides seja uma explicação bastante atraente para as diversas alterações reprodutivas que têm sido observadas em vacas leiteiras em lactação. O maior metabolismo de esteróides é uma consequência lógica da maior atividade metabólica em vacas leiteiras em lactação. Ainda assim, são necessários dados mais definitivos que possam estabelecer a correlação entre as alterações reprodutivas ao elevado metabolismo de hormônios reprodutivos. A relevância fisiológica dos modelos nas Fig. 3 e 4 pode ser testada pela suplementação de estradiol e/ou progesterona, como pela potencial redução da atividade de enzimas hepáticas específicas que metabolizam esteróides. Outra revisão é necessária para correlacionar estes modelos e outros modelos fisiológicos com as várias pesquisas científicas, tanto antigas quanto recentes e em andamento, de suplementação de hormônios esteróides em vacas. Manipulações futuras mais práticas e eficazes da função reprodutiva de vacas leiteiras em lactação poderão então ser delineadas de maneira mais racional, à medida que os efeitos precisos do maior metabolismo de esteróides sobre a fisiologia reprodutiva em vacas leiteiras em lactação forem identificados.

IMPLICAÇÕES PRÁTICAS PARA O MANEJO REPRODUTIVO

A próxima seção irá sugerir algumas implicações práticas e estratégias de manejo reprodutivo para cada uma destas áreas.

Menor Duração do Estro Por Alta Produção de Leite

O que isto significa em termos práticos para uma granja leiteira? Usamos dados de duração do estro versus produção de leite para analisar o que aconteceria com a eficiência de detecção de estro em vacas com diferentes níveis de produção de leite. A Figura 5 demonstra a probabilidade de detectar uma vaca em cio com diferentes frequências de detecção. Caso a vaca esteja produzindo cerca de 38 kg de leite por dia, um programa de detecção de cio 4 vezes por dia irá detectar até 90% das vacas que estiverem em estro. Entretanto, este mesmo programa (4 vezes/dia) só detectará 50% das vacas em cio se estiverem produzindo mais de 45 kg/dia. O resultado fica ainda pior se a detecção do cio for feita apenas duas vezes ao dia ou uma vez ao dia. Deve-se salientar que o cálculo das probabilidades nesta análise foram baseados em comprovação da ovulação das vacas (através de ultra-sonografia). Alguns produtores podem afirmar que vacas de alta produção não ciclam, mas elas podem estar ciclando normalmente e não são detectadas, pois o período de estro é muito curto. O maior número de observações de cio pode ajudar a resolver este problema. Muitos produtores estão usando dispositivos de detecção tais como marcas de giz para detectar vacas que entram em estro fora dos períodos de observação. Esta medida pode ser crítica, pois muitas das vacas de alta produção manifestam sinais de estro durante apenas 4 horas ou menos. A maior parte dos produtores nos Estados Unidos estão incorporando programas de IA em tempo fixo, tais como Ovsynch, a seus programas de manejo reprodutivo para assegurar que as vacas de alta produção sejam inseminadas.

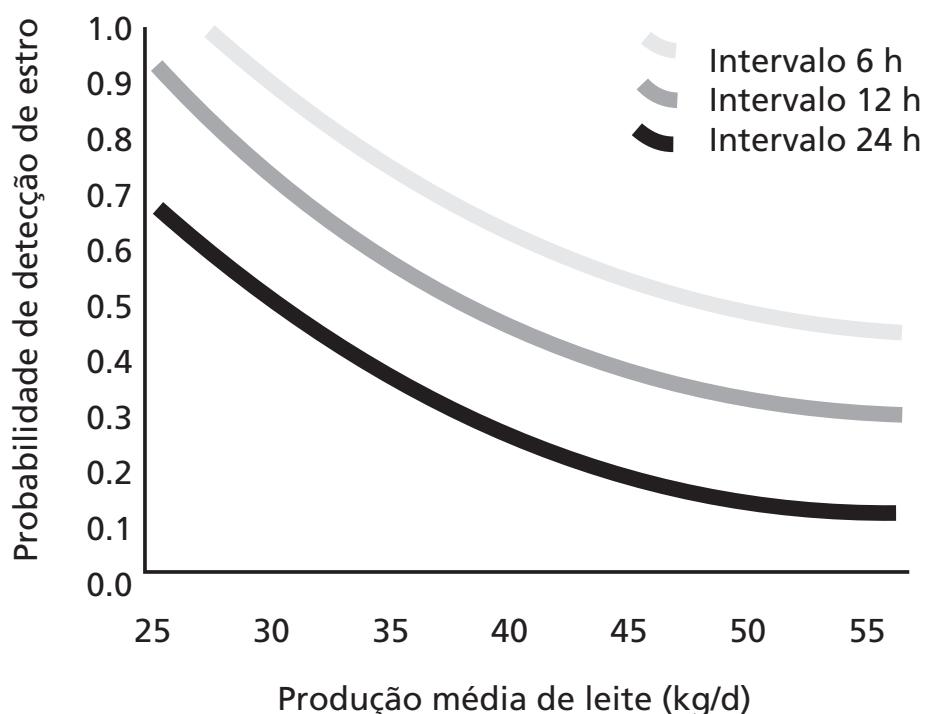


Figura 5. Variação da probabilidade de detecção de estro em função de diferentes frequências de observação de cio e diferentes níveis de produção de leite.

Tratamento de Vacas Anovulatórias

Embora o nível de produção de leite não esteja diretamente associado com incidência de anovulação, produtores leiteiros ainda precisam definir programas para o tratamento de vacas anovulatórias. Geralmente, 20% das vacas leiteiras não ciclam aos 70 dias após o parto. Esta porcentagem aumenta caso muitas das vacas do rebanho estejam com baixos escores de condição corporal (2,5 ou menos). Estas vacas precisam ser rapidamente incluídas em programa hormonal (e possivelmente também em um programa nutricional se estiverem com baixo escore de condição corporal) que fará com que estas vacas passem a ciclar. O programa Ovsynch isolado não é o tratamento ideal de vacas leiteiras que não estejam ovulando. O uso de CIDR ou estradiol deve ser incorporado ao programa para que vacas leiteiras que não estejam ciclando recebam o tratamento ideal. A idéia e os dados sobre a combinação do tratamento com estradiol com o protocolo Ovsynch serão discutidos em outra sessão desta conferência.

Aumento da Taxa de Dupla Ovulação (e de Partos Gemelares) com o Aumento da Produção de Leite

Do ponto de vista prático, parece que há pouco a ser fazer para alterar esta tendência. O uso de Ovsynch não parece aumentar ou reduzir a taxa de dupla ovulação, pois a dupla ovulação está relacionada ao nível de produção de leite, independentemente se há uso de sincronização hormonal ou estro natural. É claro que nem todas as duplas ovulações resultam em produção de gêmeos, mas o aumento da incidência de duplas ovulações certamente resulta em maior taxa de partos gemelares em granjas de alta produção. Parece que o maior aumento ocorre a partir do momento em que as vacas superam o nível de produção de 43 kg/dia. Assim, devemos antecipar este aumento dramático da taxa de dupla ovulação em vacas que estão próximas dos 45 kg/dia e maior incidência de partos gemelares em vacas que concebem durante este período de alta produção de leite. Devemos alinhar os procedimentos de manejo para acomodar esta maior produção de gêmeos se estivermos aumentando a produção de leite em nossas granjas. Primeiro, devemos ter um programa para **diagnóstico de** gestações gemelares. Segundo, devemos ter procedimentos para o manejo de vacas que podem parir gêmeos. O parto gemelar normalmente é antecipado (10-14 dias, em média) e existe maior probabilidade de problemas durante o parto. Estas vacas são geralmente as de maior produção na lactação anterior, permitindo prever o programa de partos e **manejo** em início de lactação considerando a possibilidade de partos gemelares.

Redução da Taxa de Concepção com Aumento da Produção de Leite

Como já foi discutido anteriormente, existem diferentes fatores que influem na taxa de concepção em vacas leiteiras em lactação e a maior produção de leite é apenas um destes fatores. Em muitas granjas, pode ser um dos fatores de menor impacto. O efeito da produção de leite sobre a fertilidade é drasticamente amplificado durante as épocas mais quentes do ano, pois a temperatura corporal das vacas aumenta com o aumento da produção de leite. Este aumento de temperatura corporal reduz o sucesso reprodutivo, pois resulta em mortalidade embrionária precoce.

Do ponto de vista prático, procuramos utilizar a informação de que muitos dos problemas de fertilidade em vacas leiteiras parecem ocorrer durante a primeira semana após a inseminação. Pensamos que poderíamos melhorar a eficiência reprodutiva pela transferência de um embrião de boa qualidade aos 7 dias após a data prevista para a IA. Assim, em um experimento bastante amplo, comparamos a taxa de concepção (TC) em nosso rebanho quando as vacas foram inseminadas via IA ou quando se fazia a transferência do embrião (TE). Durante 365 dias, foram coletados dados de 550 potenciais inseminações em 243 vacas holandesas em lactação (35 kg de leite/dia). As vacas foram sincronizadas (GnRH-7d-PGF2 -3d-GnRH) e aleatoriamente designadas para IA imediatamente após a segunda injeção de GnRH (dia 0) ou para receber a transferência

de um embrião 7 dias mais tarde. Os níveis de progesterona circulante e diâmetro folicular e de corpo lúteo foram determinados nos dias 0 e 7. O diagnóstico de prenhez foi realizado aos 25 ou 32 dias e as vacas prenhes foram reavaliadas nos dias 60-66. As vacas sincronizadas com uma única ovulação apresentaram resultados semelhantes para a taxa de concepção (CR) ($P>0,30$) nos dias 25-32, tanto para TE ($n=176$; 40,3%) quanto IA ($n=160$; 35,6%). A perda de prenhez entre os dias 25-32 e 60-66 também não foi diferente ($P=0,38$) para TE (26,2%) e IA (18,6%). Quando comparamos uma ovulação ($n=334$) com múltipla ovulação ($n=57$), independente de tratamento, as vacas com múltipla ovulação apresentaram níveis mais elevados ($P<0,001$) de progesterona no dia 7 (2,7 vs. 1,9 ng/ml) e houve tendência ($P=0,10$) de maior TC nas vacas com ovulações múltiplas (50,9% vs. 38,1%). Entretanto, não houve diferença em TC entre IA e TE em vacas com múltipla ovulação (50,0% vs. 51,7%). A TC tendeu a ser mais baixa para IA que TE em vacas de única ovulação que ovularam folículos menores (15 mm; 23,7 vs. 42,3%; $P=0,06$) mas não nos médios (16-19 mm; 41,2 vs. 37,3%; $P=0,81$) ou maiores (20 mm; 34,3 vs. 51,0%; $P=0,36$). Assim, TE não resultou em aumento da TC em vacas em lactação, mas diâmetro e número de folículos ovulatórios pode determinar o sucesso com estes procedimentos. Obviamente, ainda precisamos conduzir uma série de futuros experimentos para resolver estes problemas de fertilidade em vacas leiteiras em lactação.

Muitos laboratórios estão atualmente conduzindo experimentos com variações nos programas de IA em tempo fixo, que podem elevar as taxas de concepção em vacas leiteiras de alta produção. Existem inúmeras possibilidades interessantes, mas ainda não existem dados suficientes que sustentem sua recomendação. Entretanto, discutiremos uma estratégia bastante útil em outro trabalho, em que o estradiol foi incorporado ao programa Ovsynch para aumentar as taxas de concepção em vacas leiteiras em lactação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Lucy MC. Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? *J Dairy Sci* 2001;84:1277-1293.
- Royal M D, Darwash AO, Flint APF, Webb R, Woolliams JA, Lamming GE. 2000. Declining fertility in dairy cattle: changes in traditional and endocrine parameters of fertility. *Anim Sci* 2000;70:487-501.
- Washburn SP, Silvia WJ, Brown CH, McDaniel BT, McAllister AJ. Trends in reproductive performance in southeastern Holstein and Jersey DHI herds. *J Dairy Sci* 2002;85:244-251.
- Lopez H, Satter LD, Wiltbank MC. Relationship between level of milk production and estrous behavior of lactating dairy cows. *Anim Reprod Sci* 2004;81:209-223.
- Pursley JR, Wiltbank MC, Stevenson JS, Ottobre JS, Garverick HA, Anderson LL. Pregnancy rates per artificial insemination for cows and heifers inseminated at a synchronized ovulation or synchronized estrus. *J Dairy Sci* 1997;80:295-300.
- Ryan DP, Boland MP. Frequency of twin births among Holstein-Friesian cows in a warm dry climate. *Theriogenology* 1991;36:1-10.
- Santos JEP, Thatcher WW, Chebel RC, Cerri RLA, Galvao KN. The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. *Anim Reprod Sci* 2004;82-83 (Special Issue SI):513-535.
- Butler WR. Nutritional effects on resumption of ovarian cyclicity and conception rate in postpartum dairy cows. In *Fertility in the high producing dairy cow*. *Occ Publ Br Soc Anim Sci* 2001;No. 26: pp 133-145.
- Gröhn, YT, Rajala-Schultz PJ. Epidemiology of reproductive performance in dairy cows. *Anim Reprod Sci* 2000;60-61:605-614.
- Haughian, JM, Sartori R, Guenther JN, Gümen A, Wiltbank MC. Extending the postpartum anovulatory period in dairy cattle with estradiol cypionate. *J Dairy Sci* 2002;85:3238-3249.
- Lamming GE, Darwash AO. The use of milk progesterone profiles to characterize components of subfertility in milked dairy cows. *Anim Reprod Sci* 1998;52:175-190.
- Opsomer G, Coryn M, Deluyker H, de Kruif A. An analysis of ovarian dysfunction in high yielding dairy cows after calving based on progesterone profiles. *Reprod Domest Anim* 1998;33:193-204.
- Sartori R, Rosa GJM, Wiltbank MC. Ovarian structures and circulating steroids in heifers and lactating cows in summer and lactating cows and dry cows in winter. *J Dairy Sci* 2002;85:2813-2822.
- Sartori R, Haughian JM, Shaver RD, Rosa GJ, Wiltbank MC. Comparison of ovarian function and circulating steroids in estrous cycles of Holstein heifers and lactating cows. *J Dairy Sci* 2004;87:905-920.
- Staples CR, Thatcher WW, Clark JH. Relationship between ovarian activity and energy status during the early postpartum period of high producing dairy cows. *J Dairy Sci* 1990;73:938-947.
- Wiltbank MC, Gümen A, Sartori R. Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. *Theriogenology* 2002;57:21-52.
- Yaniz JL, Murugavel K, Lopez-Gatius F. Recent developments in oestrous synchronization of postpartum dairy cows with or without ovarian disorders. *Reprod Domest Anim* 2004;39:86-93.
- Ginther OJ, Kot K, Kulick LJ, Martin S, Wiltbank MC. Relationships between FSH and ovarian follicular waves during the last six months of pregnancy in cattle. *J Reprod Fertil* 1996;108:271-79.
- Savio JD, Boland MP, Hynes N, Roche JF. Resumption of follicular activity in the early post-partum period of dairy cows. *J Reprod Fertil* 1990;88:569-79.

- Ferguson JD. Diet, production and reproduction in dairy cows. *Anim Feed Sci Tech* 1996;5:173-184.
- McDougall S, Burke CR, MacMillan KL, Williamson NB. Patterns of follicular development during periods of anovulation in pasture-fed dairy cows after calving. *Res Vet Sci* 1995;58:212-216.
- Beam SW, Butler WR. Energy balance and ovarian follicle development prior to the first ovulation postpartum in dairy cows receiving three levels of dietary fat. *Biol Reprod* 1997;56:133-142.
- Roche JF, Mackey D, Diskin MD. Reproductive management of postpartum cows. *Anim Reprod Sci* 2000;60-61:703-712.
- Gong JG, Lee WJ, Garnsworthy PC, Webb R. Effect of dietary-induced increases in circulating insulin concentrations during the early postpartum period on reproductive function in dairy cows. *Reproduction* 2002;123:419-427.
- Hageman WH, Shook GE, Tyler WJ. Reproductive performance in genetic lines selected for high or average milk yield. *J Dairy Sci* 1991;74:4366-4376.
- Lopez H, Caraviello DZ, Satter LD, Fricke PM, Wiltbank MC. Relationship between level of milk production and multiple ovulations in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 2005;88:2783-2793.
- Gumen A, Guenther JN, Wiltbank MC. Follicular size and response to Ovsynch versus detection of estrus in anovular and ovular lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 2003;86:3184-3194.
- Moreira F, Orlandi O, Risco CA, Mattos R, Lopes F, Thatcher WW. Effects of presynchronization and bovine somatotropin on pregnancy rates to a timed artificial insemination protocol in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 2001;84:1646-1659.
- Santos JE, Juchem SO, Cerri RL, Galvao KN, Chebel RC, Thatcher WW, Dei CS, Bilby CR. Effect of bST and reproductive management on reproductive performance of Holstein dairy cows. *J Dairy Sci* 2004;87:868-881.
- Erb HN. High milk production as a cause of cystic ovaries in dairy cows: Evidence to the contrary. *Comp Cont Edu* 1984;6:215-219.
- Gumen A, Wiltbank MC. An alteration in the hypothalamic action of estradiol due to lack of progesterone exposure can cause follicular cysts in cattle. *Biol Reprod* 2002;66:1689-95.
- Lopez-Gatius F. Is fertility declining in dairy cattle? A retrospective study in northeastern Spain. *Theriogenology* 2003;60:89-99.
- Faust MA, McDaniel BT, Robison OW, Britt JH. Environmental and yield effects on reproduction in primiparous Holsteins. *J Dairy Sci* 1988;71:3092-3099.
- Peters MW, Pursley JR. Fertility of lactating dairy cows treated with Ovsynch after presynchronization injections of PGF_{2α} and GnRH. *J Dairy Sci* 2002;85:2403-2406.
- Hansen LB. Consequence of selection for milk yield from a geneticist's viewpoint. *J Dairy Sci* 2000;83:1145-1150.
- Xu ZZ, Burton LJ. Reproductive performance of dairy heifers after estrus synchronization and fixed-time artificial insemination. *J Dairy Sci* 1999;82:910-917.
- Sartori R, Sartor-Bergfelt R, Mertens SA, Guenther JN, Parrish JJ, Wiltbank MC. Fertilization and early embryonic development in heifers and lactating cows in summer and lactating and dry cows in winter. *J Dairy Sci* 2002;85:2803-2812.
- Harrison RO, Ford SP, Young JW, Conley AJ, Freeman AE. Increased milk production versus reproductive and energy status of high producing dairy cows. *J Dairy Sci* 1990;73:2749-2758.

- Harrison RO, Young JW, Freeman AE, Ford SP. Effects of lactational level on reactivation of ovarian function, and interval from parturition to first visual oestrus and conception in high-producing Holstein cows. *Anim Prod* 1989;49:23-28.
- Fonseca FA, Britt JH, McDaniel BT, Wilk JC, Rakes AH. Reproductive traits of Holsteins and Jerseys. Effects of age, milk yield, and clinical abnormalities on involution of cervix and uterus, ovulation, estrous cycles, detection of estrus, conception rate, and days open. *J Dairy Sci* 1983;66:1128-1147.
- Van Eerdenburg FJCM, Karthaus D, Taverne MAM, Merics I, Szenci O. The relationship between estrous behavioral score and time of ovulation in dairy cattle. *J Dairy Sci* 2002;58:1150-1156.
- Wiltbank MC, Fricke PM, Sangritasvong S, Sartori R, Ginther OJ. Mechanisms that prevent and produce double ovulations in dairy cattle *J Dairy Sci* 2000;83:2998-3007.
- Silva Del Rio N, Kirkpatrick BW, Fricke PM. Observed frequency of monozygotic twinning in lactating Holstein cows. *J Dairy Sci* 2004;87 (Suppl 1):65 [abstract].
- Kinsel ML, Marsh WE, Ruegg PL, Etherington WG. Risk factors for twinning in dairy cows. *J Dairy Sci* 1998;81:989-993.
- Fricke PM, Wiltbank MC. Effect of milk production on the incidence of double ovulation in dairy cows. *Theriogenology* 1999;52:1133-1143.
- Pursley JR, Mee MO, Wiltbank MC. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2a and GnRH. *Theriogenology* 1995;44:915-923.
- Pursley JR, Kosorok MR, Wiltbank MC. Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation. *J Dairy Sci* 1997;80:301-306.
- Inbar G, Wolfenson D, Roth Z, Kaim M, Block A, Braw-Tal R. Follicular dynamics and concentrations of steroids and gonadotropins in lactating cows and nulliparous heifers. *J Dairy Sci* 2001;84 (Suppl 1):465 [abstract].
- Ahmad N, Beam SW, Butler WR, Deaver DR, Duby RT, Elder DR, Fortune JE, Griel LC, Jones LS, Milvae RA, Pate JL, Revah I, Schreiber DT, Townson DH, Tsang PCW, Inskeep EK. Relationship of fertility to patterns of ovarian follicular development and associated hormonal profiles in dairy cows and heifers. *J Anim Sci* 1996;74:1943-1952.
- Vasconcelos JLM, Sangsritavong S, Tsai SJ, Wiltbank MC. Acute reduction in serum progesterone concentrations after feed intake in dairy cows. *Theriogenology* 2003;60:795-807.
- Grummer RR, Carroll DJ. A review of lipoprotein cholesterol metabolism: Importance to ovarian function. *J Anim Sci* 1988;66:3160-3172.
- Lucy MC. Regulation of ovarian follicular function by somatotropin and insulin-like growth factors in cattle. *J Dairy Sci* 2000;83:1635-1647.
- Parr RA, Davis IF, Miles MA, Squires TJ. Feed-intake affects metabolic-clearance rate of progesterone in sheep. *Res Vet Sci* 1993;55:306-310.
- Parr RA, Davis IF, Miles MA, Squires TJ. Liver blood flow and metabolic clearance rate of progesterone in sheep. *Res Vet Sci* 1993;55:311-316.
- Rabiee AR, Macmillan KL, Schwarzenberger F. Excretion rate of progesterone in milk and faeces in lactating dairy cows with two levels of milk yield. *Reprod Nutr Dev* 2001;41:309-319.
- Rabiee AR, Macmillan KL, Schwarzenberger F. The effect of level of feed intake on progesterone clearance rate by measuring fecal progesterone metabolites in grazing dairy cows. *Anim Reprod Sci* 2001;67:205-214.

- Sangsrivong S, Combs DK, Sartori R, Wiltbank MC. High feed intake increases blood flow and metabolism of progesterone and estradiol-17 β in dairy cattle. *J Dairy Sci* 2002;85:2831-2842.
- Sangsrivong S. Studies of steroid metabolism in dairy cattle. Ph.D. Dissertation 2002; Univ Wisconsin, Madison.
- Revah I, Butler WR. Prolonged dominance of follicles and reduced viability of bovine oocytes. *J Reprod Fertil* 1996;106:39-47.
- Ahmad N, Schrick FN, Butcher RL, Inskeep EK. Effect of persistent follicles on early embryonic losses in beef cows. *Biol Reprod* 1995;52:1129-1135
- Folman Y, Rosenberg M, Herz Z, Davidson M. The relationship between plasma progesterone concentration and conception in post-partum dairy cows maintained on two levels of nutrition. *J Reprod Fertil* 1973;34:267-278.
- Mann GE, Lamming GE. Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of the luteolytic mechanism in cows. *Reproduction* 2001;121:175-180.
- Dunne LD, Diskin MG, Boland MP, O'Farrell KJ, Sreenan JM. The effect of pre- and post-insemination plane of nutrition on embryo survival in beef heifers. *Anim Sci* 1999;69:411-417.
- Lopez H, Sartori R, Wiltbank MC. Reproductive hormones and follicular growth during development of one or multiple dominant follicles. *Biol Reprod* 2005;72:788-795.

PREVENÇÃO E TRATAMENTO DA RETENÇÃO DE PLACENTA

Milo C. Wiltbank, Ph.D.

Departamento de Ciência Leiteira

Universidade de Wisconsin-Madison

INTRODUÇÃO

A retenção de membranas fetais após o parto é um problema descrito desde os primeiros textos sobre reprodução de bovinos. Strebel, por exemplo, publicou uma revisão em 1890 avaliando a ocorrência e tratamento da retenção de placenta em animais domésticos. O problema ainda hoje é bastante significativo em muitas propriedades. Estudos publicados sobre a incidência da retenção de placenta relatam valores de 3% a 39% dos partos (Joosten et al., 1987; Laven e Peters, 1996), mas esta taxa depende da definição de retenção de placenta. Uma análise mais completa do momento em que se caracteriza a retenção de placenta está apresentada na Tabela 1.

Tabela 1. Incidência de retenção de placenta (vanWerven et al., 1992)

Duração da retenção de placenta	Parto			Geral
	1	2&3	>3	
(horas)	n=277	n=394	n=339	n=1010
>6	27%	33%	41%	34%
>8	16%	26%	30%	25%
>12	10%	20%	28%	18%
>23	8%	17%	18%	15%
>47	7%	14%	17%	13%
>71	7%	14%	14%	12%

Como se pode perceber, 1010 vacas foram avaliadas neste estudo e 34% não haviam expulsado a placenta em 6 horas após o parto. Em outras palavras, 2/3 das vacas expulsaram a placenta em um período de até 6 horas. Em outros 15% das vacas, a retenção da placenta prolongou-se por mais de 1 dia (>23 horas). Se examinarmos o efeito do número de partos, percebemos que à medida que a vaca envelhece, apresenta maior tendência de retenção de placenta. Por exemplo, 28% das vacas mais velhas (mais de 3 lactações) retiveram a placenta >12 horas. Entretanto, somente 10% das novilhas de primeira lactação retiveram a placenta por mais de 12 horas.

A conclusão deste estudo é que a retenção de placenta pode incluir qualquer vaca que não expulse a placenta em até 6 horas após o parto. Um terço (1/3) das vacas pode ser incluída nesta categoria. Caso a definição de retenção de placenta seja ampliada para 24 horas, então 15% das vacas terão sido diagnosticadas com o problema e a incidência praticamente dobra em vacas mais velhas.

O custo financeiro médio da retenção de placenta foi estimado em US\$ 285 por evento (Kimura et al., 2002). Entretanto, este custo pode variar enormemente em vacas individuais, principalmente de acordo com o número de partos. No estudo de vanWerven et al., 1992, o desempenho reprodutivo de novilhas de primeira

cria e o de vacas de segundo e terceiro partos não foi significativamente afetado pela duração da retenção de placenta. Em novilhas primíparas, não se observou nenhum ponto de corte em que o atraso da expulsão da placenta passasse a ter efeito prejudicial sobre qualquer das variáveis de produção ou reprodução medidas no estudo. Entretanto, vacas de quatro partos ou mais apresentaram o melhor desempenho reprodutivo quando expulsavam a placenta em até 6 horas. A retenção da placenta por período superior a 6 horas resultou em aumento de 17 dias até o primeiro serviço e 26 dias adicionais que as vacas estiveram abertas. Vacas mais velhas também produziram menos leite com maior duração da retenção. Tanto as vacas de segundo e terceiro partos quanto as de quatro partos ou mais apresentaram o melhor desempenho geral em todos os parâmetros testados quando as placentas eram expulsas em até 6 horas após o parto. A Tabela 2 demonstra um exemplo do tipo de dado gerado neste estudo. O único problema estatisticamente significativo em novilhas primíparas foi uma incidência ligeiramente mais elevada de mastite em animais que retiveram a placenta por mais de 6 horas (4% vs. 9% durante a primeira semana de lactação). Em vacas mais velhas, houve uma redução na produção de leite quando a placenta não foi expulsa em 6 horas. A redução na eficiência reprodutiva em vacas mais velhas que apresentaram retenção de placenta também está demonstrada. Os valores significativamente diferentes estão demonstrados em negrito. A maior parte dos estudos demonstra grandes diferenças entre granjas leiteiras quanto ao efeito da retenção de placenta sobre mastite e reprodução; entretanto, a maior parte dos estudos demonstra que vacas mais velhas geralmente têm mais problemas após retenção de placenta.

Tabela 2. Associação de vários parâmetros à retenção de placenta (por mais de 6 horas).

	Produção Leite			Descarte		Mastite	1ª Taxa Prenhez Dias		
<u>Idade</u>	<u>RP</u>	<u>n</u>	<u>(100d)</u>	<u>Geral</u>	<u>Repro</u>	<u>1ª Sem.</u>	<u>IA</u>	<u>por IA</u>	<u>Abertos</u>
Primíparas	≤6	202	2400kg	23%	20%	4%	79d	47%	109d
	>6	75	2309kg	28%	10%	9%*	76d	48%	113d
2° ou 3°	≤6	265	3256kg	18%	30%	4%	75d	44%	106d
	>6	130	3112kg*	23%	37%	6%	77d	41%	115d
4+ partos	≤6	199	3479kg	38%	24%	6%	71d	47%	95d
	>6	140	3347kg*	36%	35%	9%	88d*	41%	121d*

Entre granjas, existe alta variabilidade na incidência de RP. Algumas granjas apresentam incidência de RP de apenas 1%, enquanto em outras pode chegar a 35%. Alguns estudos observaram alta incidência de RP com efeito dramático dos tratamentos em reduzir a incidência; outros estudos, entretanto, observaram baixa incidência e nenhum efeito dos tratamentos sobre a incidência de retenção de placenta. Assim, a incidência e o impacto da retenção de placenta são altamente variáveis. A idade da vaca e fatores específicos de cada granja são obviamente importantes para a manifestação da condição e para seu impacto sobre produção e reprodução.

CAUSAS E PREVENÇÃO DA RETENÇÃO DE PLACENTA

A placenta deve permanecer fortemente aderida ao útero materno para manter a troca de nutrientes e oxigênio necessários para uma gestação normal. Entretanto, as membranas fetais devem ser rapidamente liberadas no momento do parto para que ocorra uma expulsão normal. Obviamente, este processo de descolamento da placenta deve ser cuidadosamente controlado para permitir a manutenção de sua função até o momento adequado de sua expulsão.

Foram identificados vários fatores de risco para a retenção de placenta. Por exemplo: aborto, natimortos, partos gemelares, distocia, indução do parto, distúrbios metabólicos e curta duração da gestação foram associados à maior incidência de retenção de placenta (Laven e Peters, 1996). Mesmo assim, somente um terço dos casos de retenção de placenta estão associados a estes fatores de risco. Gestação e parto normal ainda podem estar associados a uma incidência surpreendentemente elevada de retenção de placenta. Por exemplo, em um estudo de incidência geral de 6,6% de retenção de placenta, as vacas que pariram normalmente e que não tinham nenhum outro problema de saúde identificado, ainda assim apresentaram uma incidência de 4,1% (Joosten et al., 1987; 1991). Desta forma, embora existam claros fatores de risco para a RP, muitos dos problemas com esta condição ocorrem em animais aparentemente fora dos grupos de risco.

Alguns autores sugeriram que a falta de contratilidade uterina poderia ser a causa primária da retenção de placenta. Entretanto, trabalhos recentes indicam que a contratilidade uterina, embora ligeiramente reduzida em vacas com retenção de placenta, parece ser suficiente para a expulsão das membranas fetais. Dados recentes sugerem que a principal causa da retenção de placenta pode ser a não degradação dos pontos de adesão entre carúncula-cotilédone e não a falta de contratilidade uterina (Lavern e Peters, 1996; Davies et al., 2004; Martins et al., 2004).

Para procurar identificar possíveis causas da retenção de placenta, discutiremos 5 causas já bem caracterizadas do problema. O modelo apresentado poderá facilitar a compreensão destas causas da retenção de placenta em base no atual corpo de evidências disponível. Finalmente, este modelo será usado para explicar a retenção de placenta em cada um destes casos e para a formulação de programas de prevenção.

Cinco condições associadas à retenção de placenta

1. Endocruzamento ou similaridade genética entre vaca e bezerro: Quando a vaca e seu bezerro apresentam compatibilidade ou identidade de MHC classe I (complexo principal de histocompatibilidade), existe uma alta probabilidade de RP (Joosten et al., 1991).
2. Indução de parto com prostaglandina F2 α : Quando as vacas foram tratadas com PGF2 α no dia 276 de gestação, o parto ocorreu precocemente (em 44 \pm 2 horas após o tratamento, em comparação a 163 \pm 30 horas em controles). Entretanto, houve alta incidência de retenção de placenta (86%) com tempo médio de retenção de 153 \pm 25 horas (Rasmussen et al., 1996). Esta elevada taxa de retenção de placenta não foi reduzida pela elevação das concentrações de E2 (50 mg de benzoato de estradiol).

Figura 1. Variação nos níveis de hormônios séricos em vacas com retenção de placenta (RP; triângulos) ou sem retenção de placenta (NRP; quadrados).

3. Alto nível de stress antes do parto: Vacas expostas a lotação excessiva, transporte ou outras formas de stress têm maior probabilidade de apresentar incidência elevada de retenção de placenta. Peters e Bosu demonstraram em 1987 que o hormônio mais frequentemente associado à RP era o cortisol, quando os níveis estavam elevados durante os 5 dias anteriores ao parto. A Figura 1 demonstra os resultados de um estudo conduzido no Brasil sobre hormônios séricos e RP (Wischnal et al., 2001). Claramente, os níveis de progesterona não foram diferentes nos grupos RP e NRP, indicando que a variação nas concentrações de progesterona não é causa subjacente de RP. Os níveis de estradiol também não variaram antes do parto, indicando que não têm atuação como causa primária de retenção de placenta. Após o parto, os níveis variaram provavelmente devido ao fato de a placenta continuar funcional e intacta nestas vacas. Por outro lado, a concentração de cortisol antes do parto era duas vezes mais elevada nas vacas RP, sugerindo que este pode ser um componente importante do processo de RP.

4. Indução do parto com dexametasona ou outros glicocorticóides de ação prolongada: A indução do parto com dexametasona resulta em boa previsão do momento do nascimento (30-48 horas depois), mas resulta em taxa inaceitavelmente elevada de retenção de placenta (50-90%).
5. Baixos níveis de selênio ou vitamina E: Em vacas com baixos níveis séricos de selênio ou vitamina E observa-se significativo aumento de retenção de placenta (LeBlanc et al., 2004; Allison e Laven, 2000).

Modelo de Expulsão Normal e Tardia da Placenta

A Figura 2 mostra os eventos iniciais no processo de parto. O cortisol fetal é o primeiro fator desencadeante crítico deste processo. Este aumento de cortisol provém da glândula adrenal fetal. A glândula adrenal fetal é estimulada pelo ACTH decorrente da maturação do hipotálamo fetal e do eixo do stress próximo ao momento previsto para o parto. Neste processo, o cortisol fetal atinge um nível crítico ao redor de 30 horas antes do parto normal. Deve-se salientar que este aumento dos níveis séricos de cortisol é observado somente do lado da circulação fetal. Qualquer aumento do cortisol sérico do lado da circulação materna é devido à produção de cortisol pela glândula adrenal materna.

Existe uma população de grandes granulócitos binucleados no trofoectoderma (lado fetal) da placenta que desempenha um papel crítico no processo de parto. Estas células produzem lactogênio placentário e glicoproteínas associadas à gestação. São responsáveis por 15-20% das células do trofoectoderma ovino e bovino durante a maior parte da gestação, mas ocorre uma queda dramática em seu número nos momentos que antecedem o parto, simultaneamente à elevação do cortisol fetal (Ward et al., 2002). A adrenalectomia fetal inibe a migração normal e a redução do número de células binucleadas. Por outro lado, o tratamento do feto com cortisol exógeno antes do momento previsto para o parto causa a migração prematura das células binucleadas e redução de seu número (Wooding et al., 1986; Ward et al., 2002). Assim, o aumento do cortisol resulta em migração das células binucleadas do lado fetal da placenta para o lado materno. À medida que estas células migram e sofrem degranulação, ocorre um pico acentuado na concentração de lactogênio placentário e outras proteínas específicas da gestação. Estas células se fundem ao epitélio endometrial e expressam MHC classe I em sua superfície. Antes deste momento, praticamente não há expressão de MHC classe I nos placentomas bovinos e nas células do epitélio endometrial. A porção de vilos/crietas do placentoma é a área de adesão e troca de nutrientes. A expressão de MHC classe I nestas áreas é praticamente nula antes da migração e degranulação destas células binucleadas (Davies et al., 2000). Existe, entretanto, expressão de MHC classe I em outras regiões da placenta, como entre os placentomas. Os mecanismos que inibem a expressão de MHC classe I nas crietas placentárias até o momento do parto ainda não foram identificados, mas são provavelmente críticos para a expulsão da placenta no momento adequado.

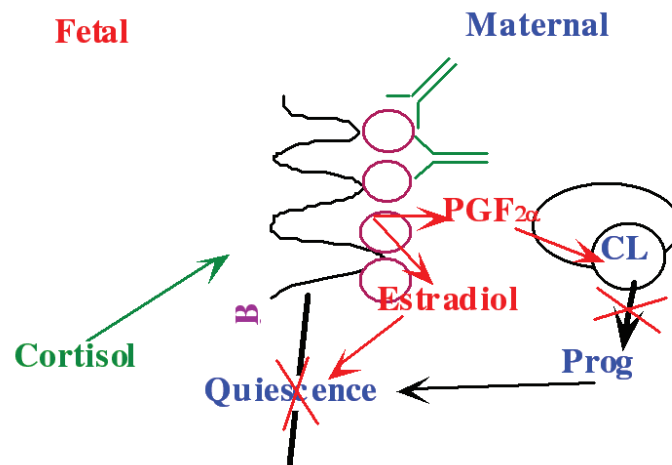


Figura 2. O cortisol fetal inicia o trabalho de parto. Antes do parto, a progesterona do CL impede que o útero se contraia. O cortisol induz a migração de células binucleadas para a placenta materna. Estas células secretam $\text{PGF}_{2\alpha}$, que leva à regressão do CL. O nível de progesterona cai e o de estradiol se eleva, desencadeando as contrações uterinas. À medida que cai o nível de progesterona e o de estradiol se eleva e ocorre o início da expressão dos antígenos do MHC classe I nas criptas placentárias (provavelmente decorrente da migração e fusão de células binucleadas), o sistema imune materno ataca a placenta e rejeita este tecido, resultando em degradação e expulsão.

Gunnink, em 1984, foi o primeiro cientista a sugerir que a resposta imune inflamatória era responsável pela separação normal da placenta. Estes elegantes estudos demonstraram que os placentomas bovinos secretam um fator quimiotático que atrai leucócitos (potencialmente monócitos; Kimura et al., 2002). Além disso, os autores observaram que vacas com retenção de placenta produziam menos fator quimiotático e que os leucócitos de vacas com retenção de placenta eram muito menos responsivos a este fator placentário. Estudos mais recentes (Kimura et al., 2002), demonstraram que os neutrófilos provavelmente estão envolvidos com a rejeição imune da placenta e que vacas com RP apresentavam redução da função dos neutrófilos. Assim, vacas com RP apresentam menor função imune placentária, o que impede sua rejeição imune e provavelmente representa a causa subjacente da RP.

Como este modelo ajuda a explicar as cinco condições que causam a retenção de placenta

1. Endocruzamento: Isto é bastante óbvio. Se as moléculas do MHC Classe I forem idênticas para mãe e bezerro, o sistema imune materno não irá reconhecer as células fetais como estranhas. Mesmo em casos em que a identidade não é completa, quanto maior a semelhança entre as moléculas do MHC Classe I da vaca e do bezerro, maior a probabilidade de retenção de placenta. Isto é óbvio, pois o sistema imune da vaca não ataca a placenta para causar sua degradação e expulsão.
2. Indução do parto com $\text{PGF}_{2\alpha}$: Este aspecto também é bastante evidente. O tratamento com $\text{PGF}_{2\alpha}$ antes do momento normal previsto para o parto leva à regressão do corpo lúteo. A regressão do corpo lúteo resulta em redução das concentrações de progesterona e inicia o trabalho de parto. Entretanto, o trabalho de parto não pode ser iniciado se não houver elevação dos níveis de cortisol na circulação fetal. Portanto, não haverá migração de células binucleadas para a circulação materna. A falta da migração impede a expressão de MHC Classe I nas criptas placentárias e o sistema imune materno não poderá rejeitar a placenta fetal no momento do parto. Em outras palavras, os estágios finais da maturação placentária não ocorrem devido à indução do parto com $\text{PGF}_{2\alpha}$ sem a migração das células binucleadas.

3. Stress: Esta parece ser uma causa importante de retenção de placenta em muitos rebanhos leiteiros. Ainda assim, fica difícil explicar como o aumento do cortisol materno resulta em maior incidência de retenção de placenta. Obviamente, maior nível de stress resulta em aumento do cortisol sérico, que é o marcador hormonal clássico de stress. Altos níveis de cortisol inibem a resposta imune de forma significativa, o que impede a rejeição de transplantes de tecidos e medula óssea. Infelizmente, nesta situação, as altas concentrações de cortisol no lado materno da circulação atuam inibindo a rejeição da placenta pelo sistema imune materno. Assim, stress com elevação significativa do cortisol durante a semana anterior ao parto inibe a rejeição da placenta, aumentando a frequência de retenção.

O mecanismo descrito acima se baseia em lógica fisiológica, mas ainda não foi experimentalmente testado. Ainda assim, parece explicar o que tenho observado em casos de campo de retenção de placenta. Granjas leiteiras cujas vacas são expostas a altos níveis de stress durante o período pré-parto imediato parecem ter maior probabilidade de alta taxa de retenção de placenta. Veterinários que procuram reduzir a incidência de retenção de placenta em granjas leiteiras precisam avaliar a situação das vacas nas baias de transição antes do parto. Em outras palavras, precisam identificar o nível de stress a que as vacas são expostas na semana que antecede o parto. O veterinário deve avaliar a situação com a atenção voltada a possíveis fontes de stress. O instinto das vacas é o de se esconder de pessoas e outros animais durante o trabalho de parto. Será que a vaca estará estressada quando se aproxima o parto? Seus níveis de cortisol são altos ou baixos? Uma mesma situação pode ser estressante para uma vaca (elevando seu cortisol), mas não ser percebida como fonte de stress por outra vaca.

4. Indução do parto com dexametasona: Pode parecer que a razão da retenção de placenta neste caso seria a mesma que no caso da indução precoce com prostaglandina F₂ α . Entretanto, o caso não é o mesmo. O tratamento da vaca com uma injeção de dexametasona também eleva a concentração de dexametasona na circulação fetal, pois este hormônio atravessa rapidamente a placenta. Assim, é semelhante aos experimentos descritos acima, em que o feto foi tratado com cortisol, que induziu o parto prematuramente. Entretanto, como mencionado acima, o tratamento do feto com cortisol desencadeia a migração das células binucleadas da circulação fetal para a materna (Wooding et al., 1986; Ward et al., 2002), expondo o sistema imune materno aos antígenos que causam rejeição e expulsão normal da placenta. Infelizmente, a dexametasona também está presente em concentrações muito elevadas na circulação materna após injeção intramuscular. Sabe-se que estas altas concentrações inibem o sistema imune materno. Assim, a retenção de placenta varia em vacas induzidas com dexametasona em comparação à indução com PGF₂ α . Com PGF₂ α , a indução precoce do parto sem migração das células binucleadas impede a rejeição imune materna da placenta, enquanto com dexametasona, as células binucleadas migram, mas o sistema imune materno está inibido pela alta concentração de glicocorticóide na circulação.

Em base neste modelo tão claro, pareceria provável que pudéssemos desenvolver um método para induzir o parto de forma que ocorra em um período consistente, porém sem o problema da retenção de placenta (CalfSynch). Infelizmente, ainda não foi possível. A indução da migração de células binucleadas sem inibição do sistema imune materno pode parecer simples, mas tem sido surpreendentemente difícil de obter na prática.

5. Baixos níveis de selênio ou vitamina E: Este problema nutricional pode claramente causar retenção de placenta. Sabe-se que o selênio e a vitamina E são essenciais para a função adequada do sistema imune. Assim, qualquer deficiência nutricional que deprima a função imune poderia aumentar as taxas de retenção de placenta através dos mecanismos acima discutidos.

Recentes estudos indicaram que a suplementação de vitamina E em altos níveis (pelo menos 1000 UI ao dia) durante o período seco e início de lactação pode reduzir a incidência de mastite (Alison e Laven, 2000). Possivelmente, este efeito deve-se à maior atividade e função do sistema imune. Um estudo recente avaliou a relação entre os níveis séricos peri-parto de vitamina E com a retenção de placenta e mastite clínica em início de lactação em mais de 1000 vacas leiteiras em lactação no Canadá (LeBlanc et al., 2004). Este estudo observou que para cada aumento de 1 µg/ml nos níveis de alfa-tocoferol circulante, houve uma redução de 20% na incidência da retenção de placenta. Da mesma forma, vacas com baixos níveis pré-parto de alfa-tocoferol apresentaram maior probabilidade de ter mastite clínica durante os primeiros 30 dias de lactação.

LeBlanc et al., 2002 também conduziram um amplo estudo sobre o efeito da suplementação de vitamina E antes do parto sobre a incidência de retenção de placenta. Vacas (n = 1142) foram randomizadas para receber 3000 UI de vitamina E ou placebo 1 semana antes da data prevista para o parto. Este tratamento elevou as concentrações de alfa-tocoferol circulante aos 7 e 14 dias pós-parto. De maneira geral, não houve efeito significativo deste tratamento sobre a taxa de retenção de placenta ou mastite clínica. Entretanto, as vacas com níveis limítrofes de vitamina E antes do parto (razão de massa de alfa-tocoferol sérico para colesterol $< 2,5 \times 10^{-3}$) apresentaram redução em retenção de placenta se receberam o tratamento com vitamina E. Em vacas com níveis adequados de vitamina E, não houve melhora. Os autores também relataram que as vacas primíparas foram as maiores beneficiadas pelo tratamento de vitamina E.

Em regiões em que o solo é deficiente em selênio, podem ocorrer altas taxas de retenção de placenta. O selênio é armazenado principalmente em selenoaminoácidos. Desta forma, a suplementação de selênio inorgânico na dieta pode nem sempre fornecer níveis adequados nem resultar em elevação nas concentrações “fisiológicas” de selênio antes de atingir níveis tóxicos. A suplementação de vacas com selênio orgânico ou a fertilização de pastagens com selênio melhoraram o aporte de selênio a vacas leiteiras em lactação.

Assim, este modelo fisiológico relativamente simples explica uma grande porcentagem dos casos de retenção de placenta. Também constitui uma base lógica para a prevenção e tratamento da retenção de placenta. A Figura 3 demonstra o modelo ampliado incluindo o efeito do cortisol ao inibir o sistema imune e a vitamina E ou selênio para estimular a função imune se estes fatores forem limitantes.

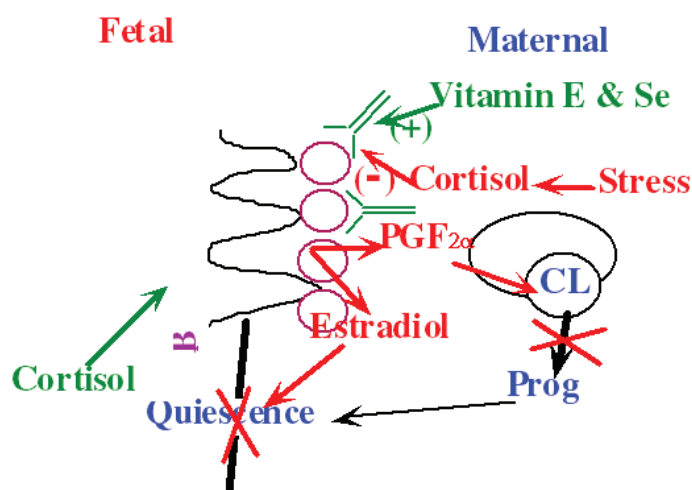


Figura 3. Modelo da Figura 2 ampliado. Se os níveis de vitamina E ou selênio forem baixos, haverá depressão da resposta imune. Se o cortisol estiver elevado na circulação materna, irá bloquear a resposta imune. Se não ocorrer a rejeição imune, poderá haver retenção de placenta.

TRATAMENTOS DA RETENÇÃO DE PLACENTA

Diversos estudos descreveram uma série de diferentes métodos de tratamento da retenção de placenta. Ainda assim, nos parece que a prevenção é uma opção muito melhor para lidar com o problema. Muitas granjas apresentam incidência extremamente baixa de retenção de placenta e, de acordo com o modelo acima, muitas das causas subjacentes de retenção de placenta podem ser evitadas com sucesso.

Um dos tratamentos mais comuns é a administração de prostaglandina F_{2α}. Há pelo menos 14 diferentes estudos científicos publicados que avaliaram o efeito de diversos produtos de PGF_{2α} sobre a retenção de placenta. Cerca de 50% destes estudos demonstraram algum nível de melhora, especialmente quando a PGF_{2α} era administrada em momento próximo ao parto (consultar Peters e Laven, 1996 e referências em Drillich et al., 2006).

Oxitocina e seus análogos também foram avaliados em muitos estudos sobre retenção de placenta. A maioria destes estudos usou doses de 50-100 UI de oxitocina. Mais uma vez, 50% destes estudos demonstraram alguma melhora, principalmente com os análogos de oxitocina de longa duração ou múltiplos tratamentos com oxitocina (consultar Peters e Laven, 1996 e referências em Drillich et al., 2006).

Vários estudos avaliaram o uso de antibióticos intra-uterinos e remoção manual da placenta, mas estas não parecem intervenções eficazes para o tratamento da retenção de placenta. Por exemplo, um recente estudo randomizou um total de 501 vacas com retenção de placenta em 4 grupos de tratamento: Referência (REF = Grupo controle; n = 131), tratamento com uma pílula intra-uterina de antibiótico (AP; n = 119), tratamento com remoção manual da placenta (MR; n = 121), ou pílula de antibiótico mais remoção manual (PR; n = 130). Todas as vacas neste estudo foram monitoradas para temperatura e caso esta se elevasse para $\geq 39,5$ °C (79,8% das vacas), elas eram tratadas com ceftiofur (1 mg/kg peso corporal) por 3-5 dias consecutivos. As vacas foram avaliadas para muitas variáveis relacionadas à reprodução (dias até o primeiro serviço, taxa de concepção ao primeiro serviço, taxa total de concepção, dias até confirmação da prenhez, % de vacas prenhes aos 200 dias em leite e % de vacas descartadas). Nenhuma destas variáveis foi significativamente afetada pelos tratamentos.

Tabela 3. Variáveis reprodutivas após diferentes tratamentos de vacas com RP (Drillich et al., 2006).

	Referência	Pílula Antibiótico	Remoção Manual	Pílula+Remoção
Dias até 1ª IA	77,0	74,0	75,5	75,0
Taxa concepção 1º serviço	32,7%	32,7%	36,1%	25,0%
Prenhe aos 200DEL	61,1%	64,7%	58,7%	52,3%
Vacas descartadas	16,0%	21,0%	19,0%	20,8%

Em base em uma série de publicações recentes e mais antigas, a atual recomendação para o tratamento da RP é não usar antibiótico intra-uterino ou remoção manual da placenta. Entretanto, todas as vacas devem ser monitoradas e tratadas com antibióticos sistêmicos. Talvez seja o caso de tratar todas as vacas com retenção de placenta com antibióticos, pois quase todas (~80%) desenvolvem febre. As vacas com febre e que foram tratadas com antibióticos sistêmicos apresentaram melhor resultado reprodutivo no estudo acima citado (Drillich et al., 2006), se comparadas a vacas com RP em que não foi detectada febre e que não foram tratadas com antibióticos.

O experimento relata outros 2 resultados significativos. Primeiro, houve um efeito altamente significativo do rebanho sobre os resultados reprodutivos. Este foi muito mais importante que o efeito do tratamento (que

não foi significativo). Além disso, houve um efeito significativo do número de partos e as vacas primíparas com RP apresentaram resultado reprodutivo muito melhor (independente do grupo de tratamento) que vacas mais velhas com RP. Isto é consistente com a discussão apresentada na primeira parte deste manuscrito, de que vacas com maior número de partos têm maior probabilidade de apresentar RP e que esta tenha consequências sobre a produção e a reprodução.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Allison RD, Laven RA, 2000. Effect of vitamin E supplementation of the health and fertility of dairy cows: a review. *Veterinary Record* 147:703-708.
- Bainbridge DRJ, Sargent IL, Ellis SA, 2001. Increased expression of major histocompatibility complex (MHC) class I transplantation antigens in bovine trophoblast cells before fusion with maternal cells. *Reproduction* 122:907-913.
- Davies CJ, Fisher PJ, Schlafer DH, 2000. Temporal and regional regulation of major histocompatibility complex class 1 expression at the bovine uterine/placental interface. *Placenta* 21:194-202.
- Davies CJ, Hill JR, Edwards JL, Schrick FN, Fisher PJ, Eldridge JA, Schlafer DH, 2004. Major histocompatibility antigen expression on the bovine placenta: its relationship to abnormal pregnancies and retained placenta. *Animal Reproduction Science* 82-83:267-280.
- Drackley JK, Dann HM, Douglas GN, Guretzky NAI, Litherland NB, Underwood JP, Loor JJ, 2005. Physiological and pathological adaptations in dairy cows that may increase susceptibility to periparturient diseases and disorders. *Italian Journal of Animal Science* 4:323-344.
- Drillich M, Mahlstedt M, Reichert U, Tenhagen A, Heuwieser W, 2006. Strategies to improve the therapy of retained fetal membranes in dairy cows. *J. Dairy Science* 89:627-635.
- Joosten I, Hensen EJ, 1992. Retained placenta – an immunological approach. *Animal Reproductive Science* 28:451-461.
- Joosten I, Sanders MF, Hensen EJ, 1991. Involvement of major histocompatibility complex class-1 compatibility between dam and calf in the etiology of bovine retained placenta. *Animal Genetics* 22:455-463.
- Kimura K, Goff JP, Kehrli Jr ME, Reinhardt TA, 2002. Decreased neutrophil function as a cause of retained placenta in dairy cattle. *J. Dairy Science* 85:544-550.
- Laven RA, Peters AR, 1996. Bovine retained placenta: aetiology, pathogenesis and economic loss. *Veterinary Record* 139:465-471.
- LeBlance SJ, Duffield TF, Leslie KE, Bateman KG, TenHag J, Walton JS, Johnson WH, 2002. The effect of prepartum injection of vitamin E on health in transition dairy cows. *J. Dairy Science* 85:1416-1426.
- LeBlance SJ, Herdt TH, Seymour WM, Duffield TF, Leslie KE, 2004. Peripartum serum vitamin E, retinol, and beta-carotene in dairy cattle and their associations with disease. *J. Dairy Science* 87:609-619.
- Martins VMV, Marques Junior AP, Vasconcelos AC, Martins E, Santos RL, Lima FPC, 2004. Placental maturation and expulsion in Holstein and Nelore cows. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 56:157-167.
- Peters AR, Laven RA, 1996. Treatment of bovine retained placenta and its effects. *Veterinary Record* 139:535-539.
- Rasmussen FE, Wiltbank MC, Christensen JO, Grummer RR, 1996. Effects of fenprostalene and estradiol-17 benzoate on parturition and retained placenta in dairy cows and heifers. *J. Dairy Science* 79:227-234.
- Risco CA, Hernandez J, 2003. Comparison of ceftiofur hydrochloride and estradiol cypionate for metritis prevention and reproductive performance in dairy cows affected with retained fetal membranes. *Theriogenology* 60:47-58.
- Ward JW, Wooding FBP, Fowden AL, 2002. The effects of cortisol on the binucleate cell population in the ovine placenta during late gestation. *Placenta* 23:451-458.
- Wischral A, Verreschi ITN, Lima SB, Hayashi LF, Barnabe RC, 2001. Per-parturition profile of steroids and prostaglandin in cows with or without foetal membrane retention. *Animal Reproduction Science* 67:181-188.

ALTO TEOR DE FORRAGEM OU ALTO TEOR DE GRÃOS PARA VACAS NO PERÍODO DE TRANSIÇÃO PRÉ-PARTO?

Ric R. Grummer e Amy Kulick

Department of Dairy Science, University of Wisconsin-Madison

INTRODUÇÃO

Atualmente há uma grande polêmica nos Estados Unidos com relação à nutrição das vacas no período de transição pré-parição. Durante várias décadas recomendou-se aumentar o fornecimento de concentrado (grãos) nas últimas três semanas antes da parição. Nos Estados Unidos costumamos dizer que estamos “aquecendo” a vaca antes da parição ou que devemos oferecer uma dieta “quente” antes da parição. O termo foi cunhado por Robert Boutflour que, durante o World Dairy Congress (1928), propôs pela primeira vez a ração “quente” como forma de driblar “descuidos na preparação das vacas para o período de lactação”. O termo pretendia fazer uma analogia com a preparação de um debulhador a vapor. Basicamente, a lógica por trás desta estratégia nutricional consistia em adaptar os microorganismos ruminais às dietas mais ricas em grãos que poderiam ser oferecidas à vaca após o parto. Com o uso desta prática acreditava-se que as vacas estariam menos propensas a recusar ração ou a desenvolver acidose ruminal. Nas décadas seguintes, surgiram outras razões para preparar as vacas antes da parição, entre elas: maximização da ingestão de matéria seca, fornecimento de maior quantidade de propionato para dar suporte à gliconeogênese e reduzir a mobilização de gordura do tecido adiposo, e aumento no comprimento das papilas ruminais para promover a absorção de ácidos graxos voláteis no rúmen. Entretanto, atualmente muitos consultores da área de nutrição e alguns cientistas recomendam o fornecimento de dietas com teor moderadamente alto de grãos durante o período de transição pré-parição. O objetivo deste estudo foi analisar os dados favoráveis ou contrários ao fornecimento de concentrado adicional nas últimas semanas que antecedem a parição.

ADAPTAÇÃO MICROBIANA

É curioso notar a ausência de pesquisas que descrevam mudanças nas populações microbianas no rúmen à medida que a vaca passa pelo período de transição ou que expliquem como essas mudanças poderão ser influenciadas pela dieta. Tal informação é extremamente necessária. Portanto, o conceito associado ao fornecimento de grãos adicionais antes da parição para facilitar a adaptação microbiana às dietas com alto teor de amido pode ser contestado simplesmente pela falta de dados para sustentar essa prática. Dados obtidos com bovinos de corte em confinamento e, em menor grau, com vacas leiteiras em lactação, sugerem que as populações microbianas requerem três semanas para atingir um nível estacionário após mudanças abruptas na dieta. Entretanto, até que ponto é fundamental facilitar a adaptação a dietas ricas em concentrado antes da parição? Há várias linhas de pensamento contrárias a tal necessidade. Primeiramente, quando o conceito de “esquentar” foi introduzido pela primeira vez, as vacas recebiam concentrado e forragem separadamente. Hoje, a maior parte dos produtores de leite oferece uma ração mista total (TMR). Quando os concentrados são oferecidos separadamente, a vaca pode consumir grandes quantidades de grãos de uma única vez. Não é o caso do fornecimento de uma TMR, que reduz o consumo de grãos durante um período de tempo mais prolongado. Portanto, há menos chances de irritar os microorganismos ruminais. Em segundo lugar, nas vacas de transição a ingestão de ração é inerentemente baixa e, conseqüentemente, é pouco provável que as vacas consumam quantidades excessivas de grãos, aumentando consideravelmente a produção de ácidos no

rúmen. Finalmente, a ingestão de ração aumenta gradativamente no período pós-parto. Conseqüentemente, as vacas são lentamente introduzidas em uma dieta mais rica em grãos quando alimentadas com TMR no período pós-parto. Em outras palavras, a adaptação pode ocorrer após a parição sempre que houver uma dieta específica para o período de lactação. Rabelo et al., (2003) forneceram dietas contendo 0,70 ou 0,75 Mcal ELI/lb nas últimas quatro semanas anteriores à parição. Após a parição, metade das vacas de cada grupo de tratamento receberam uma dieta contendo 0,75 ou 0,80 Mcal ELI/lb. Não se observou nenhum benefício nas vacas que consumiram a dieta com 0,80 Mcal ELI/lb após a parição (conforme medido através do pH ruminal ou ácidos graxos voláteis, edema do úbere ou saúde do casco) com o consumo da dieta de 0,75 Mcal ELI/lb (em comparação a 0,70 Mcal ELI/lb) antes da parição.

MAXIMIZAÇÃO DA INGESTÃO DE MATÉRIA SECA

Durante vários anos nosso grupo de pesquisa promoveu intensamente a alta ingestão de matéria seca (IMS) em vacas de transição antes da parição. Vários estudos indicam que o fornecimento de concentrado adicional (teores mais elevados de carboidrato não fibroso-CNF) antes da parição aumenta a IMS (Ver Tabela 1).

Tabela 1. Resumo de estudos recentes examinando o fornecimento de dietas com altos ou baixos teores de CNF a partir do período de secagem (Grum et al., 1996, Douglas et al., 2004) ou 3 a 4 semanas antes do parto (todos os demais estudos relacionados abaixo). Os valores com * indicam uma diferença significativa ($P < 0,05$) entre dietas com baixo e alto teor de CNF.

Estudo	CNF, % MS	FDN, % MS	IMS pré- parto, kg/d	IMS pós- parto, kg/d	Rend. leiteiro, kg/dia	TG hepático, unidades variadas
Grum et al., 1996	18	60	9,7	17,9	35,1	5,9
	28	50	11,6*	18,7	35,5	7,3
Minor et al., 1998	35	49	10,2			6,2
	44	30	13*			5,6
Mashek e Beede, 2000	35	39			37,4	
	38	35			37,4	
Keady et al., 2001	13	61	9,28	15,2	27,4	
	28	47	11,03*	15,1	28	
Holcomb et al., 2001	25	44	10,7	21,2	35,8	
	30	39	14,1*	20,5	29,9	
Doepel et al., 2001	24	52	13,9	13,3	30,9	9,8
	30	44	12,8	14,4	33,8	7,1*
Rabelo et al., 2003, 05	38	40	11,3	16,2	41,4	9,2
	45	32	13,0*	16,7	39,4	8,7
Douglas et al., 2004	24	47	15,1	21,1	40,2	5,4
	31	41	13,9	20,9	40,0	7,6
Smith et al., 2005	34	44	13,8	19,2	41,8	
	40	37	13,7	18,7	40,6	

Até hoje a comunidade científica não chegou a um consenso. A premissa associada ao fornecimento de mais grãos antes da parição baseia-se no fato de que as vacas evitariam o balanço energético negativo antes da parição, inibindo a mobilização de gordura no tecido adiposo e, conseqüentemente, reduzindo a incidência de fígado gorduroso e cetose. Embora uma comparação entre vacas com queda na ingestão de ração antes da parição e aquelas que receberam alimentação forçada antes da parição tenha corroborado esta recomendação (Bertics et al., 1992), outros estudos mais tradicionais apresentaram resultados diferentes. Durante minha palestra na conferência de 2003 mencionei duas linhas principais de evidência que não se enquadram no conceito de maximização da ingestão de ração. Em primeiro lugar, as novilhas consomem menos matéria seca que as vacas adultas em termos de porcentagem do peso corporal, embora o teor hepático de gordura seja inferior no período pós-parto (Rabelo et al., 2005). Em segundo lugar, as vacas de transição pré-parição submetidas à restrição de ração, seja pela menor oferta de ração ou pela redução no fornecimento de grãos (aumentando o teor de fibras na dieta) não apresentaram maior ocorrência de fígado gorduroso ou níveis mais elevados de cetona no sangue. (Grum et al., 1996, Rabelo et al., 2005). As curvas de IMS das novilhas e vacas com restrição de ração estavam mais lineares antes da parição, levando-nos a pensar que a magnitude da redução de ingestão de ração foi mais indicativa do teor mais elevado de ácidos graxos não-esterificados (AGNE) no sangue e de triglicérides hepáticos que a quantidade absoluta de IMS. Tal hipótese confirmaria os resultados de Bertics et al., (1992): maximização da ingestão de ração e minimização da queda de ingestão de ração. Grummer et al. (2004) compilaram dados de três estudos e confirmaram que nossa hipótese estava provavelmente correta (Figura 1, 2).

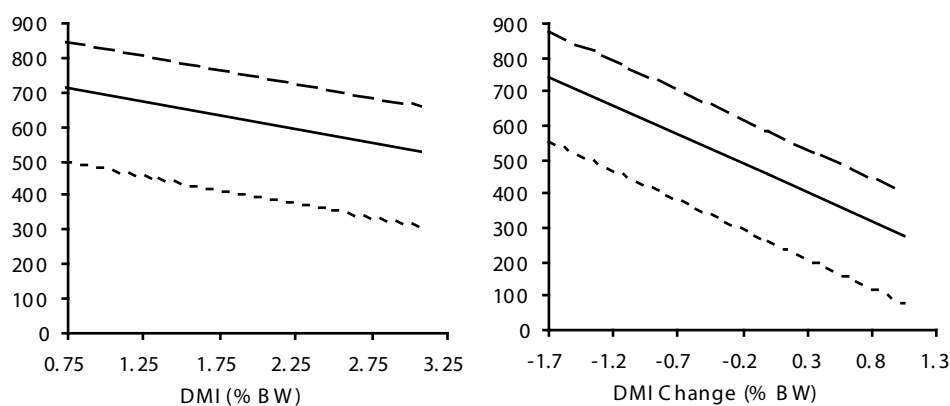


Figura 1. Efeitos da IMS pré-parição ou de alterações na IMS nas concentrações séricas de AGNE no primeiro dia após a parição.

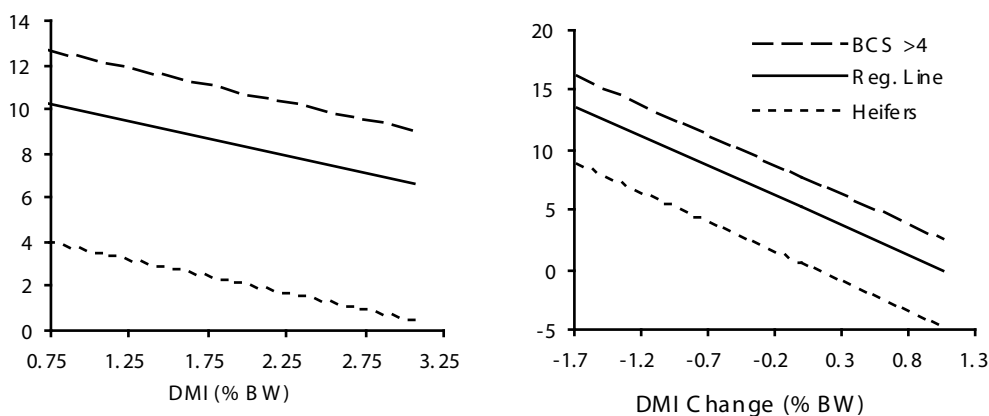


Figura 2. Efeitos da IMS pré-parição ou de alterações na IMS nas concentrações de triglicérides (TG) hepáticos no primeiro dia após a parição.

Desta forma, os produtores de leite deverão tentar evitar grandes quedas na ingestão de MS antes da parição. Embora o aumento no fornecimento de grãos não reduza, por si só, a ingestão de MS no pré-parto, acaba elevando a ingestão de ração e, conseqüentemente, aumentando o potencial de uma queda ainda maior na ingestão. As práticas de manejo que predisõem a vaca a ficar sem alimentar podem prejudicar ainda mais as vacas agressivamente alimentadas com grãos antes da parição. Tais práticas de manejo incluem mudanças na dieta ou na baia no período próximo à parição, lotação excessiva nos piquetes pré-parição ou ausência de atenuação do calor para as vacas no período pré-parição.

SUPRIMINDO A MOBILIZAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS

A maximização da IMS antes da parição está fundamentada em sua capacidade de melhorar o balanço energético e, conseqüentemente, reduzir a mobilização de ácidos graxos no tecido adiposo. Acredita-se que isso ocorra porque precursores maiores de glicose (propionato) formam-se durante a fermentação ruminal, gerando uma resposta insulínica da vaca. A insulina é anti-lipolítica, ou seja, suprime a mobilização de ácidos graxos do tecido adiposo. Se as vacas apresentarem energia negativa antes da parição, normalmente essa energia não estará tão disseminada e durará apenas alguns dias. Assim, alguns argumentam que não vale a pena formular uma dieta de transição com níveis de energia superiores ao necessário, exceto nos últimos dias antes da parição.

Na verdade, dois argumentos sugerem que, do ponto de vista metabólico, as dietas ricas em concentrado devem ser evitadas. Segundo um desses argumentos, a mobilização lipídica é um fenômeno natural presente em todos os mamíferos e faz parte de um padrão orquestrado de alteração no peso corporal para suportar a lactação (Friggens et al., 2005). Além disso, sugere-se que o fornecimento de mais concentrado não reduzirá a quantidade “normal” de lipídeos mobilizados. Um número considerável de evidências indica que o aumento da densidade energética no período pré-parto não reduzirá a incidência de Fígado gorduroso (ver Tabela 1). (O argumento contrário é o de que a suplementação de precursores de glicose (por exemplo, propileno glicol) como suplemento líquido oral reduz de fato o acúmulo de gordura no fígado durante a parição (Studer et al., 1993)). O argumento de que a mobilização de lipídeos é normal e benéfica tem sido corroborado pela sugestão de que a promoção de um grau moderado de mobilização de gordura antes da parição é benéfica por preparar o fígado para o aumento violento nos níveis plasmáticos de AGNEs e na captação de AGNEs pelo fígado durante o parto. Esse argumento foi defendido por um estudo realizado na Universidade de Illinois (Grum et al., 1996), segundo o qual o fornecimento de uma dieta que reduziu drasticamente a ingestão de ração praticamente em todo o período seco (exceto uma semana antes da parição) aumentou moderadamente os níveis séricos de AGNE durante o período seco e reduziu os TG hepáticos durante a parição. Os dados indicaram que este regime nutricional preparou o fígado para o aumento da mobilização ao elevar as taxas de oxidação e reduzir as taxas de esterificação dos ácidos graxos (ou seja, a síntese de triglicérides) no fígado. Testamos esta hipótese utilizando um modelo de indução de esteatose hepática em vacas secas distantes da parição (Rich et al., 2003). As vacas receberam 80 ou 160% das exigências energéticas dos dias 61 a 40 do período pré-parto. Em seguida, foram submetidas à restrição de ração (30% das necessidades energéticas do 39º ao 32º dia do período pré-parto). O status energético anterior não afetou o índice de triglicérides acumulado no fígado durante a restrição de ração. O conceito de preparação do fígado através de dietas ricas em fibras durante o período seco precisa ser pesquisado em maior profundidade.

Um segundo argumento contra a suplementação de concentrado durante o período de transição pré-parição é o potencial da vaca de desenvolver resistência à insulina. Proposta pela primeira vez por Holtenius et al. (1993) esta hipótese baseia-se no fato de que o fornecimento de altos níveis de concentrado pode resultar em elevação prolongada de insulina no sangue, desenvolvendo resistência à insulina. Se o tecido adiposo é mais resistente às ações da insulina (um hormônio anti-lipídico), a mobilização de ácidos graxos associada

ao parto aumentará e a vaca será mais suscetível à esteatose hepática. Os dados que fundamentam esta hipótese baseiam-se no fornecimento de altos teores de concentrado durante todo o período seco e podem estar relacionados ao desenvolvimento de vacas com condição corporal excessiva. Não se sabe se o mesmo ocorre quando altos níveis de concentrado são fornecidos por períodos mais curtos (ou seja, três semanas), quando as vacas dificilmente se tornam obesas.

ADAPTAÇÃO DO EPITÉLIO RUMINAL

Há indícios de que a suplementação de grãos durante o período de transição pré-parição é necessária para estimular o alongamento do epitélio ruminal. Teoricamente, o alongamento do epitélio ruminal deveria aumentar a capacidade de absorção de ácidos graxos voláteis (AGV) produzidos durante a fermentação ruminal. Após a parição, à medida que a ingestão de ração e de grãos aumenta, a produção de AGV também aumenta. Se não forem eficientemente eliminados do rúmen, o pH cairá e a vaca estará mais suscetível à acidose clínica ou subclínica. Um estudo frequentemente citado na literatura defende o fornecimento de grãos durante o período de transição pré-parição para promover o alongamento de papilas ruminais (Dirksen et al., 1985). Entretanto, esses experimentos foram conduzidos em duas vacas que sofreram mudanças drásticas no teor de fibras na dieta para gerar uma resposta no crescimento das papilas (aproximadamente 32 a 11% de fibra bruta). As vacas passaram de uma dieta rica em palha para uma dieta específica para o período de lactação. Além disso, a ingestão de matéria seca nunca foi relatada no experimento. Muito provavelmente, mudanças na ingestão de energia - muito mais do que mudanças na relação forragem:concentrado - foram responsáveis pelas alterações no comprimento das papilas. Estudos posteriores que analisaram mudanças mais típicas apresentadas por vacas de granjas leiteiras comerciais não confirmaram a substituição de concentrados por forragens com a finalidade de alongar as papilas e aumentar a capacidade de absorção ruminal (Anderson et al., 1999; Reynolds et al., 2004). Por exemplo, Reynolds et al. (2004) não observaram nenhuma mudança nas papilas de vacas secas alimentadas com uma dieta contendo 25% de palha de cevada picada, 15% de silagem de milho, 45% de silagem de gramíneas e 15% de concentrado e que passaram a receber durante a parição uma dieta contendo 43% de silagem de milho, 14% de silagem de gramíneas e 43% de concentrado. Anderson et al. (1999) ofereceram o mesmo nível energético nas últimas quatro semanas de gestação, seja na forma de silagem à base de gramíneas ou de uma pequena quantidade de silagem de gramíneas (à tarde) e aproximadamente 4 kg/dia de cevada pela manhã e não observaram nenhuma alteração no epitélio ruminal. Portanto, tudo indica que a suplementação de concentrado para promover o desenvolvimento do epitélio ruminal é garantida somente na presença de mudanças drásticas na dieta durante a transição de uma vaca do período seco para o período de lactação.

MAIOR RENDIMENTO LEITEIRO

Se o aumento nos níveis de concentrado durante o período de transição pré-parição reduz a incidência de fígado gorduroso (esteatose hepática) através da supressão da mobilização de ácidos graxos, adaptação microbiana a dietas mais ricas em CNF e maior absorção de AGV no rúmen e, posteriormente, menor incidência de acidose, espera-se que o desempenho na lactação seja melhor na lactação seguinte. A Tabela 1 contém um resumo das respostas de rendimento leiteiro ao aumento no fornecimento de concentrado em estudos realizados nos últimos 10 anos. Em nenhum dos nove estudos houve efeito significativo na produção de leite. Embora cada um dos estudos tenha sido conduzido com um número limitado de vacas, os estudos como um todo indicam que o teor de CNF (carboidrato não fibroso) nas dietas das vacas secas não afeta o rendimento leiteiro posterior.

CONCLUSÕES

Basicamente, não há evidências indicando que as dietas para vacas em período de transição pré-parição devam conter níveis elevados de concentrado, por exemplo, entre o nível oferecido a vacas secas distantes da parição e vacas recém paridas em lactação. Algumas evidências desaconselham grandes reduções na ingestão de ração antes da parição. Entretanto, é mais provável que isto esteja associado a problemas de manejo (mudanças abruptas na dieta imediatamente antes da parição, lotação excessiva nas baias, espaço inadequado no comedouro, ausência de alimentação à vontade e de atenuação de calor, etc.) e não necessariamente ao fornecimento de dietas com relação CNF:FDN inadequada. Dietas de má qualidade devem ser evitadas (por exemplo, de densidade energética inferior à recomendada pelo NRC em 2001 para vacas secas distantes da parição), caso a mudança na dieta durante a parição seja drástica demais e cause problemas de recusa de ração nas vacas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anderson, J. B., J. Seasted e K. L. Invartsen. 1999. Effect of dry cow feeding strategy on rumen pH, concentration of volatile fatty acids and rumen epithelium development. *Acta. Agric. Scand.* 49:149.
- Bertics, S. J., R. R. Grummer, C. Cadorniga-Valino, D. W. LaCount e E. E. Stoddard. 1992. Effect of prepartum dry matter intake and liver triglyceride concentration and early postpartum lactation. *J. Dairy Sci.* 75:1914.
- Boutflour, R. B. 1928. Limiting factors in the feeding and management of milk cows. Rep. World's Dairy Congress. Página 15.
- Dirksen, G., H. G. Liebich, and E. Mayer. 1985. Adaptive changes of the ruminal mucosa and their functional and clinical significance. *Bovine Pract.* 20:116-120.
- Douglas, G. N., T. R. Overton, H. G. Bateman e J. K. Drackley. 2004. Periparturient metabolism and production of Holstein cows fed diets supplemented with fat during the dry period. *J. Dairy Sci.* 87:4210-4220.
- Friggens, N. C., J. B. Anderson, T. Larsen, O. Aaes e R. J. Dewhurst. 2005. Priming the dairy cow for lactation: a review of dry cow feeding strategies. *Anim. Res.* 53:453-473.
- Grum, D. E., J. K. Drackley, R. S. Younger, D. W. LaCount e J. J. Veenhuizen. 1996. Nutrition During the Dry Period and Hepatic Lipid Metabolism of Periparturient Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 79(10):1850-1864.
- Grummer, R. R., D. G. Mashek e A. Hayirli. 2004. Dry matter intake and energy balance in the transition period. Páginas 447-470 in *Managing the Transition Cow to Optimize Health and Productivity. Veterinary Clinics of North America*. N. B. Cook e K. V. Nordlund, eds. W. B. Saunders Co., Philadelphia, PA.
- Holcomb, C. S., H. H. Van Horn, H. H. Head, M. B. Hall e C. J. Wilcox. 2001. Effects of Prepartum Dry Matter Intake and Forage Percentage on Postpartum Performance of Lactating Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 84(9):2051-2058.
- Holtenius, P., G. Olsson, and C. Bjorkman. 1993. Periparturient concentrations of insulin glucagon and ketone bodies in dairy cows fed two different levels of nutrition varying concentrate/roughage ratios. *J. Vet. Med. A* 40:118-127.
- Keady, T. W. J., C. S. Mayne, D. A. Fitzpatrick e M. A. McCoy. 2001. Effect of Concentrate Feed Level in Late Gestation on Subsequent Milk Yield, Milk Composition, and Fertility of Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 84(6):1468-1479.
- Doepel, L., H. Lapierre e J. J. Kennelly. 2002. Peripartum Performance and Metabolism of Dairy Cows in Response to Prepartum Energy and Protein Intake. *J. Dairy Sci.* 85(9):2315-2334.
- Mashek, D. G. e D. K. Beede. 2000. Peripartum Responses of Dairy Cows to Partial Substitution of Corn Silage with Corn Grain in Diets Fed During the Late Dry Period. *J. Dairy Sci.* 83(10):2310-2318.
- Minor, D. J., S. L. Trower, B. D. Strang, R. D. Shaver e R. R. Grummer. 1998. Effects of Nonfiber Carbohydrate and Niacin on Periparturient Metabolic Status and Lactation of Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 81(1):189-200.
- Rabelo, E., R. L. Rezende, S. J. Bertics e R. R. Grummer. 2003. Effects of transition diets varying in dietary energy density on lactation performance and ruminal parameters of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86:916-925.
- Rabelo, E., R. L. Rezende, S. J. Bertics e R. R. Grummer. 2005. Effects of pre- and postfresh transition diets varying in dietary energy density on metabolic status of periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 88: 4375-4383.

- Reynolds, C. K., B. Durst, B. Lupoli, D. J. Humphries e D. E. Beever. 2004. Visceral tissue mass and rumen volume in dairy cows during the transition from late gestation to early lactation. *J. Dairy Sci.* 87:961-971.
- Rich, M. C., S. J. Bertics, D. G. Mashek e R. R. Grummer. 2003. Effect of parity and prior energy intake on development of fatty liver during feed restriction in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 86 (Suppl. 1):223. Abstract.
- Smith, K. L., M. R. Waldron, J. K. Drackley, M. T. Socha e T. R. Overton. 2005. Performance of dairy cows as affected by prepartum dietary carbohydrate source and supplementation with chromium throughout the transition period. *J. Dairy Sci.* 88:255-263.
- Studer, V. A., R. R. Grummer, S. J. Bertics e C. K. Reynolds. 1993. Effect of prepartum propylene glycol on periparturient fatty liver in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 76:2931.

FATORES QUE AFETAM A PROPORÇÃO ENTRE SEXOS AO NASCIMENTO EM BOVINOS LEITEIROS

Melissa Macfarlane, Angela Maschari e Richard Pursley

Departamento de Zootecnia

Michigan State University

Esta apresentação enfoca dados coletados ao longo dos últimos 3 anos. Estes dados indicam a possibilidade de que o tempo que o espermatozóide espera no trato reprodutivo de uma vaca, antes da ovulação, pode resultar em um desvio na proporção esperada de ~1:1 entre os sexos na progênie. Assim, gostaríamos de compartilhar com vocês a nossa hipótese sobre o motivo da ocorrência deste fenômeno: “o espermatozóide X tem uma sobrevivência funcional mais longa, dando-lhe uma vantagem em relação ao espermatozóide Y na sua ligação com as células epiteliais do oviduto, permanecendo ligado a estas células ao longo do tempo, ou ambos”. Trazemos também uma revisão da literatura que discute os conhecimentos sobre as diferenças entre os espermatozóides que trazem cromossomos X e Y e que, em parte, nos levaram a formular esta hipótese.

INTRODUÇÃO

Os espermatozóides bovinos são os gametas masculinos e são responsáveis pela metade da informação genética da progênie. Cada espermatozóide contém 29 autossomos e um cromossomo sexual. O espermatozóide que traz o cromossomo X (espermatozóide X) produz fêmeas e o espermatozóide que traz o cromossomo Y (espermatozóide Y) produz machos. Os espermatozóides são introduzidos no trato reprodutivo feminino, ou na vagina na monta natural ou no útero durante a inseminação artificial. Depois de introduzidos, os espermatozóides precisam percorrer o trato reprodutivo inferior até o oviduto, onde formam um reservatório no istmo e aguardam a ovulação. Os espermatozóides são liberados do reservatório espermático em resposta a secreções do oviduto ao redor do momento da ovulação. Uma vez ocorrida a ovulação, um espermatozóide precisa penetrar no oócito para que ocorra a fertilização. O interesse na manipulação do sexo da progênie levou a estudos sobre diferenças entre espermatozóides X e Y, métodos para detectar estas diferenças e métodos para separar os espermatozóides com base nestas diferenças.

DIFERENÇAS ENTRE OS ESPERMATOZÓIDES COM CROMOSSOMO X E COM CROMOSSOMO Y

As diferenças entre os espermatozóides X e Y estão divididos em duas categorias: cromossomos diferentes e expressões genéticas diferentes. As diferenças nos cromossomos estão ligadas a diferenças no conteúdo do DNA e os tipos e números de genes. Estas diferenças podem ser manifestadas por diferentes expressões genéticas, que poderiam resultar em diferenças na estrutura e função do espermatozóide ou em ambas.

Um possível ponto de variação entre os espermatozóides X e Y são as características de sua superfície celular. Os primeiros estudos relativos a diferenças na carga entre os espermatozóides X e Y (Blottner, et al., 1994, Engelmann, et al., 1988, Ishijima, et al., 1991, Kaneko, et al., 1983a, Kaneko, et al., 1984a) já foram invalidados, por terem usado na diferenciação entre o espermatozóide X e o Y um método que se comprovou impreciso (Vankooij e Vanoost, 1992). Em 1991, Cartwright et al. encontraram pequenas diferenças entre os espermatozóides usando uma partição bifásica aquosa, sensível a carga. Este sistema é preciso e pode ser usado para separar células com base em diferentes moléculas superficiais, ainda que as diferenças

entre espermatozóides X e Y não tenham sido estudadas diretamente. Quando a eletroforese foi usada para separar os espermatozóides com base na sua carga, não foram encontradas diferenças na proporção entre os espermatozóides X e Y (Checa, et al., 2002) ou o sexo dos bezerros nascidos (Hafs e Boyd, 1974).

Ainda que não tivessem sido encontradas diferenças com base na carga, Cartwright et al. (1991) encontraram duas populações de espermatozóides com diferentes propriedades na superfície quando usaram uma partição bifásica aquosa, não sensível a carga. Estas duas populações mostraram heterogeneidade de moléculas de superfície sem carga. Ainda que se acreditasse que estas duas populações representassem os espermatozóides X e Y, estudos posteriores mostraram que a separação não estava baseada em moléculas específicas da superfície do espermatozóide Y e que não estão no espermatozóide X ou vice-versa (Cartwright, et al., 1993). Muitas técnicas têm sido usadas para pesquisar antígenos específicos para o sexo e diferenças nas proteínas de superfície entre espermatozóides X e Y. Até agora, as tentativas para identificar as proteínas de superfície e os antígenos em populações de espermatozóides, para separar os que contêm X ou Y recorrendo ao uso de citometria de fluxo falharam (Hendriksen, et al., 1996, Howes, et al., 1997). Uma desvantagem destes estudos é o uso de espermatozóides separados por fluxo. As proteínas da superfície das células poderiam ter sido removidas das cabeças dos espermatozóides durante o processo de separação, e assim as diferenças entre estas proteínas não seriam detectadas. Além disso, as técnicas usadas podem não ter sido capazes de detectar diferenças em peptídeos muito pequenos, como o antígeno H-Y (Hendriksen, 1999).

O antígeno H-Y é um pequeno epítopo antigênico, específico do macho, que tem sido encontrado na superfície de espermatozóides (Hendriksen, 1999). Alguns estudos iniciais verificaram que o tratamento de espermatozóides com anticorpos anti-H-Y antes da inseminação aumentaram ligeiramente o número de fêmeas nascidas (Bennett e Boyse, 1973, Zavos, 1983). Os estudos que estudaram diretamente o antígeno H-Y na superfície do espermatozóide tiveram resultados mistos (Ali, et al., 1990, Goldberg, et al., 1971, Hendriksen, et al., 1993). Parece pouco provável que haja diferenças no antígeno H-Y entre espermatozóides X e Y porque os genes que codificam os epítomos H-Y identificados até agora têm homólogos no cromossomo X (Hendriksen, 1999).

A natureza da espermatogênese torna pouco provável que existam diferenças na superfície celular de espermatozóides X e Y. A citocinese não está completa durante as divisões mitóticas e meióticas da espermatogênese, e as células permanecem conectadas por pontes intercelulares. Estas pontes intercelulares permitem que produtos gênicos sejam compartilhados entre espermatozóides X e Y (Hendriksen, 1999). A transcrição do gene é encerrada antes que as pontes intercelulares sejam rompidas (Dym e Fawcett, 1971, Hendriksen, 1999, Morales e Hecht, 1994), fazendo com que seja pouco provável que as diferenças entre os espermatozóides X e Y ocorram como resultado da transcrição do gene depois do rompimento das pontes intercelulares. Contudo, um compartilhamento desigual do produto do gene poderia ser um possível mecanismo para criar diferenças entre as superfícies das células dos espermatozóides X e Y, ainda que não haja tenha evidências diretas deste fato (Hendriksen, 1999).

O fato de que o cromossomo X é maior do que o Y pode exigir que o espermatozóide X tenha uma cabeça maior do que o espermatozóide Y para acomodar a cromatina adicional. Existem evidências tanto a favor como contra as diferenças de tamanho entre os espermatozóides X e Y (Chandler, et al., 1999, Cui, 1997, Hossain, et al., 2001, Revay, et al., 2004, van Munster, et al., 1999). Estes estudos utilizaram diferentes procedimentos experimentais para a avaliação do tamanho, o que torna a comparação difícil. Outro fator complicante é o uso de diferentes técnicas de processamento e coloração. Foi verificado que os procedimentos de processamento e coloração influenciam as medidas do tamanho da cabeça dos espermatozóides (Foote, 2003), o que poderia mascarar ou criar diferenças artificiais entre as duas populações. Usando hibridização in situ por fluorescência (FISH) em espermatozóides individuais, estudos mais recentes não encontraram diferenças significativas (Hossain, et al., 2001, Revay, et al., 2004). Em geral, as diferenças em tamanho entre os espermatozóides X e Y não são atualmente aceitas.

As diferenças na quantidade de DNA nos espermatozóides X e Y poderiam resultar em diferenças em suas densidades. Ainda que os estudos iniciais sobre densidade pareciam mostrar diferenças entre os espermatozóides X e Y (Kaneko, et al., 1984b, Kaneko, et al., 1987, Kaneko, et al., 1983b), o uso de um método não preciso para a detecção de espermatozóides X e Y invalidou estes estudos. A separação de espermatozóides usando gradientes de densidade tiveram resultados mistos (Andersen e Byskov, 1997, Kobayashi, et al., 2004, Lin, et al., 1998, Luderer, et al., 1982, Upreti, et al., 1988). Os resultados de estudos usando gradientes de densidade Percoll causam uma certa perplexidade, por causa da especulação de que a separação de espermatozóides por Percoll poderia estar relacionada mais a diferenças entre os espermatozóides X e Y com relação à motilidade do que às diferenças em densidade (Kobayashi, et al., 2004).

Além das diferenças morfológicas, os espermatozóides X e Y podem ter também diferenças funcionais. Há muito se suspeita que haja uma variação na motilidade entre espermatozóides X e Y. Os métodos para selecionar espermatozóides com alta motilidade incluem o gradiente de densidade Percoll por centrifugação, swim-up e gradientes de albumina. A capacidade destes métodos de separar os espermatozóides X e Y com base na motilidade tem sido amplamente estudada, com resultados mistos (Aribarg, et al., 1996, Beernink, et al., 1993, Chen, et al., 1997, De Jonge, et al., 1997, Han, et al., 1993a, Kobayashi, et al., 2004, Lin, et al., 1998, Madrid-Bury, et al., 2003, Pyrzak, 1994, Upreti, et al., 1988, Wang, et al., 1994). Em fluidos estacionários, os espermatozóides X e Y nadam na mesma velocidade (Penfold, et al., 1998, Sarkar, et al., 1984), mas diferem em sua linearidade e trajeto reto (Penfold, et al., 1998). *In vivo*, entretanto, os espermatozóides não estão em um fluido estacionário mas em um ambiente de fluxo complexo (Sarkar, et al., 1984). Quando colocados em uma corrente de fluxo, os espermatozóides mudam para uma trajetória de movimento mais reto, com uma velocidade angular menor, e uma mudança é quatro vezes mais pronunciada no espermatozóide X (Sarkar, et al., 1984).

Além da motilidade, os espermatozóides podem ter diferentes taxas de sobrevivência ou capacitação. O espermatozóide humano apresenta uma sobrevivência funcional diferente entre o espermatozóide X e o Y, com o espermatozóide Y sobrevivendo por mais tempo em condições *in vitro* (Van Dyk, et al., 2001). O oposto parece ser verdadeiro em bovinos. Quando os espermatozóides foram pré-incubados antes da fertilização *in vitro*, a eclosão de blastocistos femininos foi maior em relação aos espermatozóides frescos (Lechniak, et al., 2003).

OS ESPERMATOZÓIDES NO TRATO REPRODUTIVO FEMININO

Para fertilizar um oócito, o espermatozóide precisa percorrer todo o trajeto desde o ponto da inseminação até o local da fertilização no trato reprodutivo feminino. A fertilização ocorre na junção ampola-istmo do oviduto. O espermatozóide precisa passar pelo colo do útero (em animais com cobertura natural), pelo útero, pela junção útero-tubária chegando até o oviduto. Apenas uma pequena porcentagem dos espermatozóides inseminados chegam até o local da fertilização (Scott, 2000, Suarez, 1998, Suarez, 2002). O processo de transporte do espermatozóide no trato reprodutivo feminino não é apenas uma simples migração do local da inseminação até o local da fertilização. É um processo complexo e dinâmico que inclui fases de distribuição dos espermatozóides, formação de reservatórios espermáticos, modulação da fisiologia do espermatozóide e aquisição de competência para a fertilização, a ascensão do espermatozóide competente até o local da fertilização e a eliminação da população de espermatozóides não fertilizantes (Scott, 2000).

TRANSPORTE DOS ESPERMATOZÓIDES ATRAVÉS DO TRATO REPRODUTIVO FEMININO

O transporte do espermatozóide através do trato reprodutivo feminino inicia-se com a inseminação. Quando ocorre a monta natural, milhões a bilhões de espermatozóides são colocados na vagina da fêmea e precisam passar pelo colo do útero. Quando a inseminação artificial (IA) é usada, os espermatozóides são colocados diretamente no útero. Tanto para a monta natural como para a IA, a maioria dos espermatozóides são perdidos por causa do movimento retrógrado da vagina (Scott, 2000). Partindo do local de deposição, o espermatozóide precisa chegar até o oviduto para fertilizar um oócito.

O transporte do espermatozóide ocorre em duas fases, a fase de transporte rápido e a fase de transporte prolongado (Hawk, 1983, Scott, 2000). Na fase de transporte rápido, o espermatozóide chega aos ovidutos em questão de minutos, mas estes espermatozóides geralmente estão moribundos, mortos ou rompidos, e não contribuem para a população fertilizante (Scott, 2000). Na fase de transporte prolongado, o espermatozóide migra para o oviduto ao longo de um período de seis a doze horas (Dobrowolski e Hafez, 1970, Hunter e Wilmut, 1984, Scott, 2000, Wilmut e Hunter, 1984). Uma vez no istmo inferior do oviduto, o espermatozóide competente para a fertilização não prossegue sua trajetória antes do período peri-ovulatório (Hunter e Wilmut, 1984, Scott, 2000).

Os mecanismos primários do transporte do espermatozóide são as contrações do músculo liso do trato reprodutivo feminino, batidas dos cílios, correntes de fluidos e o movimento do espermatozóide por atividade flagelar (Hawk, 1983). Quando comparadas com outras fases do ciclo estral, as contrações do músculo liso são maiores e mais fortes durante o estro (Hawk, 1983). Estas contrações são as principais responsáveis pela movimentação do espermatozóide através do útero (Hawk, 1983, Katila, 2001). Restrições espaciais, características da superfície epitelial e secreções de fluidos afetam a motilidade do espermatozóide. Apenas os espermatozóides móveis podem cruzar o colo do útero e o muco cervical, e a motilidade pode ser necessária também para cruzar a junção útero-tubária (Scott, 2000). As interações funcionais entre o espermatozóide e os fluidos da luz e superfícies epiteliais do trato reprodutivo feminino promovem a seleção de espermatozóides fisiologicamente normais (Scott, 2000).

Durante o transporte, os espermatozóides se acumulam e são retidos em algumas regiões do trato reprodutivo por períodos de tempo prolongado. Estas regiões são denominadas reservatórios espermáticos (Scott, 2000). Ainda que durante muitos anos o colo tivesse sido considerado como um reservatório espermático porque muitos espermatozóides são nele encontrados durante a fase de transporte prolongado, o reservatório funcional está no istmo do oviduto (Hunter e Wilmut, 1982). Este é considerado como o reservatório funcional porque é o acionado no momento da ovulação. O espermatozóide que irá interagir com o oócito provém deste reservatório (Hunter, 2003, Hunter e Wilmut, 1982).

EFEITO DO TEMPO SOBRE A PROPORÇÃO ENTRE OS SEXOS

Os possíveis mecanismos que podem ser responsáveis pelo efeito do momento da inseminação sobre a proporção entre os sexos incluem transporte diferencial de espermatozóide através do trato feminino, diferenças nos tempos de capacitação ou sobrevivência funcional entre os espermatozóides X e Y, seleção preferencial de espermatozóides, ou morte embrionária relacionada ao sexo. No homem, mais espermatozóides Y permaneceram funcionais depois de uma incubação prolongada *in vitro* a 37°C (Van Dyk, et al., 2001). Foi demonstrado que o método de capacitação pode ter um efeito sobre a prevalência de espermatozóides X e Y (Barczyk, 2001). Tempos de capacitação mais longos favorecem o espermatozóide humano Y, enquanto que os tempos mais curtos favorecem o X (Barczyk, 2001). Estes achados indicam que, no homem, os

espermatozoides Y têm uma sobrevivência funcional mais longa, possivelmente devido a diferentes taxas de capacitação entre espermatozoides X e Y. A incubação prolongada *in vitro* de espermatozoides de touro produziu uma eclosão maior de blastocistos femininos (Lechniak, et al., 2003), indicando que, nos bovinos, o espermatozoide X tem uma sobrevivência funcional mais longa ou uma capacitação tardia em comparação com o espermatozoide Y.

Outros estudos *in vitro* indiretamente apoiam a idéia de que espermatozoides X e Y têm sobrevivências funcionais ou taxas de capacitação diferentes. Quando os oócitos bovinos foram inseminados imediatamente após a maturação foram detectadas mais fêmeas, enquanto que mais machos foram produzidos quando a inseminação foi retardada (Dominko e First, 1997, Gutierrez-Adan, et al., 1999). Foi sugerido que estas diferenças podem ter sido devidas ao oócito ter uma capacidade diferente para processar o espermatozoide X ou Y dependendo de seu status de maturação (Dominko e First, 1997). Um estudo mais recente, contudo, mostrou que os oócitos não são seletivos em relação ao espermatozoide X ou Y (Zuccotti, et al., 2005). Uma outra explicação possível é que o espermatozoide Y responde mais cedo e alcança primeiro a habilidade fertilizante (Gutierrez-Adan et al., 1999). Assim, quando a FIV é retardada os espermatozoides Y são favorecidos. Quando a FIV é imediata, entretanto, o oócito ainda não é capaz de ser fertilizado, de modo que a resposta mais precoce do espermatozoide Y leva à perda de sua capacidade fertilizante antes que o oócito se torne receptivo, deixando o espermatozoide X de resposta mais lenta em uma posição vantajosa. Em outro estudo, uma co-incubação espermatozoide-oócito por tempo curto durante a FIV produziu mais machos, ao passo que o prolongamento do tempo de incubação fez com que a proporção entre os sexos fosse igualada (Kochhar, et al., 2003). Isto apóia a idéia de que o espermatozoide Y tem uma vantagem em capacidade fertilizante precoce e perde esta capacidade ao longo do tempo, quando o espermatozoide X passa a ter vantagem.

Planejamos continuar testando em nosso laboratório a idéia de que a incubação do espermatozoide *in vivo* aumenta as probabilidades de uma bezerra fêmea. Outros fatores como a condição corporal e as perdas gestacionais podem desempenhar um papel crítico na determinação da proporção entre os sexos ao nascimento.



**X CURSO NOVOS ENFOQUES
NA PRODUÇÃO E
REPRODUÇÃO DE BOVINOS**

CORTE

DETERMINANTES DA IDADE À PUBERDADE EM NOVILHAS

M.L. Day, C. L. Gasser e D.E. Grum

Departamento de Zootecnia

The Ohio State University, Columbus, OH 43210

INTRODUÇÃO

A idade em que ocorrem a primeira cobertura e a concepção são determinantes primários da produtividade das novilhas, e a idade à puberdade é o principal fator que determina a competência da fêmea em sua primeira estação de monta. A idade em que as novilhas alcançam a puberdade varia dependendo de numerosos fatores que incluem peso corporal, nutrição e manejo.

Do ponto de vista prático, a ocorrência da puberdade na fêmea é o apogeu final de uma série de eventos, que resultam em uma ovulação acompanhada por estro e função lútea normal (Moran et al., 1989). A puberdade, entretanto, é muitas vezes imediatamente precedida por ciclos estrais curtos, que podem ou não ser acompanhados por ovulação ou estro (Kinder et al. 1995), mas geralmente resultam em curtos períodos de progesterona elevada, de duração variável (Berardinelli et al., 1979, 1980). A regressão da estrutura lútea, que tem vida curta, é seguida por um aumento na secreção de LH e estradiol e encerrada por um pico de LH pré-ovulatório. Ainda que a concepção possa ocorrer ao final do primeiro estro seguido por um ciclo estral de duração normal nas novilhas, foi mostrado que a competência reprodutiva aumenta até o 3o ciclo estral após a puberdade (Byerley et al., 1987; Staigmiller et al., 1993).

CONTROLE HORMONAL DA PUBERDADE

O estímulo necessário para a ocorrência da puberdade é um aumento na secreção de LH como resultado do aumento da liberação de GnRH pelo hipotálamo. O intervalo ao longo do qual este aumento ocorre é denominado período peripuberdade (Figura 1; Day et al., 1987) e inclui, aproximadamente, os 50 dias que precedem a puberdade nas novilhas (Day et al., 1984; 1987). O aumento na secreção de LH durante a peripuberdade é o resultado de uma maior secreção de GnRH (Rodriguez e Wise, 1989). A puberdade é adiada pelo atraso no aumento da secreção de LH (Day et al., 1986) ou pela imunização das novilhas contra GnRH (Wettemann e Castree, 1994).

Está bem estabelecido que o aumento na secreção de LH em novilhas que ocorre na fase pré-puberdade é resultado de um declínio no feedback negativo do estradiol sobre GnRH/secreção de LH (Kinder et al., 1995). Fatores que atrasam a puberdade, como a subnutrição (Day et al., 1986; Kurz et al., 1990), adiam o declínio peripuberdade do feedback negativo do estradiol e o aumento resultante na secreção de LH. O resultado da maior secreção de LH é um aumento do crescimento dos folículos ovarianos dominantes (Bergfeld et al., 1994), resultando em concentrações sistêmicas de estradiol maiores, que induzem o pico pré-ovulatório inicial de LH (Figura 1).

Período Peripuberdade em Novilhas

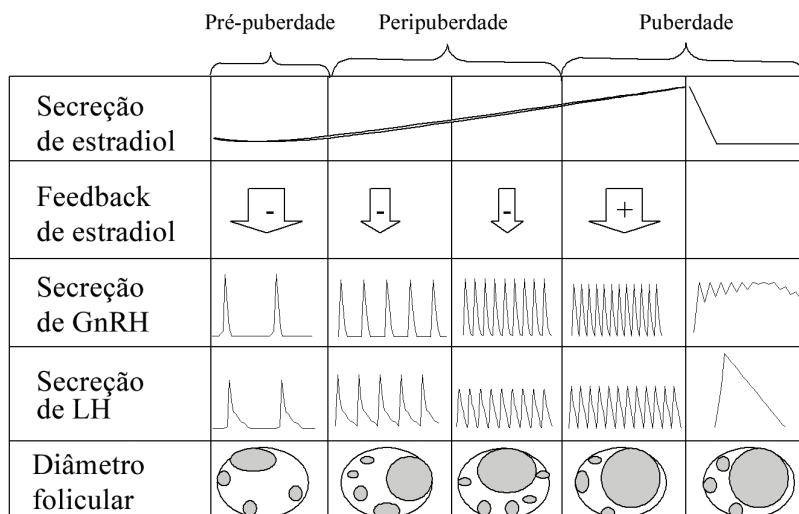


Figura 1. Alterações endócrinas durante o período peripuberdade que resultam em puberdade em novilhas. O período peripuberdade inclui aproximadamente os 50 dias que precedem a puberdade em novilhas. O sinal dentro das setas representando o feedback do estradiol indicam feedback negativo (-) ou positivo (+) sobre a secreção de LH e a largura da seta indica o grau relativo de feedback negativo. A secreção de GnRH é altamente sensível ao feedback negativo do estradiol durante o período pré-puberdade. À medida que o período peripuberdade e o declínio no feedback negativo do estradiol associado se inicia, a secreção de GnRH e, conseqüentemente do LH, aumenta resultando em um maior crescimento e secreção de estradiol pelos folículos ovarianos dominantes. Como resultado do declínio progressivo no feedback negativo do estradiol e aumento na secreção de LH durante o período peripuberdade, as concentrações de estradiol finalmente alcançam níveis suficientes para induzir o pico púbere de LH.

Para permitir a ocorrência da seqüência de eventos peripuberdade, mostrados na Figura 1, e que resultam no pico inicial de LH, é preciso que ocorra uma modificação na capacidade do hipotálamo de superar a inibição causada pelo estradiol.

A maioria das pesquisas tem se concentrado na endocrinologia do período peripuberdade das novilhas e no impacto das influências ambientais sobre este processo. Outras alterações dinâmicas, entretanto, ocorrem no eixo reprodutivo das novilhas durante o período desde o nascimento até o início do período peripuberdade (Figura 2; Day e Anderson, 1998).

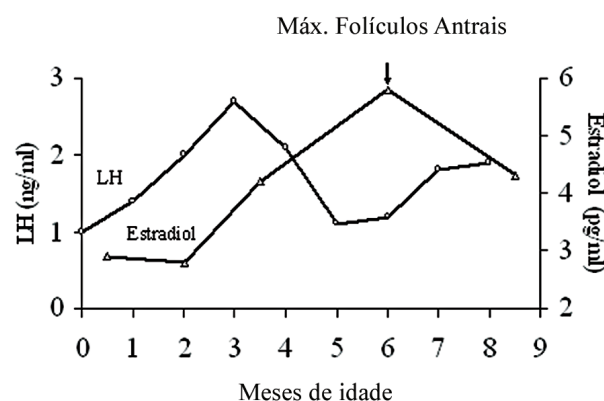


Figura 2. Alterações na secreção de hormônios reprodutivos e folículos ovarianos do nascimento até 9 meses de idade em novilhas. A seta marcada “Máx. Folículos Antrais” indica a idade em que o número máximo de folículos antrais é detectado nos ovários das novilhas. A figura baseia-se em dados de Erickson, 1966, Schams et al., 1981 e Evans et al., 1994a.

A secreção pulsátil de LH é estabelecida nas novilhas ao redor de 1 a 2 meses de idade (Anderson et al., 1986) e a secreção de LH aumenta depois disto até 3 a 5 meses de idade (Schams et al., 1981; Evans et al., 1992; Evans et al., 1994a). Subseqüentemente, a secreção de LH diminui nas novilhas (Schams et al., 1981; Evans et al., 1992; Evans et al., 1994a) e parece manter-se em nível relativamente baixo, estático, até o início do aumento de LH na peripuberdade (Day et al., 1987). Em novilhas, folículos ovarianos na fase antral não foram observados ao nascimento (Desjardins e Hafs, 1969), mas estavam presentes com 15 dias a 1 mês de idade (Erickson, 1966; Evans et al., 1992). Depois disto, o número de folículos antrais aumentou rapidamente até alcançar o pico com 3 a 4 meses idade, declinou até 7 a 8 meses de idade, e permaneceu estático durante a puberdade (Desjardins e Hafs, 1969; Erickson, 1966; Evans et al., 1994a). O aumento nos folículos antrais foi acompanhado por um aumento na concentração sistêmica (Evans et al., 1994a) e folicular (Dodson et al., 1989) de estradiol. Os folículos cresceram em ondas durante o período do nascimento até a puberdade e o diâmetro máximo do folículo maior e subordinado aumentou de 1 a 8 meses de idade (Hopper et al., 1993; Evans et al., 1992, 1994a, 1994b). A Figura 3 (Day e Anderson, 1998) representa o modelo que serve como base para a nossa pesquisa no campo do amadurecimento sexual das novilhas.

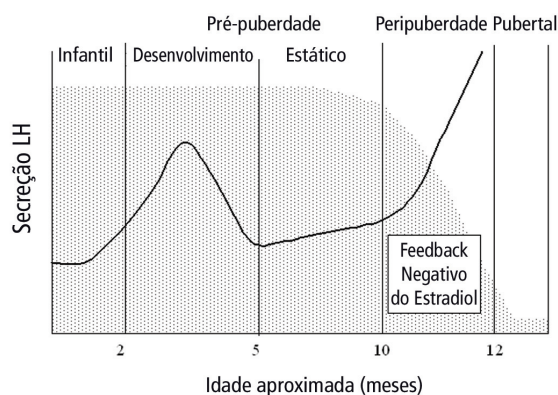


Figura 3. Modelo para os estágios de maturação sexual em novilhas. A área sombreada indica a sensibilidade da secreção de GnRH frente ao feedback negativo do estradiol. A mudança dos padrões de secreção de LH durante o período pré-puberdade é resultado do aumento da secreção de GnRH seguido pela maior produção de estradiol pelo folículos ovarianos. O aumento de LH na peripuberdade é o resultado de um declínio no feedback negativo do estradiol sobre o LH.

Parece que o feedback negativo do estradiol está presente em uma fase precoce da vida das novilhas e, em circunstâncias típicas com novilhas *Bos taurus* em climas temperados, não diminui até aproximadamente 10 a 14 meses de idade. Baixos níveis de LH estão presentes durante o período “infantil”. As novilhas entram no período pré-puberdade, a secreção de LH aumenta, resultando em maior desenvolvimento folicular e aumento das concentrações periféricas de estradiol. Neste momento, a presença do feedback negativo do estradiol é verificada por um declínio na secreção de LH com 3 a 6 meses de idade, em resposta a produção crescente de estradiol. Depois desta fase de “desenvolvimento” do período pré-puberdade, a secreção de LH é estabilizada em nível relativamente baixo durante a fase “estática” do período pré-puberdade. Durante a fase estática, a ovulação não ocorre devido a impedimento da secreção de LH pelo feedback negativo do estradiol. O declínio no feedback negativo do estradiol na fase peripuberdade leva a níveis de secreção de LH suficientes para estimular maior desenvolvimento folicular e secreção de estradiol. Estas alterações culminam com o pico pré-ovulatório de LH inicial, induzido pelo estradiol e a ovulação puberal.

IDADE À PUBERDADE NOS SISTEMAS DE PRODUÇÃO DOS ESTADOS UNIDOS

Nos sistemas de produção padrão dos Estados Unidos, a maioria das novilhas é coberta com 13-15 meses de idade para que o parto ocorra com 22-24 meses de idade. Como foi demonstrado que a fertilidade aumenta até o terceiro ciclo estral após a puberdade (Byerley et al., 1987; Staigmiller et al., 1993), é desejável que a puberdade ocorra 30 a 60 dias antes do início da estação de monta (12-14 meses de idade) para otimizar a competência reprodutiva. A idade típica para o desmame no setor de pecuária de corte dos Estados Unidos está ao redor de 200 dias de idade. Assim sendo, a maioria dos estudos sobre as abordagens para otimizar a idade à puberdade tem sido concentrada no “período pós-desmame”. Foi claramente demonstrado que muitos fatores influenciam a idade à puberdade nas novilhas, incluindo nutrição, ganho de peso corporal (PC), taxa e momento de crescimento e efeitos sazonais.

FATORES AMBIENTAIS DURANTE O PERÍODO PÓS-DESMAME QUE AFETAM A IDADE À PUBERDADE

Fatores relacionados ao Crescimento

Peso Corporal. Smith et al. (1976) relataram que a idade e o PC à puberdade têm uma correlação positiva, com um coeficiente de $0,67 \pm 0,24$, o que não é uma surpresa, considerando a influência que tanto a idade como o PC exercem sobre a puberdade. De modo geral, tem sido recomendado que as novilhas alcancem aproximadamente 65% do seu PC adulto estimado no início de sua primeira estação de monta (Fox et al., 1988; Patterson et al., 2000).

Foi demonstrado que o arraçamento das novilhas por um período de 200 dias até o início da primeira estação de monta, tendo como objetivo alcançar um PC alvo maior antes da primeira cobertura, resulta em taxas de estro e prenhez mais altas nos primeiros 20 dias de cobertura, maiores taxas de prenhez ao final da estação de monta, e maiores PC dos bezerros desmamados (Wiltbank et al., 1985). Burfening (1979) também verificou que um maior PC na cobertura aumentou as taxas de estro, prenhez e sobrevivência dos bezerros. Por outro lado, Funston e Deutscher (2004) relataram que reduzir o PC alvo em novilhas pode trazer oportunidades para redução de custos sem comprometer a reprodução. O objetivo do método de PC alvo é assegurar que a maioria das novilhas tenha atingido a puberdade antes da cobertura e baseia-se na influência do PC sobre a puberdade.

Ganho de Peso Corporal Pós-Desmame. Em um grande número de experimentos foi detectado um efeito do ganho de peso pós-desmame sobre a idade à puberdade. Foi demonstrado que aumentar a taxa de ganho de PC em novilhas durante o período pós-desmame antecipa a puberdade (Buskirk et al., 1995; Hall et al., 1995; Lammers et al., 1999; Quintans et al., 2004), além de trazer outros resultados positivos como aumento das taxas de concepção na primeira cobertura (Fleck et al., 1980; Buskirk et al., 1995), aumento na produção de leite (Ferrell, 1982; Buskirk et al., 1995), e aumento no PC de bezerras ao desmame (Ferrell, 1982). Também são citados resultados potencialmente prejudiciais, como aumento da gordura mamária e da carcaça (Charles et al., 1999), e diminuição da produção de leite (Lammers et al., 1999). De maneira similar, diminuição do ganho de PC teve como resultado puberdade mais tardia nestas novilhas do que nas novilhas “controle” (Quintans et al., 2004). Em alguns casos, quando o maior PC pós-desmame reduziu a idade à puberdade, o PC à puberdade foi também maior (Dufour, 1975; Ferrell, 1982; Hopper et al., 1993).

Em diversos experimentos, quando a taxa e/ou o momento do ganho de PC pós-desmame foi variado nas novilhas, o desempenho reprodutivo subsequente não foi comprometido (Lynch et al., 1997; Freetly et al., 2001). Por isso, foi sugerido que há um certo espaço para variação na taxa e no momento do ganho de PC das novilhas desde o desmame até a cobertura. Isto representa oportunidades potenciais para otimizar os recursos de ração e reduzir os custos de desenvolver novilhas de reposição.

Composição Corporal. A composição corporal dos bovinos tem estreita relação com o estado nutricional, e tem sido sugerido que pode ser necessário haver certo teor crítico de gordura corporal para que a puberdade seja alcançada. Em revisão sobre o papel da gordura corporal na regulação da ovulação, Bronson e Manning (1991) concluíram que a hipótese de gordura corporal crítica não tem o suporte de estudos no homem ou em animais. O balanço energético foi considerado como importante componente na reprodução, propondo-se que a gordura não tem um papel direto sobre a ovulação. A composição corporal à puberdade não é constante entre as novilhas (Hall et al., 1995), sendo influenciada pela dieta (Yelich et al., 1995), raça (Simpson et al., 1998) e diversos fatores ambientais (Brooks et al., 1985). Brooks et al. (1985) propuseram que a composição corporal era útil para prever o PC à puberdade em novilhas de corte, mas os dados não apóiam a hipótese de uma composição corporal crítica.

Consumo da dieta e nutrientes específicos

Os efeitos da ingestão de nutrientes sobre a puberdade das novilhas são muitas vezes confundidos com o crescimento e o ganho de peso, criando desafios de interpretação. Quer seja através de efeitos diretos ou indiretos, a ingestão de nutrientes pode ter impacto importante sobre o processo da puberdade nas novilhas. Efeitos nutricionais independentes da taxa de crescimento têm sido observados quando as dietas foram continuamente ajustadas para manter um ganho de PC similar entre os tratamentos nutricionais (Lalman et al., 1993). A maioria dos experimentos com tratamentos dietéticos, entretanto, não utilizou este tipo de controle de ganho de PC.

Consumo de Dieta. O teor de nutrientes consumidos durante o período pós-desmame, especialmente com relação ao consumo de energia, tem o potencial de exercer efeitos pronunciados sobre a puberdade em novilhas, como tem sido mostrado em múltiplos experimentos. Foi demonstrado que aumentar o consumo da dieta antecipa a idade à puberdade em novilhas (Yelich et al., 1996; Shamay et al., 2005), além de resultar em aumento das concentrações de LH (Yelich et al., 1996), aumento das concentrações de IGF-I (Granger et al., 1989; Yelich et al., 1995, 1996), diminuição das concentrações de GH (Granger et al., 1989; Yelich et al., 1996), aumento do PC à puberdade (Greer et al., 1983), aumento do escore de condição corporal (Short e Bellows, 1971; Simpson et al., 1998), melhora das taxas de prenhez (Short e Bellows,

1971), além de diminuir a idade à primeira concepção (Simpson et al., 1998). Em um estudo de Penno et al. (1995), novilhas da raça Holandesa foram divididas em grupos com nível alto, médio e baixo de consumo da dieta e os autores detectaram diferenças na proporção de novilhas que apresentam ciclo estral com 11,5 e 15 meses de idade. Com 11,5 meses de idade, 95, 65 e 2% das novilhas estavam ciclando nos grupos com níveis alto, médio e baixo de consumo, respectivamente. Wiltbank et al. (1969) observaram uma interação entre o nível de nutrição e a raça das novilhas, tanto para a idade como para o PC à puberdade.

Lemenager et al. (1980) relataram que o aumento da ingestão de energia através da suplementação com milho resultou em prenhez mais cedo e aumento na taxa de concepção. A adição de concentrados ricos em energia à dieta provavelmente irá aumentar o teor de propionato disponível para o animal. Assim, a administração do ionóforo monensina, que aumenta a produção de propionato no rúmen, antecipou a puberdade (Moseley et al., 1982; Lalman et al., 1993) e aumentou a proporção de novilhas ciclando (Moseley et al., 1977). Lalman et al. (1993), entretanto, demonstraram que a suplementação da dieta das novilhas com ácido propiônico não antecipou a idade da puberdade, em relação às novilhas controle, quando o ganho de PC foi mantido constante entre os grupos de novilhas. Talvez o nível de suplementação deste experimento não tenha sido suficiente para influenciar a puberdade. Por outro lado, os efeitos do propionato aumentado pela dieta sobre a puberdade em novilhas podem ser obtidos apenas quando é permitido um ganho maior de PC.

Alimentação em Fase. Em alguns experimentos, os efeitos da administração a curto prazo ou a mudança de tratamentos da dieta durante o período pós-desmame foram testados em novilhas. Marston et al. (1995) observaram que o arraçamento a curto prazo com uma dieta com alto nível de concentrado, iniciada entre 10 e 12 meses de idade, antecipou a puberdade em novilhas e também aumentou a taxa de prenhez e a produção de leite. Vários pesquisadores também testaram os efeitos da transição de um plano nutricional baixo para um plano elevado durante o período pós-desmame. Foi relatado que esta abordagem, aplicada entre 6 e 12 meses de idade em novilhas holandesas em Israel, reduziu o ganho de PC geral, as concentrações de insulina, prolactina e IGF-I e retardou a puberdade (Barash et al., 1994). Em um sistema similar, as novilhas que passaram de um ganho de PC baixo para alto durante o período do desmame (aproximadamente 7 meses de idade) até o início da estação de monta (aproximadamente 14 meses de idade), apresentaram taxas de prenhez similares às das novilhas com alto ganho de PC de forma contínua, mas no segundo ano do estudo com duração de 2 anos, a puberdade foi retardada nas novilhas submetidas à transição (Lynch et al., 1997). Freetly et al. (2001) relataram que a sobrevivência dos bezerros foi reduzida em vacas criadas em um programa de desenvolvimento de novilhas em que a transição de consumo de baixo para alto nível de energia ocorreu entre o desmame e a cobertura, quando comparadas com vacas que foram criadas em um programa de consumo contínuo de energia em nível moderado. Além disso, Chelikani et al. (2003) verificaram que as novilhas criadas desta forma tiveram a puberdade retardada, bem como folículos maiores na primeira ovulação e corpos lúteos menores, com concentrações no pico de progesterona reduzidas no primeiro ciclo. Pode haver algumas vantagens econômicas neste tipo de sistema de recria de novilhas mas, considerando os resultados destes experimentos, deve ser usado com muito cuidado.

Proteína Suplementar. A adição de proteína suplementar às dietas de novilhas tem sido sugerida como uma opção para influenciar a puberdade. Uma concentração elevada de proteína na dieta das novilhas tem tido sucesso em reduzir a idade à puberdade e aumentar o crescimento sem efeitos negativos sobre o desenvolvimento mamário (Radcliff et al., 1997). Oyedipe et al. (1982) demonstraram que nível maior de proteína na dieta diminuiu a idade à puberdade em novilhas Zebu. Como relatado por Lalman et al. (1993), contudo, a suplementação das dietas das novilhas com proteína não degradável no rúmen providas por farinha de sangue e farelo de glúten de milho não adiantou a puberdade das novilhas.

Gordura Suplementar. A gordura foi adicionada às dietas das novilhas para testar seus efeitos sobre seu desenvolvimento. Lammoglia et al. (2000) verificaram que a gordura suplementar não afetou a idade à puberdade em novilhas, mas tendeu a aumentar a proporção de novilhas púberes à primeira cobertura. Também sugeriram que os efeitos da gordura suplementar podem ser dependentes da raça, devido a uma interação entre a dieta e o touro, e especularam que as novilhas com menos gordura na composição corporal podem ter diferentes necessidades de gordura na dieta e podem beneficiar-se da gordura suplementar. Garcia et al. (2003) relataram que a gordura suplementar reduziu as concentrações de IGF-I e tenderam a retardar a puberdade nas novilhas. Com base nas evidências atuais, parece que podem existir alguns benefícios potenciais como resultado da gordura suplementar para o amadurecimento reprodutivo de novilhas, mas os resultados das pesquisa não têm sido consistentes.

Outros Fatores

Estação. A reprodução de bovinos não está limitada a certas estações do ano como ocorre com algumas outras espécies, como ovinos e eqüinos. Ainda que o impacto da sazonalidade possa não ser grande em bovinos, há evidências de efeitos da estação sobre os processos reprodutivos em bovinos. Há relatos de que a estação tem um efeito sobre a concentração média de LH mas não sobre a frequência dos pulsos de LH (Day et al., 1986b) em vacas adultas. Além disso, Day et al. (1986b) mostraram em vacas ovariectomizadas que as concentrações médias de LH e a amplitude dos pulsos de LH foram maiores em torno do equinócio da primavera e diminuíram no equinócio do outono.

Foi detectado um efeito da estação em que as novilhas nasceram sobre a idade à puberdade (Schillo et al., 1982, 1983), sendo que as novilhas que nasceram no outono geralmente alcançam a puberdade com idades menores do que as nascidas na primavera. Também há relatos de que a estação ao nascimento apresenta efeitos sobre o PC à puberdade (Arije e Wiltbank, 1971) e sobre a secreção de LH (Schillo et al., 1982, 1983; Rawlings et al., 2005). Além disso, Arije e Wiltbank (1974) sugeriram que a data de nascimento, um possível reflexo dos efeitos sazonais, pode ser útil para se prever a idade e o PC à puberdade. Também foi demonstrado que a estação durante a qual a puberdade é alcançada influencia a idade à puberdade em novilhas que foram criadas usando câmaras com ambiente controlado. Novilhas que foram submetidas às mudanças ambientais da primavera até o outono com 6 a 12 meses de idade eram mais jovens à puberdade do que as que tinham passado pelas mudanças ambientais do outono até a primavera durante o mesmo período de idade (Schillo et al., 1983). A maior duração do fotoperíodo aumentou o crescimento ovariano e adiantou a puberdade em novilhas nascidas durante a primavera ou o verão (Hansen et al., 1983). e o fotoperíodo mais longo também teve como resultado que a puberdade fosse atingida com um PC mais leve (Ringue et al., 1994) e aumentou a secreção de gonadotropina em novilhas pré-púberes (Hansen et al., 1982; Critser et al., 1987). O tratamento com melatonina durante 5 semanas, iniciando com 3,5 meses de idade também teve sucesso em apressar a puberdade em novilhas (Tortonesi e Inskeep, 1992).

A estação é composta por diversos fatores ambientais que mudam durante o ano, como a duração do dia (ou fotoperíodo), temperatura, índice pluviométrico e umidade, que podem potencialmente influenciar o desempenho e a reprodução dos bovinos. A amplitude das alterações sazonais varia de acordo com a localização geográfica, bem como de um ano para outro. Por isso, a detecção do efeito da estação sobre os bovinos no ambiente natural depende de diversas condições variáveis.

Exposição ao Touro. A exposição física à presença de um touro também pode ter influência sobre o atingir a puberdade em novilhas. Roberson et al. (1991) verificaram que a exposição ao touro apressava a puberdade, ainda que houvesse também efeito da interação entre a exposição ao touro e a taxa de crescimento. Os resultados não têm sido consistentes uma vez que nenhum efeito da exposição ao touro foi detectada em alguns outros estudos (Roberson et al., 1987; Wehrman et al., 1996).

Como indicado acima, muitas pesquisas foram realizadas para otimizar o manejo das novilhas durante o período de tempo desde o desmame até a primeira cobertura. Contudo, mesmo quando o manejo das novilhas é o recomendado, ainda permanece uma grande variação no momento em que a puberdade é atingida. Porcentagens significantes de novilhas não atingem a puberdade com 15 meses de idade (Dow et al., 1982), mesmo quando o manejo inclui um plano de nutrição relativamente alto (Roberson et al., 1991). A falha em atingir a puberdade no momento adequado permanece como a principal razão para as novilhas não engravidarem na primeira estação de monta (Yelich et al., 1996).

O PERÍODO PRÉ-DESMAME, MATURAÇÃO SEXUAL E PUBERDADE PRECOCE

Ainda que uma proporção significativa de novilhas não alcance a puberdade com 15 meses de idade nos sistemas de produção norte-americanos, uma proporção relativamente alta de novilhas atinge a puberdade com idade bastante baixa (puberdade precoce; < 300 dias de idade). Wehrman et al. (1996) observaram que a puberdade precoce ocorreu em 25% das novilhas em um ano e em 8% das novilhas no ano seguinte. Neste relato, os autores sugerem que a incidência de puberdade precoce estava relacionada com a taxa de crescimento das novilhas em torno da época do desmame. Day e Anderson (1998) observaram que 57 e 47% das novilhas tiveram puberdade precoce em dois anos consecutivos quando desmamadas precocemente (3 a 4 meses de idade) e alimentadas com uma dieta rica em energia até aproximadamente 7 meses de idade. A incidência de puberdade precoce foi muito maior do que a vista em outras novilhas do experimento, que foram desmamadas precocemente e alimentadas com uma dieta controle ou desmamadas com 7 meses de idade. Da mesma forma, Sexten et al. (2004) relataram que o desmame precoce em novilhas submetidas ao “creep feeding” aumentou a proporção de novilhas púberes com 8 meses de idade (81,3 vs. 59,4%), indicando que uma grande proporção de novilhas dos dois tratamentos atingiram a puberdade precocemente. De acordo com Sejrsen e Purup (1997), a puberdade se inicia geralmente ao redor de 9 a 11 meses de idade em novilhas leiteiras, que são comumente desmamadas logo após o nascimento, o que também representaria uma alta incidência de puberdade precoce.

Estas observações relativamente recentes sobre o status nutricional durante o período que precede a idade típica ao desmame em novilhas não ocorreram sem precedentes. Em pesquisas anteriores, Wiltbank et al. (1966) verificaram que o ganho de PC pré-desmame influenciou a idade à puberdade em novilhas de forma mais consistente do que o ganho de PC pós-desmame, com o maior ganho de PC pré-desmame resultando em um início mais precoce da puberdade. Outros pesquisadores também observaram uma redução na idade à puberdade com maior ganho de PC pré-desmame (Patterson et al., 1992; Buskirk et al., 1995; Arije e Wiltbank, 1971; Greer et al., 1983; Patterson et al., 1991).

A possibilidade do status nutricional durante o período do nascimento até 7-8 meses de idade ter profundas influências sobre a idade à puberdade em novilhas não é uma surpresa, se considerarmos as alterações dinâmicas que estão ocorrendo neste período, como discutido anteriormente (Figura 2). Este “período inicial de maturação” que se estende até o início da fase estática (Figura 3), é crítico para o estabelecimento de muitos componentes do eixo reprodutivo. Nos últimos 6 anos, o enfoque da pesquisa realizada pelo nosso laboratório tem sido obter um entendimento cada vez maior da maneira pela qual o status nutricional influencia o período inicial de maturação sexual.

MECANISMOS DA PUBERDADE PRECOCE

Realizamos 4 experimentos para pesquisar os mecanismos ovarianos e endócrinos associados com a puberdade precoce em novilhas. Em vários anos sucessivos, foram usadas nestes experimentos novilhas mestiças Angus e Simental com background genético similar. Em cada experimento foi usado um modelo de desmame precoce (DP) (2,5 a 3,5 meses de idade), com uma ração inicial durante 2 a 4 semanas e depois uma dieta rica em concentrado (RC) (tratamento DPR), com o objetivo de estimular a puberdade precoce. Na maioria dos casos, as comparações foram feitas com novilhas que eram desmamadas precocemente e alimentadas com uma dieta controle (CONT), que mantém os ganhos de peso corporal que teriam ocorrido se os bezerros permanecessem com suas mães (tratamento DPC). As dietas usadas são descritas nas Tabelas 1 a 4.

Tabela 1. Dietas experimentais para novilhas.

Dieta ^a			
Item	Inicial	RC	CONT
Ingrediente, % “as-fed”			
Grãos de milho integral	50	60	30
Pellets de alfafa 13% PB	15	10	30
Pellets de casca de soja	15	10	30
Suplemento ^b	20	20	10
Análise química			
PB, %	17,2	14,1	14,1
NEm, Mcal/kg	1,93	2,02	1,70
NEg, Mcal/kg	1,29	1,37	1,09

a RC = dieta rica em concentrado; CONT = dieta controle.

b Suplemento (Tabelas 2, 3 e 4).

NEm = energia líquida metabolizável

NEg = energia líquida para ganho

Tabela 2. Composição dos ingredientes do suplemento para a dieta inicial.

Ingrediente	% Suplemento dieta inicial
Milho, moído	7,373
Farelo de soja	76,295
Uréia	2,213
Calcário	2,213
Fosfato bicálcico	1,770
Sal oligoelementos minerais	2,213
Vitamina A-30	0,044
Vitamina D-3	0,044
Vitamina E	0,133
Selênio	0,221
Rumensin® 80	0,075
KCl (Dyna K)	0,664
Dynamate	1,770
Gordura animal-vegetal	4,972
Total	100,00

Tabela 3. Composição dos ingredientes do suplemento para a dieta rica em concentrados.

Ingrediente	% Suplemento dieta rica em concentrados
Milho, moído	36,896
Farelo de soja	45,696
Uréia	1,988
Calcário	3,534
Fosfato bicálcico	1,767
Sal oligoelementos minerais	2,209
Vitamina A-30	0,044
Vitamina D-3	0,044
Vitamina E	0,133
Selênio	0,221
Rumensin® 80	0,075
KCl (Dyna K)	0,663
Dynamate	1,767
Gordura animal-vegetal	4,963
Total	100,00

Tabela 4. Composição dos ingredientes do suplemento para a dieta controle.

Ingrediente	% Suplemento da Dieta Controle
Milho, moído	21,607
Farelo de soja	51,270
Uréia	4,014
Calcário	--
Fosfato bicálcico	2,676
Sal oligoelementos minerais	4,460
Vitamina A-30	0,089
Vitamina D-3	0,089
Vitamina E	0,268
Selênio	0,446
Rumensin® 80	0,152
KCl (Dyna K)	1,338
Dynamate	3,568
Gordura animal-vegetal	10,023
Total	100,00

Esta abordagem de desmame precoce e arraçoamento com uma dieta rica em concentrado foi muito eficaz na indução da puberdade precoce em novilhas (Tabela 5; Gasser et. al., 2006a; 2006b; 2006c; e 2006d).

Tabela 5. Idade à puberdade e incidência de puberdade precoce (%) em novilhas desmamadas com 2,5 a 3,5 meses de idade e arraçadas com uma dieta rica em concentrados (DPR) ou controle (DPC).

Experimento	DPR	DPC
Gasser et al., 2006a	262 ± 10 (89%)	368 ± 10 (0%)
Gasser et al., 2006b	252 ± 9 (100%)	308 ± 27 (56%)
Gasser et al., 2006c	262 ± 18 (80%)	331 ± 11 (0%)
Gasser et al., 2006d	275 ± 30 (67%)	385 ± 14 (20%)

Os resultados destes experimentos evidenciaram claramente que a maturação sexual pode ser substancialmente alterada através do manejo e da manipulação nutricional, iniciando-se com uma idade bastante precoce. Não se sabe se os efeitos da dieta rica em concentrados ocorrem apenas através das influências sobre o crescimento da novilha ou se os fatores qualitativos das dietas desempenham um papel crítico. Como exemplo, a influência das duas dietas sobre o peso corporal estudada em um experimento (Gasser et al., 2006a) é apresentada na Figura 4.

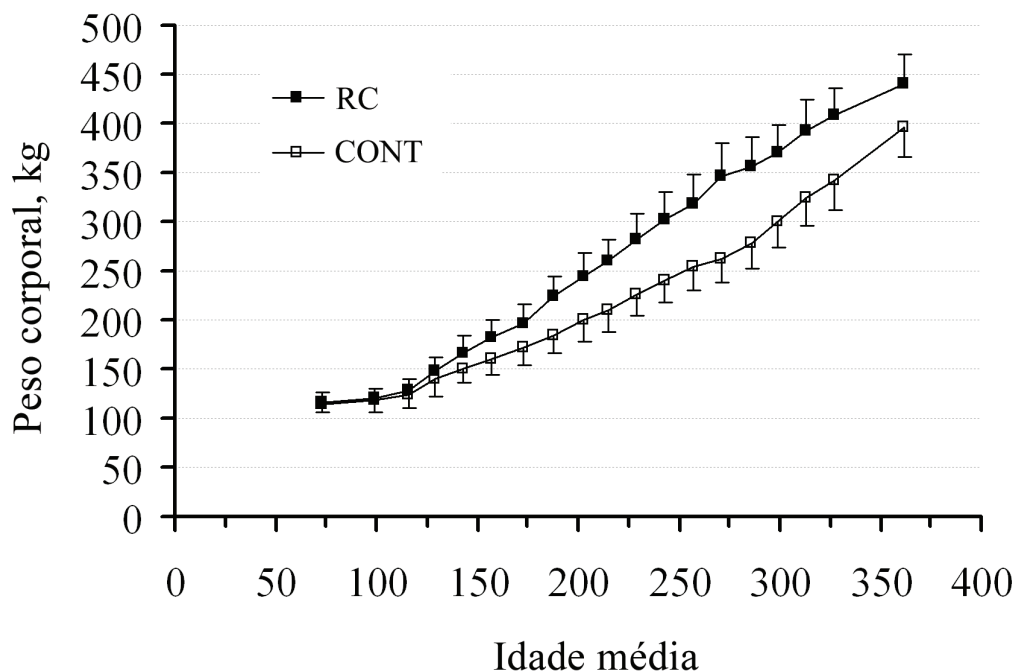


Figura 4. Peso corporal de novilhas do desmame precoce com 73 ± 3 dias de idade até a idade média de 362 dias. Todas as novilhas receberam a dieta inicial durante 26 dias após o desmame, sendo que as novilhas sofreram depois uma transição para uma dieta rica em concentrados (RC) ou a dieta controle (CONT). O peso corporal de novilhas arraçadas com a dieta RC foi maior ($P < 0,01$) do que a das novilhas CONT desde a idade de 188 dias até o final do período experimental (tratamento x idade, $P < 0,05$). A seta indica o momento em que foi iniciada a transição das novilhas no tratamento CONT para a dieta utilizada no tratamento RC.

As novilhas que apresentaram puberdade precoce nestes experimentos também tiveram um peso corporal muito mais leve à puberdade do que as novilhas que atingiram a puberdade depois de 300 dias de idade. O impacto direto do desmame precoce pode não ter sido uma influência importante na incidência da puberdade precoce, uma vez que em um experimento (Gasser et al., 2006c), o desmame precoce não aumentou a incidência de puberdade precoce em novilhas alimentadas com a dieta controle, quando comparadas com novilhas que apresentavam crescimento similar, permanecendo com suas mães até o desmame com aproximadamente 7 meses de idade. Gasser et al. (2005d) demonstraram que o desmame precoce e o uso de uma dieta rica em concentrados durante dois meses e meio, aproximadamente, seguido pela transição para a dieta controle também foi eficaz em antecipar a puberdade em novilhas. Estes resultados enfatizam as influências da nutrição durante o período inicial de maturação sobre a idade à puberdade.

Endocrinologia da Puberdade Precoce

As alterações que ocorrem normalmente durante o período pré-puberdade (>10 meses de idade) quando as novilhas atingem a puberdade em uma idade típica, foram avaliadas em novilhas que se esperava tivessem puberdade precoce. No primeiro experimento (Gasser et al., 2006a), as novilhas que foram desmamadas precocemente e arraçadas com a dieta rica em concentrados apresentaram frequência maior de pulsos de LH que levam à puberdade precoce, sugerindo que o aumento de LH que ocorre na peripuberdade, descrito na Figura 3, foi transferido para uma idade muito mais jovem. No segundo estudo (Gasser et al., 2006b), a maturidade ovariana foi acelerada durante o mesmo período levando à puberdade precoce. Isto foi evidenciado pelo aumento no diâmetro máximo dos folículos ovarianos dominantes, a maior duração das

ondas de desenvolvimento folicular e um aumento nas concentrações no pico de estradiol durante as ondas foliculares. Com base nestes achados, parece que as alterações no desenvolvimento folicular anteriormente descritas como ocorrendo no período estático e na peripuberdade foram aceleradas. No terceiro experimento (Gasser et al., 2006c), a secreção de LH em novilhas ovariectomizadas, com implante do estradiol, que foram desmamadas precocemente e arraçadas com uma dieta rica em concentrados, escaparam do feedback negativo do estradiol sobre a secreção de LH em uma idade menor. O final do feedback negativo do estradiol ocorreu em um momento similar àquele em que as novilhas com ovário intacto, recebendo a mesma dieta, atingiram a puberdade. Com base nestes resultados, concluiu-se que um declínio acelerado no feedback negativo do estradiol sobre a secreção de LH é o mecanismo através do qual o desmame precoce e o arraçoamento com uma dieta rica em concentrados resulta em aumento da secreção de LH e desenvolvimento folicular ovariano, e induz puberdade precoce em novilhas. Essencialmente, parece que com este tratamento, o período peripuberdade de desenvolvimento em novilhas antecipado, ocorre em idade menor.

A partir destes achados, sugerimos um modelo alternativo para a maturação sexual para situações em que as novilhas são submetidas a manejo para se conseguir, ou alcançar espontaneamente, a puberdade precoce (Figura 5).

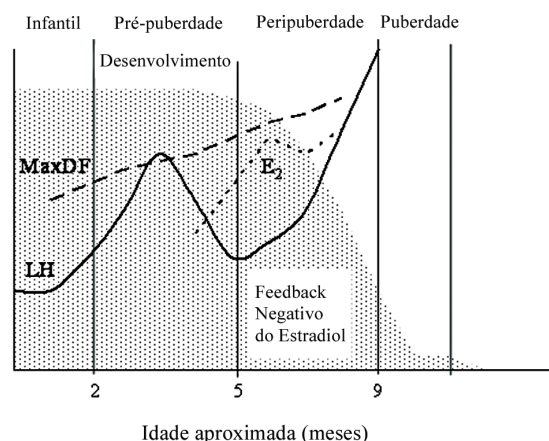


Figura 5. Modelo ajustado para atingir a puberdade precoce em novilhas. O período pré-puberdade passa para uma idade anterior, eliminando a fase estática que foi mostrada na Figura 3. MaxDF = diâmetro máximo dos folículos dominantes, E2 = concentrações periféricas de estradiol.

Especulamos que no caso de atingir precocemente a puberdade nas novilhas, a fase estática de desenvolvimento é eliminada ou substancialmente reduzida, facilitando a progressão de um período de maturação inicial diretamente para o período peripuberdade.

PUBERDADE E BOVINOS *BOS INDICUS*

Os mecanismos subjacentes que controlam a puberdade em novilhas *Bos indicus* parecem ser similares aos que foram descritos acima para as fêmeas *Bos taurus* (para uma revisão, ver Nogueira, 2004). A faixa de idade à puberdade (16 a 40 meses) e a idade média à primeira parição (>40 meses) para bovinos Zebu sul-americanos, entretanto, é muito maior do que para *Bos taurus* em climas temperados. Diferenças genéticas, ambientais e nutricionais foram identificadas como sendo fatores significativos, que influenciam a idade relativa à puberdade entre bovinos *Bos indicus* e *Bos taurus*. Semelhante ao que foi observado em bovinos *Bos taurus* em climas temperados, contudo, alguns bovinos Zebu sul-americanos têm o potencial de apresentar

puberdade precoce. Foi observado que 32% de novilhas Nelore ficam prenhes com 15 meses de idade e concluiu-se que estas novilhas passaram por puberdade precoce (Nogueira, 2004). A puberdade precoce em novilhas deste tipo parece estar relacionada a maior diâmetro folicular com 12 a 14 meses de idade (de Lucia, et al., 2002). Além disso, foi demonstrado que o desmame precoce de novilhas Zebu (3 meses) e o arraçamento para alcançar ganhos de peso corporal característicos de *Bos taurus* em climas temperados resultaram em puberdade com idade média de 12,3 meses e PC de 233 kg (Fajersson et al., 1991). Assim sendo, existe a possibilidade de que o manejo com uma abordagem de desmame precoce e o uso de dieta rica em concentrados na época adequada durante a maturação sexual poderia aumentar a incidência de parições com 2 anos de idade em animais *Bos indicus* sul-americanos. O momento e a duração apropriados deste aumento de ingestão de nutrientes, que poderiam hipoteticamente resultar na ativação precoce do sistema reprodutivo, ainda precisam ser estabelecidos para o gado Zebu sul-americano. Se na América do Sul as novilhas Zebu pudessem ser induzidas, de forma previsível, a alcançar a puberdade com 12 a 15 meses de idade e parir com 2 anos de idade, o impacto sobre a produtividade futura dos sistemas de produção brasileiros iria exigir considerações cuidadosas. O valor da indução da “puberdade precoce” com 12-15 meses de idade em bovinos deste tipo poderia variar entre regiões, ambientes e os recursos nutricionais disponíveis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anderson, L. H., C. M. McDowell, and M. L. Day. 1996. Progesterin-induced puberty and secretion of luteinizing hormone in heifers. *Biol. Reprod.* 54:1025-1031.
- Arije, G. F., and J. N. Wiltbank. 1974. Prediction of age and weight at puberty in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 38(4):803-810.
- Arije, G. F., and J. N. Wiltbank. 1971. Age and weight at puberty in Hereford heifers. *J. Anim. Sci.* 33:401-406.
- Barash, H., I. Peri, A. Gertler, and I. Bruckental. 1994. Effects of energy allowance and cimaterol feeding during the heifer rearing period on growth, puberty and milk production. *Anim. Prod.* 59:359-366.
- Berardinelli, J. G., R. A. Dailey, R. L. Butcher, and E.K. Inskeep. 1980. Source of circulating progesterone in prepubertal ewes. *Biol. Reprod.* 22:233-236.
- Berardinelli, J. G., R. A. Dailey, R. L. Butcher., and E. K. Inskeep. 1979. Source of progesterone prior to puberty in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 49:1276-1280.
- Bergfeld, E. G. M., F. N. Kojima, A. S. Cupp, M. E. Wehrman, K. E. Peters, M. Garcia-Winder, and J. E. Kinder. 1994. Ovarian follicular development in prepubertal heifers is influenced by level of dietary energy intake. *Biol. Reprod.* 51:1051-1057.
- Bronson, F. H., and J. M. Manning. 1991. The energetic regulation of ovulation: a realistic role for body fat. *Biol. Reprod.* 44:945-950.
- Brooks, A. L., R. E. Morrow, and R. S. Youngquist. 1985. Body composition of beef heifers at puberty. *Theriogenology* (24):235-250.
- Burfening, P. J.. 1979. Induction of puberty and subsequent reproductive performance. *Theriogenology*. 12:215-221.
- Buskirk, D. D., D. B. Faulkner, and F. A. Ireland. 1995. Increased postweaning gain of beef heifers enhances fertility and milk production. *J. Anim. Sci.* 73:937-946.
- Byerley, D. J., R. B. Staigmiller, J. G. Berardinelli, R. E. Short. 1987. Pregnancy rates of beef heifers bred either on puberal or third estrus. *J. Anim. Sci.* 65:645-650.
- Charles, S. L., K. A. Vonnahme, J. V. Yelich, H. G. Dolezal, and R. P. Wetteman. 1999. Effect of growth rate on mammary gland development at puberty in beef heifers. *Oklahoma State Anim. Sci. Res. Report* 293-295.
- Chelikani, P. K., J. D. Ambrose, and J. J. Kennelly. 2003. Effect of dietary energy and protein density on body composition, attainment of puberty, and ovarian follicular dynamics in dairy heifers. *Theriogenology* 60:707-725.
- Critser, J. K., T. M. Block, S. Folkman, and E. R. Hauser. 1987. Effect of photoperiod on LH, FSH, prolactin and melatonin patterns in ovariectomized prepubertal heifers. *J. Reprod. Fertil.* 81:29-39.
- Day, M. L., and L. H. Anderson. 1998. Current concepts on the control of puberty in cattle. *J. Anim. Sci.* 76(Suppl. 3):1-15.
- Day, M. L., K. Imakawa, M. Garcia-Winder, D. D. Zalesky, B. D. Schanbacher, R. J. Kittok, and J. E. Kinder. 1984. Endocrine mechanisms of puberty in heifers. Estradiol negative feedback regulation of luteinizing hormone secretion. *Biol. Reprod.* 31:332-341.
- Day, M. L., K. Imakawa, P. L. Pennel, D. D. Zalesky, A. C. Clutter, R. J. Kittok, and J. E. Kinder. 1986b. Influence of season and estradiol on secretion of luteinizing hormone in ovariectomized cows. *Biol. Reprod.* 35:549-553.

- Day, M. L., K. Imakawa, D. D. Zalesky, R. J. Kittok and J. E. Kinder. 1986. Effects of restriction of dietary energy intake during the prepubertal period on secretion of luteinizing hormone and the responsiveness of the pituitary to luteinizing hormone-releasing hormone in heifers. *J. Anim. Sci.* 62:1641-1648.
- Day, M. L., K. Imakawa, P. L. Wolfe, R. J. Kittok, and J. E. Kinder. 1987. Endocrine mechanisms of puberty in heifers. Role of hypothalamo-pituitary estradiol receptors in the negative feedback of estradiol on luteinizing hormone secretion. *Biol. Reprod.* 37:1054-1065.
- de Lucia, R.F.S., F.V. Pereira, and G.P. Nogueira. 2002. Follicular population in precocious and nonprecocious Nelore heifers during prepubertal period. *Therio.* 57(Suppl.1):603.
- Desjardins, C., and H. D. Hafs. 1969. Maturation of bovine female genitalia from birth through puberty. *J. Anim. Sci.* 28:502-507.
- Dodson, S. E., B. J. McLeod, W. Haresign, A. R. Peters, G. E. Lamming, and D. Das. 1989. Ovarian control of gonadotrophin secretion in the prepubertal heifer. *Anim. Reprod. Sci.* 21:1-10.
- Dow, J. S., Jr., J. D. Moore, C. M. Bailey, and W. D. Foote. 1982. Onset of puberty in heifers of diverse beef breeds and crosses. *Journal of Animal Science* 55:1041.
- Dufour, J. J. 1975. Influence of postweaning growth rate on puberty and ovarian activity in heifers. *Can. J. Anim. Sci.* 55:93-100.
- Erickson, B. H. 1966. Development and senescence of the postnatal bovine ovary. *J. Anim. Sci.* 25(3):800-805.
- Evans, A. C. O., G. P. Adams, and N. C. Rawlings. 1994a. Endocrine and ovarian follicular changes leading up to the first ovulation in prepubertal heifers. *J. Reprod. Fertil.* 100:187-194.
- Evans, A. C. O., G. P. Adams, and N. C. Rawlings. 1994b. Follicular and hormonal development in prepubertal heifers from 2 to 36 weeks of age. *J. Reprod. Fertil.* 102:463-470.
- Evans, A. C. O., G. P. Adams, and N. C. Rawlings. 1992. Effects of naloxone on circulating gonadotropin concentrations in prepubertal heifers. *J. Reprod. Fertil.* 96:847-855.
- Fajersson, P., H.V. Barradas, H. Roman-Ponce, and R.M. Cook. 1991. The effects of dietary protein on age and weight at the onset of puberty in Brown Swiss and Zebu heifers in the tropics. *Therio.* 35:845-855.
- Ferrell, C. L. 1982. Effects of postweaning rate of gain on onset of puberty and productive performance of heifers of different breeds. *J. Anim. Sci.* 55:1272-1283.
- Fleck, A. T., R. R. Schalles, and G. H. Kiracofe. 1980. Effect of growth rate through 30 months on reproductive performance of beef heifers. *J. Anim. Sci.* 51:816-821.
- Fox, D. G., C. J. Sniffen, and J. D. O'Connor. 1988. Adjusting nutrient requirements of beef cattle for animal and environmental variations. *J. Anim. Sci.* 66:1475-1495.
- Freetly, H. C., C. L. Ferrell, and T. G. Jenkins. 2001. Production performance of beef cows raised on three different nutritionally controlled heifer development programs. *J. Anim. Sci.* 79:819-826.
- Funston, R. N., and G. H. Deutscher. 2004. Comparison of target breeding weight and breeding date for replacement beef heifers and effects on subsequent reproduction and calf performance. *J. Anim. Sci.* 82:3094-3099.
- Garcia, M. R., M. Amstalden, C. D. Morrison, D. H. Keisler, and G. L. Williams. 2003. Age at puberty, total fat and conjugated linoleic acid content of carcass, and circulating metabolic hormones in beef heifers fed a diet high in linoleic acid beginning at four months of age. *J. Anim. Sci.* 81:261-268.
- Gasser, C.L., D.E. Grum, M.L. Mussard, F. Fluharty, J.E. Kinder, and M.L. Day. 2005a. Induction of

- precocious puberty in heifers: I. Enhanced secretion of lutenizing hormone. *J. Anim. Sci.* (Submitted)
- Gasser, C.L., C.R. Burke, M.L. Mussard, E.J. Behlke, D.E. Grum, J.E. Kinder, and M.L. Day. 2005b. Induction of precocious puberty in heifers II: Advanced ovarian follicular development. *J. Anim.Sci.* (Submitted)
- Gasser, C.L. G.A. Bridges, M.L. Mussard, D.M. Dauch, D.E. Grum, J.E. Kinder, and M.L. Day. 2005c. Induction of precocious puberty in heifers III: Hastened reduction of estradiol negative feedback on secretion of lutenizing hormone. *J. Anim. Sci.* (Submitted)
- Gasser, C.L., E.J. Behlke, D.E. Grum, and M.L. Day. 2005d. Effect of timing of feeding a high-concentrate diet on growth and attainment of puberty in early-weaned heifers. *J. Anim. Sci.* (Submitted)
- Granger, A. L., W. E. Wyatt, W. M. Craig, D. L. Thompson, Jr., and F. G. Hembry. 1989. Effects of breed and wintering diet on growth, puberty and plasma concentrations of growth hormone and insulin-like growth factor 1 in heifers. *Domest. Anim. Endocrinol.* 6:253-262.
- Greer, R. C., R. W. Whitman, R. B. Staigmiller, and D. C. Anderson. 1983. Estimating the impact of management decisions on the occurrence of puberty in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 56:30-39.
- Hall, J. B., R. B. Staigmiller, R. A. Bellows, R. E. Short, W. M. Moseley, and S. E. Bellows. 1995. Body composition and metabolic profiles associated with puberty in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 73:3409-3420.
- Hansen, P. J., L. A. Kamwanja, and E. R. Hauser. 1983. Photoperiod influences age at puberty of heifers. *J. Anim. Sci.* 57:985-992.
- Hansen, P. J., L. A. Kamwanja, and E. R. Hauser. 1982. The effect of photoperiod on serum concentrations of luteinizing and follicle stimulating hormones in prepubertal heifers following ovariectomy and estradiol injection. *Theriogenology* 18(5):551-559.
- Hopper, H. W., S. E. Williams, D. J. Byerley, M. M. Rollosson, P. O. Ahmed, and T. E. Kiser. 1993. Effect of prepubertal body weight gain and breed on carcass composition at puberty in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 71:1104-1111.
- Kinder, J. E., E. G. Bergfeld, M. E. Wehrman, K. E. Peters, and F. N. Kojima. 1995. Endocrine basis for puberty in heifers and ewes. In: Scaramuzzi, R. J., C. D. Nancarrow, and C. Doberska. (Eds.). *Reproduction in Domestic Ruminants III. J. Reprod. Fertil. (Suppl. 49)*, p 393. The Journals of Reproduction and Fertility, Ltd., Cambridge, UK.
- Kurz, S. G., R. M. Dyer, Y. Hu, M. D. Wright, and M. L. Day. 1990. Regulation of luteinizing hormone secretion in prepubertal heifers fed an energy-deficient diet. *Biol. Reprod.* 43:450-456.
- Lalman, D. L., M. K. Petersen, R. P. Ansotegui, M. W. Tess, C. K. Clark, and J. S. Wiley. 1993. The effects of ruminally undegradable protein, propionic acid, and monensin on puberty and pregnancy in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 71:2843-2852.
- Lammers, B. P., A. J. Heinrichs, and R. S. Kensinger. 1999. The effects of accelerated growth rates and estrogen implants in prepubertal holstein heifers on estimates of mammary development and subsequent reproduction and milk production. *J. Dairy Sci.* 82:1753-1764.
- Lammoglia, M. A., R. A. Bellows, E. E. Grings, J. W. Bergman, S. E. Bellows, R. E. Short, D. M. Hallford, and R. D. Randel. 2000. Effects of dietary fat and sire breed on puberty, weight, and reproductive traits of F1 beef heifers. *J. Anim. Sci.* 78:2244-2252.
- Lemenager, R. P., W. H. Smith, T. G. Martin, W. L. Singleton, and J. R. Hodges. 1980. Effects of winter and summer energy levels on heifer growth and reproductive performance. *J. Anim. Sci.* 51:837-842.

- Lynch, J. M., G. C. Lamb, B. L. Miller, R. T. Brandt, Jr., R. C. Cochran, and J. E. Minton. 1997. Influence of timing of gain on growth and reproductive performance of beef replacement heifers. *J. Anim. Sci.* 75:1715-1722.
- Marston, T. T., K. S. Lusby, and R. P. Wetteman. 1995. Effects of postweaning diet on age and weight at puberty and milk production of heifers. *J. Anim. Sci.* 73:63-68.
- Moran, C., J. F. Quirke, and J. F. Roche. 1989. Puberty in heifers: a review. *Anim. Reprod. Sci.* 18:167-182.
- Moseley, W. M., T. G. Dunn, C. C. Kaltenbach, R. E. Short, and R. B. Staigmiller. 1982. Relationship of growth and puberty in beef heifers fed monensin. *J. Anim. Sci.* 55(2):357-362.
- Moseley, W. M., M. M. McCartor, and R. D. Randel. 1977. Effects of monensin on growth and reproductive performance of beef heifers. *J. Anim. Sci.* 45:961-968.
- Nogueira, G.P. 2004. Puberty in South American *Bos indicus* (Zebu) cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 82-83:361-372.
- Oyedipe, E. O., D. I. K. Osori, O. Akerejola, and D. Saror. 1982. Effect of level of nutrition on onset of puberty and conception rates of zebu heifers. *Theriogenology* 18:525-539.
- Patterson, D. J., S. L. Wood, and R. F. Randle. 2000. Procedures that support reproductive management of replacement beef heifers. *Proc. Am. Soc. Anim. Sci.*, 1999. Available at: <http://www.asas.org/JAS/symposia/proceedings/0902.pdf>. Accessed June 22, 2005.
- Patterson, D. J., L. R. Corah, J. R. Brethour, J. J. Higgins, G. H. Kiracofe, and J. S. Stevenson. 1992. Evaluation of reproductive traits in *bos taurus* and *bos indicus* crossbred heifers: relationship of age at puberty to length of the postpartum interval to estrus. *J. Anim. Sci.* 70:1994-1999.
- Patterson, D. J., L. R. Corah, J. R. Brethour, M. F. Spire, J. J. Higgins, G. H. Kiracofe, J. S. Stevenson, and D. D. Simms. 1991. Evaluation of reproductive traits in *Bos Taurus* and *Bos indicus* crossbred heifers: effects of postweaning energy manipulation. *J. Anim. Sci.* 69:2349-2361.
- Penno, J. W., K. L. MacMillan, and A. M. Bryant. 1995. Effect of level of nutrition on age of puberty and reproductive performance of Friesian heifers. *Proc. N. Z. Soc. Anim. Prod.* 55:79-81.
- Quintans, G., J. M. Straumann, W. Ayala, and A. I. Vazquez. 2004. Effect of winter management on the onset of puberty in beef heifers under grazing conditions. 15th International Congress Anim. Reprod. 1:22. (Abstr.)
- Radcliff, R. P., M. J. Vandehaar, A. L. Skidmore, L. T. Chapin, B. R. Radke, J. W. Lloyd, E. P. Stanisiewski, and H. A. Tucker. 1997. Effects of diet and bovine somatotropin on heifer growth and mammary development. *J. Dairy Sci.* 80:1996-2003.
- Rawlings, N. C., P. M. Bartlewski, J. Aravindakshan, and S. J. Cook. 2005. The relationship between secretory patterns of gonadotrophic hormones and the attainment of puberty in bull and heifer calves born early or late during the spring calving season. *Anim. Reprod. Sci.* 86:175-186.
- Ringuet, H., G. Pelletier, P. Brazeau, P. Gaudreau, L. A. Guilbault, J. Morisset, Y. Couture, and D. Petitclerc. 1994. Long-term effects of human growth hormone-releasing hormone and photoperiod on hormone release and puberty in dairy heifers. *J. Anim. Sci.* 72:2709-2717.
- Roberson, M. S., M. W. Wolfe, T. T. Stumpf, L. A. Werth, A. S. Cupp, N. Kojima, P. L. Wolfe, R. J. Kittok, and J. E. Kinder. 1991. Influence of growth rate and exposure to bulls on age at puberty in beef heifers. *Journal of Animal Science* 69:2092.
- Roberson, M. S., R. P. Ansotegui, J. G. Berardinelli, R. W. Whitman, and M. J. McInerney. 1987. Influence

- of biostimulation by mature bulls on occurrence of puberty in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 64:1601-1605.
- Rodriguez, R. E. and M. E. Wise. 1989. Ontogeny of pulsatile secretion of gonadotropin-releasing hormone in the bull calf during infantile and pubertal development. *Endocrinology* 124:248-256.
- Schams, D., E. Schallenberger, S. Gombe, and H. Karg. 1981. Endocrine patterns associated with puberty in male and female cattle. *J. Reprod. Fertil.* 30:103-110.
- Schillo, K. K., D. J. Dierschke, and E. R. Hauser. 1982. Influences of month of birth and age on patterns of luteinizing hormone secretion in prepubertal heifers. *Therio.* 18(5):593-597.
- Schillo, K. K., P. J. Hansen, L. A. Kamwanja, D. J. Dierschke, and E. R. Hauser. 1983. Influence of season on sexual development in heifers: age at puberty as related to growth and serum concentrations of gonadotropins, prolactin, thyroxine, and progesterone. *Biol. Reprod.* 28:329-341.
- Sejrsen, K., and S. Purup. 1997. Influence of prepubertal feeding level on milk yield potential of dairy heifers: a review. *J. Anim. Sci.* 75:828-835.
- Sexten, W. J., D. B. Faulkner, and J. M. Dahlquist. 2004. Creep feed protein level and weaning age affects replacement beef heifer performance. *J. Anim. Sci.* 82(Suppl. 2):96. (Abstr.)
- Shamay, A., D. Werner, U. Moallem, H. Barash, and I. Bruckental. 2005. Effect of nursing management and skeletal size at weaning on puberty, skeletal growth rate, and milk production during first lactation of dairy heifers. *J. Dairy Sci.* 88:1460-1469.
- Short, R. E., and R. A. Bellows. 1971. Relationships among weight gains, age at puberty and reproductive performance in heifers. *J. Anim. Sci.* 32(1):127-131.
- Simpson, R. B., C. C. Chase, Jr., A. C. Hammond, M. J. Williams, and T. A. Olson. 1998. Average daily gain, blood metabolites, and body composition at first conception in Hereford, Senepol, and reciprocal crossbred heifers on two levels of winter nutrition and two summer grazing treatments. *J. Anim. Sci.* 76:396-403.
- Smith, G. M., H. A. Fitzhugh, Jr., L. V. Cundiff, T. C. Cartwright, and K. E. Gregory. 1976. A genetic analysis of maturing patterns in straightbred and crossbred Hereford, Angus and Shorthorn cattle. *J. Anim. Sci.* 43(2):389-395.
- Staigmiller, R. B., R. A. Bellows, R. E. Short, M. D. MacNeil, J. B. Hall, D. A. Phelps, and S. E. Bartlett. 1993. Conception rates in beef heifers following embryo transfer at the pubertal or third estrus. *Theriogenology* 39:315 (Abstr.).
- Tortonese, D. J., and E. K. Inskeep. 1992. Effects of melatonin treatment on the attainment of puberty in heifers. *J. Anim. Sci.* 70:2822-2827.
- Wehrman, M. E., F. N. Kojima, T. Sanchez, D. V. Mariscal and J. E. Kinder. 1996. Incidence of precocious puberty in developing beef heifers. *J. Anim. Sci.* 74:2462-2467.
- Wettemann, R. P., and J. W. Castree. 1994. Immunization of heifers against gonadotropin releasing hormone delays puberty and causes the cessation of estrous cycles. *Anim. Reprod. Sci.* 36:49-59.
- Wiltbank, J. N., S. Roberts, J. Nix, and L. Rowden. 1985. Reproductive performance and profitability of heifers fed to weigh 272 or 318 kg at the start of the first breeding season. *J. Anim. Sci.* 60:25-34.
- Wiltbank, J. N., C. W. Kasson, and J. E. Ingalls. 1969. Puberty in crossbred and straightbred beef heifers on two levels of feed. *J. Anim. Sci.* 29:602-605.

- Wiltbank, J. N., K. E. Gregory, L. A. Swiger, J. E. Ingalls, J. A. Rothlisberger, and R. M. Koch. 1966. Effects of heterosis on age and weight at puberty in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 25(3):744-751.
- Yelich, J. V., R. P. Wetteman, H. G. Dolezal, K. S. Lusby, D. K. Bishop, and L. J. Spicer. 1995. Effects of growth rate on carcass composition and lipid partitioning at puberty and growth hormone, insulin-like growth factor I, insulin, and metabolites before puberty in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 73:2390-2405.
- Yelich, J. V., R. P. Wetteman, T. T. Marston, and L. J. Spicer. 1996. Luteinizing hormone, growth hormone, insulin-like growth factor-I, insulin and metabolites before puberty in heifers fed to gain at two rates. *Domest. Anim. Endocrinol.* 13(4):325-338.

PROCEDIMENTOS QUE DÃO SUPORTE AO MANEJO REPRODUTIVO DE NOVILHAS DE CORTE DE REPOSIÇÃO*

D. J. Patterson, S.L. Wood e R.F. Randle

Universidade de Missouri

RESUMO

A seleção e o manejo de novilhas de corte de reposição envolvem decisões que afetam a produtividade futura de todo o rebanho de vacas. A decisão de cobrir novilhas de sobreano envolve consideração cuidadosa dos fundamentos econômicos de produção e considerações de status reprodutivo, raça, ou composição genética das novilhas em questão. A competência reprodutiva é consequência de um programa específico de eventos do desenvolvimento que levam à organização de órgãos e tecidos reprodutivos funcionalmente competentes. O momento da puberdade é crítico para determinar se uma novilha permanecerá no rebanho e qual será sua produtividade durante sua vida. Como a maioria dos componentes da fertilidade que influenciam a parição e o subsequente desempenho reprodutivo não são altamente herdáveis, é lógico presumir que a maioria dos fatores relacionados ao desempenho reprodutivo do gado é influenciada quase que inteiramente pelo manejo. A utilização de várias tecnologias de manejo pré-cobertura permite que os produtores melhorem o desempenho reprodutivo das novilhas durante a primeira estação de monta e durante o período subsequente de parição e nova cobertura em animais de dois anos. Estas práticas ajudam a garantir que as novilhas integradas ao rebanho, de criação própria ou adquiridas como reposição, contribuirão para o desempenho e produtividade gerais de todo o rebanho de forma imediata e cumulativa no longo prazo. Esta revisão examina os méritos relativos destas várias práticas e fornece uma avaliação da taxa de adoção de procedimentos específicos de manejo reprodutivo para novilhas de corte de reposição.

INTRODUÇÃO

A seleção e o manejo de novilhas de corte de reposição envolvem decisões que afetam a produtividade futura de todo o rebanho. Programas para desenvolver novilhas de reposição concentram-se nos processos fisiológicos que influenciam a puberdade. A idade à puberdade é de grande importância como característica de produção quando as novilhas são cobertas para parir aos dois anos e em sistemas que impõem períodos de monta restritos (Ferrell, 1982). A decisão de cobrir novilhas de sobreano envolve consideração cuidadosa dos fundamentos econômicos de produção e considerações de status reprodutivo, raça, ou composição genética das novilhas em questão (Wiltbank, 1978; Morris, 1980; DeRouen e Franke, 1989; Kinder et al., 1990; Marshall et al., 1990; Short et al., 1990). Diferenças regionais na idade em que as novilhas são expostas pela primeira vez à monta dependem dos sistemas de manejo, qualidade e disponibilidade da forragem, e adaptação das respectivas raças às condições ambientais específicas (Short et al., 1990). Em alguns casos, a vantagem econômica da monta e parição precoces tem contrapartida imposta por limitações biológicas do animal e restrições ambientais ao manejo (Short et al., 1990).

*Adaptado e reimpresso com permissão do Journal of Animal Science. Proc. Am. Soc. Anim. Sci., 1999. Disponível no site: <http://www.asas.org/jas/symposia/proceedings/0902.pdf>. Acessado em 03 de agosto de 2000.

O desempenho reprodutivo é a característica econômica mais importante num rebanho de vacas de corte (Trenkle e William, 1977; Melton, 1995). A maioria dos prejuízos reprodutivos ocorre quando as vacas não conseguem emprenhar, ou quando as perdas são altas no momento ou próximo ao momento da parição (Wiltbank, 1990; Bellows e Short, 1990). O manejo reprodutivo requer amplo entendimento do material técnico e conhecimento para minimizar a perda reprodutiva e para se tomar decisões que, em última instância, resultem em lucro (Dziuk e Bellows, 1983). Esta revisão concentra-se nas práticas de manejo reprodutivo para o desenvolvimento de novilhas de corte de reposição e no estado atual da indústria com respeito à utilização de vários procedimentos de manejo.

O CICLO REPRODUTIVO DA VACA

No processo de produção de carne para consumo, a fase reprodutiva é caracterizada pela monta, concepção, parição e fase inicial de nutrição de um animal (Melton, 1995). Uma taxa de desmame aumentada representa o maior valor econômico ajustado no tempo para produtores comerciais de vacas-bezerros, simplesmente porque, sem um bezerro para vender, nenhuma outra característica tem muito significado (Melton, 1995). A falha reprodutiva e (ou) a perda dentro de um rebanho ocorre primeiramente como resultado de vacas que não conseguem emprenhar ou por perdas de bezerros no momento ou próximo ao momento da parição (Wiltbank, 1990; Bellows e Short, 1990). A puberdade da novilha e a retomada da ciclicidade estral na vaca após o parto são eventos reprodutivos críticos que determinam se e quando a prenhez vai ocorrer.

A puberdade na fêmea bovina é determinada por uma gama de variáveis genéticas e ambientais identificáveis. Em última instância, a competência reprodutiva é consequência de um programa específico de eventos que levam à organização de tecidos e órgãos reprodutivos funcionalmente competentes (Bartol et al., 1995). Estudos desenhados para determinar a seqüência de eventos que ocorrem na puberdade deram lugar a pesquisas focadas em fatores básicos que influenciam o início da puberdade e na inter-relação de reprodução, crescimento e metabolismo. Revisões da literatura fornecem respostas a perguntas relativas ao controle da puberdade na novilha e a fatores que influenciam o seu início. Estas perspectivas incluem fatores genéticos (Martin et al., 1992), nutrição e estação (Schillo et al., 1992), endocrinologia reprodutiva (Day e Anderson, 1998) e manejo (Kinder et al., 1990; Patterson et al., 1992a; Larson, 1998).

A produção de forragem e o processo reprodutivo no gado de corte são eventos cíclicos (Figura 1; Bellows, 1987). As categorias amplas e gerais que descrevem este ciclo incluem: 1) desenvolvimento da novilha de reposição e 2) nova cobertura da matriz em lactação. Crescimento e ganhos de peso são parte integral tanto dos eventos reprodutivos como de uma produção lucrativa (Bellows, 1987). Coletivamente, isto sugere que são necessárias abordagens de alimentação durante o ciclo de vida dos animais, nas quais níveis mais altos de suplementação nutricional são usados durante os períodos chave de crescimento e desenvolvimento.

Novilhas cobertas para parir aos dois anos devem ser submetidas à monta antes das vacas maduras do mesmo rebanho, e períodos de parição precoce podem ser usados como forma de aumentar a eficiência da produção (Wiltbank, 1970). Esta prática com frequência resulta em novilhas sendo cobertas no estro puberal. A fertilidade de novilhas cobertas no estro puberal foi 21 por cento inferior àquela de vacas cobertas em seu terceiro estro (Byerley et al., 1987; Perry et al., 1991). Isto significa que as novilhas devem atingir a puberdade de 1 a 3 meses antes da idade média em que devem ser cobertas (Short et al., 1990). Uma idade à puberdade mais precoce em relação à monta garante que uma porcentagem alta de novilhas estarão ciclando, e serão minimizados os efeitos de uma fertilidade potencial diminuída no estro puberal (Short et al., 1990).

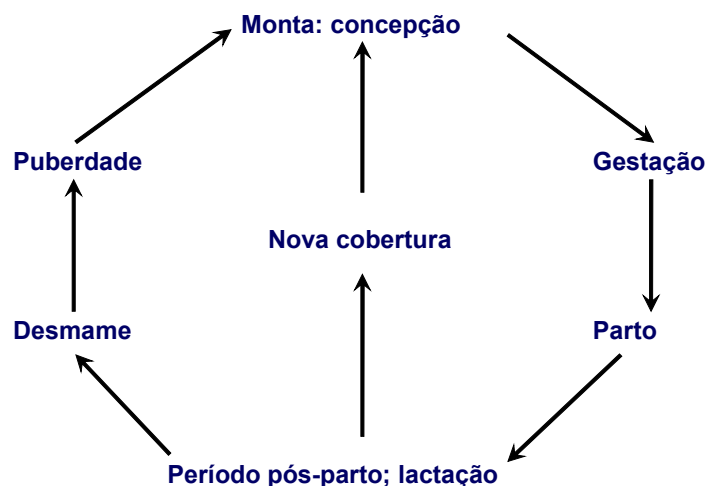


Figura 1. Ciclo reprodutivo da fêmea de corte (Bellows, 1985).

O momento da puberdade é crítico para determinar se uma novilha permanecerá no rebanho e qual será sua produtividade durante sua vida. Como a maioria dos componentes da fertilidade que influenciam a parição e o subsequente desempenho reprodutivo não são altamente herdáveis, é lógico presumir que a maioria dos fatores relacionados ao desempenho reprodutivo do gado é influenciada quase que inteiramente pelo manejo. Patterson et al. (1992a) forneceram uma revisão sequencial das consequências associadas ao emprego de várias técnicas de manejo que podem ser impostas durante cada fase do processo de desenvolvimento; começando com a fase de mamada da bezerra de corte e progredindo ao longo do primeiro período pós-parto.

Uma série de fatores influenciam a capacidade que uma vaca tem de parir num determinado ano, e sucessivamente ao longo de vários anos. O manejo de novilhas de reposição durante o período que se estende do pós-desmame até a pré-cobertura influencia em grande parte quando a puberdade, prenhez e parto ocorrerão. Novilhas que têm o parto no início de sua primeira estação de parição têm maior produção de bezerros durante sua vida do que aquelas que parem mais tarde (Lesmeister et al., 1973). Como a maioria dos bezerros é desmamada em um determinado momento, ao invés de desmamarem com base em idade ou peso constantes, bezerros nascidos tardiamente na estação de parição normal usualmente são de menor peso do que aqueles nascidos em seu início, diminuindo a produtividade durante a vida de suas matrizes (Lesmeister et al., 1973).

PROCEDIMENTOS DE MANEJO REPRODUTIVO PARA NOVILHAS DE CORTE DE REPOSIÇÃO

A sobrevivência e prosperidade a longo prazo da indústria de gado de corte dos Estados Unidos depende de sua viabilidade econômica, que é melhor atendida através de sua competitividade, lucratividade e eficiência econômica (Melton, 1995). Administrar um empreendimento requer a habilidade fundamental de tomar decisões com base em informações concretas e não imaginadas. Uma gama de procedimentos estão à disposição dos produtores de rebanhos de cria para ajudá-los no manejo reprodutivo de novilhas de corte de reposição e determinar o resultado de um programa de desenvolvimento. Esses procedimentos, quando vistos coletivamente como um “programa”, auxiliam os criadores a gerenciar mais eficazmente a reprodução

de seus rebanhos. Produtores que utilizam esses procedimentos são capazes de usar dados gerados em suas próprias fazendas e com suas próprias novilhas para planejar, executar e atingir metas genéticas e reprodutivas para seus rebanhos. Esses procedimentos facilitam melhorias no desempenho de cobertura de novilhas de reposição durante a primeira estação de monta e durante o período subsequente de parição e nova cobertura em animais de dois anos. A adoção de procedimentos específicos para uma operação depende de fatores que incluem o nível atual de desempenho, disponibilidade de instalações e mão-de-obra, e retorno econômico.

A Tabela 1 fornece um resumo do Sistema Nacional de Monitoramento de Saúde Animal do USDA (NAHMS, 1994a) que fez uma revisão da porcentagem das criações de gado de corte nos EUA que empregam procedimentos selecionados de manejo em novilhas de corte de reposição. Esses procedimentos tiveram uma aceitação apenas marginal, apesar de seu impacto potencial e resultante contribuição para a melhoria reprodutiva de todo o rebanho, tanto a curto como a longo prazo. Coletivamente, estas práticas ajudam a garantir que as novilhas integradas ao rebanho, de criação própria ou adquiridas como reposição, contribuirão para o desempenho e produtividade gerais de seu rebanho de forma imediata e cumulativa no longo prazo. Estes procedimentos fornecem uma avaliação objetiva da fase de desenvolvimento que se estende do pós-desmame à pré-cobertura e um meio útil de selecionar ou descartar reposições potenciais. Faz-se necessária uma revisão sequencial dessas práticas, para determinar o mérito relativo de cada prática individual e, o que é mais importante, a contribuição cumulativa dessas práticas para uma melhora no manejo reprodutivo total de todo o rebanho.

Tabela 1. Procedimentos selecionados de manejo empregados em novilhas de corte de reposição^a

Prática de manejo	Porcentagem de operações de corte
Alimentação separada	31,8
Medidas pélvicas	3,0
Escores do aparelho reprodutor	1,2
Monta antes do rebanho maduro	12,7
Sincronizar estro	3,0
Inseminação artificial	3,3
Escore de condição corporal	4,6
Peso	7,9
Diagnóstico/palpação de prenhez	15,9

^aAdaptado do NAHMS, 1994a.

Peso alvo

O princípio do peso alvo requer uma alimentação das novilhas até que atinjam um peso alvo pré-cobertura, que representa 65 por cento do peso adulto. A puberdade pode ser esperada no momento em que os animais atingirem um tamanho geneticamente pré-determinado individualmente (Lamond, 1970; Taylor e Fitzhugh, 1971), e altas taxas de prenhez só podem ser obtidas quando as novilhas atingirem um peso alvo geneticamente pré-determinado. O genótipo da novilha tem que ser considerado no programa de desenvolvimento (Laster et al., 1976; Brinks et al., 1978; Toelle e Robison, 1985; Cundiff, 1986). Os efeitos do desenvolvimento nutricional pós-desmame manifestam-se em momentos diferentes dentro do ciclo reprodutivo. Além disso, a vulnerabilidade de raças específicas ou de cruzamentos de raças a esses efeitos diferem em momentos específicos desse ciclo (Patterson et al., 1991, 1992b). Novilhas com o potencial genético de atingir maior

peso quando maduras têm que atingir um maior peso pré-cobertura antes da primeira estação de monta. Utilizando o padrão estabelecido pela *Beef Improvement Federation* (BIF, 1990) para classificações em nove tamanhos corporais de gado nos EUA, os criadores podem estimar a composição corporal e os requisitos energéticos por kg de ganho em várias faixas de peso durante o período de alimentação (Fox et al., 1988). Taxas de crescimento ótimas para fêmeas de reposição de vários portes também estão disponíveis. Essas taxas de crescimento representam valores ótimos para novilhas de vários tamanhos corporais em idade madura e foram desenvolvidas para maximizar a produtividade da fêmea durante todo o seu ciclo de vida (Tabela 2; Fox et al., 1988).

Tabela 2. Taxa de crescimento ótima para cobertura de novilhas de reposição no rebanho^a

Tamanho corporal					
	1	3	5	7	9
Peso ótimo ao primeiro estro, lb	572	669	761	858	955
Peso em idade madura, lb	880	1027	1173	1320	1467

^aDe Fox et al., 1988

Embora a taxa de ganho de peso seja importante para que as novilhas atinjam a puberdade em idade precoce, um crescimento rápido durante o período pré-puberal pode diminuir a subsequente produção de leite (Mangus e Brinks, 1971; Kress e Burfening, 1972; Holloway e Totusek, 1973; Beltran, 1978; Martin et al., 1981; Sejrsen et al., 1982; Harrison et al., 1983; Johnsson e Obst, 1984; Laflamme, 1993; Sejrsen, 1994; Sejrsen e Purup, 1997). Esquemas de manejo nutricional em degraus foram empregados para limitar o crescimento durante períodos críticos do desenvolvimento mamário e, em seguida, para permitir períodos de rápido crescimento que possibilitem às novilhas atingir a puberdade em idade precoce (Park et al., 1989, 1998; Barash et al., 1994; Choi et al., 1997; Lynch et al., 1997). Grings et al. (1998, 1999) relataram pouco efeito direto de se fazer suplementação com oligominerais ou de se alterar as taxas de ganho de peso desde o desmame ao início da estação de monta no desempenho reprodutivo e na subsequente produção de leite para novilhas de corte que ganham mais de 0,6 kg/d.. Portanto, estes autores sugeriram uma certa flexibilidade na estratégia de ganho de peso e formulação da dieta com subseqüentes alterações nos custos da ração (Grings et al., 1999).

Patterson et al. (1992b) relataram uma importante relação negativa entre a idade à puberdade (IP) e a subsequente duração do intervalo pós-parto (IPP) até o estro seguinte. O aumento no IPP em novilhas que atingiram a puberdade em idades mais precoces foi associado ao peso da novilha no desmame. Novilhas que pesavam mais no momento em que foram desmamadas quando ainda bezerras atingiram a puberdade mais precocemente e com maiores pesos. Essas mesmas novilhas, entretanto, tiveram um IPP mais longo após o parto, e desmamaram bezerros mais pesados ao final de seu primeiro ano em produção aos dois anos de idade. Novilhas apresentaram um IPP mais longo quando tanto o peso como sua condição no momento do parto declinaram. Ferrell (1982) mostrou que novilhas grandes eram mais jovens e pesadas à puberdade, produziam mais leite e tinham escores de condição corporal mais baixos do que novilhas menores. É esperado que vacas grandes que produzem mais leite tenham requisitos nutricionais maiores do que vacas menores que produzem menos leite. Escores de condição corporal mais baixos sugerem que novilhas grandes são menos capazes de atender seus requisitos nutricionais durante a lactação do que novilhas menores (Ferrell, 1982; Buttram e Willham, 1987). Estes dados são apoiados por estudos mais recentes realizados por Brink e Kniffen (1996), e Frazier et al. (1999). Em seu conjunto, esses dados caracterizam um problema comum

na indústria pecuária de corte associado ao manejo nutricional da vaca de dois anos, e demonstram que esquemas de manejo precoce têm um efeito significativo na reprodução subsequente.

Até que uma regra geral melhor seja estabelecida, o princípio do peso alvo, de se desenvolver novilhas a um peso ótimo pré-cobertura, parece ser o método mais viável de garantir que um percentual relativamente alto de novilhas de sobreano cheguem à puberdade até a estação de monta. Entretanto, os dados do NAHMS (1994a) indicam que poucas operações determinam o peso (7,9%), o escore de condição corporal (4,6%), ou alimentam as novilhas separadas do rebanho de vacas maduras (31,8%), sugerindo que, em muitos casos, as novilhas não estão sendo alimentadas adequadamente a fim de atender suas necessidades nutricionais particulares (Tabela 1).

Exames Pré-cobertura: Escores do aparelho reprodutor (EAR) e medidas pélvicas

Escores do aparelho reprodutor: Uma prática desenvolvida recentemente (Anderson et al., 1991) pode ser empregada para auxiliar criadores de gado de corte na seleção de potenciais reposições do rebanho e na determinação do momento de se fazer programas de sincronização de estro. Um sistema de escores do aparelho reprodutor (EAR) foi desenvolvido para estimar o status puberal (Tabela 3). Escores são estimativas subjetivas de maturidade sexual, baseadas no desenvolvimento folicular ovariano e no tamanho palpável do útero. Um EAR 1 é dado a novilhas com aparelhos infantis, indicados por cornos uterinos pequenos e sem tônus e ovários pequenos sem estruturas significativas. Novilhas classificadas com escore EAR 1 são provavelmente as mais distantes da puberdade no momento do exame. Novilhas classificadas com escore EAR 2 são consideradas mais próximas da puberdade do que aquelas com escore 1, devido primeiramente a cornos uterinos e ovários maiores. Novilhas classificadas com escore EAR 3 são consideradas prestes a apresentar ciclo estral, com base no tônus uterino e em folículos palpáveis. Novilhas classificadas com escore 4 são consideradas como apresentando ciclo estral, indicado por tônus e tamanho uterinos, enovelamento dos cornos uterinos, assim como pela presença de folículos em tamanho pré-ovulatório. Novilhas classificadas com escore 4 não têm um corpo lúteo facilmente distinguido. Novilhas com um escore EAR 5 são semelhantes àquelas classificadas com escore 4, exceto pela presença de um corpo lúteo palpável (Tabela 3). Exames pré-cobertura que incluem EAR oferecem a oportunidade de se avaliar o desenvolvimento reprodutivo, além de fornecerem uma avaliação de possíveis situações anormais que podem prejudicar o subsequente potencial reprodutor de uma novilha.

Tabela 3. Escores do aparelho reprodutor^a

EAR	Cornos uterinos	Comprimento ovariano (mm)	Altura ovariana (mm)	Largura ovariana (mm)	Estruturas ovarianas
1	Imaturos, < 20 mm de diâmetro, sem tônus	15	10	8	Sem folículos palpáveis
2	20-25 mm de diâmetro, Sem tônus	18	12	10	Folículos de 8 mm
3	20-25 mm de diâmetro, Leve tônus	22	15	10	Folículos de 8-10 mm
4	30 mm de diâmetro, bom tônus	30	16	12	Folículos de 10 mm, CL possível
5	> 30 mm de diâmetro	> 32	20	15	CL presente

^aDe Anderson et al., 1991.

A Figura 2 representa uma interpretação modificada do modelo conceitual para o início da puberdade na novilha apresentado por Day e Anderson (1998). Esse modelo combina as mudanças endócrinas e ovarianas associadas que ocorrem à medida que as novilhas se aproximam da puberdade, além dos escores EAT correspondentes que seriam atribuídos nos respectivos momentos do desenvolvimento. Um EAR 1 corresponde ao momento no tempo em que o padrão de liberação de LH é caracterizado por pulsos de baixa frequência. Isto se deve ao fato de que o eixo hipotalâmico-hipofisário é altamente responsivo ao feedback negativo do estrógeno. Escores do aparelho reprodutor de 2 e 3 são associados com a fase peri-puberal, na qual a responsividade ao feedback negativo do estradiol diminui, causando aumentos na frequência de pulsos de LH, crescimento folicular e secreção de estradiol. O declínio no feedback negativo do estradiol e o aumento da secreção de LH resultam em significativos aumentos no crescimento folicular, e elevadas concentrações de estradiol suficientes para induzir o estro e o pico de LH pré-ovulatório. Escores do aparelho reprodutor de 4 e 5 são atribuídos a novilhas que chegaram à puberdade, mas diferem no estágio do ciclo estral no momento do exame pré-cobertura (fase folicular = 4; fase lútea = 5).

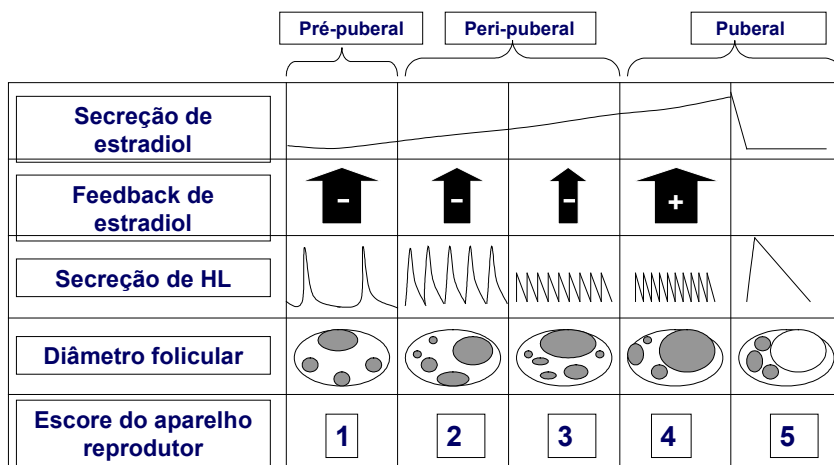


Figura 2. Mudanças endócrinas e ovarianas associadas ao início da puberdade na novilha e escore do aparelho reprodutor correspondente (adaptado de Day e Anderson, 1998 e Anderson et al., 1991).

Implantes que promovem o crescimento são extensivamente usados nas fases de aleitamento, crescimento e terminação do ciclo de produção de bovinos de corte (Hargrove, 1990; Simpson e Moore, 1990; Deutscher, 1991). Agentes anabolizantes ou promotores de crescimento são compostos que contêm estrógeno e (ou) progesterona, compostos não-esteróides que têm atividade estrogênica (zeranol), ou androgênicos sintéticos potentes (acetato de trembolona). Bartol et al. (1995) desenharam um estudo para determinar: 1) se a exposição de bezerras de corte no período neonatal a progesterona ou estradiol, administrados por um implante promotor de crescimento comercializado (Synovex-C®) afetaria a estrutura ou função uterinas no animal adulto, evidenciadas por alterações na morfologia macroscópica, histoarquitetura ou conteúdo proteico na luz do útero; e 2) se tais efeitos estariam relacionados à idade neonatal em que tal exposição a esteróides aconteceu pela primeira vez. Os resultados do estudo de Bartol aparecem na Tabela 4. Os resultados desse estudo (Bartol et al., 1995) indicam claramente que a exposição crônica de bezerras de corte a progesterona ou estradiol, começando no dia 45 pós-natal ou antes, reduzia os pesos útero-cervicais e alterava a histologia da parede uterina. É especialmente importante notar que estes efeitos foram observados em novilhas 15 meses após a primeira exposição a esteróides. Independentemente da idade neonatal em que o tratamento foi iniciado, a administração crônica de progesterona e estrógeno foi, em última instância, refletida na parede uterina do animal adulto por reduções significativas nas áreas transversais tanto do miométrio como do endométrio e por uma densidade reduzida da glândula uterina. Em alguns casos, a perda no desenvolvimento do parênquima endometrial no animal adulto foi refletida por reduções tanto na área endometrial como na glandularidade, em alguns casos se aproximando de 75 por cento. Embora esse estudo não tenha sido desenhado para avaliar os efeitos do implante na fertilidade bovina, as alterações ocorridas não podem ser consideradas efeitos desejáveis, uma vez ser reconhecido que tanto os tecidos uterinos maternos quando as secreções uterinas desempenham papéis críticos no suporte ao desenvolvimento do conceito (Bartol et al., 1995).

Tabela 4. Efeitos da exposição neonatal a progesterona e estradiol no desenvolvimento do aparelho reprodutor de novilhas de corte adultas^a

Resposta ^b	Idade neonatal no momento do tratamento ^c			
	Nasci ento	Dia 21	Dia 45	Controle
Peso útero-cervicald (g)	113,7 ^e	123,5 ^e	101,3 ^e	173,9 ^f
Área do miométrio (mm ²)	123,7 ^h	141,8 ^h	111,3 ^h	162,8 ⁱ
Área do endométrio (mm ²)	29,9 ⁱ	32,4 ^j	37,7 ^j	45,4 ^k
Densidade da glândula 172,2 ^e (hits/mm ²)	380,3 ^f	328,2 ^f	486,9 ^g	
Conteúdo proteico da luz do útero (mg/lavado)	2,8 ^e	2,9 ^e	2,3 ^e	4,9 ^f

^aAdaptado de Bartol et al., (1995).

^bDados foram coletados de novilhas adultas cíclicas no dia 12 de um ciclo estral induzido.

^cNovilhas tratadas receberam um único implante Synovex-C[®] contendo progesterona (100 mg) e benzoato de estradiol (10 mg). Os implantes foram colocados (sc) no dia designado do período neonatal. Novilhas de controle não foram tratadas.

^{d,e,f,g,h,i,j}Médias em uma linha com diferentes índices diferem (P < 0,05).

Esses achados, no que se relacionam ao EAR, têm significado em situações envolvendo novilhas cujo histórico de manejo é desconhecido no momento em que o exame pré-cobertura é realizado. As alterações que ocorrem na morfologia uterina como resultado da administração do implante são, em muitos casos, palpáveis ao exame retal no momento em que o exame EAR é realizado. Estas observações são feitas em novilhas examinadas até 15 meses após a primeira exposição a esteróides, indicadas pela redução de 75 por cento na área endometrial e na glandularidade (Bartol et al., 1995).

O sistema de escore do aparelho reprodutor pode ser usado para selecionar novilhas que estejam “prontas para reproduzir” na estação de monta, minimizando assim os custos de manutenção de novilhas que muito provavelmente não conseguirão ciclar e conceber. Os escores do aparelho reprodutor, quando determinados no momento adequado, são um indicador útil para determinar se as novilhas estão prontas para serem colocadas em um tratamento de sincronização de estro, e também são úteis para determinar o método mais apropriado de sincronização a ser empregado. Entretanto, apenas pouco mais de 1 por cento dos criadores utilizam esta ferramenta de manejo relativamente nova (Tabela 1).

Medidas pélvicas: as medidas pélvicas devem ser utilizadas além da seleção por tamanho, peso e, acima de tudo, fertilidade, e não em sua substituição (Bellows e Staigmiller, 1990). Os criadores devem estar cientes de que a seleção por área pélvica provavelmente não resultará em um aumento nas dimensões pélvicas apenas, mas resultará em um aumento de todo o esqueleto e de todo o animal (Morrison et al., 1986). O aumento no tamanho do esqueleto da matriz será refletido em maiores pesos e dimensões do bezerro ao nascimento. Por outro lado, medidas pélvicas podem ser utilizadas com sucesso para identificar pelves de formatos anormais ou anormalmente pequenas. Estas situações, quando não identificadas, estão freqüentemente associadas a distocia extrema, o que resulta em partos com cesariana e até morte do bezerro ou da matriz (Patterson et al., 1992a).

Estimativas recentes indicam que quase 20 por cento das novilhas de corte requerem algum grau de assistência no parto (NAHMS, 1994b). O levantamento do NAHMS (1994b) indica que mais da metade dos produtores (57,2 por cento) verificam suas novilhas apenas uma ou duas vezes em um período de 24

horas durante a estação de parição. Adicionalmente, estatísticas recentes indicam que perdas de bezerros por distocia podem chegar a até 20 por cento. A seleção de touros reprodutores com baixo PC-DEP para cobrir novilhas triadas segundo a área pélvica poderia contribuir para diminuir a incidência e (ou) gravidade dos problemas de parto e minimizar as perdas de bezerros devido à distocia.

Bullock e Patterson (1995) relataram que a puberdade exerce uma influência positiva na largura pélvica e na área pélvica resultante em novilhas de sobreano, no entanto, diferenças vistas em novilhas de sobreano não se mantiveram até o momento da parição em animais de dois anos. Portanto, decisões de seleção (e descarte) baseadas em medidas pélvicas e agrupamentos contemporâneos por análise genética de medidas pélvicas devem incluir consideração do estado puberal no momento do exame. Os dados sugerem que a puberdade tem um papel a desempenhar no tamanho pélvico de novilhas de sobreano, mas que, uma vez que as novilhas atingem a puberdade, os efeitos podem não mais estar presentes. Um nível de descarte com base no tamanho pélvico de novilhas que estão em diferentes estágios de desenvolvimento reprodutivo parece ser mais restritivo para novilhas peri-puberais na época do exame. Apesar do fato de que medidas pélvicas podem ser uma ferramenta de manejo útil para eliminar novilhas com mais chance de apresentar dificuldades no parto, somente 3 por cento dos criadores relataram utilizar esta técnica em seus rebanhos (Tabela 1).

Sincronização de estro e inseminação artificial

Prevê-se um aumento substancial na porcentagem de bovinos de corte submetidos a inseminação artificial com o advento do sêmen sexado (Seidel, 1998). No entanto, atualmente, somente 3,3 por cento das criações de bovinos de corte nos EUA praticam IA em suas novilhas e somente 3 por cento do total das operações utilizam sincronização de estro para facilitar seus programas de IA (Tabela 1).

Embora o tratamento hormonal de novilhas e vacas para agrupá-las em períodos de estro já seja uma realidade comercial há anos, pecuaristas têm sido lentos na adoção desta prática de manejo. Talvez isto se deva a fracassos passados, que resultaram quando matrizes que foram colocadas em tratamentos de sincronização de estro não conseguiram atingir a puberdade ou a retomar ciclos estrais normais depois do parto. Não obstante, a sincronização de estro e a inseminação artificial permanecem sendo as mais importantes e mais largamente aplicáveis biotecnologias de reprodução disponíveis. (Seidel, 1995).

A sincronização de estro e a inseminação artificial contribuem de várias maneiras para um programa completo de desenvolvimento de novilhas. A sincronização de estro melhora a gestão do tempo para produtores que utilizam IA ao concentrar os períodos de cobertura e resultante parição. Os responsáveis podem passar mais tempo observando as novilhas parirem, pois as partições ocorrem em um intervalo de tempo mais curto. Em muitos casos, as perdas de bezerros são reduzidas devido a um manejo melhor durante o período de parição. A inseminação artificial oferece a oportunidade de se fazer a cobertura de novilhas por touros de baixo PC-DEP com alta precisão. Esta prática minimiza a incidência e a gravidade das dificuldades de parto e diminui a perda de bezerros devido à distocia. Além disso, novilhas que concebem durante um período sincronizado tipicamente desmamam bezerros mais velhos e pesados no momento do desmame (Schaffer et al., 1990). Finalmente, bezerras de corte que resultam de IA podem ser uma excelente fonte de futuras reposições facilitando um aperfeiçoamento mais rápido na composição genética de todo o rebanho.

Potencial para ciclicidade estral induzida com progestinas

Progestinas foram usadas para induzir o estro em novilhas peri-puberais (Gonzalez-Padilla et al., 1975) e são freqüentemente combinadas com estrógeno para simular mudanças que ocorrem nas concentrações hormonais na época da puberdade. Um aumento de progesterona é considerado pré-requisito para o desenvolvimento de ciclos estrais normais. A concentração de progesterona aumenta durante o início da puberdade na novilha (Berardinelli et al., 1979), e antes da retomada da ciclicidade ovariana normal em

vacas de corte pós-parto com bezerro ao pé (Prybil e Butler, 1978; Rawlings et al., 1980). As progestinas estimulam um aumento no crescimento folicular que resulta, em seguida, em uma produção aumentada de estrógeno pelos folículos ovarianos (Henricks et al., 1973; Wetteman e Hafs, 1973; Sheffel et al., 1982; Garcia-Winder et al., 1986). O acetato de melengestrol inicia a ciclicidade estral em novilhas de corte peri-puberais (Patterson et al., 1990) e está associado a um aumento na frequência de pulsos de LH durante o período de tratamento (Smith e Day, 1990; Imwalle et al., 1998). Estudos recentes sugerem que os efeitos estimulantes das progestinas sobre a secreção de LH são maiores após a descontinuação do esteróide (Hall et al., 1997; Imwalle et al., 1998). Além disso, melhoras na resposta observada de indução da puberdade após tratamento com uma progestina ocorrem com o aumento da idade (Hall et al., 1997). O aumento na liberação pulsátil de LH, que ocorre em resposta ao tratamento com progestina em novilhas em fase peripuberal, resulta em uma diminuição nos receptores de estrógeno em sistemas neuronais que mediam ações do feedback negativo do estradiol na secreção de GnRH (Anderson et al., 1996).

Burfening (1979) sugeriu que, como a puberdade é uma característica herdável, a puberdade induzida em novilhas de reposição ao longo de várias gerações poderia resultar em situações em que o início da puberdade seria difícil sem o tratamento hormonal. Esta consideração não pode ser negligenciada. Entretanto, é necessário explorar tratamentos para induzir a puberdade em raças de bovinos de amadurecimento tardio mas com idade e peso suficientes no momento do tratamento para se permitir uma aplicação bem sucedida (Patterson et al., 1990). A decisão de empregar essa prática em um rebanho talvez seja diferente em diferentes tipos de criação de gado de corte. Por exemplo, a meta comum à maioria dos administradores de rebanhos de cria comerciais é maximizar a taxa de desmame. Em outras palavras, o investimento de tempo e recursos em uma novilha do desmame à cobertura requer que esforços sejam feitos para facilitar o início da puberdade e maximizar a probabilidade de uma prenhez precoce. Neste cenário, um método de indução de puberdade em novilhas poderia ser uma ferramenta valiosa para melhorar o desempenho reprodutivo de novilhas reservadas para reprodução. Por outro lado, administradores de núcleos genéticos devem pesar a importância econômica do início da puberdade em seus rebanhos, assim como nos de seus clientes, e a implicação potencial associada e resultante de se mascarar sua verdadeira expressão genética.

Diagnóstico precoce de prenhez

Determinar as taxas de prenhez e avaliar com precisão sua distribuição por período em uma estação de monta requer que o diagnóstico de prenhez seja feito em um momento fixo. Para se determinar com precisão a data da concepção e a conseqüente data de parição, este ponto no tempo deve representar um número máximo de dias a partir de quando a cobertura foi iniciada. Esta informação pode ser usada para determinar o sucesso de um programa de sincronização de estro e IA, para projetar as datas de parição e para descartar novilhas de reposição que tenham sido cobertas tardiamente ou que não tenham emprenhado.

A ultrassonografia diagnóstica é uma forma não-invasiva de acesso visual ao colo do útero, útero e ovários, para se avaliar alterações morfológicas normais em bovinos (Pierson e Ginther, 1988; Kastelic et al., 1988; Griffin e Ginther, 1992). As vantagens potenciais de se utilizar a ultrassonografia para o diagnóstico de prenhez são que a presença de embrião pode ser detectada mais precocemente do que por palpação por via retal. O uso da ultrassonografia, no lugar da palpação manual do aparelho reprodutor, pode melhorar a consistência do diagnóstico precoce de prenhez (< dia 45) ao reduzir a variação entre os técnicos (Beal et al., 1992). Adicionalmente, a determinação do sexo do feto utilizando-se o ultrassom pode ser uma eficaz ferramenta de manejo e marketing (Muller e Wittkowski, 1986). Saber o sexo do feto em desenvolvimento pode fornecer informações valiosas ao criador e (ou) comprador de novilhas de reposição cobertas. O diagnóstico de prenhez é um dos procedimentos reprodutivos mais largamente empregados, todavia, somente 15,9 por cento dos criadores de gado de corte nos EUA determinam rotineiramente o status de prenhez de suas novilhas (NAHMS, 1994a).

INTERPRETAÇÃO DOS DADOS OBTIDOS A PARTIR DE VÁRIOS PROCEDIMENTOS REPRODUTIVOS PARA TOMAR DECISÕES DE MANEJO

De modo conjunto, o peso pré-cobertura, o escore do aparelho reprodutor e a área pélvica total podem ser usados para avaliar o sucesso de um programa de desenvolvimento. O momento de realização destes procedimentos é fator crítico para verificar se as novilhas estão prontas para serem colocadas em tratamento de sincronização de estro, para determinar o tipo de tratamento a ser aplicado e para a antecipação dos resultados de um determinado tratamento no que diz respeito a resposta estral e subsequente prenhez. A tabela 5 consolida dados pré-cobertura coletados em 2.664 novilhas (Patterson e Bullock, 1995). As medições foram obtidas no intervalo de 2 semanas anteriores à administração de um tratamento com MGA-PG de 14-17 dias. O escore do aparelho reprodutor foi correlacionado com o peso pré-cobertura ($r=0,39$), altura pélvica ($r=0,30$), largura pélvica ($r=0,34$) e área pélvica total ($r=0,39$). O baixo desempenho reprodutivo de novilhas com EAR 1 aponta para a importância de se identificar e descartar essas novilhas antes do início da estação de monta (Tabela 5).

Nas situações em que as novilhas estão programadas para iniciar um tratamento de sincronização de estro com MGA, recomendamos que o EAR seja realizado no intervalo de 2 semanas anteriores ao início do tratamento. Recomendamos ainda que as novilhas sejam consideradas prontas para o início do tratamento com MGA se 50 por cento das novilhas de um determinado grupo registrarem um EAR 4 ou 5. Isso indica que tais novilhas alcançaram a puberdade e estão ciclando. Com base na idade e peso de suas contemporâneas pré-puberais ou peri-puberais, pode-se esperar que até 70 por cento dessas novilhas possam apresentar estro e ovular após a retirada do MGA, de modo que a resposta estral potencial durante o período de sincronização possa alcançar 80 por cento (Tabela 5). A resposta estral entre novilhas que registraram escores de 2 ou 3 foi inferior à daquelas que registraram escores de 4 ou 5. Entretanto, à medida que o EAR aumentou, a resposta estral cresceu.

Tabela 5. Pesos e medidas pré-cobertura e subsequente resposta após sincronização de estro com MGA-PG

EAR	n	Peso (lb)	Altura pélvica (cm)	Largura pélvica (cm)	Área pélvica (cm ²)	Resposta estral (%)
1	61	594 ^b	13,9 ^b	10,9 ^b	152 ^b	54 ^b
2	278	620 ^c	14,1 ^b	11,2 ^b	158 ^b	66 ^c
3	1103	697 ^d	14,5 ^c	11,4 ^c	166 ^c	76 ^d
4	494	733 ^e	14,7 ^d	11,7 ^d	172 ^d	83 ^e
5	728	755 ^e	14,7 ^d	11,7 ^d	172 ^d	86 ^e

^aAdaptado de Patterson e Bullock, 1995. Pesos e medidas tomados no intervalo de 2 semanas anteriores ao primeiro dia de MGA. A resposta estral é a porcentagem de novilhas que mostraram estro e foram inseminadas dentro das 144 horas após a PG.

^{b,c,d,e}Médias em uma coluna com diferentes índices diferem ($P < 0,05$).

Inadequações nos programas de desenvolvimento nutricional são freqüentemente associadas a situações nas quais o grau desejado de ciclicidade não foi alcançado. Isso implica reavaliação do programa de desenvolvimento nutricional e, em muitos casos, adiamento da estação de monta. Os resultados obtidos em um exame pré-cobertura fornecem uma avaliação objetiva do sucesso ou insucesso de um programa de desenvolvimento e são úteis para a determinação do momento apropriado para os tratamentos de sincronização de estro (Anderson et al., 1991; Patterson e Bullock, 1995; Randle, 1999).

RAZÕES PARA A NÃO UTILIZAÇÃO DE PROCEDIMENTOS REPRODUTIVOS

Os produtores são com frequência limitados na implementação de tecnologias de melhoria de produção em suas operações. A figura 3 mostra um resumo das razões mais frequentes para a não utilização de procedimentos específicos (NAHMS, 1998). A razão mais citada para a não utilização dessas práticas é “falta de tempo e de mão-de-obra”. Alguma “outra” razão foi a segunda justificativa mais citada, seguida de “muito complicado” ou “de custo elevado”. Em alguns casos o entrevistado disse acreditar que os benefícios da incorporação dessas tecnologias melhoradas em seu sistema de manejo justificariam o seu custo. Não somente podem essas práticas elevar a rentabilidade através do aumento da produção, como podem algumas delas também diminuir os custos (NAHMS, 1998).

A agropecuária de produção atual é uma arena cada vez mais competitiva. Em muitos casos, a tecnologia pode ajudar a aumentar a produção ao mesmo tempo em que mantém ou diminui os custos. Entretanto, as baixas taxas de adoção das práticas aqui descritas e de outras práticas de manejo levam a questionar a posição futura da competitividade da indústria de bovinos de corte dos EUA, quando comparadas com as mudanças na adoção de tecnologias que estão ocorrendo em outras partes do mundo. Os Estados Unidos e o Brasil, por exemplo, são líderes mundiais no número total de vacas de corte em produção. A tabela 6 resume a mudança na utilização de IA ocorrida nesses dois países em um período de 5 anos. O aumento no uso da inseminação artificial no Brasil suplantou o ocorrido nos EUA em 93 por cento (ASBIA, 1998; NAAB, 1998). Os produtores de carne do Brasil estão inseminando 3,5 vezes mais vacas anualmente em comparação com os produtores dos EUA, tomando por base as vendas de sêmen de gado de corte importado e doméstico. Além disso, perto da metade de todo o sêmen utilizado no Brasil é importado, uma grande parcela do qual é proveniente dos EUA. Dado esse cenário, é possível assumir que, nos próximos anos, os rebanhos de núcleo genético de elite nos EUA irão fornecer uma porcentagem considerável do germoplasma utilizado mundialmente. Entretanto, a menos que os proprietários de rebanhos comerciais de vacas dos EUA adotem uma abordagem agressiva em relação à melhoria genética e reprodutiva de seus rebanhos, pode-se argumentar que o país perderá sua vantagem competitiva na produção de carne bovina de alta qualidade. Os protagonistas internacionais que estiverem melhor preparados tecnicamente e dispuserem de maiores vantagens competitivas irão se posicionar para dominar a produção e as vendas de carne bovina mundial.

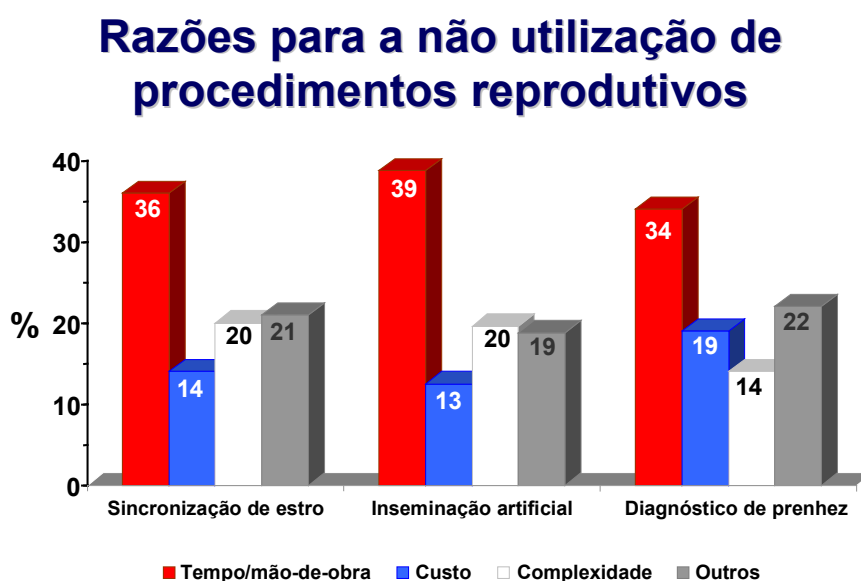


Figura 3. Razões para a não utilização de procedimentos reprodutivos (adaptado de NAHMS, 1998).

PROGRAMAS DE NOVILHAS DE REPOSIÇÃO QUE UTILIZAM PROCEDIMENTOS REPRODUTIVOS NO DESENVOLVIMENTO E NO MARKETING

O advento de programas coordenados de desenvolvimento de novilhas *in loco* e de marketing (p.ex., o *Bourbon County Kentucky Elite Heifer Program* e o *Missouri Show-Me-Select Replacement Heifer Program and Sales*), e instalações de desenvolvimento comercial de novilhas com foco nos procedimentos aqui apresentados eliminam muitos dos riscos envolvidos no desenvolvimento de novilhas de corte de reposição, em comparação com situações em que as novilhas de reposição são criadas ou compradas sem que esses critérios sejam levados em consideração (Patterson, 1998; Randle, 1999).

A comercialização de novilhas que são desenvolvidas de acordo com as orientações estabelecidas tem mostrado ser um meio viável para o desenvolvimento da economia rural em regiões específicas dos EUA (Patterson and Bullock, 1995). Os programas no Kentucky e em Missouri foram desenvolvidos para:

- aumentar os esforços pré-existentes através da abordagem, no desenvolvimento de novilhas, do manejo com qualidade total.
- incrementar as oportunidades de comercialização e agregar valor à parcela das novilhas do plantel de bezerros.
- fornecer fontes confiáveis de fêmeas de reposição de qualidade, no que diz respeito à genética e ao manejo.

Esses programas exigem o respeito a orientações específicas, além dos requisitos de várias práticas e/ou procedimentos reprodutivos e de manejo. Essas orientações incluem requisitos relativos a propriedade, cronogramas de saúde e de vacinação, controle parasitário, uso de implantes, peso, medidas pélvicas e escore do aparelho reprodutor, sincronização de estro e inseminação artificial, exigências do reprodutor em serviço em relação quanto a PC-DEP, diagnóstico precoce de prenhez e escore de condição corporal (Patterson, 1998).

Estatísticas que garantem a mudança. A Tabela 7 apresenta um resumo da distribuição de mais de 900.000 criações de gado de corte nos EUA, com respeito ao tamanho do rebanho (NAHMS, 1998). Essas estatísticas indicam que 91,7 por cento das criações de gado de corte nos EUA estão envolvidas com rebanhos inferiores a 100 vacas. Entretanto, o número acumulado de vacas nessas criações alcança 50,3 por cento do número total de vacas em produção no país.

Tabela 7. Número de criações de matrizes de gado de corte e tamanho do rebanho (NAHMS, 1997)^a

Número de reses	1-49	50-99	100-499	≥ 500	
Porcentagem de criações de gado de corte por tamanho do rebanho nos EUA		79,8	11,9	7,7	0,6
Porcentagem do inventário de matrizes de gado de corte por tamanho do rebanho nos EUA		30,8	19,5	35,7	14

^aAs porcentagens representam criações de gado de corte nos EUA em 1996.

Os rebanhos maiores utilizam mais tecnologias atualmente disponíveis (NAHMS, 1997a). Há também indicações de diferenças regionais no uso de tecnologias de reprodução em rebanhos de cria. De modo geral, as criações nas regiões Sudeste e Centro-Sul são menos propensas à utilização de qualquer dos procedimentos reprodutivos listados. Somente 35,4 e 58,3 por cento das criações nas regiões Sudeste e Centro-Sul, respectivamente, usaram algum dos procedimentos reprodutivos atualmente disponíveis (i.e., sincronização de estro, inseminação artificial, diagnóstico de prenhez, medidas pélvicas, escore de condição corporal, avaliação do sêmen). Esses números se comparam a 77,7 por cento das criações na região Oeste, 77,3 por cento na região Centro-Norte e 67,1 por cento nas regiões Centrais.

De acordo com a pesquisa NAHMS (1997b), somente 46,4 por cento das criações de gado de corte nos EUA mantêm estações definidas de monta e de parição. Adicionalmente, em nível nacional, até 40 por cento das novilhas de sobreano que emprenham não conseguem conceber em sua segunda estação de monta, ou perdem o bezerro ao final de seu segundo período de parição (Bellows and Short, 1990; Wiltbank, 1990). Os índices demográficos da produção de carne bovina dos EUA que incluem numerosas criações com número pequeno de vacas em produção, taxa reduzida de adoção de tecnologia e incapacidade de adotar tecnologia devido a limitações de tempo e mão-de-obra, apontam para uma indústria destinada a perder sua posição competitiva no cenário internacional.

FONTES DE INFORMAÇÃO E IMPLEMENTAÇÃO DE MUDANÇAS

Veterinários servem de importante fonte de informação para os produtores de bovinos de corte dos EUA e serão essenciais facilitadores para a adoção de inúmeros procedimentos reprodutivos (NAHMS, 1997c). Cerca de dois terços (60,8%) dos produtores de rebanhos de cria citaram seus veterinários como uma fonte “muito importante” de informação para sua criação, incluindo saúde, nutrição ou questões pertinentes a produção ou manejo. As diferenças na importância das várias fontes de informação, com base no tamanho do rebanho bovino, são mostradas na Figura 4.

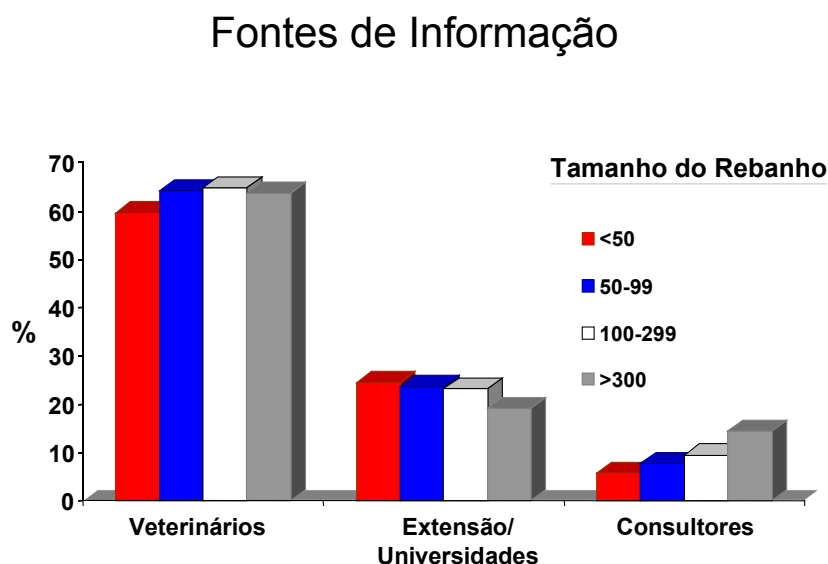


Figura 4. Fontes de informação (adaptado de NAHMS, 1997^c).

Programas de desenvolvimento *in loco* que envolvam veterinários locais, especialistas em pecuária estaduais, regionais ou municipais, e criadores individuais fornecem a estrutura a partir da qual mudanças podem ocorrer. Programas organizados nas fazendas, como o *Kentucky's Bourbon County Elite Heifer Program* e o *Missouri's Show-Me-Select Replacement Heifer Program* são exemplos que remetem à base fundamental sobre a qual a extensão e o *Land Grant System*¹ foram fundados: a utilização e a aplicação do que sabemos para a criação do conhecimento (Patterson, 1998). Nesses programas, a própria avaliação tem relevância, porque uma análise significativa dos programas inclui a avaliação como parte do desenho do projeto. A coleta de dados é parte do processo e reforça o desenvolvimento de práticas sólidas de manejo em fazendas individuais, a despeito de seu tamanho (Randle, 1999). Os fazendeiros utilizam dados originados de suas próprias fazendas. O foco desses programas é centrado nas alternativas de ação baseadas nos dados gerados. Os métodos são desenvolvidos a partir de questões negociadas em um processo participativo que envolve veterinários, especialistas em pecuária e fazendeiros.

IMPLICAÇÕES

Durante os anos de 1993-1997, cerca de 6 milhões de novilhas de corte de reposição entraram anualmente no rebanho de vacas dos EUA, e destas, aproximadamente 12 por cento (720.000) foram compradas anualmente como novilhas de reposição cobertas (NAHMS, 1998). É seguro assumir que uma porcentagem muito pequena dessas novilhas foi “programada” em termos de procedimentos reprodutivos atualmente disponíveis. A especialização para desenvolver e comercializar novilhas programadas existe, mas exige uma abordagem de equipe no manejo das novilhas em termos de nutrição, reprodução, genética, saúde e novas práticas de manejo. Promover mudanças no manejo reprodutivo do rebanho de vacas dos EUA exigirá uma mudança fundamental na abordagem dos procedimentos de manejo e práticas de desenvolvimento utilizadas nas novilhas conservadas para propósito reprodutivo. Alcançamos um ponto, no que diz respeito ao manejo reprodutivo do rebanho bovino de corte de nosso país, no qual as tarefas da transferência e do desenvolvimento de tecnologia devem ser igualmente enfatizadas e progredir paralelamente, para que os EUA possam conservar a importância do setor de gado bovino de corte na sua economia. A menos que sejam feitos esforços no sentido de implementar mudanças na indústria de bovinos de corte dos EUA, os resultados de nossa pesquisa e nossa tecnologia poderão ser exportados para mercados internacionais mais competitivos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anderson, K. J., D. G. Lefever, J. S. Brinks, and K. G. Odde. 1991. The use of reproductive tract scoring in beef heifers. *Agri-Practice*. 12(4) 123-128.
- Anderson, L. H., C. M. McDowell, and M. L. Day. 1996. Progestin-induced puberty and secretion of luteinizing hormone in heifers. *Biol. Reprod.* 54:1025-1031.
- ASBIA. 1998. Report of semen sales.
- Barash, H., Y. Bar-Meir, and I. Bruckental. 1994. Effects of a low-energy diet followed by a compensatory diet on growth, puberty, and milk production in dairy heifers. *Livest. Prod. Sci.* 39:263-268.
- Bartol, F. F., L. L. Johnson, J. G. Floyd, A. A. Wiley, T. E. Spencer, D. F. Buxton and D. A. Coleman. 1995. Neonatal exposure to progesterone and estradiol alters uterine morphology and luminal protein content in adult beef heifers. *Theriogenology* 43:835-844.
- Beal, W. E., R. C. Perry, and L. R. Corah. 1992. The use of ultrasound in monitoring reproductive physiology of beef cattle. *J. Anim. Sci.* 70:924-929.
- Bellows, R. A. 1987. Physiological relationships that limit production of range beef cattle. In: *Achieving Efficient Use of Rangeland Resources*. Fort Keogh Research Symposium. Miles City, MT. Proc. pp 50-53.
- Bellows, R. A., and R. E. Short. 1990. Reproductive losses in the beef industry. In: *Proc. 39th Annu. Beef Cattle Short Course*. pp 109-133. Univ. of Florida, Gainesville.
- Bellows, R. A., and R. B. Staigmiller. 1990. Selection for fertility. In: *Proc. 39th Annu. Beef Cattle Short Course*. pp 172-189. Univ. of Florida, Gainesville.
- Beltran, J. J. 1978. Evaluation of direct and maternal effects on weaning traits in Brahman cattle. Ph.D. Dissertation. Univ. of Florida, Gainesville.
- Berardinelli, J. G., R. A. Dailey, R. L. Butcher, and E. K. Inskeep. 1979. Source of progesterone prior to puberty in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 49:1276-1281.
- BIF. 1990. Beef Improvement Federation. Guidelines for Uniform Beef Improvement Programs (6th Ed.). Oklahoma State Univ., Stillwater, OK.
- Brink, T., and D. Kniffen. 1996. Calving intervals in young beef females: In: *Proc. Beef Improvement Federation*, Birmingham, AL. pp 38-47.
- Brinks, J. S., M. J. McInerney, and P. J. Chenoweth. 1978. Relationship of age at puberty in heifers to reproductive traits in young bulls. *Proc. West. Sect. Am. Soc. Anim. Sci.* 29:28.
- Bullock, K. D., and D. J. Patterson. 1995. Pelvic growth in beef heifers and the effects of puberty. In: *Proc. Beef Improvement Federation*, Sheridan, WY. pp 171-173.
- Burfening, P. J. 1979. Induction of puberty and subsequent reproductive performance. *Theriogenology* 12:215-221.
- Buttram, S. T., and R. L. Willham. 1987. Size and management effect on reproduction in first, second, and third parity beef cows. *Iowa Agric. Exp. Sta. Beef Cattle Res. Rep.* R438.
- Byerley, D. J., R. B. Staigmiller, J. G. Berardinelli, and R. E. Short. 1987. Pregnancy rates of beef heifers bred either on puberal or third estrus. *J. Anim. Sci.* 65:645-650.
- Choi, Y. J., I. K. Han, J. H. Woo, H. J. Lee, K. Jang, K. H. Myung, and Y. S. Kim. 1997.

- Compensatory growth in dairy heifers: The effect of a compensatory growth pattern on growth rate and lactation performance. *J. Dairy Sci.* 80:519-524.
- Cundiff, L. V. 1986. The effect of future demand on production programs-biological versus product antagonisms. In: *Beef Improvement Federation Proc.* pp 110-127. Lexington, KY.
- Day, M. L., and L. H. Anderson. 1998. Current concepts on the control of puberty in cattle. *J. Anim. Sci.* 76(Suppl. 3):1-15.
- DeRouen, S. M., and D. E. Franke. 1989. Effects of sire breed, breed type and age and weight at breeding on calving rate and date in beef heifers first exposed at three ages. *J. Anim. Sci.* 67:1128-1137.
- Deutscher, G. H. 1991. Growth promoting implants on replacement heifers. In: *Proc. Tri-State Cow/Calf Symposium*. St. Francis, KS.
- Dziuk, P. J., and R. A. Bellows. 1983. Management of reproduction of beef cattle, sheep and pigs. *J. Anim. Sci.* 57(Suppl. 2): 355-379.
- Ferrell, C. L. 1982. Effects of postweaning rate of gain on onset of puberty and productive performance on heifers of different breeds. *J. Anim. Sci.* 55:1272-1283.
- Fox, D. G., C. J. Sniffen, and J. D. O'Conner. 1988. Adjusting nutrient requirements of beef cattle for animal and environmental variations. *J. Anim. Sci.* 66:1475-1495.
- Frazier, E. L., L. R. Sprott, J. O. Sanders, P. F. Dahm, J. R. Crouch, and J. W. Turner. 1999. Sire marbling score expected progeny difference and weaning weight maternal expected progeny difference associations with age at first calving and calving interval in Angus beef cattle. *J. Anim. Sci.* 77:1322-1328.
- Garcia-Winder, M., P. E. Lewis, D. R. Deaver, V. G. Smith, G. S. Lewis, and E. K. Inskeep. 1986. Endocrine profiles associated with the life span of induced corpora lutea in postpartum beef cows. *J. Anim. Sci.* 62:1353-1362.
- Gonzalez-Padilla, E., R. Ruiz, D. LeFever, A. Denham, and J. N. Wiltbank. 1975. Puberty in beef heifers. III. Induction of fertile estrus. *J. Anim. Sci.* 40:1110-1118.
- Griffin, P. G., and O. J. Ginther. 1992. Research applications of ultrasonic imaging in reproductive biology. *J. Anim. Sci.* 70:953-972.
- Grings, E. E., J. B. Hall, R. A. Bellows, R. E. Short, S. E. Bellows, and R. B. Staigmiller. 1998. Effect of nutritional management on trace mineral supplementation, and Norgestomet implant on attainment of puberty in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 76:2177-2181.
- Grings, E. E., R. B. Staigmiller, R. E. Short, R. A. Bellows, and M. D. MacNeil. 1999. Effects of stair-step nutrition and trace mineral supplementation on attainment of puberty in beef heifers of three sire breeds. *J. Anim. Sci.* 77:810-815. Hall, J. B., R. B. Staigmiller, R. E. Short, R. A. Bellows, M. D. MacNeil, and S. E.
- Bellows. 1997. Effect of age and pattern of gain on induction of puberty with a progestin in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 75:1606-1611.
- Hargrove, D. A. 1990. Use of growth promotants in replacement heifers. In: *Proc 39th Annu. Beef Cattle Short Course*. pp 36-48. Univ. of Florida, Gainesville.
- Harrison, R. D., I. P. Reynolds, and W. Little. 1983. A quantitative analysis of mammary glands of dairy

- heifers reared at different rates of live weight gain. *J. Dairy Res.* 50:405-412.
- Henricks, D. M., J. R. Hill, and J. F. Dickey. 1973. Plasma ovarian hormone levels and fertility in beef heifers treated with melengestrol acetate (MGA). *J. Anim. Sci.* 37:1169-1175.
- Holloway, J. W., and R. Totusek. 1973. Relationships between preweaning nutritional management and subsequent performance of Angus and Hereford females through three calf crops. *J. Anim. Sci.* 37:807-812.
- Imwalle, D. B., D. J. Patterson, K. K. Schillo. 1998. Effects of melengestrol acetate on onset of puberty, follicular growth, and patterns of luteinizing hormone secretion in beef heifers. *Biol. Reprod.* 58:1432-1436.
- Johnsson, I. D., and J. M. Obst. 1984. The effects of level of nutrition before and after eight months of age on the subsequent milk production and calf yield of beef heifers over three lactations. *Anim. Prod.* 83:57-68.
- Kastelic, J. P., S. Curran, R. A. Pierson, and O. J. Ginther. 1988. Ultrasonic evaluation of the bovine conceptus. *Theriogenology* 29:39-54.
- Kinder, J. E., M. S. Roberson, M. W. Wolfe, and T. T. Stumpf. 1990. Management factors affecting puberty in the heifer. In: *Proc 39th Annu. Beef Cattle Short Course*. pp 16-36. Univ. of Florida, Gainesville.
- Kress, D. D., and P. J. Burfening. 1972. Weaning weight related to subsequent most probable producing ability in Hereford cows. *J. Anim. Sci.* 35:327-335.
- Lafamme, L. F. 1993. Effect of degree of fatness in yearling replacement beef heifers on lifetime performance. *Can. J. Anim. Sci.* 73:295-301.
- Lamond, D. R. 1970. The influence of undernutrition on reproduction in the cow. *Anim. Breed. Abstr.* 38:359-372.
- Larson, L. L., and P. J. H. Ball. 1992. Regulation of estrous cycles in dairy cattle: A review. *Theriogenology* 38:255-267.
- Larson, R. L. 1998. Replacement heifer development: Mineral and vitamin supplementation and use of pharmacologic agents. *The Compendium*. 20(No. 8.):174-179.
- Laster, D. B., G. M. Smith, L. V. Cundiff, and K. E. Gregory. 1976. Characterization of biological types of cattle. IV. Postweaning growth and puberty of heifers. *J. Anim. Sci.* 43:63-70.
- Lesmeister, J. L., P. J. Burfening, and R. L. Blackwell. 1973. Date of first calving in beef cows and subsequent calf production. *J. Anim. Sci.* 36:1-6.
- Lynch, J. M., G. C. Lamb, B. L. Miller, R. T. Brandt, Jr., R. C. Cochran, and J. E.
- Minton. 1997. Influence of timing of gain on growth and reproductive performance of beef replacement heifers. *J. Anim. Sci.* 75:1715-1722.
- Mangus, W. L., and J. S. Brinks. 1971. Relationships between direct and maternal effects on growth in Herefords: I. Environmental factors during preweaning growth. *J. Anim. Sci.* 32:17-25.
- Marshall, D. M., W. Minquiang, and B. A. Freking. 1990. Relative calving date of first-calf heifers as related to production efficiency and subsequent reproductive performance. *J. Anim. Sci.* 68:1812-1817.
- Martin, L. C., J. S. Brinks, R. M. Bourdon, and L. V. Cundiff. 1992. Genetic effects on beef heifer puberty and subsequent reproduction. *J. Anim. Sci.* 70:4006-4017.
- Martin, T. G., R. P. Lemenager, G. Srinivasan, and R. Alenda. 1981. Creep feed as a factor influencing

- performance of cows and calves. *J. Anim. Sci.* 53:33-39.
- Melton, B. E. 1995. Conception to consumption: The economics of genetic improvement. In: *Proc. Beef Improvement Federation*, Sheridan, WY. pp 40-87.
- Morris, G. A. 1980. A review of relationships between aspects of reproduction in beef heifers and their lifetime production. 1. Associations with fertility in the first joining season and with age at first joining. *Anim. Breed. Abstr.* 48:655-676.
- Morrison, D. G., W. D. Williamson, and P. E. Humes. 1986. Estimates of heritabilities and correlations of traits associated with pelvic area in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 63:432-437.
- Muller, E., and G. Wittkowski. 1986. Visualization of male and female characteristics of bovine fetuses by real-time ultrasonics. *Theriogenology* 25:571-574.
- NAAB. 1998. Report of semen sales and custom freezing.
- NAHMS. 1994a. Sparse use of reproductive management technology for beef heifers and cows. pp. 1-2.
- NAHMS. 1994b. Opportunities to improve calving management on beef cow/calf operations. pp. 1-3.
- NAHMS. 1997a. Reproductive technology in beef cow-calf herds. pp. 1-4.
- NAHMS. 1997b. Calving management in beef cow-calf herds. pp. 1-5.
- NAHMS. 1997c. Information sources for cow-calf producers. pp. 1-3.
- NAHMS, 1998. Part IV. Changes in the U. S. beef cow-calf industry, 1993-1997. pp. 1-48.
- Park, C. S., M. G. Baik, W. L. Keller, I. E. Berg, and G. M. Erickson. 1989. Role of compensatory growth in lactation: A stair-step nutrient regimen modulates differentiation and lactation of bovine mammary gland. *Growth Dev. Aging* 53:159-166.
- Park, C. S., R. B. Danielson, B. S. Kreft, S. H. Kim, Y. S. Moon, and W. L. Keller. 1998. Nutritionally directed compensatory growth and effects on lactation potential of developing heifers. *J. Dairy Sci.* 81:243-249.
- Patterson, D. J. 1998. Adding value to replacement heifers with the Missouri Show-Me-Select Program. In: *Proc. NCBA-IRM Producer Education Seminars*. pp 103-109. Denver, CO.
- Patterson, D. J., and K. D. Bullock. 1995. Using prebreeding weight, reproductive tract score, and pelvic area to evaluate prebreeding development of replacement beef heifers. In: *Proc. Beef Improvement Federation*, Sheridan, WY. pp 174-177.
- Patterson, D. J., L. R. Corah, and J. R. Brethour. 1990. Response of prepubertal *Bos taurus* and *Bos indicus* x *Bos taurus* heifers to melengestrol acetate with or without gonadotropin-releasing hormone. *Theriogenology* 33:661-669.
- Patterson D. J., L. R. Corah, J. R. Brethour, M. F. Spire, J. J. Higgins, G. H. Kiracofe, J. S. Stevenson, and D. D. Simms. 1991. Evaluation of reproductive traits in *Bos taurus* and *Bos indicus* crossbred heifers. Effects of postweaning energy manipulation. *J. Anim. Sci.* 69:2349-2361.
- Patterson, D. J., R. C. Perry, G. H. Kiracofe, R. A. Bellows, R. B. Staigmiller, and L. R. Corah. 1992a. Management considerations in heifer development and puberty. *J. Anim. Sci.* 70: 4018-4035.
- Patterson, D. J., L. R. Corah, J. R. Brethour, J. J. Higgins, G. H. Kiracofe, and J. S. Stevenson. 1992b. Evaluation of reproductive traits in *Bos taurus* and *Bos indicus* crossbred heifers: Relationship

- of age at puberty to length of the postpartum interval to estrus. *J. Anim. Sci.* 70:1994-1999.
- Perry, R. C., L. R. Corah, R. C. Cochran, J. R. Brethour, K. C. Olson and J. J. Higgins. 1991. Effects of hay quality, breed and ovarian development on onset of puberty and reproductive performance of beef heifers. *J. Prod. Agric.* 4(1): 12-18.
- Pierson, R.A., and O. J. Ginther. 1988. Ultrasonic imaging of the ovaries and uterus in cattle. *Theriogenology* 29:21-36.
- Prybil, M. K., and W. R. Butler. 1978. The relationship between progesterone secretion and the initiation of ovulation in postpartum beef cows. *J. Anim. Sci.* 47(Suppl. 1):383.
- Randle, R. F. 1999. The Missouri Show-Me-Select Replacement Heifer Program: Production summary from the first two years. In: *Proc. Reproductive Tools and Techniques*. pp 1-9. Univ. of Missouri, Columbia.
- Rawlings, N. C., L. Weir, B. Todd, J. Manns, and J. Hyland. 1980. Some endocrine changes associated with the postpartum period of the suckling beef cow. *J. Reprod. Fertil.* 60:301-308.
- Schafer, D. W., J. S. Brinks, and D. G. LeFever. 1990. Increased calf weaning weight and weight via estrus synchronization. Colorado State University Beef Program Report. Pp. 115-124.
- Schillo, K. K., J. B. Hall, and S. M. Hileman. 1992. Effects of nutrition and season on the onset of puberty in the beef heifer. *J. Anim. Sci.* 70:3994-4005.
- Seidel, G. E., Jr. 1995. Reproductive biotechnologies for profitable beef production. In: *Proc. Beef Improvement Federation*, Sheridan, WY. pp 28-39.
- Seidel, G. E., Jr. 1998. Potential applications of sexed semen in cattle. *J. Anim. Sci.* 76(Suppl. 1):219.
- Sejrsen, K. 1994. Relationships between nutrition, puberty and mammary development in cattle. *Proc. Nutr. Soc* 53:103-111.
- Sejrsen, K., J. T. Huber, H. A. Tucker, and R. M. Akers. 1982. Influence of nutrition on mammary development in pre-and post pubertal heifers. *J. Dairy Sci.* 65:793-800.
- Sejrsen, K., and S. Purup. 1997. Influence of prepubertal feeding level on milk yield potential of dairy heifers: A review. *J. Anim. Sci.* 75:828-835.
- Sheffel, C. E., B.R. Pratt, W. L. Ferrell, and E. K. Inskeep. 1982. Induced corpora lutea in the postpartum beef cow. II. Effects of treatment with progestogen and gonadotropins. *J. Anim. Sci.* 54:830-836.
- Short, R. E., R. B. Staigmiller, R. A. Bellows, and R. C. Greer. 1990. Breeding heifers at one year of age: Biological and economic considerations. In: *Proc. 39th Annu. Beef Cattle Short Course*. pp 93-106. Univ. of Florida, Gainesville.
- Simpson, J. R., and C. P. Moore. 1990. Economics of zeranol in beef cattle production. *World Rev. Anim. Prod.* 25:27-36.
- Smith, R. K., and M. L. Day. 1990. Mechanism of induction of puberty in beef heifers with melengestrol acetate. In: *Ohio State Univ. Beef Cattle Res. and Ind. Rep.* Columbus, OH. pp 137-142.
- Taylor, St. C. S., and H. A. Fitzhugh, Jr. 1971. Genetic relationships between mature weight and time taken to mature within a breed. *J. Anim. Sci.* 33:726-731.
- Toelle, V. D., and O. W. Robinson. 1985. Estimates of genetic correlations between testicular measurements and female reproductive traits in cattle. *J. Anim. Sci.* 60:89-100.

- Trenkle, A. and R. L. Willham. 1977. Beef production efficiency: The efficiency of beef production can be improved by applying knowledge of nutrition and breeding. *Science* 198:1009-1015.
- Wetteman, R. P., and H. D. Hafs. 1973. Pituitary and gonadal hormones associated with fertile and nonfertile inseminations at synchronized and control estrus. *J. Anim. Sci.* 36:716-721.
- Wiltbank, J. N. 1970. Research needs in beef cattle reproduction. *J. Anim. Sci.* 31: 755-762.
- Wiltbank, J. N. 1978. Puberty in Brahman type cattle. *Proc. Annu. Mtg. Soc. Theriogenology*. pp 118-127.
- Wiltbank, J. N. 1990. Challenges for improving calf crop. In: *Proc. 39th Annu. Beef Cattle Short Course*. pp 1-22. Univ. of Florida, Gainesville.

ACÇÕES DO ESTRADIOL EXÓGENO NA COORDENAÇÃO DO CRESCIMENTO FOLICULAR, ESTRO E OVULAÇÃO.

M.L. Day^a e C.R. Burke^b

^aDepartamento de Ciências Animais, Universidade do Estado de Ohio, Columbus, OH 43210

^bDexcel Ltd., Private Bag 3221, Hamilton, Nova Zelândia

INTRODUÇÃO

O componente central da maior parte dos programas de sincronização de estro em bovinos é a progesterona exógena, liberada a partir de um dispositivo intravaginal. As vantagens do uso de progestágenos são inúmeras (consultar Day, 1998), mas décadas de pesquisas demonstraram que a progesterona, quando usada isoladamente ou em combinação com PGF_{2a}, não proporciona o nível de controle do eixo reprodutivo que resulta em taxas normais de concepção e taxas ideais de submissão em vacas (para revisão, consultar Burke, 2003). Mais recentemente, foi demonstrado que a inclusão de estradiol em programas de sincronização baseados em progesterona permitem superar muitos dos problemas e respostas negativas que surgem quando a progesterona é usada isoladamente. Diversas formas de estradiol (17 β -estradiol, E17; benzoato de estradiol, EB; cipionato de estradiol, ECP; e valerato de estradiol, EV) foram usadas para manipular o crescimento folicular, estro e ovulação para aumentar a eficácia dos programas de sincronização.

Como o desenvolvimento folicular é um processo dinâmico no animal, todos os estágios de desenvolvimento folicular estarão presentes no rebanho em um determinado momento de tempo. No rebanho, algumas das vacas estarão em anestro, enquanto outras estarão ciclando. Para aplicar um programa de sincronização de estro, o processo de desenvolvimento folicular precisa ser regulado em cada vaca individualmente e coordenado entre todas as vacas. Três processos chave de desenvolvimento folicular que podem ser controlados com estradiol são a atresia folicular, a emergência folicular e a ovulação. A variação na resposta, observada quando se procura regular estes eventos foliculares, é um problema enfrentado por todos os métodos existentes de controle. Especificamente em relação ao uso do estradiol, algumas das fontes de variação do animal são conhecidas e incluem fatores tais como raça, tipo de produção, status reprodutivo e estágio do ciclo estral. Entretanto, pouco ou nada se sabe sobre as causas para esta variação em nível folicular ou endócrino. Esta falta de conhecimento impede que melhoras sejam introduzidas nos programas de sincronização de estro.

Conduzimos uma série de estudos para investigar os aspectos da função folicular quando o estradiol é usado para regular estrategicamente o desenvolvimento folicular. Neste trabalho, iremos revisar alguns dos fatores responsáveis pela variação na resposta animal e alguns trabalhos de nosso programa relativos à compreensão das causas desta variação em nível folicular ou endócrino. Serão discutidos os aspectos do uso de estradiol para induzir atresia folicular, sincronizar a subsequente emergência de nova onda folicular e para induzir a ovulação como etapa final do programa de sincronização.

USO DE ESTRADIOL PARA INDUZIR ATRESIA DE FOLÍCULOS DOMINANTES

O estradiol é uma excelente ferramenta para reiniciar o desenvolvimento folicular na instituição de um programa de controle de estro através da indução de atresia de folículos ovarianos (Bo et al., 1995a; 1995b). Um dos primeiros relatos sugerindo que o estradiol poderia induzir a atresia de grandes folículos ovarianos resultou de um estudo que utilizou injeções de 10 mg de valerato de estradiol para o estudo de cistos ovarianos em vacas leiteiras (Engelhardt et al., 1989). O subsequente desenvolvimento da ultra-sonografia transretal em vacas permitiu aos pesquisadores monitorar as respostas ovarianas ao estradiol *in vivo*. Os primeiros estudos avaliaram as fases iniciais do ciclo estral, durante o desenvolvimento do primeiro folículo dominante (DF; Bo et al., 1995a). Foi demonstrado que a injeção de E17 β induzia a atresia do FD e emergência de uma nova onda folicular $4,3 \pm 0,2$ dias depois. O intervalo até a emergência da nova onda era consistente, independentemente do estágio de crescimento do FD no momento do tratamento com estradiol.

Novos tratamentos à base de progesterona foram desenvolvidos (i.e., dispositivo intravaginal de liberação de progesterona [CIDR, PRID], que incluía uma cápsula de gelatina contendo 10 mg de benzoato de estradiol (BE) afixada ao dispositivo para promover luteólise. Posteriormente, se observou que com a inclusão do estradiol, os fabricantes estavam inadvertidamente interferindo no desenvolvimento da onda folicular (Macmillan e Burke, 1996). Este estudo de campo desencadeou uma série de experimentos destinados a caracterizar as respostas ovarianas a tratamentos envolvendo progesterona e estradiol (Burke et al., 1997, 1998, 1999, 2000; Bogacz et al. 1999). Uma característica comum destes estudos foi que os tratamentos eram iniciados 13 dias após o estro sincronizado, sendo o objetivo o surgimento ou não do desenvolvimento de uma nova onda folicular antes da ovulação. Assim, esta abordagem passou a ser chamada modelo do “Turnover da onda folicular no Dia 13” (Day e Burke, 2002). Antes destes estudos, não havia relatos sobre as respostas ovarianas aos tratamentos iniciados em fase média a final do ciclo estral, apesar deste estágio ser provavelmente o mais difícil e crítico de ser controlado em termos de dinâmica da onda folicular.

O primeiro destes estudos (Burke et al., 1999) incluiu tratamentos iniciados no Dia 13 do ciclo estral e envolveu a inserção de um CIDR por cinco dias, com ou sem a cápsula contendo 10 mg BE, a cápsula isolada e um grupo controle não tratado. O turnover da onda folicular ocorreu em todos os animais tratados com a cápsula de BE e foi caracterizado pela emergência de uma nova onda de crescimento de folículos $4,0 \pm 0,3$ dias após o início do tratamento. Este estudo demonstrou que 10 mg BE administrados por via intravaginal eram eficazes para promover turnover da onda folicular e o crescimento de um FD saudável em vacas não lactantes. Entretanto, um estudo de campo com múltiplos rebanhos de vacas leiteiras em lactação cíclicas (Xu et al., 1996) indicou que a cápsula de estradiol nem sempre era capaz de reiniciar o crescimento folicular em vacas em lactação. Vacas leiteiras em lactação que foram injetadas por via i.m. com 2 mg de BE ao início do tratamento de 7 dias com CIDR apresentaram taxas de concepção equivalentes às de vacas cíclicas inseminadas após estro espontâneo (Day et al., 2000). Além disso, à medida que taxas de concepção de vacas que receberam uma injeção contendo 1 mg de BE tenderam a ser inferiores se comparadas às taxas de concepção de vacas injetadas com 2 mg de BE no mesmo estudo. De maneira geral, estes resultados sugerem que a cápsula de 10 mg de BE não representava um sinal adequado para turnover folicular em vacas leiteiras em lactação, mas que este método talvez fosse adequado para vacas não lactantes. As respostas foliculares a 1 mg de BE por via i.m. foram posteriormente estudadas usando o “Modelo de turnover folicular do Dia 13”, considerado eficaz para promover uma nova onda de desenvolvimento folicular quatro a cinco dias depois em vacas leiteiras não em lactação (Burke et al., 2000). Em outro experimento, este modelo foi usado para comparar a eficácia do BE em doses de 0,5, 1 ou 2 mg/500 kg PC para induzir o turnover da onda folicular em vacas de corte secas (Bogacz et al., 1999). Tanto 1 quanto 2 mg de BE foram altamente eficazes em induzir o turnover da onda folicular usando o modelo do “Dia 13”. O momento de emergência da nova onda de folículos ocorreu posteriormente com 2 comparado a 1 mg de BE. O turnover da onda folicular também

ocorreu após a injeção de 1 mg de BE associada à inserção do CIDR em novilhas nas fases inicial, média e tardia do ciclo estral (Bogacz et al., 2000).

A capacidade do estradiol de induzir o turnover da onda folicular depende de concentrações elevadas de progesterona na circulação. Isto foi claramente demonstrado em vacas que receberam uma injeção de 1 mg de BE no Dia 13 do ciclo estral e nenhum outro tratamento, ou uma dose luteolítica de PGF₂ às 0, 24 ou 48 horas depois da injeção de BE (Burke et al., 1997). O turnover da onda folicular, sinalizado pelo número de animais que apresentaram 3 ondas de desenvolvimento folicular, foi induzido em todos os animais que não receberam PGF₂ e em todas as vacas (com exceção de uma) que receberam PGF₂ 48 horas depois do BE. Por outro lado, as vacas injetadas às 0 ou 24 horas depois do BE manifestaram ciclos estrais de duas, três e quatro ondas de desenvolvimento folicular e certa prevalência de desenvolvimento de folículos císticos que não conseguiram ovular. Este estudo indicou que as concentrações de progesterona circulante precisam se manter elevadas por pelo menos 48 horas depois do tratamento com estradiol para que ocorra a indução do turnover da onda folicular, aumentando a possibilidade de ocorrência de luteólise espontânea quando os tratamentos de sincronização de progesterona/estradiol forem iniciados. Da mesma forma, um estudo subsequente avaliou se a adição de uma fonte de progesterona exógena com uma injeção de 1 mg de BE durante a luteólise induzida no modelo “da onda folicular no Dia 13” seria suficiente para facilitar o turnover da onda folicular induzido pelo estradiol (Burke et al., 1998). Neste estudo, as vacas receberam uma dose luteolítica de PGF₂ no Dia 13 do ciclo estral e em seguida receberam apenas 1 mg de BE, apenas um CIDR por seis dias ou um CIDR mais uma injeção de 1 ou 2 mg de BE. Todas as vacas que não receberam a combinação de BE e CIDR apresentaram ciclos estrais com duas ondas de desenvolvimento folicular. Por outro lado, todas as vacas que receberam a combinação de uma injeção de 1 ou 2 mg de BE e o CIDR apresentaram ciclos estrais com três ondas de desenvolvimento folicular. Este estudo demonstrou que na ausência de progesterona endógena, as concentrações séricas de progesterona foram suficientemente elevadas pelo tratamento com CIDR para possibilitar turnover de onda folicular induzido pelo estradiol. Um estudo subsequente observou que uma injeção i.m. de 200 mg de progesterona, substituindo a inserção do CIDR no mesmo desenho experimental acima descrito, não foi suficiente para facilitar o turnover folicular induzido pelo estradiol (C. R. Burke, não publicado). Foi concluído que a progesterona na circulação foi eliminada rapidamente demais para permitir que houvesse uma elevação sustentada de pelo menos 48 horas, que o estudo anterior havia demonstrado ser necessária para que o estradiol promovesse o turnover da onda folicular (Burke et al., 1997). A maior parte das evidências sugere que a ação do estradiol na indução do turnover da onda folicular é mediado através de mecanismos sistêmicos que envolvem o eixo gonadotrópico. Em vacas ovariectomizadas, o tratamento com progesterona resultou em inibição eficaz, porém curta, da secreção de LH (i.e., 36 horas) e não houve efeito mensurável sobre a secreção de FSH (Burke et al., 1996a). A supressão de LH induzida pela progesterona foi prolongada por vários dias pela adição de BE ao início do tratamento com CIDR e a secreção de FSH também foi deprimida. O desenvolvimento folicular é inicialmente suportado pelo FSH e a maior dependência do LH passa a ocorrer à medida que o FD amadurece (Findlay et al., 1996; Gong et al., 1996). Como a progesterona suprime a secreção de LH, mas não de FSH, folículos recém-desenvolvidos e ainda dependentes de FSH podem ser menos afetados pela progesterona na ausência de estradiol. Por outro lado, a supressão tanto de secreção de FSH quanto de LH pela administração de progesterona e estradiol em combinação provavelmente resulta em atresia independentemente da idade ou do diâmetro do FD. Parece improvável que o estradiol pudesse ter um efeito direto de causar atresia de folículos ovarianos, pois as concentrações foliculares de estradiol em folículos não atresícos são geralmente muito superiores às da circulação periférica (Ginther et al., 1997a). Além disso, a administração de 17-E diretamente no estroma ovariano adjacente ao FD não induz turnover da onda folicular (Bo et al., 2000). Está claramente estabelecido que o BE interrompe o desenvolvimento e crescimento de FDs e que uma nova onda de desenvolvimento folicular sucede esta interrupção do crescimento do FD.

Conduzimos três experimentos para avaliar as alterações temporais que ocorrem no FD quando a dominância é suprimida para permitir novo crescimento folicular. A base subjacente a esta perda de dominância após a administração de estradiol em bovinos não havia sido previamente descrita. Os objetivos eram caracterizar as principais alterações bioquímicas, celulares e moleculares no FD ao ocorrer a perda de dominância após a administração de BE e as alterações associadas em concentrações sistêmicas de hormônios durante a perda de dominância. A partir destes experimentos (Burke et al., 2005; 2006), foi determinado que a administração de uma dose atretogênica de BE suprimiu as concentrações de LH e/ou FSH na circulação e promoveu uma perda rápida e sustentada na capacidade de FDs saudáveis produzirem estradiol. Um alvo primário desta ação atretogênica foi a aromatase, enquanto outros sítios da via esteroidogênica foram afetados de forma variável, dependendo do tipo de animal e/ou estágio do ciclo estral. A erosão da membrana granulosa foi maior no FD de animais tratados com BE, embora não tenham sido observadas diferenças na taxa de apoptose das células da granulosa às 36 horas ou no sinal potencial de desencadeamento de apoptose (Fas/FasL) às 24 horas.

Ficou claro a partir desta série de experimentos que o primeiro ou segundo dias após a administração de BE resultam em interrupção rápida e intensa da função esteroidogênica e do crescimento do folículo em função da supressão de gonadotropinas, sugerindo que a atresia ocorre em aproximadamente 36 horas. Nestes experimentos, entretanto, uma nova onda de desenvolvimento folicular só ocorreu quatro a cinco dias depois. Quando avaliamos a literatura sobre o uso de vários métodos para reiniciar o desenvolvimento folicular, observamos variação intra e inter-experimentos (i.e., dois a cinco dias) no intervalo entre o tratamento e a emergência de uma nova onda. Embora esta variação tenha sido considerada consequência de graus variáveis de atresia do FD, a consistência das respostas foliculares ao estradiol em nossos estudos e o intervalo prolongado que se seguiu até a emergência sugerem que embora a indução da atresia no tratamento do FD com BE seja um requisito para novo desenvolvimento folicular, não é o único fator envolvido neste processo.

USO DE ESTRADIOL E MOMENTO DA NOVA ONDA FOLICULAR

Quando as concentrações de progesterona estão elevadas na circulação, o estradiol representa uma maneira eficaz de sincronização de uma nova onda de desenvolvimento folicular, se comparado a outros hormônios exógenos (Roche et al., 1999; Martinez et al., 2000). Dados anteriores de nosso laboratório (Bogacz et al., 1999) indicam que a eficácia do BE em induzir a atresia é dose-dependente até que se atinja um limiar de dosagem (i.e., 1 mg i.m./500 kg peso corporal [PC]), enquanto doses de BE superiores à necessária para promover atresia do FD de forma consistente (i.e., 2 mg i.m. /500 kg PC) resultam em maiores intervalos entre o tratamento e a emergência de uma nova onda folicular. Os experimentos descritos na seção anterior demonstraram que a perda de função estrogênica no FD após tratamento com BE é iniciada em 12 horas e se completa geralmente após 36 horas, mas que o efeito do BE em promover a atresia do FD não está necessariamente associado ao atraso da emergência de nova onda folicular. Assim, conduzimos um experimento para testar a hipótese de que, na ausência de um FD funcional, o BE atrasa a emergência de uma nova onda folicular de forma dose-dependente, ao retardar a elevação de FSH que antecede a emergência de uma nova onda de desenvolvimento folicular (Burke et al., 2003).

Aos 6 dias após a ovulação, todos os folículos ovarianos 5 mm em diâmetro foram aspirados em vacas de corte paridas (Dia [D] 0 e Hora [H] 0) e os animais receberam imediatamente 0 (0BE), 1 (1BE), 2 (2BE) ou 4 (4BE) mg de BE i.m. /500 kg de peso corporal (PC; n = seis ou sete por tratamento). As concentrações de estradiol foram diferentes entre todos os tratamentos entre a H 24 e 72, aumentando ($P < 0,01$) com maiores doses de BE. O momento de pico do FSH ocorreu às H $29,3 \pm 4,0$, $53,3 \pm 4,5$, $81,1 \pm 15,5$ e $91,4 \pm 8,2$ para os tratamentos 0BE, 1BE, 2BE e 4BE, respectivamente e a emergência de uma nova onda de

desenvolvimento folicular ocorreu nos Dias $1,5 \pm 0,2$, $3,3 \pm 0,3$, $4,0 \pm 0,6$ e $4,4 \pm 0,4$, respectivamente. O tempo até o pico de FSH e emergência de uma nova onda de desenvolvimento folicular foi menor ($P < 0,05$) no tratamento 0BE, semelhante ($P > 0,1$) nos tratamentos 1BE e 2BE e mais longo ($P < 0,05$) no tratamento 4BE em comparação aos tratamentos 0BE ou 1BE. O intervalo médio geral entre o pico de FSH até a emergência de uma nova onda de desenvolvimento folicular foi $15,7 \pm 3,3$ horas e não foi afetado por tratamento. As concentrações de estradiol às 24 horas antes da emergência da nova onda de desenvolvimento folicular não foram diferentes entre os animais tratados com BE ($20,2 \pm 5,5$ pg/mL), mas menores ($P < 0,01$) no tratamento 0BE ($1,6 \pm 0,2$ pg/mL).

No estudo acima descrito (Burke et al., 2003) foi usado um modelo animal em que o FD sofreu ablação por aspiração folicular para avaliar os efeitos do BE sobre a secreção de FSH e sobre o momento de emergência de uma nova onda de desenvolvimento folicular ovariano, independente de influências que pudessem ser exercidas pelo FD que estava sofrendo atresia em resposta ao BE. Concordando com relatos anteriores (Bergfelt et al., 1994), a aspiração do FD sem tratamento adicional desencadeou uma elevação rápida e bem definida de FSH com concentrações atingindo o pico em 29 horas e emergência de uma nova onda de desenvolvimento folicular às 36 horas. O momento de emergência da nova onda de desenvolvimento folicular e o aumento de FSH foram atrasados pelo BE que foi administrado no momento da aspiração. Além disso, este intervalo foi prolongado com o aumento da dose de BE. Os resultados do presente estudo (Burke et al., 2003) demonstram claramente que o BE retarda a elevação de FSH pós-ablação de forma dose-dependente e, conseqüentemente, o momento de emergência de uma nova onda de desenvolvimento folicular.

Os resultados deste estudo (Burke et al., 2003), avaliados em conjunto com nossas investigações anteriores, permitem sugerir que o FD que sofre atresia após tratamento com estradiol tem impacto mínimo sobre o desenvolvimento folicular subsequente. O intervalo de 3,3 dias até a emergência de uma nova onda de desenvolvimento folicular após o tratamento com 1 mg de BE/500 kg de PC no presente estudo é praticamente idêntico aos intervalos relatados anteriormente usando esta mesma dose em novilhas de corte (Burke et al., 2001) e em vacas de corte não lactantes ciclando normalmente (Bogacz et al., 1999; Day e Burke, 2002), em que não foram realizadas aspirações foliculares. As evidências coletivas sugerem que qualquer potencial influência do FD sofrendo atresia após tratamento com BE é mascarado pelo impacto de concentrações elevadas de estradiol e desaparece antes que as concentrações de estradiol tenham sido suficientemente reduzidas para permitir o aumento dos níveis de FSH que estimulam a emergência de uma nova onda de desenvolvimento folicular.

Embora a inclusão de estradiol ao início dos tratamentos à base de progestinas, ou durante a fase lútea do ciclo estral geralmente promove a sincronização do momento de emergência de uma nova onda de desenvolvimento folicular, o intervalo até esta emergência é variável (Tabela 1).

Esta variabilidade pode ser devida a uma série de fatores, sendo os mais óbvios a formulação (Bo et al., 2000; Vynckier et al., 1990), via de administração e dose de estradiol. A influência do tipo de animal sendo tratado e seu estado fisiológico e metabólico não foi diretamente investigada, mas quando se consideram diversos estudos usando BE administrado por via intramuscular (Tabela 1), as respostas parecem ser afetadas pelo tipo de animal (leite versus carne) e estado de lactação ou gestação. Estes fatores são associados às diferenças em estado metabólico e às taxas de *clearance* hormonal. Assim, além das propriedades farmacológicas do estrógeno administrado, diferenças no *clearance* de estradiol da circulação provavelmente também influenciam o ponto em que as concentrações de estradiol na circulação deixam de ser capazes de manter a supressão do aumento de FSH pré-emergência e, portanto, do momento da nova onda folicular.

Tabela 1. Intervalos desde o início do tratamento até a emergência de uma nova onda de desenvolvimento folicular ovariano em vacas tratadas com estradiol em diferentes estágios de desenvolvimento da onda folicular e durante períodos de elevação dos níveis de progesterona/progestágenos na circulação derivados de fontes exógenas e/ou endógenas.

Estradiol ^a (dose/via)	Intervalo até emergência de nova onda (dias)	Animal ^b	Estágio de desenvolvimento da onda folicular	Referência
E17 β (5 mg i.m.)	$4,3 \pm 0,2$	Vacas de corte/novilhas	Crescimento/Dominância	Bo et al., 1995a e b
E17 β (5 mg i.m.)	$3,4 \pm 0,1$	Novilhas de corte	Aleatório	Martinez et al., 2000
EB (1 mg i.m.)	3,0	Vacas de corte em anestro em lactação	Diversos	Salfen et al., 2001
EB (10 mg i.vag.)	$4,0 \pm 0,3$	Vacas leiteiras	Crescimento/Dominância	Burke et al., 1999
EB (1 mg i.m.)	$4,5 \pm 0,2$	Vacas leiteiras	Crescimento/Dominância	Burke et al., 2000
EB (1 mg i.m.)	$2,8 \pm 0,8$	Novilhas leiteiras em lactação	Crescimento/Dominância	Burke et al., 1998
EB (2 mg i.m.)	$3,2 \pm 0,4$	Novilhas leiteiras em lactação	Crescimento/Dominância	Burke et al., 1998
EB (1 mg i.m./500 kg PC)	$3,1 \pm 0,1$	Novilhas de corte pré-púberes	Aleatório	Burke et al., 2001
EB (1 mg i.m./500 kg PC)	$3,2 \pm 0,1$	Novilhas de corte	Dominância	Burke et al., 2001
EB (1 mg i.m./500 kg PC)	$2,2 \pm 0,2$	Vacas de corte em anestro em lactação	Aleatório	Burke et al., 2001
EB (1 mg i.m./500 kg PC)	$3,3 \pm 0,5$	Vacas de corte	Dominância	Bogacz et al., 1999
EB (2 mg i.m./500 kg PC)	$5,0 \pm 0,3$	Vacas de corte	Dominância	Bogacz et al., 1999
ECP (0.5 mg i.m.)	$6,5 \pm 0,6$	Vacas leiteiras em lactação	Crescimento	Thundathil et al. 1998
ECP (1 mg i.m.)	$5,8 \pm 0,5$	Vacas leiteiras em lactação	Crescimento	Thundathil et al. 1998

^a Estradiol (dose/via): E-17 (17 -estradiol); EB (benzoato de estradiol); ECP (cipionato de estradiol); Via: i.m. (intramuscular); i.vag. (intravaginal); PC (peso corporal).

^b Animal: em princípio, não em lactação e ciclando, a menos que haja menção específica.

Pode-se concluir que após a administração de doses atretogênicas de BE, o momento de emergência da nova onda folicular vai depender do clearance do estradiol da circulação e do atingimento de nova concentração limiar mínima de estradiol que permita a ocorrência da elevação pré-emergência do FSH. A importância de usar uma dose 'ideal' de estradiol para regular estrategicamente o desenvolvimento folicular é enfatizada pelo resultado.

USO DE ESTRADIOL PARA INDUZIR ESTRO E OVULAÇÃO

Concentrações elevadas de estradiol na ausência de progesterona são as condições hormonais necessárias para manifestação de estro comportamental e pico pré-ovulatório de LH em vacas. Os esforços iniciais de estudar este fenômeno usaram vacas ovariectomizadas para regular de forma mais precisa e conveniente as concentrações de esteróides ovarianos. Asdell et al. (1945) **demonstraram que a administração de 0,1 mg de BE por via i.m. diariamente por três dias induzia o estro em vacas ovariectomizadas.** Ray (1965) testou administrações únicas de 0,2 a 0,6 mg de BE por via i.m. em novilhas de corte ovariectomizadas e observou que a dose marginal seria 0,3 mg de BE (50% de resposta) para a indução dos sinais de estro. Doses de 0,4 mg de BE por via i.m. ou superiores induziam estro em todos os animais, enquanto 0,2 mg de BE por via i.m. não induzia estro em nenhuma novilha. Cook et al. (1986) **relataram que o intervalo entre a administração de BE até o estro (15,5 horas) e a duração do estro (12 horas) foram independentes da dose que variou entre 0,125 e 2,4 mg de BE por via i.m.** A dose farmacológica de 4,8 mg de BE por via i.m. prolongou a duração do estro para 20 horas, mas não reduziu o intervalo até sua manifestação. Concordando com estudos anteriores (Ray, 1965; Carrick e Shelton, 1969), Cook et al. (1986) concluíram que a dosagem mínima necessária para a indução do estro em >80% das vacas ovariectomizadas era de 0,5 a 0,6 mg de BE por via i.m. Este limiar era independente de idade e maturidade do animal, uma vez que vacas e novilhas responderam de maneira semelhante ao protocolo de titulação de dose. Considerados em conjunto, estes estudos revelam que a indução do estro em vacas e novilhas ovariectomizadas através de estradiol exógeno é altamente eficaz. Entretanto, as características do estro em animais que respondem são influenciadas pela dose. Por exemplo, Nesson e King (1981) consistentemente induziram estro em vacas holandesas ovariectomizadas pela administração de três injeções i.m. de 0,25 mg de BE com 12 horas de intervalo e o aumento da dose deste protocolo de três injeções para 0,5 mg de BE aumentou a intensidade e duração da expressão do estro.

Observa-se um claro padrão bifásico de variação das concentrações de LH na circulação após a administração de estradiol em vacas ovariectomizadas (Beck e Convey, 1977). As concentrações de LH na circulação são inicialmente reduzidas entre duas e seis horas após a administração de estradiol e segue-se um aumento contínuo a partir de 14 horas pós-injeção que dura 8 a 10 horas, atingindo o pico às 18,5 horas (Beck e Convey, 1977). Vacas com ovários intactos com concentrações basais de progesterona na circulação responderam de forma semelhante quanto à manifestação do estro após a administração de estradiol (Lammoglia et al., 1998). O início da fase ascendente da curva de LH coincide com a manifestação do estro (Short et al., 1973). O padrão bifásico de secreção de LH após estradiol exógeno não é observado durante o pró-estro espontâneo em vacas (Imakawa et al., 1986), em que as concentrações de estradiol na circulação aumentam gradativamente (Kaneko et al., 1991).

Lammoglia et al. (1998) derivaram doses ‘ideais’ de BE para uso no anestro pós-parto em vacas de corte (1 mg de BE por via i.m.) e em novilhas peri-púberes (0,4 mg de BE por via i.m.) para facilitar os eventos do estro e ovulação após um tratamento com progestágeno/PGF₂. Com estas doses, o intervalo entre a injeção de BE até o pico de LH foi de 22 horas. Embora a titulação da dose tenha demonstrado que a liberação de LH da pituitária era muito sensível ao BE, em nenhum caso houve elevação significativa nas concentrações de LH até pelo menos oito horas de concentrações elevadas de estradiol. Em relação ao intervalo entre a injeção de BE até as concentrações de pico de LH, as vacas ovariectomizadas responderam da mesma forma (Short et al., 1973), sugerindo que os ovários não são essenciais nem interferem com a estimulação exógena do pico de LH com estradiol.

O estradiol é utilizado como rotina nos rebanhos leiteiros da Nova Zelândia para o tratamento de vacas leiteiras em anestro para facilitar a expressão do estro (McDougall et al., 1992). A resposta de estro que ocorre depois de vários dias de tratamento com progesterona via inserção de um CIDR aumentou de 70% para mais de 90% pela adição de uma injeção i.m. de 1 mg de BE 24 horas depois da retirada do dispositivo de liberação de progesterona. Grande parte desta melhora foi atribuída à eliminação das ‘ovulações silenciosas’ (i.e., ovulação que não é acompanhada por manifestações detectáveis de estro), pois as taxas de concepção

não foram alteradas, ainda que maior de animais tenha sido inseminado. Assim, a melhora geral resultante da adição do estradiol foi atribuída ao maior número de animais sendo detectados em estro e submetidos a IA (Macmillan et al., 1995; Day et al., 2000). Melhoras semelhantes em manifestação de estro comportamental resultaram da administração de estradiol a vacas de corte em anestro (Fike et al., 1997) e novilhas de corte (Rasby et al., 1998), previamente tratadas com CIDR. A lógica para o uso de BE depois da retirada da progesterona acima descrita para o tratamento de vacas leiteiras em anestro foi estendida para produzir uma maior precisão de sincronização de estro em vacas que já tinham começado a ciclar antes do tratamento (Day et al., 2000). Em vacas leiteiras de altíssima produção, o uso de estradiol depois do tratamento com progesterona é benéfico para eliminar o problema da baixa expressão do estro, típico de animais em estado de grande demanda metabólica (K.L. Macmillan, comunicação pessoal). Um problema associado ao uso de estradiol para a facilitação da expressão do estro depois do tratamento com progesterona é a possibilidade de que este estro não seja acompanhado de ovulação e desenvolvimento de um corpo lúteo normal. Um estudo recente conduzido com vacas leiteiras em anestro na Nova Zelândia relatou a incidência de “falsos cios” em 21,4% das vacas, embora altamente variável entre diferentes rebanhos (5 a 46%; Rhodes et al., 2003). As consequências negativas da indução de estro em um animal em anestro, mas que não ovule em seguida ou continue apresentando ciclos estrais podem ser de dois tipos. Em primeiro lugar, a vaca não pode ficar prenhe, pois houve falha de ovulação. Em segundo lugar, se o animal permanecer em anestro, o encarregado pode supor que esta vaca está prenhe, pois não repetiu o estro. Embora existam várias razões em potencial para que não ocorra ovulação, uma clara possibilidade é a presença de um FD imaturo e que não responde no momento em que estradiol é administrado. Conduzimos três experimentos (Burke et al., 2001) para testar a hipótese de que um FD maduro deve estar presente para que ocorra um estro induzido pelo estradiol e seja acompanhado de ovulação.

Os três experimentos (Burke et. al., 2001) investigaram as respostas ao uso de BE para estimular estro e ovulação em vacas em diferentes estágios e incluíram grupos de novilhas peri-púberes, novilhas ciclando e vacas de corte em anestro pós-parto. Em todos os animais, o menor período prático para o teste de indução da ovulação com estradiol foi com folículos imaturos que haviam emergido dois dias antes, sem que houvesse necessidade de prever o momento de uma nova emergência folicular. O tratamento controle consistiu de animais em que a emergência havia ocorrido há 5 dias. Nas vacas em anestro que já tinham um FD imaturo no momento da administração do BE, o estro foi detectado em todas, mas menos da metade ovulou. Nas vacas que ovularam um FD imaturo, o corpo lúteo resultante foi menor e menos funcional se comparado à ovulação de um FD maduro. A hipótese foi aceita para vacas em anestro e a falta de controle adequado do desenvolvimento folicular foi proposta como sendo pelo menos um dos problemas para o sucesso limitado do tratamento de vacas em anestro com progesterona e estradiol. A mesma linha de questionamento pode ser aplicada aos programas de sincronização de estro baseados em GnRH (tais como CO-Synch, Ovsynch) e tem sido extensamente investigada em nosso laboratório (Day, 2005). Ao contrário de vacas em anestro, as respostas de estro e ovulação em novilhas pré-púberes ou pós-púberes recebendo BE não foram afetadas pelo grau de maturidade do FD (Burke et al., 2001). Praticamente todas as novilhas manifestaram estro e ovularam e o momento destes eventos, em relação ao tratamento com BE, foi semelhante para os grupos com folículos em diferentes estágios de maturidade. A natureza do ciclo estral seguinte em novilhas foi caracterizado somente quanto ao grau de normalidade de duração da fase lútea. Evans et al. (2003), entretanto, criaram um desenho experimental praticamente idêntico ao de Burke et al. (2001) em novilhas cíclicas e confirmaram que a duração do ciclo estral seguinte foi normal após a administração de BE quando o folículo pré-ovulatório ainda era imaturo. Concluímos que o estro comportamental é prontamente induzido com BE, independente do estado em que o animal se encontra. A maturidade do FD parece ter pouca influência sobre a ovulação do FD em novilhas, enquanto um FD imaturo em vacas lactantes em anestro tem menor probabilidade de responder ao estímulo ovulatório exógeno e o desenvolvimento do corpo lúteo é comprometido nas vacas que ovulam.

RESUMO

Conduzimos uma série de estudos para investigar aspectos de função folicular quando o estradiol é usado para regular de forma estratégica o desenvolvimento folicular ovariano. Mais especificamente, nosso trabalho e o de outros manteve o foco nas ações do estradiol em programas de sincronização de estro para induzir atresia folicular, sincronizar a subsequente emergência de uma nova onda folicular e induzir o estro e a ovulação como passo final do programa de sincronização. O estradiol exógeno induz rápidas mudanças nos folículos que apresentam indicação de atresia ao início do programa de controle de estro e induz estro quando administrado na última fase do programa. Em nossa opinião, estes são os aspectos mais consistentes dos usos do estradiol em programas de sincronização de estro. Por outro lado, enquanto o estradiol se mostra muito consistente para reajustar o desenvolvimento folicular, o momento de emergência da próxima onda e a maturidade do folículo dominante ao final do programa de sincronização podem variar entre animais. Em novilhas, esta variação em maturidade não parece influenciar a capacidade de ovular em resposta ao tratamento final com estradiol, mas as vacas em anestro têm menor probabilidade de ovular folículos imaturos. Consideramos estes aspectos do uso de estradiol em sincronização de estro como os efeitos menos previsíveis e que podem limitar a eficácia de alguns programas. O uso de abordagens que limitem a variação em tempo de emergência da nova onda folicular ou minimizem o impacto desta variação sobre a probabilidade de ovulação e subsequente fertilidade tem o potencial de otimizar a fertilidade em programas de IA em tempo fixo baseados no uso de estradiol e progesterona.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Asdell, S. A., J. de Alba, and J. S. Roberts. 1945. The levels of ovarian hormones required to induce heat and other reactions in the ovariectomized cow. *J. Anim. Sci.* 4:277.
- Beck, T. W., and E. M. Convey. 1977. Estradiol control of serum luteinizing hormone concentrations in the bovine. *J. Anim. Sci.* 45:1096-1101.
- Bergfelt, D. R., K. C. Lightfoot, and G. P. Adams. 1994. Ovarian synchronization following ultrasound-guided transvaginal follicle ablation in heifers. *Theriogenology* 42:895-907.
- Bo, G. A., D. R. Bergfelt, G. M. Brogliatti, R. A. Pierson, G. P. Adams, and R. J. Mapletoft. 2000. Local versus systemic effects of exogenous estradiol-17 β on ovarian follicular dynamics in heifers with progestogen implants. *Anim. Reprod. Sci.* 59:141-157.
- Bo, G. A., G. P. Adams, M. Caccia, M. Martinez, R. A. Pierson, and R. J., Mapletoft. 1995a. Ovarian follicular wave emergence after treatment with progestogen and estradiol in cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 39:193-204.
- Bo, G. A., G. P. Adams, R. A. Pierson, and R. J. Mapletoft. 1995b. Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. *Theriogenology* 43:31-40.
- Bogacz, V. L., J. E. Huston, D. E. Grum, and M. L. Day. 2000. Effect of estradiol benzoate in combination with progesterone to induce follicular turnover at various stages of the estrous cycle. *J. Anim. Sci.* (Suppl. 1) 83: 211 (Abstr.).
- Bogacz, V. L., J. E. Huston, D. E. Grum, and M. L. Day. 1999. Identification of the optimal dose of estradiol benzoate in combination with a progestin to program follicular turnover in cyclic cattle. *J. Anim. Sci.* (Suppl. 1) 77:124 (Abstr.).
- Burke, C. R. Regulation of ovarian follicular development with estradiol in cattle. Ph.D. Dissertation. The Ohio State University, Columbus, Ohio. Spring, 2003.
- Burke, C. R., H. Cárdenas, M.L. Mussard, C.L. Gasser, and M.L. Day. 2006. Steroidogenic changes and expression of messenger RNA encoding steroidogenic enzymes, gonadotrophin receptors and cell-death signalling in the dominant ovarian follicle during oestradiol-induced atresia in cattle. *Anim. Reprod. Sci.* (In Press).
- Burke, C.R., H. Cardenas, M.L. Mussard, and M.L. Day. 2005. Histological and steroidogenic changes in dominant ovarian follicles during oestradiol-induced atresia in heifers. *Reprod.* 129:611-620.
- Burke, C. R., M. L. Mussard, C. L. Gasser, D. E. Grum, and M. L. Day. 2003. Estradiol benzoate delays new follicular wave emergence in a dose dependent manner after ablation of the dominant ovarian follicle in cattle. *Theriogenology* (In Press).
- Burke, C. R., M. L. Mussard, D. E. Grum, and M. L. Day. 2001. Effects of maturity of the potential ovulatory follicle on induction of oestrus and ovulation in cattle with oestradiol benzoate. *Anim. Reprod. Sci.* 66:161-174.
- Burke, C. R., M. L. Day, C. R. Bunt, and K. L. Macmillan. 2000. Use of a low dose of estradiol benzoate during diestrus to synchronize development of the ovulatory follicle in cattle. *J. Anim. Sci.* 78:145-151.
- Burke, C. R., M. P. Boland and, K. L. Macmillan. 1999. Ovarian responses to progesterone and oestradiol benzoate administered intravaginally during dioestrus in cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 55:23-33.
- Burke, C.R., S. Morgan, B.A. Clark, and F.M. Rhodes. 1998. Effect of luteolysis on control of ovarian follicles using oestradiol benzoate and progesterone in cattle. *Proc. New Zealand Soc. Anim. Prod.* 58:89-91.

- Burke, C. R., M. L. Day, B. A. Clark, C. R. Bunt, M. J. Rathbone, and K. L. Macmillan. 1997. Effect of luteolysis on follicle wave control using oestradiol benzoate in cattle. *Proc. New Zealand Soc. Endocrinol.* 40:134 (Abstr.).
- Burke, C. R., K. L. Macmillan, and M. P. Boland. 1996a. Oestradiol potentiates a prolonged progesterone-induced suppression of LH release in ovariectomised cows. *Anim. Reprod. Sci.* 45:13-28.
- Carrick, M. J., and J. N. Sheldon. 1969. Oestrogen-progesterone relationships in the induction of oestrus in spayed heifers. *J. Endocrinol.* 45:99.
- Cook, D. L., T. A. Winters, L. A. Horstman, and R. D. Allrich. 1986. Induction of estrus in ovariectomized cows and heifers: Effects of estradiol benzoate and gonadotropin releasing hormone. *J. Anim. Sci.* 63:546-550.
- Day, M.L. 2005. Effects of strategies to synchronize ovulation on follicular development and fertility. 2005. *Proceedings of the IX Course on New Approaches to Production and Reproduction in Cattle*: 217-228. Uberlandia, Brazil, March 17-18, 2005.
- Day, M. L. 1998. Estrous control and management of follicular growth with progesterone-based synchrony systems. Pages 10-33 in *Proc. of the 17th Annual Convention of the American Embryo Transfer Association*, October 16, 1998, San Antonio, TX.
- Day, M. L., and C. R. Burke. 2002. Management of follicular growth with progesterone and estradiol within progestin-based estrous synchrony systems. Pages 101-117 in *Factors Affecting Calf Crop: Biotechnology of Reproduction*. M. Fields, R. Sand and J. Yelich, eds. CRC Press LLC, Boca Raton, FL.
- Day, M. L., C. R. Burke, V. K. Taufa, A. M. Day, and K. L. Macmillan. 2000. The strategic use of estradiol to enhance fertility and submission rates of progestin based estrus synchronization programs in seasonal dairy herds. *J. Anim. Sci.* 78:523-529.
- Engelhardt, H., J. S. Walton, R. B. Miller, and G. J. King. 1989. Estradiol-induced blockade of ovulation in the cow: Effects of luteinizing hormone release and follicular fluid steroids. *Biol. Reprod.* 40:1287-1297.
- Evans, A. C. O., P. O'Keeffe, M. Mihm, J. F. Roche, K. L. Macmillan, and M. P. Boland. 2003. Effect of oestradiol benzoate given after prostaglandin at two stages of follicle wave development on oestrus synchronization, the LH surge and ovulation in heifers. *Anim. Reprod. Sci.* 76:13-23.
- Fike, K. E., M. L. Day, E. K. Inskeep, J. E. Kinder, P. E. Lewis, R. E. Short, and H. D. Hafs. 1997. Estrus and luteal function in suckled beef cows that were anestrous when treated with an intravaginal device containing progesterone with or without a subsequent injection of estradiol benzoate. *J. Anim. Sci.* 75:2009-2015
- Findlay, J. K., A. E. Drummond, and R.C. Fry. 1996. Intraovarian regulation of follicular development and ovulation. *Anim. Reprod. Sci.* 42:321-331.
- Ginther, O. J., K. Kot, L. J. Kulick, and M. C. Wiltbank. 1997a. Sampling follicular fluid without altering follicular status in cattle: Oestradiol concentrations early in the follicular wave. *J. Reprod. Fertil.* 109:181-186.
- Gong, J. G., T. A. Campbell, T. A. Bramley, C. G. Gutierrez, A. R. Peters, and R. Webb. 1996. Suppression in the secretion of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone, and ovarian follicular development in heifers continuously infused with a gonadotropin-releasing hormone agonist. *Biol. Reprod.* 55:68-74.
- Imakawa, K., M. L. Day, D. D. Zalesky, M. Garcia-Winder, R. J. Kittock, and J. E. Kinder. 1986. Regulation of pulsatile LH secretion by ovarian steroids in the heifer. *J. Anim. Sci.* 63:162-168.
- Kaneko, H., T. Terada, K. Taya, G. Watanabe, S. Sasamoto, Y. Hasegawa, and M. Igarashi. 1991. Ovarian

- follicular dynamics and concentrations of oestradiol-17 β , progesterone, luteinizing hormone and follicle stimulating hormone during the periovulatory phase of the oestrous cycle in the cow. *Reprod. Fertil. Dev.* 3:529-535.
- Lammoglia, M. A., B. E. Short, S. E. Bellows, R. A. Bellows, M. D. MacNeil, and H. D. Hafs. 1998. Induced and synchronized estrus in cattle: Dose titration of estradiol benzoate in peripubertal heifers and postpartum cows after treatment with an intravaginal progesterone-releasing insert and prostaglandin F2 α . *J. Anim. Sci.* 76:1662-1670.
- Macmillan, K. L., and C. R. Burke. 1996. Effects of oestrous cycle control on reproductive efficiency. *Anim. Reprod. Sci.* 42:307-320.
- Macmillan, K. L., V. K. Taufa, A. M. Day, and S. McDougall, 1995. Some effects of using progesterone and oestradiol benzoate to stimulate oestrus and ovulation in dairy cows with anovulatory anoestrus. *Proc. of the New Zealand Soc. of Anim. Prod.* 55:239-241.
- Martinez, M. F., G. P. Adams, J. P. Kastalic, D. R. Bergfelt, and R. J. Mapletoft. 2000. Induction of follicular wave emergence for estrus synchronization and artificial insemination in heifers. *Theriogenology* 54:757-769.
- McDougall, S., C. R. Burke, K. L. Macmillan, and N. B. Williamson. 1992. The effect of pretreatment with progesterone on the oestrous response to oestradiol-17 β benzoate in the post-partum dairy cow. *Proc. New Zealand Soc. Anim. Prod.* 52:157-160.
- Nessan, G. K., and G. J. King. 1981. Sexual behaviour in ovariectomized cows treated with oestradiol benzoate and testosterone propionate. *J. Reprod. Fert.* 61:171-178.
- Rasby, R. J., M. L. Day, S. K. Johnson, J. E. Kinder, J. M. Lynch, R. E. Short, R. P. Wettemann, and H. D. Hafs. 1998. Luteal function and estrus in peripubertal beef heifers given an intravaginal progesterone releasing insert with or without a subsequent injection of estradiol. *Theriogenology* 50:55-63.
- Ray, D. E. 1965. Oestrous response of ovariectomized beef heifers to oestradiol benzoate and human chorionic gonadotrophin. *J. Reprod. Fertil.* 10:329-335.
- Rhodes, F. M., S. McDougall, C. R. Burke, G. A. Verkerk, and K. L. Macmillan. 2003. Review: Treatment of cows with an extended postpartum anestrous interval. *J. Dairy Sci.* (In Press)
- Roche, J. F., E. J. Austin, M. Ryan, M. O'Rourke, M. Mihm, and M. G. Diskin. 1999. Regulation of follicle waves to maximize fertility in cattle. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 54:61-71.
- Short, R. E., B. E. Howland, R. D. Randel, D. S. Christensen, and R. A. Bellows. 1973. Induced LH release in spayed cows. *J. Anim. Sci.* 37:551-557.
- Vynckier, L., M. Debackere, A. De Kruif, and M. Coryn. 1990. Plasma estradiol-17 β concentrations in the cow during induced estrus and after injection of estradiol-17 β benzoate and estradiol-17 β cypionate - a preliminary study. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 13:36-42.
- Xu, Z. Z., L. J. Burton, and K. L. Macmillan. 1996. Reproductive performance of lactating dairy cows following oestrus synchronization with progesterone, oestradiol and prostaglandin. *New Zealand Vet. J.* 44:99-104.

REVISÃO DE SISTEMA DE SINCRONIZAÇÃO DO ESTRO UTILIZANDO A PROGESTINA ORAL ACETATO DE MELENGESTROL (MGA)¹

D. J. Patterson

Departamento de Zootecnia

Universidade de Missouri, Columbia

INTRODUÇÃO

A sincronização de estro e a inseminação artificial (IA) continuam sendo as biotecnologias reprodutivas mais importantes e amplamente aplicáveis, disponíveis para bovinos (Seidel, 1995). Ainda que os tratamentos hormonais de novilhas e vacas para agrupar os ciclos estrais tenham sido uma realidade comercial há mais de 30 anos, os produtores de bovinos de corte têm sido vagarosos na adoção desta prática de manejo. A razão talvez esteja ligada às falhas do passado, que ocorreram quando as fêmeas submetidas a tratamentos para sincronização de estro não alcançavam a puberdade ou não retomavam os ciclos estrais normais após a parição. Além disso, os programas de sincronização de estro falhavam no controle das ondas foliculares, resultando em mais dias no período sincronizado o que, em última análise, impedia a inseminação artificial em tempo fixo com taxas de prenhez aceitáveis. Uma crescente adoção destas importantes práticas de manejo veio como resultado do desenvolvimento de protocolos convenientes e econômicos para sincronizar o estro e a ovulação com o objetivo de facilitar o uso de IA em tempo fixo, resultando em maior fertilidade (Patterson et al., 2003). A pesquisa atual enfocou o desenvolvimento de métodos que sincronizem efetivamente o estro em vacas de corte no período pós-parto e em novilhas de corte de reposição, diminuindo o período de tempo em que é necessário fazer a detecção do estro, facilitando o uso de IA em tempo fixo.

Ainda que haja atualmente ferramentas disponíveis para o uso com sucesso destes procedimentos pelos produtores de bovinos de corte, a transferência de tecnologia precisa ter uma alta prioridade. Nos Estados Unidos, a transferência desta tecnologia para os produtores de bovinos de corte vai exigir um aumento no suporte técnico para facilitar o uso e a adoção destes procedimentos com sucesso. Caso contrário os produtos de nossa pesquisa e tecnologia poderão ser usados com maior eficiência em outros países (como o Brasil, por exemplo), cuja carne bovina irá, no final das contas, concorrer com a produzida por nós (Patterson et al., 2000).

Melhorar as características de importância econômica em bovinos de corte pode ser conseguido de forma mais rápida através da seleção de touros geneticamente superiores e o amplo uso de inseminação artificial. Os procedimentos que facilitam a sincronização de estro em fêmeas que estão ciclando e a indução de um estro ovulatório em novilhas peri-púberes e em vacas em anestro no pós-parto irão aumentar as taxas reprodutivas e acelerar o progresso genético. A sincronização de estro pode ser um meio eficiente de aumentar a proporção de fêmeas que emprenham no início da estação de monta, resultando em estações de parição mais curtas e uma safra de bezerros mais uniforme (Dziuk e Bellows, 1983). As fêmeas que conceberam em estro sincronizado vão parir mais no início da estação de parição, e desmamaram bezerros que foram em média 13 dias mais

¹ A pesquisa resumida neste texto teve o apoio do National Research Initiative Competitive Grant 00-35203-9175 do Cooperative State Research, Education, and Extension Service do USDA, e Select Touros, Inc., Plain City, OH. Os autores agradecem a Pfizer Animal Health (New York, NY) por fornecer Lutalyse suspensão estéril e EAZI BREED CIDR implantes para bovinos; Merial (Athens, GA) por fornecer Cystorelin; e a Select Touros, Inc. e ABS Global pelo sêmen fornecido.

velhos e 9,5 kg mais pesados do que os bezerros de fêmeas não sincronizadas (Schafer et al., 1990).

Os programas de sincronização de estro efetivos oferecem as seguintes vantagens:

- 1) as vacas ou novilhas estão em estro no tempo previsto, o que facilita a IA, transferência de embrião ou outras técnicas de reprodução assistida;
- 2) o tempo necessário para a detecção de estro é reduzido, diminuindo a despesa com a mão de obra associada com a detecção;
- 3) os animais concebem mais cedo durante o período de monta;
- 4) a IA torna-se mais prática;
- 5) os bezerros serão mais velhos e mais pesados ao desmame.

Porque os produtores de bovinos de corte não usam tecnologias existentes e potenciais

Os produtores de bovinos de corte citam diversas razões para que não haja uso mais amplo da IA em novilhas e vacas. Estas razões incluem: falta de tempo e mão de obra, procedimentos disponíveis são vistos como muito complicados ou de implantação cara, meios inadequados para detectar estro ou pouco convenientes (NAHMS, 1998). A manutenção das baixas taxas de adoção destas tecnologias nos Estados Unidos irá provocar uma erosão na posição competitiva do setor de pecuária de corte norte-americano. Outros países estão adotando novas tecnologias para a produção animal mais rapidamente do que os Estados Unidos. O crescimento da IA no Brasil, por exemplo, ultrapassou o dos EUA (ASBIA, 2004; NAAB, 2004; Tabela 1). Os pecuaristas de corte brasileiros inseminam artificialmente 5 vezes mais vacas por ano do que os norte-americanos. Considerando o atual cenário, os rebanhos de núcleo genético de elite dos EUA irão logo fornecer uma porcentagem considerável do germoplasma usado no mundo todo. Se os proprietários de rebanhos comerciais de vacas não implantarem de forma agressiva as melhoras reprodutivas e genéticas, os Estados Unidos perderão sua vantagem competitiva na produção de carne bovina de alta qualidade. Os protagonistas internacionais tecnicamente mais astutos e com vantagens competitivas irão se posicionar para dominar a produção e venda de carne bovina no mundo todo.

Tabela 1. Vendas de sêmen de gado de corte importado e doméstico no Brasil e nos Estados Unidos em um período de 10 anos.

Vendas de sêmen de gado de corte importado e doméstico (unidades vendidas)			
País	1993	2003	Mudança%
Brasil ^a	1.874.996	4.896.204	+161
EUA ^b	1.025.116	906.923	-8

As vendas para exportação nos EUA aumentaram de 393.365 unidades em 1993 para 614.904 unidades em 2003 (+56%, NAAB, 2004). ^aASBIA, 2004; ^bNAAB, 2004,

A incapacidade de prever o momento do estro em vacas ou novilhas dentro de um grupo muitas vezes torna impraticável o uso de IA por causa da mão de obra necessária para a detecção do estro. Os procedimentos disponíveis para controlar o ciclo estral da vaca podem melhorar as taxas reprodutivas e acelerar o progresso genético. Estes procedimentos incluem a sincronização do estro em fêmeas que estão ciclando, e a indução do estro acompanhado por ovulação em novilhas que ainda não alcançaram a puberdade, ou entre vacas que ainda não retornaram a ciclicidade.

Os seguintes protocolos e termos serão utilizados ao longo deste texto.

Protocolos para IA pós detecção do estro

PG: Prostaglandina F₂ (PG; Lutalyse, Estrumate, ProstaMate, InSynch, estroPLAN).

MGA-PG: Acetato de melengestrol (MGA; 0,5 mg/cabeça/dia) é administrado por um período de 14 dias com PG administrado 17 a 19 dias depois da retirada do MGA.

GnRH-PG (*Select Synch*): Injeção de hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH; Cystorelin®, Factrel®, Fertagyl®, OvaCyst®) seguido depois de 7 dias por uma injeção de PG.

MGA-GnRH-PG (*MGA® Select*): MGA é administrado durante 14 dias, GnRH é administrado 12 dias depois da retirada de MGA, e PG é administrada 7 dias depois do GnRH.

7-11 Synch: MGA é administrado durante 7 dias, PG é administrada no último dia da administração de MGA, GnRH é administrado 4 dias depois da interrupção de MGA, e uma segunda injeção de PG é administrada 11 dias depois da retirada de MGA.

Protocolos para IA em tempo fixo

MGA Select: MGA é administrado durante 14 dias, GnRH é administrado 12 dias depois da retirada de MGA, e PG é administrada 7 dias depois de GnRH. A inseminação é realizada 72 horas depois de PG, sendo GnRH administrado na IA.

7-11 Synch: MGA é administrado durante 7 dias, PG é administrada no último dia de administração de MGA, GnRH é administrado 4 dias depois da interrupção de MGA, e uma segunda injeção de PG é administrada 11 dias depois da retirada de MGA. A inseminação é realizada 60 horas depois de PG, sendo GnRH administrado na IA.

CO-Synch + CIDR: GnRH é administrado na colocação do CIDR no dia 0, seguido 7 dias depois com a retirada do CIDR, e PG. A inseminação é realizada 66 horas depois da retirada do CIDR e PG, sendo GnRH administrado na IA.

Termos

Resposta estral: O número de fêmeas que exibem estro durante um período sincronizado.

Período sincronizado: O período de tempo durante o qual o estro é expresso depois do tratamento.

Taxa de concepção sincronizada: A proporção de fêmeas que emprenham em relação às que apresentam estro e são inseminadas durante o período sincronizado.

Taxa de prenhez sincronizada: Proporção de fêmeas que emprenham em relação ao número total tratado.

Para evitar problemas no uso de sincronização de estro, as fêmeas devem ser selecionadas para o programa quando as seguintes condições forem atendidas: 1) Período de tempo adequado desde o parto até a implantação dos tratamentos para sincronização (é sugerido um mínimo de 40 dias após o parto para o início do tratamento); 2) As vacas tem condição corporal média ou acima da média (pelo menos um escore 5 em uma escala de 1 a 9); 3) Vacas que tiveram problemas mínimos ao parto; 4) Novilhas de reposição devem ter alcançado pesos alvo pré-cobertura que representam pelo menos 65% de seu peso projetado para a fase madura; 5) Os escores do aparelho reprodutor (EAR) são atribuídos no máximo duas semanas antes do início do tratamento de sincronização (escores 2 ou maiores em uma escala de 1 a 5) e pelo menos 50% das novilhas têm um escore EAR 4 ou 5 (Patterson et al., 2000a).

DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS PARA SINCRONIZAR O ESTRO

O desenvolvimento de métodos para controlar o ciclo estral da vaca ocorreu em seis fases distintas. A base fisiológica para a sincronização de estro surgiu com a descoberta de que a progesterona inibe a ovulação (Ulberg et al., 1951) e a maturação folicular pré-ovulatória (Nellor e Cole, 1956; Hansel et al., 1961; Lamond, 1964). Acreditava-se que a regulação dos ciclos estrais estivesse associada ao controle do corpo lúteo, que tem seu tempo de vida e atividade secretória regulados por mecanismos tróficos e líticos (Thimonier et al., 1975; Patterson et al., 2003). A Fase Progesterona incluiu esforços para prolongar a fase lútea do ciclo estral ou estabelecer uma fase lútea artificial pela administração de progesterona exógena. Depois, agentes progestacionais foram combinados com estrogênios ou gonadotrofinas na Fase Progesterona-Estrogênio. Em 1972, a prostaglandina F_2 e seus análogos foram descritos como sendo luteolíticos no bovino (Lauderdale, 1972; Rowson et al., 1972; Liehr et al., 1972; Lauderdale et al., 1974) e introduzidos na Fase PG. Tratamentos que combinavam agentes progestacionais com PG caracterizaram a Fase Progestogênio-PG. Todos estes protocolos buscavam o controle da fase lútea do ciclo estral uma vez que as ondas foliculares não eram reconhecidas na época.

O monitoramento preciso dos folículos ovarianos e corpos lúteos ao longo do tempo por ultrassonografia transretal ampliou o nosso entendimento sobre o ciclo estral bovino, particularmente as alterações que ocorrem durante a onda folicular (Fortune et al., 1988). Nos bovinos, o crescimento dos folículos ocorre em padrões semelhantes a ondas, com novas ondas foliculares ocorrendo aproximadamente a cada 10 dias (intervalo de 6-15 dias). Sabemos agora que o controle exato dos ciclos estrais requer a manipulação tanto das ondas foliculares como da duração da fase luteal (Fase GnRH-PG).

Uma única injeção do hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) administrada a vacas em fases aleatórias de seus ciclos estrais provoca a liberação de hormônio luteinizante, levando a uma ovulação sincronizada ou luteinização da maioria dos grandes folículos dominantes (10 mm; Garverick et al., 1980; Bao e Garverick, 1998; Sartori et al., 2001). Conseqüentemente, uma nova onda folicular é iniciada em todos as vacas dentro de 2 a 3 dias após a administração de GnRH. O tecido luteal que se forma após a administração de GnRH é capaz de sofrer luteólise induzida por PG 6 ou 7 dias mais tarde (Twagiramungu et al., 1995). O protocolo GnRH-PG aumenta a taxa de sincronização de estro em bovinos de corte (Twagiramungu et al., 1992a,b) e de leite (Thatcher et al., 1993). Uma desvantagem deste método, entretanto, é que aproximadamente 5 a 15% das vacas são detectadas em estro no dia da injeção de PG ou antes, reduzindo assim a proporção de fêmeas que são detectadas em estro e inseminadas durante o período sincronizado (Kojima et al., 2000). Esta informação estimulou a pesquisa na Fase Progestogênio-GnRH-PG.

SINCRONIZAÇÃO DE ESTRO E OVULAÇÃO COM O PROTOCOLO GNRH-PG-GNRH

A administração de PG sozinha é comumente utilizada para sincronizar um estro ovulatório em vacas que estão ciclando. Este método, entretanto, não é eficaz em fêmeas em anestro e a variação entre os animais no estágio de onda folicular no momento da injeção de PG contribui diretamente para a variação de início do estro durante o período sincronizado (Macmillan e Henderson, 1984; Sirois e Fortune, 1988). Como conseqüência, o protocolo GnRH-PG-GnRH foi desenvolvido para sincronizar as ondas foliculares e o momento da ovulação. O protocolo GnRH-PG-GnRH (Figura 1) com IA em tempo fixo resulta no desenvolvimento de um folículo pré-ovulatório que ovula em resposta a um segundo pico de LH induzido por GnRH 48 horas após a injeção de PG (Ovsynch; Pursley et al., 1995). Ovsynch foi validado como um meio confiável de sincronização da ovulação para IA em tempo fixo em vacas leiteiras em lactação (Pursley et al., 1995; Burke et al., 1996; Pursley et al., 1997a, b; Schmitt et al., 1996). Com Ovsynch, o momento da

ovulação ocorre entre 24 e 32 horas depois da segunda injeção de GnRH e é sincronizado em 87 a 100% das vacas leiteiras em lactação (Pursley et al., 1997a). As taxas de prenhez entre as vacas que foram inseminadas em tempo fixo após o Ovsynch variaram de 32 a 45% (Pursley et al., 1997b; 1998). O protocolo Ovsynch, entretanto, não sincronizou de forma efetiva o estro e a ovulação em novilhas leiteiras (35% de taxa de prenhez em comparação com 74% em protocolos PG; Pursley et al., 1997b). Os protocolos para inseminação em tempo fixo foram recentemente testados em vacas de corte pós-parto. As taxas de prenhez em vacas de corte tratadas com Ovsynch foram comparadas com as de vacas sincronizadas e inseminadas em tempo fixo após o tratamento com Syncro-Mate-B (Geary et al., 1998a). Nos dois grupos de tratamento, os bezerros foram tirados de suas mães por períodos de 48 horas no momento da retirada do implante (Syncro-Mate-B) ou quando PG foi administrada (Ovsynch). As taxas de prenhez com Ovsynch após a IA em tempo fixo (54%) foram mais altas do que para as vacas tratadas com Syncro-Mate-B (42%). Deve ser observado que no dia após a inseminação em tempo fixo, as vacas foram expostas a touros férteis da mesma raça, e não foi feita nenhuma tentativa de determinar a paternidade da progênie. Além disso, não sabemos qual a incidência de ciclos curtos entre as vacas que estavam em anestro antes do tratamento e que talvez voltaram ao estro prematuramente, emprenhando com a monta natural.

Recentemente foram testadas variações do protocolo Ovsynch (CO-Synch e Select Synch) em vacas de corte no pós-parto (Figura 1). É importante entender que as variações do tratamento Ovsynch atualmente em uso em vacas de corte no pós-parto não passaram pelo mesmo processo de validação utilizado com Ovsynch em vacas leiteiras em lactação. Neste ponto, não sabemos se a resposta em vacas de corte no pós-parto aos protocolos delineados na Figura 1 é a mesma ou se é diferente das vacas leiteiras em lactação devido às potenciais diferenças nos padrões de onda folicular. Diferenças em variáveis específicas da resposta podem incluir: a) o período de tempo relativo até a ovulação a partir da segunda injeção de GnRH; b) o intervalo de tempo esperado em que há a ovulação; c) o grau de sincronia de ovulação que ocorre.

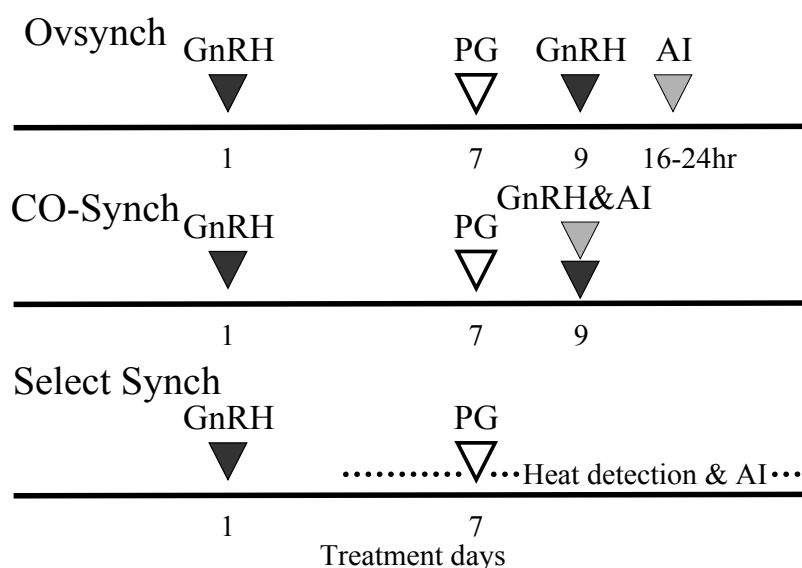


Figura 1. Métodos atualmente em uso para a sincronização de estro e ovulação em vacas de corte após o parto usando o protocolo GnRH-PG: Ovsynch, CO-Synch e Select Synch.

Duas variações de Ovsynch que estão sendo mais amplamente utilizadas em vacas de corte no pós-parto são denominadas CO-Synch e Select Synch (Figura 1). CO-Synch (Geary et al., 1998b) é similar a Ovsynch quando ao momento e a seqüência das injeções, e todas as vacas são inseminadas em um tempo fixo. CO-Synch difere de Ovsynch, entretanto, pelo fato das vacas serem inseminadas quando a segunda injeção de

GnRH é administrada e não 16 horas depois de GnRH como nas vacas tratadas com Ovsynch. Select Synch (Geary et al., 2000) também é diferente, uma vez que as vacas não recebem a segunda injeção de GnRH e não inseminadas em tempo fixo. As vacas sincronizadas com este protocolo são inseminadas 12 horas depois da detecção do estro. Para as vacas tratadas com Select Synch a recomendação é que a detecção de estro comece já 4 dias depois da injeção de GnRH e continue até 6 dias depois de PG (Kojima et al., 2000). Como Ovsynch, Select Synch foi menos efetivo do que o protocolo de acetato de melengestrol (MGA)-PG na sincronização de estro em novilhas de corte (Stevenson et al., 1999).

PROGRAMAS BASEADOS EM MGA

Este texto revisa métodos para controlar os ciclos estrais de vacas ou novilhas de corte usando MGA em programas de reprodução envolvendo inseminação artificial. Serão apresentados quatro métodos usando o programa MGA para facilitar a sincronização de estro em novilhas ou vacas de corte. A escolha do sistema a ser usado depende em grande parte das metas do produtor. O acetato de melengestrol é o denominador comum a cada um dos sistemas aqui apresentados. O acetato de melengestrol é uma progestina oralmente ativa. Quando consumido diariamente por vacas ou novilhas, o MGA suprime o estro e previne a ovulação (Imwalle et al., 2002). Acetato de melengestrol pode ser administrado com grãos ou proteína como veículo e colocado sobre a ração ou misturado com quantidades maiores de ração. A taxa de administração é de 0,5 mg mg/animal/dia em uma só vez. A duração da administração pode variar entre os protocolos, mas o nível de administração é consistente e crítico para o sucesso. Os animais que não consomem a quantidade necessária de MGA diariamente podem retornar ao estro prematuramente, durante o período de administração. Com isto pode-se esperar uma redução na resposta estral durante o período sincronizado. Por isso, é preciso que haja espaço adequado no comedouro (60 cm/cabeça) para que todos os animais se alimentem simultaneamente (Patterson et al., 2003).

Os animais devem ser observados todos os dias do período de administração quanto à presença de sinais comportamentais de estro. Isto pode ser feito quando os animais se aproximam da área de arraçoamento e antes da distribuição da ração. Esta prática irá assegurar que todas as fêmeas estão ingerindo a quantidade adequada. Vacas e novilhas irão apresentar estro a partir de 48 horas depois da retirada de MGA e se mantêm por 6 a 7 dias. Geralmente é recomendado que as fêmeas que apresentam estro durante este período não sejam inseminadas ou expostas à monta natural por causa da baixa fertilidade apresentada no primeiro cio depois da retirada de MGA.

MÉTODO 1: MGA COM MONTA NATURAL

O método mais simples envolve o uso de touros para a cobertura de grupos de fêmeas sincronizadas. Esta prática é útil para ajudar os produtores a fazer a transição da monta natural para a inseminação artificial. Neste processo, vacas ou novilhas recebem o período normal de 14 dias de administração de MGA e são então expostas a touros férteis cerca de 10 dias depois da retirada do MGA (Figura 2).

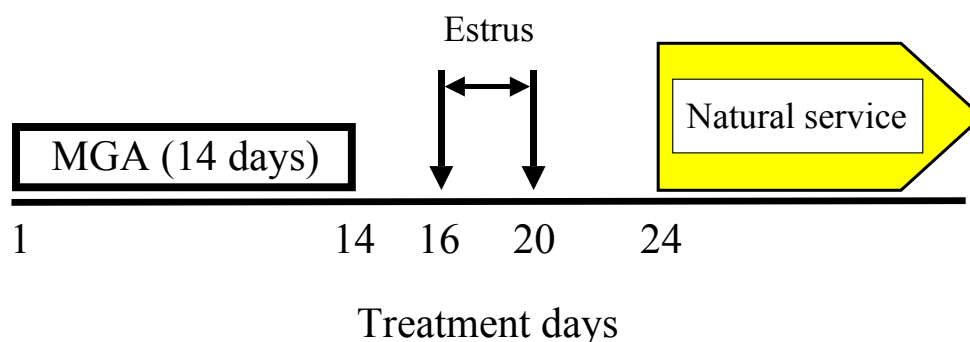


Figura 2. MGA e monta natural (adaptado de Patterson et al., 2000b). Este sistema funciona efetivamente, mas é aconselhado dar atenção à proporção entre touros e fêmeas. É recomendado que sejam expostas 15 a 20 fêmeas sincronizadas por touro. A idade e a condição reprodutiva do touro e os resultados do exame da saúde reprodutiva devem ser considerados.

MÉTODO 2: MGA + PROSTAGLANDINA

Este método de sincronização de estro envolve a combinação de MGA com prostaglandina $F_{2\alpha}$. A prostaglandina $F_{2\alpha}$ (PG) é um composto luteolítico normalmente secretado pelo útero da vaca. A prostaglandina $F_{2\alpha}$ pode induzir a regressão lútea mas não pode inibir a ovulação. Quando a PG é administrada na presença de um corpo lúteo (CL) funcional durante os dias 6 a 16 do ciclo estral, a regressão prematura do CL se inicia e a vaca retorna ao estro.

Neste programa, a prostaglandina deve ser administrada 19 dias depois do último dia de administração de MGA. Este tratamento coloca todos os animais na fase lútea tardia do ciclo estral no momento da injeção de PG, o que encurta o período sincronizado e maximiza a taxa de concepção (Figura 3). Ainda que o intervalo de 19 dias seja ótimo, intervalos de 17 a 19 dias produzem resultados aceitáveis e proporcionam flexibilidade para circunstâncias atenuantes (Brown et al., 1988; Deutscher, 2000; Lamb et al., 2000). Cinco produtos PG para sincronização de estro em bovinos podem ser usados depois do tratamento com MGA: Lutalyse®, ProstaMate®, InSynch®, Estrumate® ou estroPLAN®. As dosagens aprovadas em bula são diferentes para cada um destes produtos. Por isso, é importante ler com cuidado antes do uso e seguir as instruções para uma administração adequada.

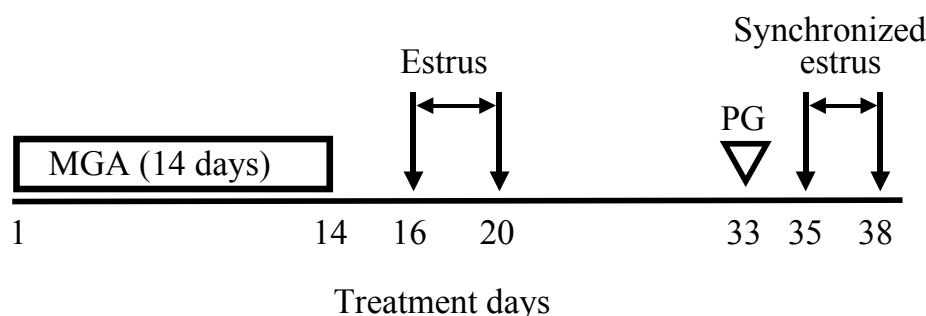


Figura 3. O protocolo MGA-PG (adaptado de Brown et al., 1988; Deutscher, 2000; Lamb et al., 2000).

CONSIDERAÇÕES RELACIONADAS AO MANEJO NA ADMINISTRAÇÃO A LONGO PRAZO DE MGA A NOVILHAS

A administração a longo prazo de MGA a novilhas de corte e os efeitos associados sobre a fertilidade podem ser uma preocupação em sistemas específicos de produção. Não é raro que as novilhas recebam MGA por períodos prolongados de tempo e sejam posteriormente expostas à reprodução. Zimbelman et al. (1970) não relataram nenhum efeito negativo da administração de MGA a longo prazo ou a administração repetida a vacas de corte e novilhas. Houve apenas a esperada redução na taxa de concepção quando os animais eram cobertos no estro sincronizado 3 a 7 dias depois do último dia de administração de MGA. Patterson et al. (1993) desenharam um estudo (Figura 4) para comparar a resposta estral e a fertilidade durante os períodos de estro sincronizado entre novilhas de corte que receberam MGA durante 87 dias (longo prazo, LP) ou 14 dias (curto prazo, CP) antes da PG. As novilhas foram estratificadas por idade e peso para os tratamentos MGA LP ou CP (Tabela 2), e receberam 0,5 mg MGA por cabeça por dia durante 87 ou 14 dias, respectivamente. As novilhas dos dois grupos receberam PG 17 dias depois da suspensão de MGA. As novilhas dos dois grupos que não apresentaram estro dentro de 6 dias depois da primeira injeção de PG receberam uma segunda injeção de PG 11 dias mais tarde (Figura 4).

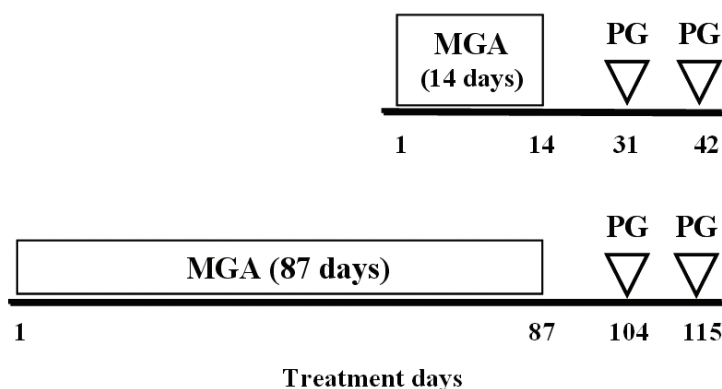


Figura 4. Comparação entre os tratamentos a curto prazo e a longo prazo com MGA.

Tanto ao final do tratamento com MGA como no momento da administração de PG, a ultrassonografia transretal foi usada para examinar os ovários de todas as novilhas. Aquelas que não apresentaram estro depois da primeira injeção de PG foram novamente examinadas antes da segunda injeção de PG. Todas as novilhas foram expostas à monta natural por mais 45 dias depois do período de IA. Mais novilhas do grupo CP apresentaram estro depois da primeira injeção de PG do que as do grupo LP (Tabela 3; $P < 0,05$). A resposta total depois das duas injeções de PG, entretanto, não foi diferente entre os tratamentos. Além disso, não houve diferenças significativas entre os tratamentos na concepção sincronizada ou nas taxas de prenhez, ou nas taxas de prenhez ao final do período de monta (Tabela 3). Uma incidência mais alta de cistos foliculares luteinizados (Tabela 4) foi observada entre as novilhas no tratamento LP quando comparadas com as novilhas no tratamento CP [LP, 11/30 (37%); CP, 0/31 (0%)]. Esta observação pode explicar as diferenças na resposta estral entre os tratamentos depois da primeira injeção de PG. Estes dados indicam que a administração de MGA a longo prazo pode resultar em uma incidência maior de cistos foliculares luteinizados do que o normal e uma redução associada na resposta estral depois de PG. Os dados indicam, entretanto, que a reinjeção com PG resultou em desempenho reprodutivo satisfatório entre as novilhas que receberam MGA por períodos de tempo prolongado.

Tabela 2. Idades e pesos de novilhas no momento da administração de PG.

Tratamento	No. novilhas	Idade, d	Peso, kg
Curto prazo, 14 d	31	427	393
Longo prazo, 87 d	30	423	387

¹Adaptado de Patterson et al., 2003, **Tabela 3.** Resposta estral e fertilidade de novilhas tratadas com MGA a longo prazo ou a curto longo.

Variável da resposta	MGA curto prazo, 14 d			MGA longo prazo, 87 d		
	1º PG ^a	2º PG ^a	Total	1º PG ^a	2º PG ^a	Total
Resposta estral	24/31 (77% ^b)	4/7 (57%)	28/31 (90%)	16/30 (53% ^c)	10/14 (71%)	26/30 (87%)
Concepção sincronizada	15/24 (63%)	3/4 (75%)	18/28 (64%)	12/16 (75%)	6/10 (60%)	18/26 (69%)
Prenhez sincronizada	-----		18/31 (58%)	-----		18/30 (60%)
Prenhez final	-----		28/31 (90%)	-----		27/30 (90%)

^a1º PG refere-se a animais que responderam a PG administrada 17 dias depois da retirada de MGA. 2º PG refere-se a animais que não responderam à primeira injeção de PG e que foram reinjetados 11 dias depois.^b

^cPorcentagens na mesma linha e entre tratamentos com diferentes sobrescritos são diferentes ($P < 0,05$; Adaptado de Patterson et al., 2003).

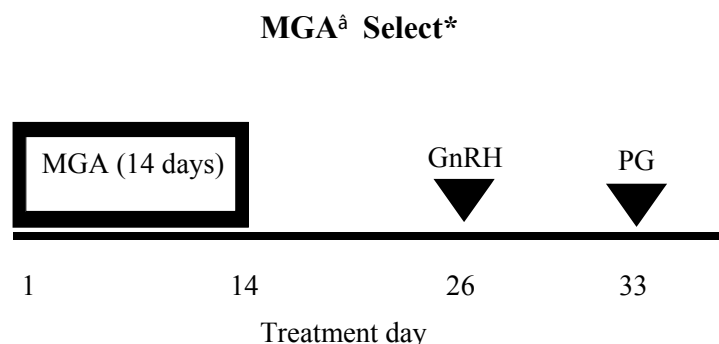
Tabela 4. Morfologia ovariana de novilhas tratadas com MGA a longo prazo ou a curto prazo.

Tratamento	Normal	Anormal ^a
Curto prazo	31/31 (100%)	0/31 (0%)
Longo prazo	19/30 (63%)	11/30 (37%)

^aAnormal = presença de cistos foliculares luteinizados, 20-45 mm diâmetro (Adaptado de Patterson et al., 2003).

MÉTODO 3: MGA SELECT

O tratamento MGA® Select (Wood et al., 2001; Figura 5) é útil para maximizar a resposta estral e desempenho reprodutivo em vacas de corte após o parto. O protocolo MGA® Select envolve a administração de MGA durante 14 dias seguido por uma injeção de GnRH no dia 26 e uma injeção de PG no dia 33. A adição de GnRH ao protocolo MGA-PG de 14-19 dias melhora a sincronia do estro, mantendo a alta fertilidade em vacas de corte após o parto.



* MGA is a registered trademark of Pfizer Animal Health

Figura 5. O protocolo MGA® Select (Wood et al., 2001). MGA é administrado durante um período de 14 dias seguido depois de 12 dias (dia 26) por uma injeção de GnRH, e PG 19 dias depois da retirada de MGA (dia 33).

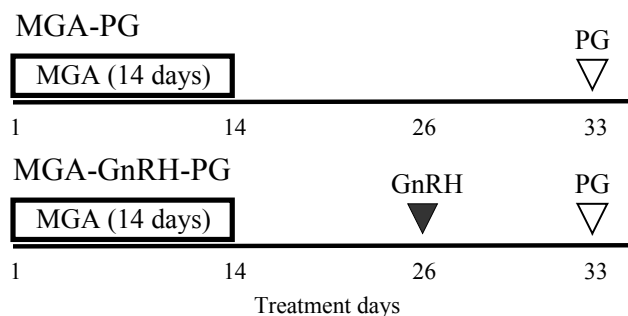


Figura 6. As vacas receberam MGA durante 14 dias; 19 dias depois da retirada de MGA PG foi administrado a todas as vacas. GnRH foi administrado à metade das vacas 7 dias antes da PG (Patterson et al., 2002).

Conduzimos experimentos durante a primavera de 2000 e a estação de monta de 2001 para comparar o protocolo MGA-PG de 14-19 dias com ou sem a adição de GnRH no dia 12 depois da retirada de MGA e 7 dias antes de PG a vacas de corte com bezerro ao pé no pós-parto (Patterson et al., 2002; Figura 6).

As tabelas abaixo trazem um resumo dos resultados do estudo conduzido durante a estação de monta de 2001. A Tabela 5 traz um resumo do número de vacas dos grupos etários por tratamento, o número médio de dias pós-parto e escore de condição corporal no primeiro dia da administração de MGA, e a porcentagem de vacas que estavam ciclando em estro antes do início do tratamento com MGA. O status de ciclicidade estral foi determinado com base no nível de progesterona em duas amostras de sangue obtidas 10 dias antes e no primeiro dia de MGA.

Tabela 5. Número de vacas nos grupos etários por tratamento, dias pós-parto, condição corporal e status de ciclicidade estral no início do tratamento com MGA¹ (Patterson et al., 2002).

Tratamento	Grupo etário (anos)	No.de vacas	Dias pós-parto	Escore condição corporal	Ciclagem estral (%)
MGA-PG	2, 3 & 4	52	47	5,2	35
	5+	48	39	5,2	15
	Total	100	44	5,2	40
MGA Select	2, 3 & 4	53	47	5,3	38
	5+	48	40	5,3	13
	Total	101	44	5,3	53

¹Número médio de pós-parto no dia em que o tratamento com MGA foi iniciado. Escores de condição corporal foram atribuídos um dia antes do início do tratamento com MGA utilizando uma escala de 1 = emaciada a 9 = obesa. A ciclicidade estral foi determinada pelo nível de progesterona em 2 amostras de sangue obtidas 10 dias e 1 dia antes início do tratamento com MGA.

A Tabela 6 traz um resumo da resposta estral, concepção sincronizada e gestação, e taxa de prenhez final para as vacas dos dois tratamentos. A resposta estral foi significativamente mais alta entre as vacas com 5 anos de idade e mais do grupo que recebeu o tratamento MGA[®] Select.

Tabela 6. Resposta estral, concepção sincronizada e taxa de prenhez, e taxa de prenhez final ao término do período de cobertura (Patterson et al., 2002). ^{a,b}Porcentagens na mesma coluna e categoria com diferentes sobrescritos são diferentes (P<0,05).

Tratamento	Grupo etário (anos)	Resposta estral (No.) (%)	Taxa de concepção sincronizada (No.) (%)	Taxa de prenhez sincronizada (No.) (%)	Prenhez final (No.) (%)
MGA-PG	2, 3 & 4	44/52 85	36/44 82	36/52 69	49/52 94
	5+	32/48 67	22/32 69	22/48 46 ^a	48/48 100
	Total	76/100 76 ^a	58/76 76	58/100 58	97/100 97
MGA Select	2, 3 & 4	46/53 87	33/46 72	33/53 62	51/53 96
	5+	42/48 88	34/42 81	34/48 71 ^b	47/48 98
	Total	88/101 87 ^b	67/88 76	67/101 66	98/101 97

MÉTODO 4: 7-11 SYNCH

Desenvolvemos um protocolo de sincronização de estro para bovinos de corte com o objetivo de: 1) diminuir o período de administração de MGA sem comprometer a fertilidade e 2) melhorar a sincronia do estro pela sincronização do desenvolvimento e ovulação de folículos desde a primeira onda de desenvolvimento (Figura 7A; Kojima et al., 2000). Este tratamento, 7-11 Synch, foi comparado com o protocolo GnRH-PG. A sincronia do estro durante o período de resposta pico de 24 horas (42 a 66 horas) foi significativamente maior entre as vacas tratadas com 7-11 Synch. Além disso, a distribuição do estro foi reduzida de 144 horas

para as vacas tratadas com GnRH-PG para 60 horas para as vacas do grupo de tratamento 7-11 Synch (Figura 7B; Kojima et al., 2000). O protocolo 7-11 Synch resultou em um grau mais alto de sincronia de estro (91%) e maior taxa de prenhez com IA (68%) durante o período de resposta pico de 24 horas quando comparado com o protocolo GnRH-PG (69% e 47%, respectivamente).

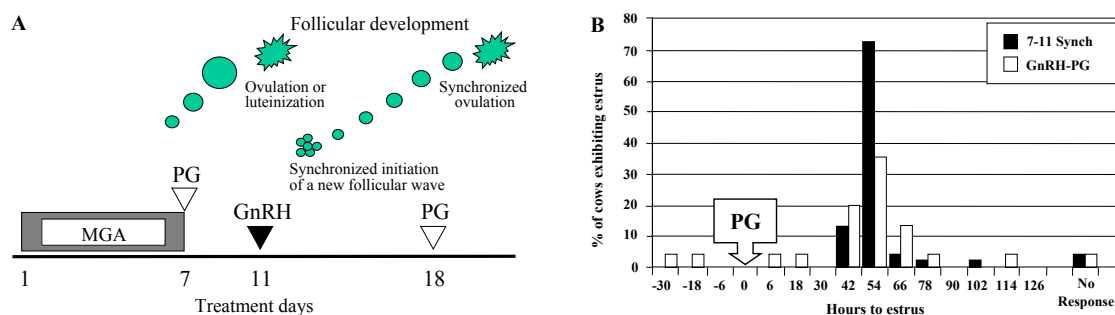


Figura 7A. Ilustração do esquema de tratamento e eventos associados com o protocolo 7-11 Synch (Kojima et al., 2000). **Figura 7B.** Resposta estral de vacas tratadas com os protocolos 7-11 Synch ou GnRH-PG (Kojima et al., 2000).

Considerações Adicionais

Uma consideração adicional para os Métodos 2, 3 e 4 (MGA-PG, MGA Select e 7-11 Synch) refere-se a vacas ou novilhas que não apresentam estro depois da última injeção de PG. Neste caso, as vacas ou novilhas receberiam nova injeção de PG 11 a 14 dias depois da administração da última injeção de PG. Estas fêmeas seriam então observadas quanto à presença de sinais de comportamento estral por mais 6 a 7 dias. Este procedimento maximizaria o esforço de inseminar tantas fêmeas quanto possível nas duas primeiras semanas do período de reprodução. Além disso, a decisão de usar os Métodos 3 ou 4 em novilhas deve ser baseada em considerações cuidadosas sobre a idade, peso e estado puberal da novilha (Federal Register, 1997; Kojima et al., 2001; Patterson et al., 1989; Wood-Follis et al., 2004; Zimbelman, 1963; Zimbelman e Smith, 1966).

USO DE PROTOCOLOS BASEADOS EM MGA PARA SINCRONIZAR A OVULAÇÃO (IA EM TEMPO FIXO)

O controle da fase lútea e folicular do ciclo estral e da indução de ciclicidade estral em vacas em anestro é essencial para o desenvolvimento de protocolos de sincronização de estro que facilitem a IA em tempo fixo (Perry et al., 2002). Os produtores de bovinos de corte se vêem frente à incerteza de saber qual a porcentagem de vacas de seus rebanhos que estão em anestro, e qual o tratamento ou combinação de tratamentos que podem trazer a maior probabilidade de prenhez após a sua administração. Experimentos anteriores demonstraram o significado do pré-tratamento com progestina seguido pela administração do protocolo GnRH-PG e os efeitos associados, relacionados ao desenvolvimento folicular e subsequente fertilidade (Perry et al., 2002; Kojima et al., 2002; Kojima et al., 2003a,b; Stegner et al., 2004a; Stevenson et al., 2003). Pesquisas anteriores realizadas em nosso laboratório levaram ao desenvolvimento dos protocolos MGA Select e 7-11 Synch. Ambos sincronizam de forma efetiva o estro em populações mistas de vacas de corte após o parto ciclando e em anestro (MGA Select, Wood et al., 2001; 7-11 Synch, Kojima et al., 2000). Os dois protocolos diferem quanto à duração do tratamento (MGA Select - 33 dias; 7-11 Synch - 18 dias) e duração do intervalo até o estro e a resultante sincronização do estro (Figura 8). Não houve, contudo, relatos de diferenças nas taxas

de prenhez entre estes protocolos nas vacas inseminadas com base no estro observado (Kojima et al., 2000; Patterson et al., 2002; Wood et al., 2001; Stegner et al., 2004b).

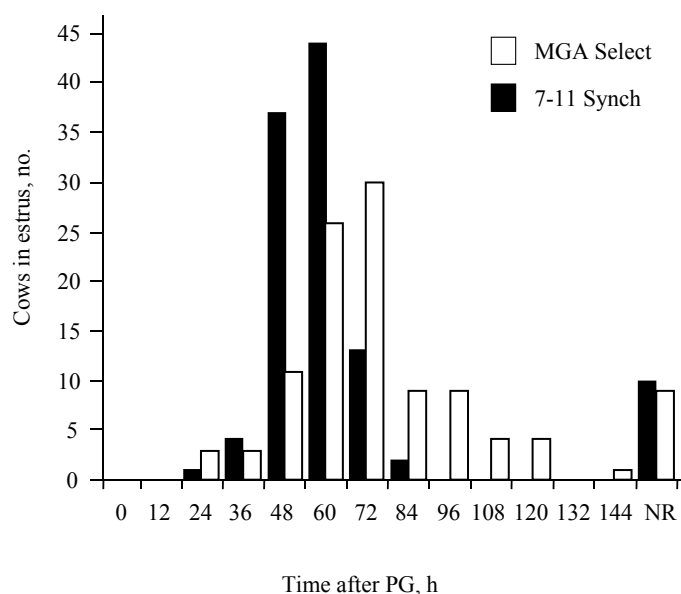


Figura 8. Distribuição de estro em vacas tratadas com MGA Select e 7-11 Synch. Não-responderas (NR) refere-se ao número de vacas que não apresentaram estro durante o período sincronizado (0 a 144 horas). Adaptado de Stegner et al. (2004b).

O tempo ótimo e/ou apropriado para realizar a inseminação artificial em tempo fixo após a administração destes dois protocolos foi relatado (Kojima et al., 2003a; Perry et al., 2002; Stegner et al., 2004b). Contudo, só recentemente foi feita uma comparação direta entre os protocolos para avaliar a sua eficácia para a IA em tempo fixo (Bader et al., 2005). O protocolo MGA Select resulta em uma sincronia estabelecida de estro e melhora a resposta estral total do rebanho, particularmente entre rebanhos com altas taxas de anestro (Patterson et al., 2002). A resposta estral pico entre vacas incluídas no protocolo MGA Select geralmente ocorre 72 horas depois da PG (Figura 8; Patterson et al., 2002; Stegner et al., 2004a). As taxas de prenhez foram otimizadas para as vacas incluídas no protocolo MGA Select quando a IA em tempo fixo foi realizadas 72 horas depois da PG (Perry et al., 2002; Stegner et al., 2004c), mas foram reduzidas quando a IA foi realizada 48 ou 80 horas depois da PG (Stevenson et al., 2003; Stegner et al., 2004c). Em relação a outros protocolos (Select-Synch, MGA Select), o protocolo 7-11 Synch (Kojima et al., 2000) melhora a sincronia do estro e a resposta estral pico geralmente ocorre 56 horas após a PG (Figura 8; Kojima et al., 2000; Stegner et al., 2004b). As taxas de prenhez resultantes de IA em tempo fixo depois da administração do protocolo 7-11 Synch foram otimizadas quando a IA foi realizada 60 horas depois da PG (Kojima et al., 2003a).

Bader et al. (2005) compararam os protocolos MGA Select e 7-11 Synch usados em conjunto com a inseminação artificial em tempo fixo (Figura 9). O estudo foi conduzido com vacas da Estação Experimental da Universidade de Missouri em três locais diferentes. A Tabela 7 resume as taxas de prenhez resultantes da IA em tempo fixo. Não houve efeito do tratamento ($P = 0,25$), técnico ($P = 0,81$) ou touro ($P = 0,94$) sobre as taxas de prenhez resultantes da IA em tempo fixo. A Tabela 8 resume as taxas de prenhez resultantes da IA em tempo fixo com base na ciclicidade estral das vacas antes do início do tratamento. A ciclicidade pré-tratamento não influenciou ($P = 0,12$) as taxas de prenhez resultantes da IA em tempo fixo. Além disso, as taxas de prenhez resultantes da IA em tempo fixo não foram diferentes (7-11 Synch, $P = 0,12$; MGA Select, $P = 0,50$; Tabela 8) entre as vacas que estavam ciclando em estro ou anestro antes do início dos protocolos MGA Select e 7-11 Synch.

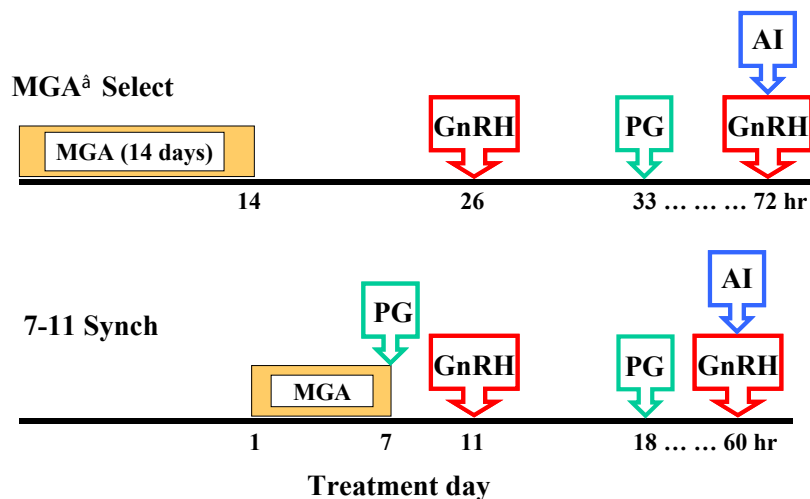


Figura 9. Comparação entre os protocolos MGA Select e 7-11 Synch em conjunto com a IA em tempo fixo. Fonte: Bader et al. (2005).

As taxas de prenhez resultantes da IA em tempo fixo utilizando os protocolos MGA Select e 7-11 Synch envolvidos neste estudo são consistentes com relatos anteriormente publicados [(MGA Select; Perry et al., 2002; Stegner et al., 2004c); (7-11 Synch; Kojima et al., 2002; Kojima et al., 2003a; Kojima et al., 2003b)]. Além disso, as taxas de prenhez resultantes da IA em tempo fixo neste estudo compararam-se favoravelmente com as taxas de prenhez obtidas depois que as vacas foram inseminadas com base no estro detectado usando os mesmos protocolos para a sincronização do estro (Kojima et al., 2000; Patterson et al., 2002; Stegner et al., 2004b).

Tabela 7. Taxas de prenhez após a inseminação artificial em tempo fixo e ao final da estação de monta.

ECC	Tratamento	Taxa de prenhez com IA em tempo fixo ^a		Taxa de prenhez ao final da estação de monta ^b	
		No. (%)		No. (%)	
1	7-11 Synch ^c	64/104	(62)	98/104	(94)
	MGA Select ^c	68/104	(65)	102/104	(98)
2	7-11 Synch	34/60	(57)	57/59	(97)
	MGA Select	43/62	(69)	60/62	(97)
3	7-11 Synch	30/45	(67)	43/45	(96)
	MGA Select	31/47	(66)	42/47	(89)
Combinado	7-11 Synch	128/209	(61)	198/208	(95)
Combinado	MGA Select	142/213	(67)	204/213	(96)

^{a,b} taxa de prenhez com IA em tempo fixo determinada pela ultrassonografia transretal 40 a 50 dias depois da IA e taxa de prenhez final determinada pela ultrassonografia 45 dias depois do final da estação de monta (Fonte: Bader et al., 2005).

Tabela 8. Taxas de prenhez depois da IA em tempo fixo baseada na ciclicidade estral antes do início dos tratamentos.

ECC	<u>7-11 Synch</u>				<u>MGA Select</u>			
	Ciclagem estral No. (%)		Anestro No. (%)		Ciclagem estral No. (%)		Anestro No. (%)	
1	24/34	(71)	40/70	(57)	20/30	(67)	48/74	(65)
2	9/15	(60)	25/45	(56)	12/16	(75)	31/46	(67)
3	8/10	(80)	22/35	(63)	6/8	(75)	25/39	(64)
Combinado	41/59	(69)	87/150	(58)	38/54	(70)	104/159	(65)

Fonte: Bader et al. (2005).

Perry et al. (2005) relataram diferenças na mortalidade embrionária tardia/fetal depois da IA em tempo fixo em vacas que foram incluídas no protocolo CO-Synch. A mortalidade embrionária tardia/fetal ocorreu em níveis mais elevados entre as vacas que foram induzidas a ovular folículos com diâmetro 11 mm. Os folículos induzidos a ovularem com este tamanho menor (11 mm) foram caracterizados como sendo menos maduros fisiologicamente no momento da ovulação, o que pode subsequente resultar em uma redução na competência luteal e/ou dos oócitos. Quando as vacas foram detectadas como estando em estro com aceitação de cobertura, entretanto, o tamanho do folículo não afetou as taxas de prenhez ou a mortalidade embrionária tardia (Perry et al., 2005). Os autores sugeriram que a competência luteal e do oócito podem ser mais dependentes da capacidade esteroidogênica dos folículos dos quais ovularam do que do tamanho do folículo (Perry et al., 2005). Uma observação chave do estudo precedente sugere que a competência folicular é importante para o estabelecimento e a manutenção da gestação. Vasconcelos et al. (2001) observaram concentrações reduzidas de estradiol circulante (E_2), diminuição do tamanho do corpo lúteo, diminuição das concentrações circulantes de progesterona e taxas de prenhez mais baixas com IA quando vacas leiteiras foram induzidas a ovular folículos de tamanho menor (14 mm).

A ovulação prematura de um folículo dominante resulta em uma diminuição do tamanho ovulatório, redução da função lútea e comprometimento das taxas de prenhez na comparação com animais induzidos a ovular folículos dominantes maiores, mais maduros (Mussard et al., 2003). A vantagem potencial em se usar um ou outro destes protocolos (MGA Select ou 7-11 Synch) para sincronizar o estro antes da IA em tempo fixo é que o diâmetro médio do folículo no momento em que a ovulação é induzida (Kojima et al., 2002; Perry et al., 2002; Kojima et al., 2003a, b; Stegner et al., 2004a) ultrapassa o intervalo descrito por Perry et al. (2005), e potencialmente minimiza os problemas com a mortalidade embrionária tardia/fetal descrita por Perry et al. (2005) e Mussard et al. (2003). Ainda que a presença do tecido luteal na PG tenha afetado a taxa de prenhez com IA em tempo fixo subsequente, a concentração efetiva de progesterona (P_4) em PG não foi importante na determinação da gestação subsequente. A diferença entre os tratamentos com relação às concentrações séricas de P_4 em PG resulta da diferença que há nos ambientes hormonais em que o folículo dominante se desenvolve nos dois tratamentos (Stegner et al., 2004a). Vacas tratadas com MGA Select tiveram concentrações séricas mais altas de P_4 e mais baixas de E_2 durante a fase de crescimento do folículo dominante do que as vacas tratadas com 7-11 Synch (Stegner et al., 2004a). Este ambiente hormonal é similar ao da metade da fase lútea do ciclo estral, enquanto que as vacas com 7-11 Synch desenvolvem um folículo dominante sob concentrações mais altas de E_2 e mais baixas de P_4 , similares à fase lútea inicial. As taxas de prenhez obtidas com base no status da ciclicidade estral pré-tratamento (ciclado x anestro) não

foram diferentes entre os dois tratamentos ou entre os locais, o que indica a eficácia dos dois protocolos na sincronização de estro com sucesso antes da IA em tempo fixo em populações mistas, com vacas ciclando e vacas em anestro.

QUAL A COMPARAÇÃO ENTRE OS PROTOCOLOS COM BASE EM MGA OU CIDR?

Substituindo o implante EAZI-BREED CIDR por MGA no protocolo MGA Select em novilhas de corte. Recentemente desenhamos um estudo para comparar a resposta estral, momento da IA e taxa de prenhez resultante de IA em novilhas de corte que foram pré-sincronizadas com MGA ou implante CIDR antes de GnRH e PG (Kojima et al., 2004; Figura 10). Novilhas (n = 353) de três locais (ECC 1, n = 154; 2, n = 113; e 3, n = 85) foram aleatoriamente divididas por idade e peso entre dois tratamentos. As novilhas tratadas com MGA Select (MGA; n = 175) receberam MGA (0,5 mg/cabeça/dia) durante 14 dias, GnRH (100 µg IM Cystorelin) foi injetado 12 dias depois da retirada de MGA e PG (25 mg IM Lutalyse) foi administrado 7 dias depois de GnRH. As novilhas tratadas com CIDR (CIDR; n = 177) receberam o implante CIDR durante 14 dias, GnRH foi injetado 9 dias depois da retirada do CIDR, e PG foi administrado 7 dias depois do GnRH. As novilhas tratadas com CIDR receberam o veículo sem MGA nos dias que coincidiram com a administração de MGA.

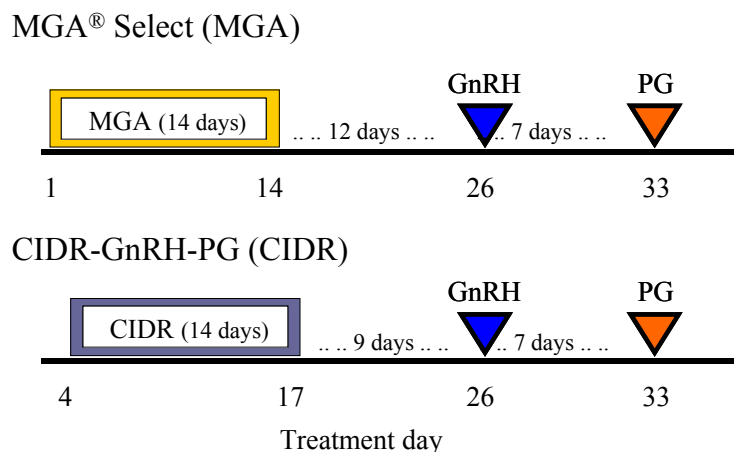


Figura 10. Substituindo o implante CIDR por MGA no protocolo MGA Select em novilhas de corte. Fonte: Kojima et al. (2004).

As novilhas foram monitoradas quanto à presença de sinais de estro comportamental a partir do dia da administração de PG. A IA foi realizada aproximadamente 12 horas depois do início do estro e registrado como dia da IA (Dia 0 = PG). A taxa de prenhez foi determinada por ultrassonografia 40 dias depois da IA. Não houve diferenças ($P > 0,10$) na resposta estral entre os tratamentos. O pico de IA ocorreu no dia 3 para as novilhas dos dois tratamentos (CIDR 122/177, 69%; MGA 93/175, 53%), e a distribuição de IA foi mais sincronizada ($P < 0,05$) entre as novilhas tratadas com CIDR do que com MGA. A taxa de prenhez com IA foi maior ($P < 0,01$) nas novilhas tratadas com CIDR (112/177, 63%) do que nas tratadas com MGA (83/175, 47%). Não houve diferenças ($P > 0,10$), entretanto, na taxa de prenhez final entre os tratamentos (Tabela 9). Resumindo, substituir a administração de MGA pelo implante CIDR melhorou a sincronia do estro e a taxa de prenhez resultante da IA em novilhas de corte de reposição (Kojima et al., 2004).

Tabela 9. Resposta estral, prenhez com IA e taxa de prenhez final.

	Resposta estral	IA Taxa de prenhez	Taxa de prenhez final
CIDR	154/177 (87 %)	112/177 (63 %) ^a	164/177 (93 %)
MGA	147/175 (84 %)	83/175 (47 %) ^b	159/175 (91 %)
Total	301/352 (86 %)	195/352 (55 %)	323/352 (92 %)
Diferença	+ 3 %	^{a,b} P = 0,01 + 16 %	+ 2 %

Fonte: Kojima et al. (2004).

QUAL A COMPARAÇÃO ENTRE MGA SELECT E CO-SYNCH + CIDR NA SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO EM VACAS DE CORTE NO PÓS-PARTO?

Pesquisa anterior realizada no nosso laboratório demonstrou a eficácia do uso do protocolo MGA Select na sincronização de estro e ovulação antes da IA em tempo fixo que foi realizada 72 horas após a PG (Perry et al., 2002; Stegner et al., 2004c; Bader et al., 2005). Outras pesquisas mostraram uma melhora nas taxas de prenhez resultantes de IA em tempo fixo depois do tratamento com o protocolo Co-Synch + CIDR, quando a inseminação foi realizada 66 horas após a remoção do CIDR e administração de PG ao invés de 48 ou 54 horas (Lamb et al., 2001; Bremer et al., 2004; Larson et al., 2004). Schafer (2005) desenhou um estudo para comparar as taxas de prenhez resultantes de IA em tempo fixo entre vacas dos protocolos MGA Select e CO-Synch + CIDR (Figura 11). Vacas de corte mestiças em lactação (n = 650), em quatro locais (n = 210; n = 158; n = 88; n = 194), foram divididas dentro dos grupos etários pela data de parição (dias pós-parto, DPP) e escore de condição corporal (ECC, escala de 1 a 9, sendo 1 = emaciado e 9 = obeso) em dois grupos de tratamento (Tabela 10), durante a estação de monta de 2004 (Schafer, 2005). As vacas do tratamento MGA Select (MGA Select; n = 327) receberam acetato de melengestrol durante 14 dias, GnRH foi injetado no dia 26 e PG foi injetado no dia 33. As vacas do tratamento CO-Synch + CIDR (CO-Synch + CIDR; n = 323) receberam o veículo durante 14 dias, receberam injeção de GnRH e a colocação de um dispositivo intravaginal de liberação controlada de progesterona (CIDR®) EAZI-BREED® 12 dias depois da retirada do veículo, com injeção de PG e retirada do CIDR no dia 33.

A inseminação artificial foi feita 72 h depois de PG para as vacas do tratamento MGA Select e 66 h depois da administração de PG nas vacas do tratamento CO-Synch + CIDR (Figura 11). Para cada vaca foi feito o registro do momento da administração de PG e da IA. Todas as vacas foram injetadas com GnRH no momento da inseminação e a IA foi realizada por um dos três técnicos experientes. Três touros IA foram usados no ECC 1, e um touro nos locais 2, 3 e 4. Um dos touros usados no ECC 1 era o mesmo usado nos locais 3 e 4. O touro IA e o técnico foram designados para as vacas de cada tratamento por grupo etário das vacas, data de parição e ECC. As vacas foram expostas a touros férteis para monta natural 14 dias depois da IA para um período de monta natural de 60 dias nos locais 1, 3 e 4 e para um período de monta natural de 45 dias no ECC 2.

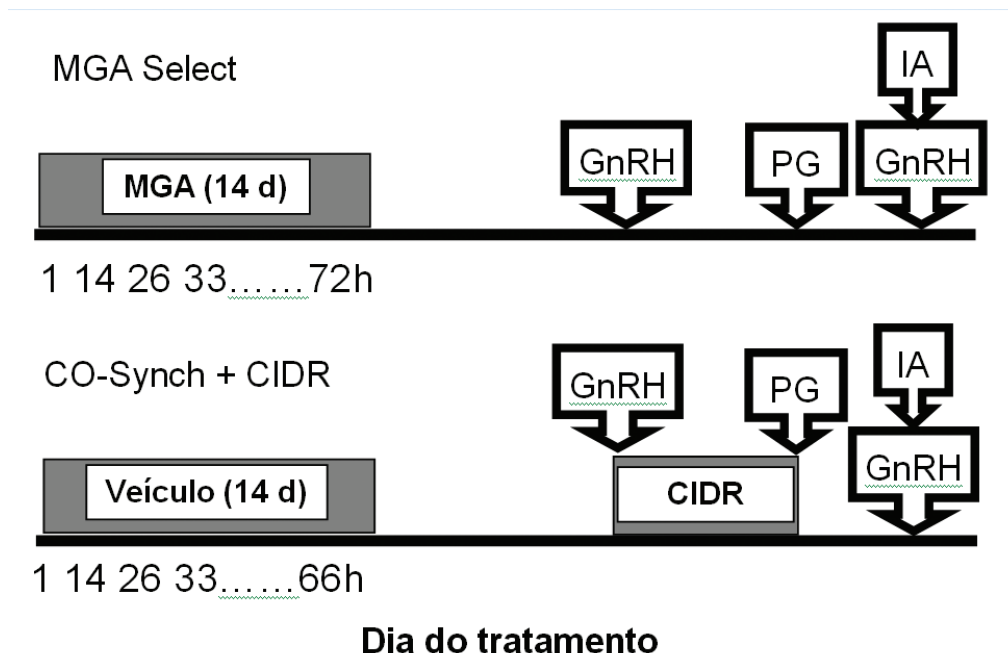


Figura 11. Esquema de tratamento para as vacas nos protocolos MGA Select e Co-Synch + CIDR. As vacas do protocolo MGA Select receberam acetato de melengestrol (MGA; 0,5 mg•cabeça⁻¹•d⁻¹) durante 14 dias, GnRH foi administrado 12 dias depois da retirada de MGA, e PG foi administrado 7 dias depois de GnRH. As vacas foram inseminadas 72 horas depois do dia 33 PG com uma injeção de GnRH na IA. As vacas do protocolo CO-Synch + CIDR receberam o veículo durante 14 dias, no dia 26 as vacas receberam injeção de GnRH e a colocação de um implante CIDR EAZI-BREED® (CIDR), no dia 26 as vacas foram injetadas com GnRH e receberam um implante CIDR EAZI-BREED®. Sete dias depois, os CIDRs foram removidos e a PG administrada. As vacas foram inseminadas 66 horas depois de PG no dia 33 e uma injeção de GnRH na IA. Fonte: Schafer (2005).

A Tabela 10 mostra o número de vacas em cada ECC, idade, dias pós-parto, e ciclicidade das vacas antes do início dos tratamentos. Não houve diferenças entre os tratamentos nos respectivos locais quanto à idade, dias pós-parto, ECC e ciclicidade no início do tratamento. Houve, entretanto, diferenças entre os locais (Tabela 10). Não houve efeito do tratamento ($P = 0,20$), técnico ($P = 0,63$) ou touro ($P = 0,11$) sobre as taxas de prenhez resultantes da IA em tempo fixo (Tabela 11). Além disso, ciclicidade antes do início dos protocolos MGA Select ou CO-Synch + CIDR não afetou (MGA Select, $P = 0,39$; CO-Synch + CIDR, $P = 0,31$; Tabela 12) as taxas de prenhez resultantes de IA em tempo fixo. Não houve diferenças ($P = 0,25$) entre os tratamentos com relação às taxas finais de prenhez ao final da estação de monta (Tabela 11).

Tabela 10. Número de vacas em cada local, dias pós-parto, escore de condição corporal, e status ciclando em estro para vacas antes do início de cada tratamento (média \pm EP). Fonte: Schafer (2005).

Tratamento	No.	Idade, anos	Tempo após o parto, d ^a	ECC ^b	Vacas com progesterona elevada ^c	
					Proporção	%
Local 1						
MGA Select ^d	106	5,3 ± 0,3	46,4 ± 1,4	5,6 ± 0,06	62/106	58
CO-Synch + CIDR ^d	104	5,4 ± 0,3	45,9 ± 1,4	5,7 ± 0,06	50/104	48
Combinado	210	5,3 ± 0,2	46,1 ± 1,0 ^x	5,7 ± 0,04 ^x	112/210	53 ^x
Local 2						
MGA Select ^d	80	5,7 ± 0,3	32,7 ± 1,6	6,1 ± 0,07	29/80	36
CO-Synch + CIDR ^d	78	5,7 ± 0,3	32,4 ± 1,6	6,0 ± 0,07	34/78	44
Combinado	158	5,7 ± 0,2	32,5 ± 1,1 ^y	6,0 ± 0,05 ^y	63/158	40 ^y
Local 3						
MGA Select ^d	45	5,5 ± 0,4	44,6 ± 2,1	5,2 ± 0,10	16/45	36
CO-Synch + CIDR ^d	43	5,4 ± 0,4	44,1 ± 2,1	5,3 ± 0,10	15/43	35
Combinado	88	5,5 ± 0,3	44,4 ± 1,5 ^{xz}	5,3 ± 0,07 ^z	31/88	35 ^y
Local 4						
MGA Select ^d	96	5,2 ± 0,3	43,8 ± 1,4	5,3 ± 0,07	78/96	81
CO-Synch + CIDR ^d	98	5,3 ± 0,3	41,7 ± 1,4	5,3 ± 0,07	78/98	80
Combinado	194	5,2 ± 0,2	42,8 ± 1,0 ^z	5,3 ± 0,05 ^z	156/194	80 ^z
Combinado						
MGA Select	327	5,4 ± 0,2	41,9 ± 0,8	5,5 ± 0,03	185/327	57
Combinado						
CO-Synch + CIDR	323	5,4 ± 0,2	41,0 ± 0,8	5,6 ± 0,03	177/323	55

^aNúmero de pós-parto no início da administração de acetato de melengestrol (MGA) para as vacas do grupo MGA Select e administração do veículo para as vacas do grupo CO-Synch + CIDR-.

^bEscore de condição corporal de vacas no momento da primeira amostra de sangue antes do início dos tratamentos (escala de 1 a 9, onde 1 = emaciado e 9 = obeso).

^cCiclicidade estral = porcentagem de vacas com concentrações séricas elevadas (0,5 ng/mL) de progesterona antes do tratamento. As vacas foram consideradas como ciclando em estro se a progesterona estivesse elevada em qualquer uma das duas amostras de sangue coletadas 8 e 1 dias antes do tratamento.

^dVer Figura 11 para a descrição dos protocolos.

^{x,y,z}Médias com pelo menos um sobrescrito comum, dentro das colunas e entre locais não são diferentes, $P > 0,05$.

Tabela 11. Taxas de prenhez depois da inseminação artificial em tempo fixo e ao final da estação de monta.
Fonte: Schafer (2005).

Item	Taxa de prenhez com IA em tempo fixo ^a		Taxa de prenhez ao final da estação de monta ^b	
	Proporção	%	Proporção	%
Local 1				
MGA Select ^c	70/106	66	99/106	93
CO-Synch + CIDR ^c	67/104	64	99/104	95
Local 2				
MGA Select	53/80	66	77/80	96 ^d
CO-Synch + CIDR	56/78	72	76/78	97 ^d
Local 3				
MGA Select	26/45	58	42/45	93
CO-Synch + CIDR	29/43	67	42/43	98
Local 4				
MGA Select	52/96	54	87/96	91
CO-Synch + CIDR	62/98	63	91/98	93
Combinado				
MGA Select	201/327	61	305/327	93
Combinado				
CO-Synch + CIDR	214/323	66	308/323	95

^aTaxa de prenhez com IA em tempo fixo determinada por ultrassom 40 a 45 d depois da IA.

^bTaxa de prenhez determinada 50 a 60 d depois do final da estação de monta.

^cVer Figura 11 para uma descrição dos protocolos.

^dTaxa de prenhez depois de 45 d estação de monta.

Tabela 12: Taxas de prenhez após a inseminação artificial em tempo fixo com base na ciclicidade estral antes do início dos tratamentos. Fonte: Schafer (2005).

Local	MGA Select ^a				CO-Synch + CIDR ^a			
	Ciclando em estro ^b		Anestro ^b		Ciclando em estro		Anestro	
	Proporção	%	Proporção	%	Proporção	%	Proporção	%
1	38/62	61	32/44	73	30/50	60	37/54	69
2	20/29	69	33/51	65	25/34	74	31/44	70
3	11/16	69	15/29	52	8/15	53	21/28	75
4	41/78	53	11/18	61	50/78	64	12/20	60
Combinado	110/185	59	91/142	64	113/177	64	101/146	69

^aVer Figura 11 para uma descrição dos protocolos.^bVer Tabela 10 para uma descrição da ciclicidade estral.

O protocolo MGA Select resulta em uma sincronia consistente de estro e o pico de estro geralmente ocorre 72 h depois da administração de PG (Patterson et al., 2002; Stegner et al., 2004a). Além disso, as taxas de prenhez após a administração do protocolo MGA Select e resultantes de IA em tempo fixo têm sido constantemente 60%, quando IA foi realizada 72 h depois da PG (Perry et al., 2002; Stegner et al., 2004c; Bader et al., 2005). As taxas de prenhez resultantes de IA em tempo fixo relatadas neste estudo após o tratamento com o protocolo de sincronização de estro MGA Select são consistentes com outros dados publicados, quando a inseminação foi realizada 72 h depois da PG (Perry et al., 2002; Stegner et al., 2004c; Bader et al., 2005).

O protocolo CO-Synch + CIDR com a IA em tempo fixo realizada 60 h após a PG resultou em taxas de prenhez comparáveis em relação aos protocolos com base em CIDR que envolvem detecção de estro e IA até 84 h depois da PG, seguido pela inseminação em tempo fixo das que não responderam nas 84 h (Larson et al., 2004). A análise destes diversos estudos levou à decisão de inseminar as vacas 66 h depois da administração do protocolo CO-Synch + CIDR no estudo de Schafer (2005). Os resultados relatados por Schafer (2005) são comparáveis aos do estudo de Bremer et al. (2004), e apoiam o conceito de que há uma janela de tempo crítica em que a inseminação deve ser realizada após a administração do protocolo CO-Synch + CIDR.

A aplicação destes protocolos com sucesso requer uma análise cuidadosa das vantagens e desvantagens que acompanham a sua administração. Com base nestes dados, os dois protocolos parecem funcionar com eficiência em populações mistas de vacas ciclando ou em anestro, apesar das diferenças recentemente relatadas por Perry et al. (2004). Foi mostrado que a fertilidade após o tratamento produz taxas de prenhez resultantes de IA em tempo fixo variando de 54 a 72%. O protocolo CO-Synch + CIDR pode ter uma aplicação mais abrangente quando comparado com o protocolo MGA Select por causa da menor duração do tratamento (< 10 d x 36 d), especialmente em rebanhos com períodos de parição mais amplos. Os bons resultados com um ou outro protocolo exigem a aplicação adequada de cada passo do respectivo tratamento. Os resultados consistentes obtidos com o protocolo CO-Synch + CIDR podem ser devidos ao controle mais preciso do tratamento com progestina entre as vacas que receberam o implante CIDR, quando comparadas com os padrões mais variáveis de ingestão de MGA entre as vacas do grupo do protocolo MGA.

Estes resultados indicam que a sincronização de estro com os protocolos MGA Select e CO-Synch + CIDR produz taxas de prenhez comparáveis a IA em tempo fixo quando as inseminações foram realizadas 72 e 66 h depois da PG, respectivamente. Os resultados aqui relatados apresentam aos produtores de bovinos de corte uma escolha e os meios para acelerar o melhoramento genético e o manejo reprodutivo.

CONSIDERAÇÕES DE MANEJO RELACIONADO À SINCRONIZAÇÃO DE ESTRO E IA EM TEMPO FIXO

Stegner et al. (2004b) discutiram as vantagens e desvantagens relacionadas à aplicação prática e administração com sucesso dos protocolos MGA Select e 7-11 Synch. As vantagens aqui apresentadas e relatadas em outros estudos incluem: 1) MGA é de uso econômico (cerca de US\$ 0,02 por animal por dia de administração); 2) cada um dos protocolos funciona efetivamente em populações mistas de vacas de corte que estavam ciclando ou em anestro no momento em que os tratamentos são instituídos; 3) as taxas de prenhez resultantes de inseminação realizada com base no estro detectado ou em tempos fixos pré-determinados são comparáveis e altamente aceitáveis.

Stegner et al. (2004b) observaram, entretanto, que a viabilidade da administração de MGA a bovinos no pasto é limitante em alguns sistemas de produção e é considerada como uma desvantagem. Além disso, o protocolo MGA Select requer a administração de MGA e manejo das vacas durante 33 dias, enquanto que o protocolo 7-11 Synch envolve um período de 18 dias. Por outro lado, o protocolo 7-11 Synch requer que os animais sejam manejados quatro vezes, incluindo a IA, diferente do protocolo MGA Select que requer três manejos.

A distribuição da parição é ilustrada na Figura 12 para vacas que foram divididas entre os protocolos MGA Select e 7-11 Synch e inseminadas com base no estro detectado (Stegner et al., 2004b). Para cada protocolo, uma alta proporção dos bezerros nasceu nos primeiros 15 dias e 30 dias da estação de parição, sem diferenças entre os tratamentos. O número acumulativo de vacas que pariram dentro dos primeiros 30 dias do período de parição foi 93% e 89% para os grupos MGA Select e 7-11 Synch, respectivamente. A distribuição da parição das vacas em cada um destes protocolos precisa ser cuidadosamente analisada. Um dos benefícios óbvios da sincronização de estro é uma estação de parição mais curta, que resulta em bezerros mais uniformes ao desmame (Dziuk e Bellows, 1983). A redução da duração da estação de parição se traduz em um maior número de dias para que a recuperação da vaca após o parto ocorra antes da estação de monta subsequente. Os proprietários de rebanhos precisam estar atentos aos riscos associados com um período de parição concentrado, incluindo clima desfavorável ou surtos de doenças, que separadamente ou em conjunto podem resultar em uma diminuição no número de bezerros desmamados.

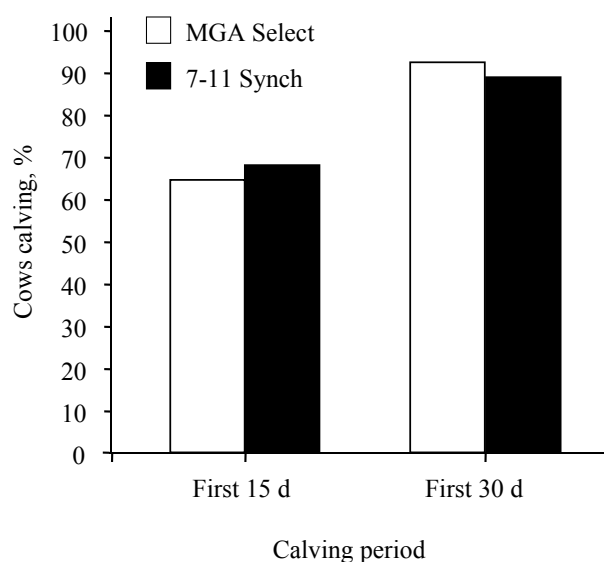


Figura 12. Distribuição cumulativa da parição durante os primeiros 15 e 30 dias da estação de parição para as vacas tratadas com MGA Select e 7-11 Synch. [93% das vacas tratadas com MGA Select e 89% das vacas tratadas com 7-11 Synch pariram nos primeiros 30 dias do período de parição]. Fonte: Stegner et al. (2004b).

Estes dados apoiam o uso da sincronização de estro não apenas como um meio de facilitar uma melhora genética mais rápida dos rebanhos de corte mas também, e talvez seja o mais importante, como uma poderosa ferramenta de manejo reprodutivo. A lucratividade pode ser aumentada pela redução da exigência da mão de obra necessária durante o período de parição, aumentando os quilos de bezerro desmamado que resultam de uma distribuição mais concentrada da parição e, como consequência, um aumento na idade dos bezerros ao desmame.

Mais recentemente, as datas de parição das vacas que conceberam no mesmo dia com IA em tempo fixo eram registradas para atender às preocupações relativas ao período de parição subsequente (Bader et al., 2005). Em cada um dos locais do estudo de Bader et al. (2005), as datas de nascimento dos bezerros eram anotadas para as vacas que conceberam com IA em tempo fixo (Figura 13). A Figura 13 ilustra a distribuição da parição resultante para vacas que conceberam com os respectivos touros dos locais nos dois tratamentos. Padrões de distribuição da parição entre os diferentes touros (Tabela 13; $P < 0,05$). Distribuição da parição entre as vacas que conceberam com IA em tempo fixo para Local 1 (touro A e B) foi 21 e 16 dias, respectivamente. A distribuição para o Local 2 (touro C e D) foi 16 e 20 dias, respectivamente. A distribuição da parição entre as vacas no local 3 (touro E) foi 18 dias. Touro B no Local 1 e touro E no Local 3 eram o mesmo touro. As vacas que conceberam no mesmo dia pariram ao longo de um período de 16 a 21 dias, dependendo do respectivo touro.

Os padrões de distribuição da parição para as vacas envolvidas no estudo de Schafer (2005) são ilustrados na Figura 14. Estes dados também representam os perfis de parição entre as vacas que engravidaram no mesmo dia usando sêmen de touros únicos, conforme indicado nos respectivos painéis. Estas distribuições indicam que o uso com sucesso de IA em tempo fixo não irá resultar em um número esmagador de vacas parindo no mesmo dia(s). Isto sugere ainda que as atuais práticas de manejo não precisam sofrer grandes alterações para atender as necessidades da primeira parte da estação de parição. Por outro lado, estes dados demonstram que a aplicação com sucesso dos protocolos de sincronização de estro que facilitam a IA em tempo fixo apoiam as melhorias no manejo reprodutivo do rebanho como um todo e o uso ampliado de genética melhorada.

Tabela 13. Comparação entre a duração da gestação (Média \pm EP*) entre touros IA e os locais.

Local	Touro	Duração gestação, dias	Intervalo, dias
1	A	283,5 \pm 0,5	272 - 292
	B ^a	282,1 \pm 0,5	275 - 290
2	C	282,9 \pm 0,8	274 - 289
	D	284,1 \pm 0,6	275 - 294
3	E ^a	282,0 \pm 0,5	274 - 291

^aTouro B no local 1 e touro E no local 3 são o mesmo touro.

* EP = erro padrão

Fonte: Bader et al. (2005).

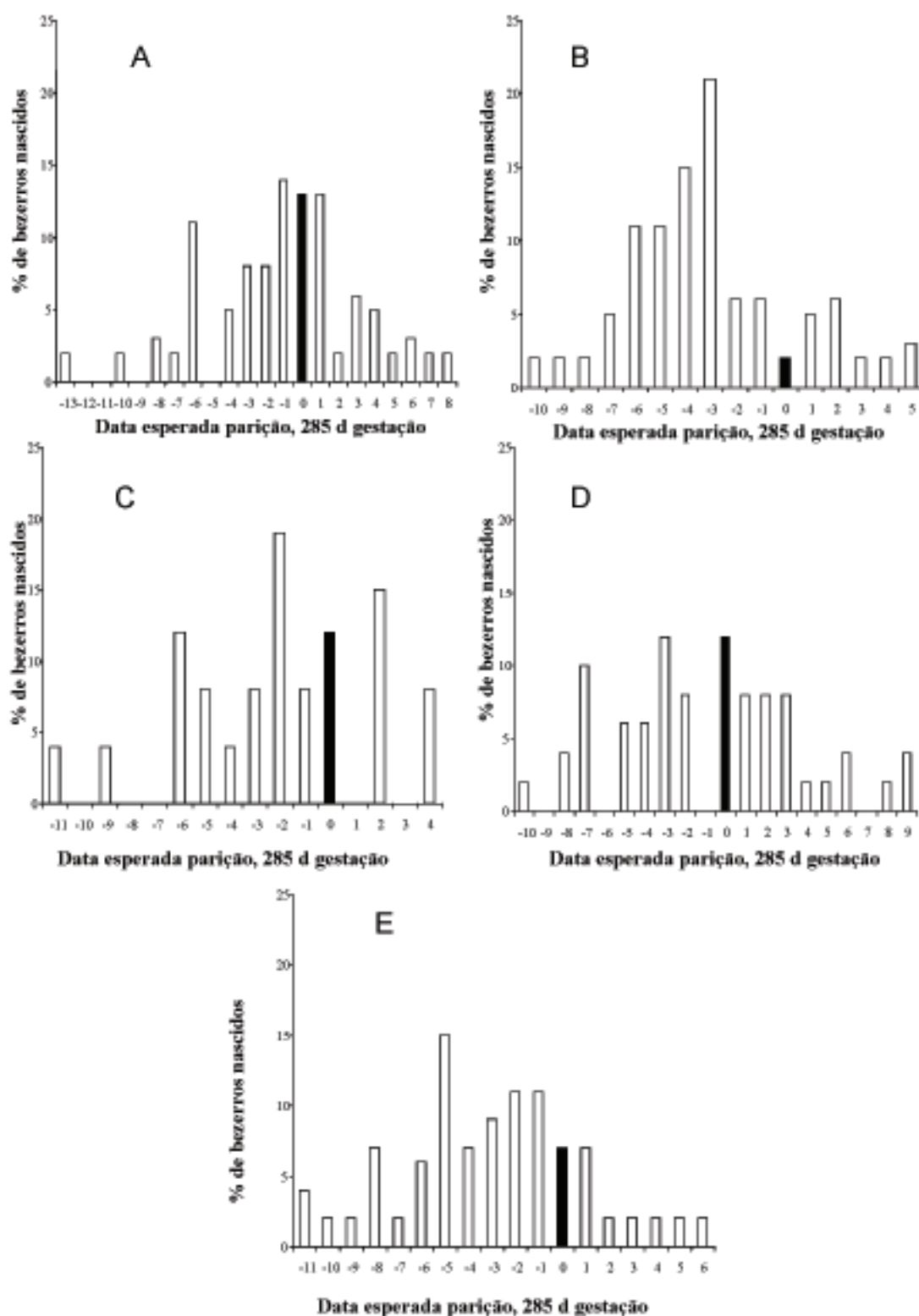


Figura 13. Distribuição dos padrões de parição nos respectivos locais para vacas que conceberam com IA em tempo fixo. As datas de parição entre as vacas que conceberam no mesmo dia com os respectivos touros (A, B, C, D e E) foram 21, 16, 16, 20 e 18 dias. Touro B no Local 1 e touro E no Local 3 eram o mesmo touro. Em cada gráfico, a barra escura representa a data de parto esperada no dia 285 dia da gestação. Fonte: Bader et al. (2005).

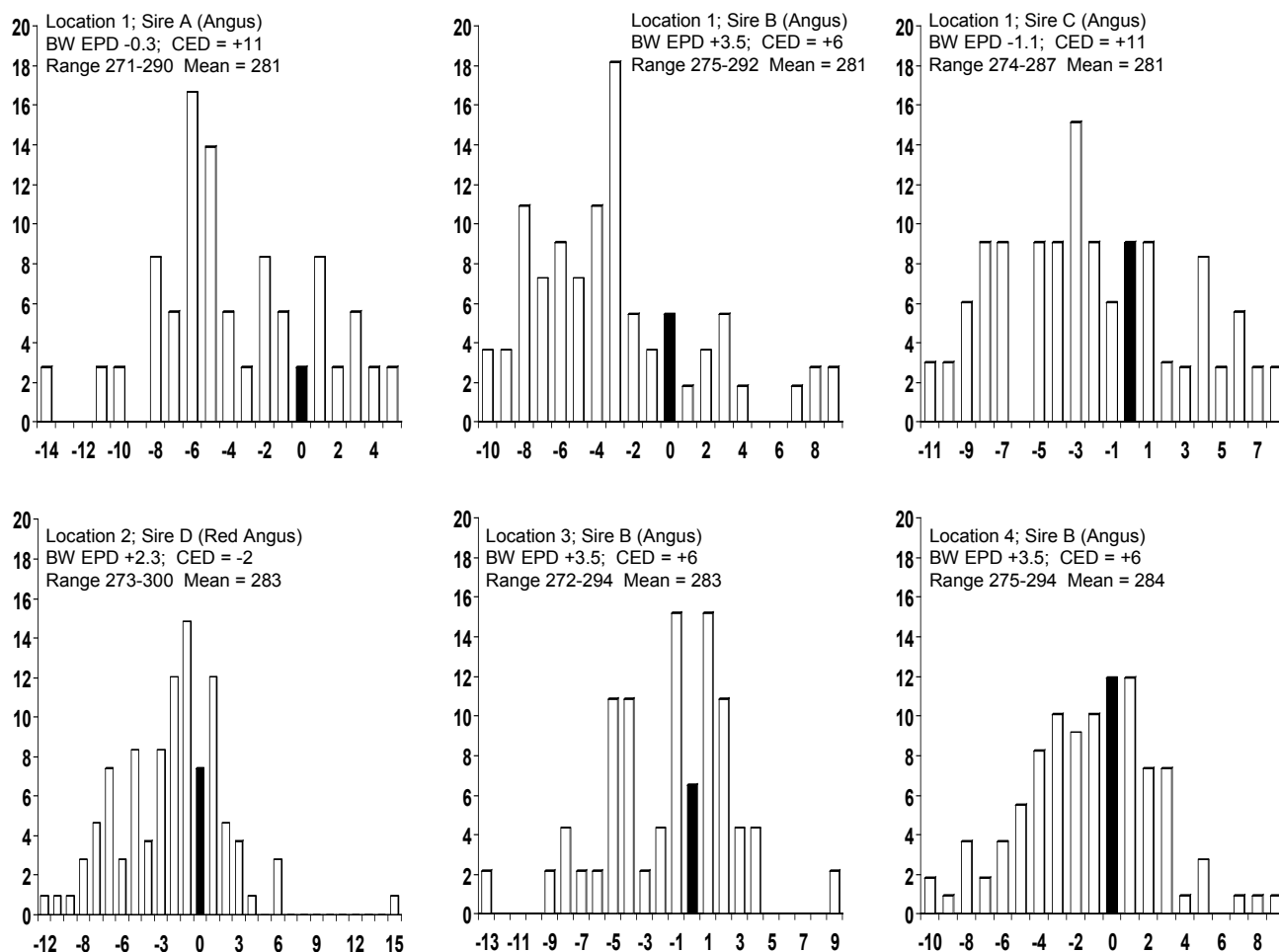


Figura 14. Distribuição da parição registrado para vacas que conceberam com IA em tempo fixo (Schafer, 2005). A coluna escura em cada gráfico representa data de parto esperada no dia 285 dia da gestação.

CONSIDERANDO O IMPACTO DA SINCRONIZAÇÃO DE ESTRO SOBRE A DISTRIBUIÇÃO DA PARIÇÃO

As considerações econômicas relacionadas ao uso da sincronização de estro e escolha dos diversos protocolos a serem usados em novilhas e vacas de corte foram revisadas por Johnson e Jones (2004). Hughes (2005) relatou que as oportunidades para aumentar os lucros das operações de ciclo completo estão no manejo das fêmeas de intervalos de parição mais tardios, mudando-as para os primeiro e o segundo intervalo de parição de 21 dias. Hughes (2005) relata ainda que quilos a mais são a recompensa econômica para a diminuição do intervalo de parição. Os valores referenciais CHAPS utilizam as diretrizes IRM-SPA para a operação de rebanhos de alta produção. Estas diretrizes sugerem que 61% dos bezerros de um rebanho devem ter nascido até o dia 21 do período de parição, 82% até o dia 42 e 94% até o dia 63. Hughes (2005) prossegue, dizendo que os atuais preços elevados do mercado estão gerando grandes recompensas econômicas para a intensificação do manejo, mas mais especificamente que “o manejo de costume” pode ser o que está errado nos sistemas completos de muitos produtores.

A Figura 15 ilustra as porcentagens acumulativas de parição para a fazenda Thompson da Universidade de Missouri ao longo de um período de 10 anos. O gráfico compara as porcentagens de bezerros nascidos durante os anos em que apenas a monta natural era usada, seguida pela sincronização de estro e a IA realizada com base na observação de cio, e finalmente a IA em tempo fixo. O gráfico ilustra as respectivas distribuições com base nos dias da estação de parição. Observar a maior porcentagem de bezerros nascidos no início do período de parição durante os anos em que a IA era realizada com base na observação de cio ou em tempos fixos pré-determinados, em comparação com os anos em que apenas a monta natural era praticada.

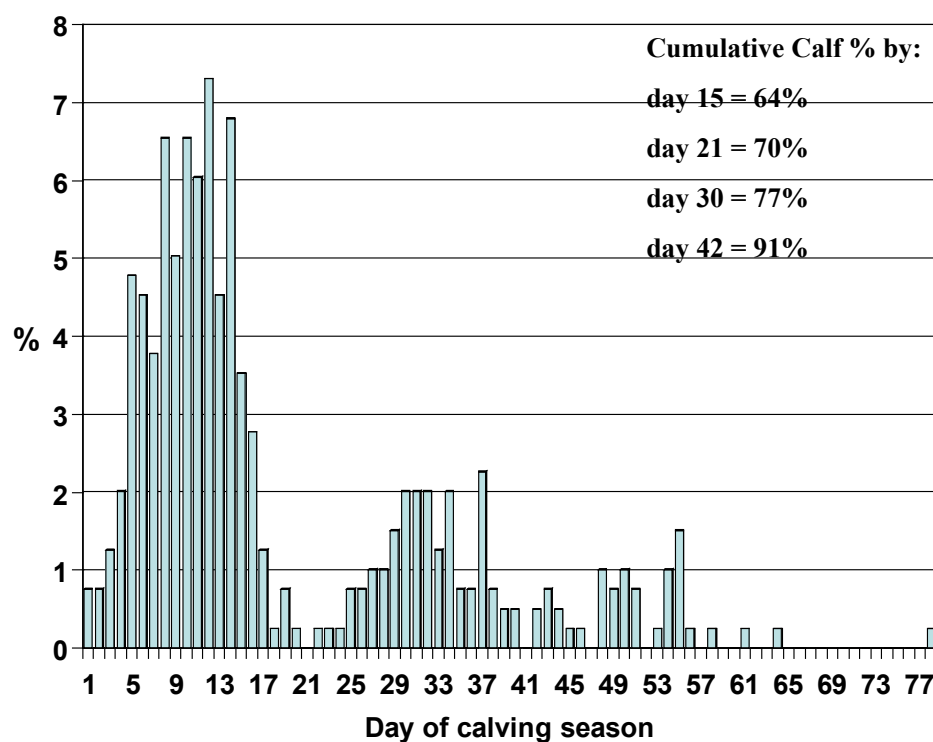


Figura 15. Safra de bezerros acumulativa para vacas da Fazenda Thompson da Universidade de Missouri combinando os anos envolvendo monta natural, sincronização de estro e IA realizada com base no cio observado, e IA em tempo fixo (Schafer e Patterson, dados não publicados).

A Figura 16 ilustra os dados combinados de 3 dos 4 locais do estudo realizado por Schafer (2005). Os dados do quarto local não foram incluídos no resumo, uma vez que as vacas que não conceberam com a IA foram vendidas antes do período de parição. É interessante observar que em comparação com a recomendação de Hughes (2005), 64% das vacas deste estudo pariram até o dia 15, 70% até o dia 21, 77% até o dia 30 e 91% até o dia 42. A recompensa econômica obtida com as melhorias no peso do bezerro ao desmame, que resultaram de um aumento na idade do bezerro ao desmame, em muitos casos pode compensar o custo da implantação da sincronização de estro em rebanhos de corte.

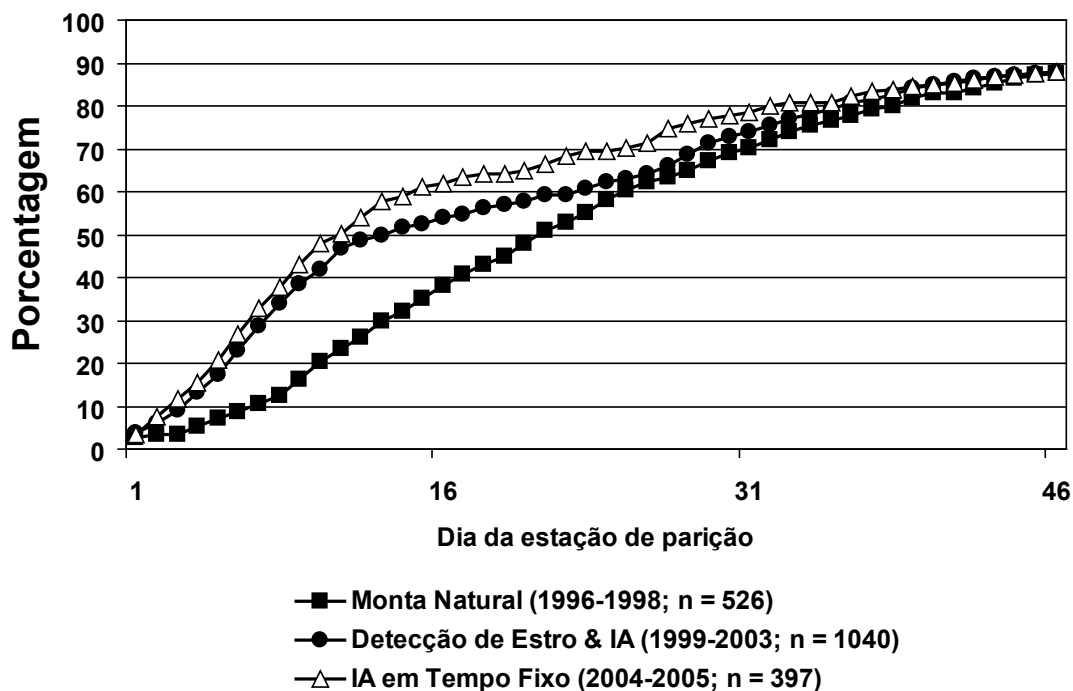


Figura 16. Distribuição das parições combinadas para 3 dos locais do estudo de Schafer (2005).

Finalmente, a Figura 17 ilustra o perfil de parição das vacas do Centro de Pesquisas de Sistemas de Forragem da Universidade de Missouri, em Linnueus, MO, ao longo de um período de dois anos. Este rebanho mantém uma estação de monta de 45 dias, e a sincronização de estro e a IA não eram utilizadas até a primavera de 2004. A Figura 17 ilustra também o perfil de parição de vacas que pariram durante a primavera de 2005 como resultado da IA em tempo fixo utilizada durante a estação de monta de 2004 (Schafer, 2005). Este rebanho tinha sido submetido a um manejo intenso ao longo dos anos para que a cobertura tivesse sucesso em um período de 45 dias, com monta natural. Deve-se observar, entretanto, a maior porcentagem de vacas que pariram no início do período de parição como resultado da IA em tempo fixo realizada na estação de monta do ano anterior. Em um ano, a sincronização de estro neste local resultou em um aumento de 7 dias pós-parto entre as vacas no início do período de monta, o que se traduz em um aumento da idade do bezerro no desmame em sete dias bezerro.

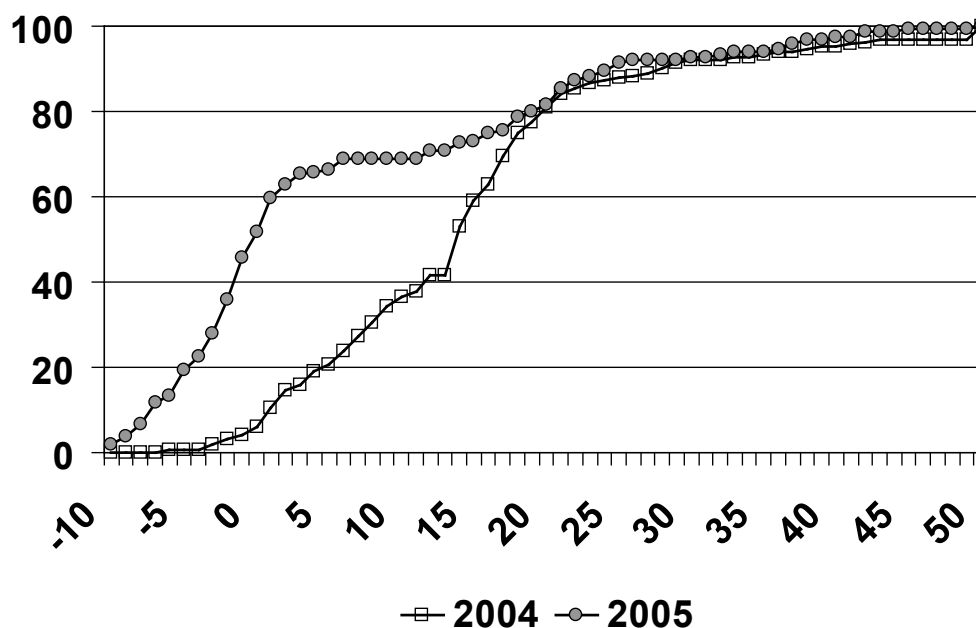


Figura 17. Perfis de parição de vacas do Centro de Pesquisas de Sistemas de Forragem da Universidade de Missouri, em Linnueus, MO, ao longo de um período de 2 anos. Este rebanho mantém uma estação de monta de 45 dias e até a primavera de 2004 a sincronização de estro e a IA não tinham sido utilizadas. A figura ilustra os perfis de parição de vacas que pariram durante a primavera de 2004, como resultado de monta natural durante a estação de monta de 2003, e os perfis de parição de vacas que pariram durante a primavera de 2005 como resultado da IA em tempo fixo realizada durante a estação de monta de 2004 (Schafer, 2005).

Em seu conjunto, estas figuras (Figuras 15, 16, 17) demonstram que a sincronização de estro pode ser usada efetivamente para influenciar os padrões de distribuição das parições durante o período de parição subsequente o que, por sua vez, tem um impacto sobre os aspectos econômicos na época do desmame.

RESUMO E CONCLUSÕES

O intensificação do uso de IA e/ou adoção de tecnologias reprodutivas emergentes para vacas e novilhas de corte requer métodos precisos de controle do ciclo estral. O controle efetivo do ciclo estral requer a sincronização tanto da função lútea como da folicular. Os esforços para desenvolver protocolos de sincronização de estro mais eficientes têm focado a sincronização das ondas foliculares injetando GnRH, seguido 7 dias depois por uma injeção de PG (Ovsynch, CO-Synch, Select Synch). Um fator que contribui para as baixas taxas de prenhez sincronizadas em vacas tratadas com os protocolos anteriores é que 5 a 15% das vacas ciclando mostram estro no dia ou antes da injeção de PG. Novos protocolos para a indução e sincronização de um estro fértil em vacas de corte após o parto e em novilhas de corte de reposição, em que as progestinas são usadas sequencialmente com o protocolo GnRH-PG, trazem novas oportunidades para os produtores de bovinos de corte sincronizarem o estro e a ovulação, facilitando a IA em tempo fixo.

A Tabela 14 traz um resumo dos diversos protocolos de sincronização de estro a serem usados em vacas de corte após o parto. A tabela inclui a resposta estral para os respectivos tratamentos e a resultante taxa de prenhez sincronizada. Estes dados representam os resultados de nossos próprios trabalhos já publicados, além dos dados não publicados de DeJarnette e Wallace (Select Sires). Os resultados mostrados na Tabela

14 trazem evidências que apoiam a abordagem sequencial para a sincronização de estro em vacas de corte após o parto que descrevemos.

Estes dados sugerem que novos métodos de indução e sincronização de estro para vacas de corte após o parto e novilhas de corte de reposição criam a oportunidade para expandir de forma significativa o uso de IA em rebanhos de vacas nos Estados Unidos.

Tabela 14. Comparação da resposta estral e fertilidade em vacas de corte após o parto após o tratamento com diversos protocolos de sincronização de estro.

Tratamento	Resposta estral	Taxa de prenhez sincronizada
<u>IA baseada em estro detectado</u>		147/422 35%
2 injeções PG		237/528 45%
Select Synch	241/422 57%	220/408 54%
MGA-PG 14-17 d	353/528 67%	243/348 70%
MGA-2 injeção PG	305/408 75%	130/206 63%
MGA-PG 14-19 d	327/348 93%	195/313 62%
MGA® Select	161/206 78%	101/155 65%
7-11 Synch	275/313 88%	
<u>IA realizada em tempos fixos pré-determinados sem detecção de estro</u>	142/155 92%	
	IA em tempo fixo c/ 72 h	
MGA® Select	IA em tempo fixo c/ 60 h	
7-11 Synch	IA em tempo fixo c/ 66 h	482/763 63%
CO-Synch + CIDR		446/728 61%
		591/912 65%

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASBIA. 1998, 2003. Report of semen sales. Brazilian Association of Artificial Insemination. São Paulo, Brazil.
- Bader, J. F., F.N. Kojima, D.J. Schafer, J.E. Stegner, M.R. Ellersieck, M.F. Smith, and D.J. Patterson. 2005. A comparison of two progestin-based protocols to synchronize ovulation and facilitate fixed-time artificial insemination in postpartum beef cows. *J. Anim. Sci.* 83:136-143.
- Bao, B., and H. A. Garverick. 1998. Expression of steroidogenic enzyme and gonadotropin receptor genes in bovine follicles during ovarian follicular waves: A review. *J. Anim. Sci.* 76:1903-1921.
- Bremer, V.R., S.M. Damiana, F.A. Ireland, D.B. Faulkner, and D.J. Kesler. 2004. Optimizing the interval from PGF to timed AI in the CoSynch+CIDR and 7-11 Synch estrus synchronization protocols for postpartum beef cows. *J. Anim. Sci.* 82(Suppl. 2):106.
- Brown, L. N., K. G. Odde, D. G. LeFever, M. E. King, and C. J. Neubauer. 1988. Comparison of MGA-PGF_{2α} to Syncro-Mate B for estrous synchronization in beef heifers. *Theriogenology* 30:1.
- Burke, J. M., R. L. d la Sota, C. A. Risco, C. R. Staples, E.J. P. Schmitt, and W. W. Thatcher. 1996. Evaluation of timed insemination using a gonadotropin-releasing agonist in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 79:1385-1393.
- Deutscher, G. H. 2000. Extending interval from seventeen to nineteen days in the melengestrol acetate-prostaglandin estrous synchronization program for heifers. *Prof. Anim. Sci.* 16:164-168.
- Dziuk, P. J., and R. A. Bellows. 1983. Management of reproduction in beef cattle, sheep and pigs. *J. Anim. Sci.* 57(Suppl.2), 355.
- Federal Register. March 26, 1997. New animal drugs for use in animal feeds; Melengestrol Acetate. Vol. 62. No.58. pp.14304-14305.
- Fortune, J. E., J. Sirois, and S. M. Quirk. 1988. The growth and differentiation of ovarian follicles during the bovine estrous cycle. *Theriogenology* 29:95-109.
- Garverick, H. A., R. G. Elmore, D. H. Vaillancourt, and A. J. Sharp. 1980. Ovarian response to gonadotropin-releasing hormone in postpartum dairy cows. *Amer. J. Vet. Res.* 41:1582-1585.
- Geary, T. W., J. C. Whittier, E. R. Downing, D. G. LeFever, R. W. Silcox, M. D. Holland, T. M. Nett, and G. D. Niswender. 1998a. Pregnancy rates of postpartum beef cows that were synchronized using Syncro-Mate B or the Ovsynch protocol. *J. Anim. Sci.* 76:1523-1527.
- Geary, T. W., J. C. Whittier, and D. G. LeFever. 1998b. Effect of calf removal on pregnancy rates of cows synchronized with the Ovsynch or CO-Synch protocol. *J. Anim. Sci.* 81(Suppl.1)278.
- Geary, T. W., E. R. Downing, J. E. Bruemmer, and J. C. Whittier. 2000. Ovarian and estrous response of suckled beef cows to the Select Sych estrous synchronization protocol. *Prof. Anim.Sci.* 16:1-5
- Hansel, W., P. V. Malven, and D. L. Black. 1961. Estrous cycle regulation in the bovine. *J. Anim. Sci.* 20:621-625.
- Hughes, H. Something's amiss with profit part 1. *BEEF*. February 1, 2005.
- Imwalle, D. B., D. L. Fernandez, and K. K. Schillo. 2002. Melengestrol acetate blocks the preovulatory surge of luteinizing hormone, the expression of behavioral estrus and ovulation in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 80:1280-1284.

- Johnson, S. K., and R. Jones. 2004. Cost and comparisons of estrous synchronization systems. In proceedings Applied Reproductive Strategies in Beef Cattle. North Platte, NE. pp103-115.
- Kojima, F. N., B. E. Salfen, J. F. Bader, W. A. Ricke, M. C. Lucy, M. F. Smith, and D. J. Patterson. 2000. Development of an estrus synchronization protocol for beef cattle with short-term feeding of melengestrol acetate: 7-11 Synch. *J. Anim. Sci.* 78:2186-2191.
- Kojima, F. N., J. F. Bader, J. E. Stegner, B. E. Salfen, S. L. Wood, M. F. Smith, and D. J. Patterson. 2001. Comparison of melengestrol acetate (MGA)-based estrus synchronization protocols in yearling beef heifers. *J. Anim. Sci.* 84(Suppl. 1):250.
- Kojima, F.N., J.E. Stegner, B.E. Salfen, R.L. Eakins, M.F. Smith, and D.J. Patterson. 2002. A fixed-time AI program for beef cows with 7-11 Synch. *Proc. West. Sec. Am. Soc. Anim. Sci.* 53:411-413.
- Kojima, F.N., J.E. Stegner, J.F. Bader, D.J. Schafer, R.L. Eakins, M.F. Smith, and D.J. Patterson. 2003a. A fixed-time AI program with 7-11 Synch. *Proc. West. Sec. Am. Soc. Anim. Sci.* 54:265-267.
- Kojima, F.N., J.F. Bader, J.E. Stegner, M.F. Smith, and D.J. Patterson. 2003b. A comparison of two fixed-time AI programs for postpartum beef cows. *J. Anim. Sci.* 81 (Suppl. 1):50.
- Kojima, F. N., J. F. Bader, J. E. Stegner, D. J. Schafer, J. C. Clement, R. L. Eakins, M. F. Smith, and D. J. Patterson. 2004. Substituting EAZI-BREED CIDR inserts (CIDR) for melengestrol acetate (MGA) in the MGA Select protocol in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 82(Suppl. 1):255.
- Lamb, G. C., D. W. Nix, J. S. Stevenson, and L. R. Corah. 2000. Prolonging the MGA- prostaglandin $F_{2\alpha}$ interval from 17 to 19 days in an estrus synchronization system for heifers. *Theriogenology* 53:691-698.
- Lamb, G.C., J.S. Stevenson, D.J. Kesler, H.A. Garverick, D.R. Brown, and B.E. Salfen. 2001. Inclusion of an intravaginal progesterone insert plus GnRH and prostaglandin $F_{2\alpha}$ for ovulation control in postpartum suckled beef cows. *J. Anim. Sci.* 79:2253-2259.
- Lamond, D. R. 1964. Synchronization of ovarian cycles in sheep and cattle. *Anim. Breed. Abstr.* 32:269-285.
- Larson, J.E., G. C. Lamb, J. S. Stevenson, S. K. Johnson, M. L. Day, T. W. Geary, D. J.
- Kesler, J. M. DeJarnette, F. N. Schrick, and J. D. Arsenau. 2004. Synchronization of estrus in suckled beef cows using GnRH, prostaglandin $F_{2\alpha}$ (PG), and progesterone (CIDR): a multi location study. *J. Anim. Sci.* 87(Suppl.1):368.
- Lauderdale, J. W. 1972. Effects of prostaglandin $F_{2\alpha}$ on pregnancy and estrous cycle of cattle. *J. Anim. Sci.* 35(Suppl. 1):246.
- Lauderdale, J. W., B. E. Seguin, J. N. Stellflug, J. R. Chenault, W. W. Thatcher, C. K. Vincent, and A. F. Loyancano. 1974. Fertility of cattle following $PGF_{2\alpha}$ injection. *J. Anim. Sci.* 38:964-967.
- Liehr, R. A., G. B. Marion, and H. H. Olson. 1972. Effects of progstaglandin on cattle estrous cycles. *J. Anim. Sci.* 35(Suppl. 1):247.
- Macmillan, K. L., and H. V. Henderson. 1984. Analyses of the variation in the interval of prostaglandin $F_{2\alpha}$ to oestrus as a method of studying patterns of follicle development during diestrus in dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 6:245-254.
- Mussard, M.L., C.R. Burke, C.L. Gasser, E.J. Behlke, K.A. Colliflower, D.E. Grum, and M.L. Day. 2003. Ovulatory response, luteal function and fertility in cattle induced to ovulate dominant follicles of early or late maturity. *Biol. Reprod.* 68(Suppl. 1):332.

- NAAB. 1998, 2003. Report of semen sales and custom freezing. National Association of Animal Breeders, Columbia, MO
- Nellor, J.E., and H.H. Cole. 1956. The hormonal control of estrus and ovulation in the beef heifer. *J. Anim. Sci.* 15:650-661.
- NAHMS. 1998. Part IV. Changes in the U.S. Beef Cow-Calf Industry. 1993-1997. pp. 1. USDA-APHIS Center for Epidemiology and Animal Health, Fort Collins, CO.
- Patterson, D. J., G. H. Kiracofe, J. S. Stevenson, and L. R. Corah. 1989. Control of the bovine estrous cycle with melengestrol acetate (MGA): A review. *J. Anim. Sci.* 67:1895-1906.
- Patterson, D. J., J. M. Kearnan, N. W. Bradley, K. K. Schillo, and B. L. Woods. 1993. Estrus response and fertility in yearling beef heifers after chronic treatment with an oral progestogen followed by prostaglandin $F_{2\alpha}$. University of Kentucky Beef Cattle Research Report. Progress Report 353. Pp. 31-33.
- Patterson, D. J., S. L. Wood, and R. F. Randle. 2000a. Procedures that support reproductive management of replacement beef heifers. *Proc. Am.Soc. Anim. Sci.*, 1999. Available at: <http://www.asas.org/jas/symposia/proceedings/0902.pdf>. Accessed August 3, 2000.
- Patterson, D. J., S. L. Wood, F. N. Kojima, and M. F. Smith. 2000b. Current and emerging methods to synchronize estrus with melengestrol acetate. In: 49th Annual Beef Cattle Short Course Proceedings "Biotechnologies of Reproductive Biology". Pp. 45-66. University of Florida, Gainesville.
- Patterson, D. J., J.E. Stegner, F.N. Kojima, and M.F. Smith. 2002. MGA[®] Select improves estrus response in postpartum beef cows in situations accompanied with high rates of anestrous. *Proc. West. Sec. Am. Soc. Anim. Sci.* 53:418-420.
- Patterson, D.J., F.N. Kojima, and M.F. Smith. 2003. A review of methods to synchronize estrus in replacement heifers and postpartum beef cows. *J. Anim. Sci.* 81(E. Suppl. 2):E166-E177. **Online.Available:**
- Perry, G.A., M.F. Smith, and D.J. Patterson. 2002. Evaluation of a fixed-time artificial insemination protocol for postpartum suckled beef cows. *J. Anim. Sci.* 80:3060-3064.
- Perry, G.A, M.F. Smith, and T.W. Geary. 2004. Ability of intravaginal progesterone inserts and melengestrol acetate to induce estrous cycles in postpartum beef cows. *J. Anim. Sci.* 82:695-704.
- Perry, G.A., M. F. Smith, M. C. Lucy, J. A. Green, T. E. Parks, M. D. MacNeil, A. J. Roberts, and T. W. Geary. 2005. Relationship between follicle size at insemination and pregnancy success. *Proc. National Academy of Sciences.* 102:5268-5273.
- Pursley, J. R., M. O. Mee, and M. C. Wiltbank. 1995. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF_{2 α} and GnRH. *Theriogenology* 44:915-924.
- Pursley, J. R., M. W. Kosorok, and M. C. Wiltbank. 1997a. Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation. *J. Dairy Sci.* 80:301-306.
- Pursley, J. R., M. C. Wiltbank, J. S. Stevenson, J. S. Ottobre, H. A. Garverick, and L. L. Anderson. 1997b. Pregnancy rates in cows and heifers inseminated at a synchronized ovulation or synchronized estrus. *J. Dairy Sci.* 80:295-300.
- Pursley, J. R., R. W. Silcox, and M. C. Wiltbank. 1998. Effect of time of artificial insemination on pregnancy rates, calving rates, pregnancy loss, and gender ratio after synchronization of ovulation in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 81:2139-2144.
- Rowson, L.E.A., R. Tervit, and A. Brand. 1972. The use of prostaglandin for synchronization of oestrus in cattle. *J. Reprod. Fertil.* 29:145 (Abstr).

- Sartori, R., P. M. Fricke, J. C. Ferreira, O. J. Ginther, and M. C. Wiltbank. 2001. Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. *Biol. Reprod.* 65:1403-1409.
- Schafer, D. J. 2005. Comparison of progestin based protocols to synchronize estrus and ovulation in beef cows. M.S. Thesis. University of Missouri, Columbia.
- Schafer, D.W., J.S. Brinks, and D.G. LeFever. 1990. Increased calf weaning weight and weight via estrus synchronization. Beef Program Report. Colorado State University. pp. 115-124.
- Schmitt, E. J.-P., T. Diaz, M. Drost, and W. W. Thatcher. 1996. Use of a gonadotropin-releasing hormone agonist or human chorionic gonadotropin for timed insemination in cattle. *J. Anim. Sci.* 74:1084-1091.
- Seidel, G. E. Jr. 1995. Reproductive biotechnologies for profitable beef production. *Proc. Beef Improvement Federation*. Sheridan, WY. Pp. 28-39.
- Sirois, J., and J. E. Fortune. 1988. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. *Biol. Reprod.* 39:308-317.
- Stegner, J. E., F. N. Kojima, M. R. Ellersieck, M. C. Lucy, M. F. Smith, and D. J. Patterson. 2004a. Follicular dynamics and steroid profiles in cows during and after treatment with progestin-based protocols for synchronization of estrus. *J. Anim. Sci.* 82:1022-1028.
- Stegner, J. E., F. N. Kojima, M. R. Ellersieck, M. C. Lucy, M. F. Smith, and D. J. Patterson. 2004b. A comparison of progestin-based protocols to synchronize estrus in postpartum beef cows. *J. Anim. Sci.* 82:1016-1021.
- Stegner, J. E., J. F. Bader, F.N. Kojima, M.R. Ellersieck, M.F. Smith, and D.J. Patterson. 2004c. Fixed-time artificial insemination of postpartum beef cows at 72 or 80 hours after treatment with the MGA® Select protocol. *Theriogenology* 61:1299-1305.
- Stevenson, J. S., G. C. Lamb, J. A. Cartmill, B. A. Hensley, S. Z. El-Zarkouny, and T. J. Marple. 1999. Synchronizing estrus in replacement beef heifers using GnRH, melengestrol acetate, and PGF_{2α}. *J. Anim. Sci.* 77(Suppl. 1):225.
- Stevenson, J S., G. C. Lamb, S. K. Johnson, M. A. Medina-Britos, D. M. Grieger, K. R.
- Harmony, J. A. Cartmill, S. Z. El-Zarkouny, C. R. Dahlen, and T. J. Marple. 2003. Supplemental norgestomet, progesterone, or melengestrol acetate increases pregnancy rates in suckled beef cows after timed inseminations. *J. Anim. Sci.* 81:571-586.
- Thatcher, W. W., M. Drost, J. D. Savio, K. L. Macmillan, K. W. Entwistle, E. J. Schmitt, R. L. De La Sota, and G. R. Morris. 1993. New clinical uses of GnRH and its analogues in cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 33:27-49.
- Thimonier, J., D. Chupin, and J. Pelot. 1975. Synchronization of estrus in heifers and cyclic cows with progestogens and prostaglandin analogues alone or in combination. *Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys.* 15:437-449.
- Twagiramungu, H., L. A. Guilbault, J. Proulx, and J. J. Dufour. 1992a. Synchronization of estrus and fertility in beef cattle with two injections of Buserelin and prostaglandin. *Theriogenology* 38:1131-1144.
- Twagiramungu, H., L. A. Guilbault, J. Proulx, P. Villeneuve, and J. J. Dufour. 1992b. Influence of an agonist of gonadotropin-releasing hormone (Buserelin) on estrus synchronization and fertility in beef cows. *J. Anim. Sci.* 70:1904-1910.
- Twagiramungu, H., L. A. Guilbault, and J. J. Dufour. 1995. Synchronization of ovarian follicular waves

- with a gonadotropin-releasing hormone agonist to increase the precision of estrus in cattle: A review. *J. Anim. Sci.* 73:3141-3151.
- Ulberg, L. C., R. E. Christian, and L. E. Casida. 1951. Ovarian response in heifers to progesterone injections. *J. Anim. Sci.* 10:752-759.
- Vasconcelos, J. L., R. Sartori, H. N. Oliveira, J. G. Guenther, and M. C. Wiltbank. 2001. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. *Theriogenology* 56:307-314.
- Wood, S. L., M. C. Lucy, M. F. Smith, and D. J. Patterson. 2001. Improved synchrony of estrus and ovulation with addition of GnRH to a melengestrol acetate-prostaglandin $F_{2\alpha}$ estrus synchronization treatment in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 79:2210-2216.
- Wood-Follis, S. L., F. N. Kojima, M. C. Lucy, M. F. Smith, and D. J. Patterson. 2004. Estrus synchronization in beef heifers with progestin-based protocols. I. Differences in response based on pubertal status at the initiation of treatment. *Theriogenology* 62:1518-1528.
- Zimbelman, R. G. 1963. Maintenance of pregnancy in heifers with oral progestogens. *J. Anim. Sci.* 22:868.
- Zimbelman, R. G., and L. W. Smith. 1966. Control of ovulation in cattle with melengestrol acetate. I. Effect of dosage and route of administration. *J. Reprod. Fertil. (Suppl.1)*:185.
- Zimbelman, R. G., J. W. Lauderdale, J. H. Sokolowski, and T. G. Schalk. 1970. Safety and pharmacologic evaluations of melengestrol acetate in cattle and other animals. A review. *J.A.V.M.A.* 157:1528-1536.

IMPACTO DAS CONCENTRAÇÕES DE HORMÔNIOS ESTERÓIDES SOBRE A FERTILIDADE DE BOVINOS

G.A. Bridges e M. L. Day

The Ohio State University

PESQUISA INICIAL

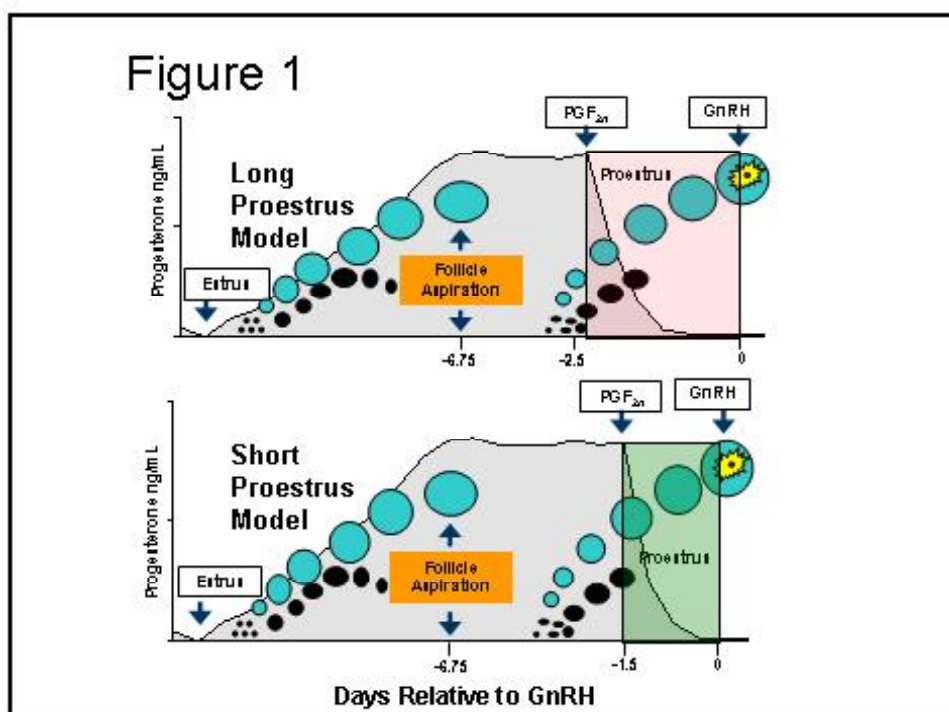
Uma linha de pesquisa de nosso laboratório é o estudo do impacto da maturidade folicular sobre a fertilidade em bovinos de corte. O primeiro objetivo da pesquisa nesta área foi identificar a definição mais precisa de maturidade do folículo ovariano, relativa ao seu impacto sobre a fertilidade subsequente. Formulamos a hipótese de que o diâmetro do folículo ovulatório poderia ser o preditor mais preciso da fertilidade subsequente. Depois de uma série de estudos que compararam as taxas de prenhez com IA após a ovulação de folículos de diferentes tamanhos (Mussard et al., 2002, 2003a, 2003b), concluímos que o tamanho do folículo ovulatório não era um preditor preciso de fertilidade. Quando os dados destes experimentos foram combinados (Tabela 1), entretanto, foi evidenciado que a duração do proestro, ou o período de alta secreção de gonadotropina e produção de estradiol que ocorre da luteólise até o pico de LH, prevê com mais precisão a fertilidade subsequente, independente do tamanho do folículo ovulatório. Estes experimentos iniciais nos levaram a continuar pesquisando de que forma a duração do proestro afeta a fertilidade e as concentrações dos esteróides reprodutivos.

Tabela 1: Resumo da duração do proestro, diâmetro do folículo ovulatório, idade e taxa de concepção.

	Taxa de	Duração do	Diâmetro à	Idade do folícul
Tratamento	Concepção* (%)	Proestro (dias)	Ovulação (mm)	o (dias)
GnRH-10	4	1,0 ± 0,1	11,1 ± 0,2	5,4
GnRH-10	8	1,0 ± 0,1	11,1 ± 0,2	5,1
GnRH-13	57	2,2 ± 0,1	13,6 ± 0,2	6,6
GnRH-13	67	2,0 ± 0,1	13,7 ± 0,2	6,1
GnRH-10	76	3,3 ± 0,1	10,7 ± 0,1	5,1
SPON	100	4,7 ± 0,2	12,0 ± 0,3	6,0

Legenda: GnRH-10: animais induzidos a ovular um folículo de 10 mm com GnRH; GnRH-13 = animais induzidos a ovular um folículo de 13 mm com GnRH; SPON = animais que ovularam espontaneamente; *apenas inclui vacas com ciclo estral de duração normal).

A primeira investigação sobre o impacto da duração do proestro sobre a fertilidade foi desenhada para induzir a ovulação de grandes folículos ovarianos dominantes de diâmetro similar depois que as fêmeas tiveram um proestro “longo” (LPE, 2,25 dias; $n = 40$) ou “curto” (SPE, 1,25 dias; $n = 38$) antes de uma ovulação induzida por GnRH (Figura 1). O tamanho do folículo ovulatório foi similar entre os tratamentos SPE ($12,6 \pm 0,2$ mm) e LPE ($12,9 \pm 0,2$ mm) no momento da administração de GnRH. Cinquenta por cento (20/40) das vacas no tratamento LPE conceberam, enquanto que apenas 1 das 38 vacas no tratamento SPE ficaram prenhes com a IA em tempo fixo ($P < 0,05$). No tratamento SPE, houve um aumento na incidência de ciclo estral subsequente mais curto ($P < 0,05$), similar a outros relatos em que a ovulação tinha sido induzida em fêmeas com proestro mais curto (Taponen et al., 1999, 2002, 2003; Vasconcelos et al., 2001; Peters e Pursley, 2003). Em vacas com fases lúteas normais, houve não só diminuição na taxa de concepção ($P < 0,05$) nas vacas SPE, como as concentrações de progesterona no dia 12 do ciclo estral subsequente permaneceram mais baixas ($P < 0,05$) no tratamento SPE do que no tratamento LPE.



A base endócrina para a aparente relação entre a duração do proestro e a fertilidade foi pesquisada em um segundo experimento (Bridges et al., 2004). Levantamos a hipótese de que os animais com proestro de duração mais curta teriam menores concentrações de estradiol durante o período pré-ovulatório, um pico de LH induzido por GnRH de menor amplitude e concentrações diminuídas de progesterona durante o diestro. Foram utilizados os tratamentos SPE ($n=8$) e LPE ($n=8$) como descrito acima (Figura 1). O tamanho do folículo ovulatório não foi diferente entre os tratamentos SPE ($11,8 \pm 0,3$ mm) e LPE ($12,4 \pm 0,3$ mm). Não foram notadas diferenças no pico de LH induzido por GnRH entre os tratamentos. A incidência de ciclos estrais curtos tendeu ($P < 0,1$) a ser maior e as concentrações de progesterona durante o ciclo estral subsequente tenderam ($P < 0,1$) a ser mais baixas no tratamento SPE do que no tratamento LPE, respectivamente. A diferença mais marcante entre os tratamentos foi que as concentrações de estradiol foram maiores ($P < 0,05$) no tratamento LPE do que no tratamento SPE durante as 32 horas que antecederam a administração de GnRH.

Através desta linha de pesquisa concluímos que diminuir a duração do proestro resulta na redução das concentrações tanto do estradiol pré-ovulatório como da progesterona da fase lútea que, por sua vez, resulta em uma diminuição da fertilidade. Como o estradiol e a progesterona desempenham papéis específicos no útero durante o início da gestação, formulamos a hipótese de que a redução na fertilidade se deve à falha das vacas de estabelecer um ambiente uterino adequado para o desenvolvimento do embrião e a manutenção da gestação. Esta hipótese tem o suporte de pesquisas usando transferência de embrião realizadas em nosso laboratório e em laboratórios de outros pesquisadores. A próxima seção deste trabalho irá enfocar o papel do estradiol e da progesterona no útero durante a fase inicial da gestação em vacas, além das interações críticas entre o embrião em desenvolvimento e o útero. Praticamente, a nossa pesquisa sugere que para a fertilidade máxima ser alcançada, é preciso otimizar a capacidade esteroidogênica do folículo ovulatório e do CL subsequente. Assim, na seção final será discutido um programa modificado de sincronização de estro formulado para maximizar o estradiol pré-ovulatório e a progesterona lútea, na tentativa de aumentar as taxas de prenhez após a IA em tempo fixo.

PAPÉIS DO ESTRADIOL E DA PROGESTERONA NA FASE INICIAL DA GESTAÇÃO

Em bovinos, a taxa de fertilização obtida após a inseminação é elevada (80-90%; Diskin e Sreenan, 1980; Smith et al., 1982; Maurer e Chenault, 1983). Contudo, ao redor do dia 30 da gestação, embriões viáveis estão presentes em apenas 50-60% das vacas de corte e 30-40% das vacas leiteiras. A perda embrionária na fase inicial da gestação é causada por muitos fatores, como defeitos genéticos, doenças reprodutivas e stress calórico. A mortalidade embrionária, entretanto, pode ser exacerbada em alguns animais, como em vacas leiteiras de alta produção e após a IA em tempo fixo tanto em vacas de corte como em vacas leiteiras. Uma similaridade compartilhada por vacas leiteiras em lactação e vacas sincronizadas para IA em tempo fixo é que uma proporção destes animais tem níveis circulantes mais baixos tanto de estradiol pré-ovulatório como de progesterona na fase lútea média (Vasconcelos et al., 2001; Mussard et al., 2002; 2003a; 2003b; Sartori et al., 2002a; Perry et al., 2003b; Peters e Pursley, 2003; Bridges et al., 2004; Sartori et al., 2004; Wolfenson et al., 2004). Em bovinos leiteiros, as concentrações de estradiol e progesterona na circulação são diminuídas pelo aumento do metabolismo esteróide, resultado de um maior consumo de ração e maior fluxo sanguíneo hepático (Sangsritavong et al., 2002). Nas vacas com IA em tempo fixo, a diminuição do estradiol pré-ovulatório e das concentrações de progesterona na fase lútea média pode ser atribuído à dinâmica folicular durante os protocolos convencionais de sincronização de estro (Geary et al., 2000) e a ovulação induzida de folículos pequenos em alguns animais (Perry et al., 2002, 2003b). Com relação aos animais *Bos indicus*, Segerson et al. (1984) relataram diminuição no estradiol da circulação e nas concentrações de progesterona em animais Brahman quando comparados com vacas Angus, mas outros autores (Alvarez et al., 2000) não observaram diferenças na concentração de esteróide na circulação. Vacas leiteiras em lactação (Lucy, 2001) e vacas que foram induzidas a ovular folículos menores do que o habitual apresentam diminuição da fertilidade (Lamb et al., 2001; Mussard et al., 2002; Mussard et al., 2003a; Perry et al., 2003a). A razão ou razões fisiológicas para a fertilidade reduzida de animais com este meio hormonal esteróide alterado poderiam incluir um comprometimento da qualidade do oócito ou suporte uterino inadequado para o conceito em crescimento. Ainda que tenha sido sugerido que a qualidade do oócito é baixa em vacas leiteiras (Sartori et al., 2002b), Rizos et al. (2005) não observaram diferenças na porcentagem de oócitos clivados ou rendimento de blastocistos entre vacas em lactação e novilhas núlparas quando foi feita a recuperação transvaginal de óvulos e a maturação e fertilização *in vitro*. Além disso, Sartori et al. (2005, no prelo) observaram taxas de prenhez nos dias 25-32 (40,3 e 35,6%) e perda embrionária tardia (dias 25-66; 26,2 e 18,6%) similares em vacas leiteiras em lactação após a transferência de embriões ou a IA, respectivamente. Estes estudos inferem

que, em vacas leiteiras, um ambiente uterino deficiente pode ser responsável por mortalidade embrionária maior e infertilidade subsequente. O ambiente uterino inadequado também pode ser responsável pela mortalidade embrionária em vacas que foram induzidas a ovular folículos imaturos (Mussard et al., 2002; Mussard et al., 2003a, 2003b; Bridges et al., 2004, 2005). Na ovelha, a exposição sequencial a progesterona antes do estro, concentrações elevadas de estradiol ao estro e concentrações suficientes de progesterona no ciclo estral subsequente são necessários para estabelecer o ambiente uterino adequado para a sobrevivência do conceito (Moore, 1985; Wilmut et al., 1986). Além disso, alterar a exposição sequencial a esteróides ou limitar as concentrações de estradiol ou progesterona resulta em um ambiente uterino alterado e uma diminuição da probabilidade de sobrevivência do conceito (Miller e Moore, 1976a; Miller e Moore, 1976b; Miller e Moore, 1983). Este processo parece ser interrompido em vacas leiteiras e animais induzidos a ovular folículos imaturos, como é indicado pela diminuição do estradiol na circulação e das concentrações de progesterona.

Ambiente uterino: Neste trabalho, o termo “ambiente uterino” é usado referindo-se ao desenvolvimento endometrial e à secreção coletiva de substâncias pelas glândulas uterinas que são necessárias para a sobrevivência adequada do embrião/feto e a manutenção da gestação. Um ambiente uterino inadequado poderia causar a falha gestacional diretamente, por não proporcionar um ambiente adequado para o embrião e levar à sua morte, ou indiretamente por não dar o suporte adequado para o crescimento embrionário, o que poderia resultar em um conceito de menor tamanho e falha no processo de reconhecimento materno da gestação. Os esteróides reprodutivos estradiol e progesterona coordenam a função uterina. Durante o período pré-ovulatório, o estradiol serve para “programar” o útero na preparação para o desenvolvimento do conceito. Quando concentrações de estradiol equivalentes às alcançadas ao estro foram omitidas em ovelhas ovariectomizadas, tratadas com esteróides, que receberam transferência de embrião sincronizada, não foram recuperados embriões normais e a síntese uterina de proteína foi reduzida em comparação com ovelhas ovariectomizadas, que receberam concentrações de estradiol semelhantes às presentes ao estro (Miller e Moore, 1976a). Em suínos, concentrações menores de estradiol durante o estro alteraram a receptividade uterina e resultaram em uma menor sobrevivência embrionária (Blair et al., 1994). Depois da “programação” uterina pelo estradiol, a progesterona funciona para coordenar e controlar a função uterina. Esta coordenação é chave, porque a sincronia entre o desenvolvimento uterino e o crescimento embrionário é crucial para a manutenção da gestação (Rowson et al., 1972; Betteridge et al., 1980). Aparentemente, a exposição sequencial apropriada a concentrações ótimas de estradiol e progesterona é muito importante para a coordenação do ambiente uterino adequado para facilitar a manutenção da gestação.

Papel do Estradiol Durante o Proestro: O reconhecido impacto do estradiol sobre a função uterina inclui ações que alteram a morfologia do endométrio e efeitos que mudam a responsividade uterina a outros sinais endócrinos pela regulação da expressão do receptor hormonal. O estradiol pré-ovulatório induz o crescimento e o desenvolvimento de células epiteliais glandulares e da luz do endométrio e induz um aumento na síntese e secreção de proteína por estas células uterinas (Murray, 1992; Johnson et al., 1997). Além disso, o estradiol induziu um aumento da síntese de proteína pelas células uterinas (Murray, 1992). O estradiol também é responsável por induzir a produção e secreção de glicoproteínas no oviduto (Boice et al., 1990), que parece ser fisiologicamente relevante para os processos envolvidos com a fertilização e o desenvolvimento inicial do embrião (revisado por Buhi, 2002).

Em bovinos (Kimmings e MacLaren, 2001; Robinson et al., 2001) e em ovinos (Spencer e Bazer, 1995), o aumento pré-ovulatório de estradiol promove um aumento da expressão dos receptores de progesterona e estradiol dentro do útero. Ing e Zhang (2004) sugeriram que o aumento na regulação do receptor de progesterona induzido pelo estradiol era um processo fisiológico chave para permitir que secreções das glândulas endometriais sejam adequadas para dar o suporte à sobrevivência do embrião, em resposta ao

aumento das concentrações de progesterona na fase lútea média. A concentração de estradiol durante o proestro também é crítica na determinação do tempo de vida do CL (Garcia-Winder et al., 1986; Kieborz-Loos et al., 2003; Bridges et al., 2004), uma vez que concentrações pré-ovulatórias insuficientes de estradiol podem alterar a expressão cíclica normal do receptor de progesterona e estradiol (Lamming e Mann, 1995), resultando em antecipação da liberação de prostaglandina F (PGF) e subsequente luteólise. Além disso, outras funções do aumento pré-ovulatório de estradiol são aumentar o mRNA do fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1) no útero (Robinson et al., 2000) e oviduto (Pushpakumara et al., 2002), o que aumenta a biodisponibilidade e funcionalidade de IGF-1 durante a fertilização e o início do desenvolvimento do embrião.

Papel da Progesterona: Fisiologicamente, a concentração mínima de progesterona necessária para manter a gestação não foi determinada (Mann e Lamming, 1999) mas a manutenção de um CL funcional é essencial para o sucesso de uma gestação. Concentrações menores de progesterona na fase lútea média foram detectadas em vacas não prenhes em comparação com vacas prenhes (Lukaszewska e Hansel, 1980; Perry et al., 2003b). Em diversos estudos (Shelton et al., 1990; Hommeida et al., 2004) foram observadas taxas de prenhez menores em vacas que apresentaram atraso no aumento das concentrações de progesterona durante o início da fase lútea, após a inseminação. Mann e Lamming (1999) relataram que a suplementação de progesterona no início da gestação (dia 6) melhorou a fertilidade das vacas. Em ruminantes, o sinal para o reconhecimento materno da gestação (MRP) é feito através da secreção de interferon-tau (IFN-) pelo embrião (Godkin et al., 1982; Farin et al., 1990). Há uma alta correlação entre as concentrações de progesterona na circulação e a secreção de IFN- pelo embrião (Kerbler et al., 1997). O tamanho do embrião dita a sua habilidade de produzir IFN- e, por isso, pode ser que os embriões menores não sejam capazes de produzir um sinal adequado para inibir a luteólise (Mann e Lamming, 1999). Além disso, vacas prenhes com concentrações detectáveis de IFN- no dia 16 após a inseminação tiveram embriões maiores (Mann e Lamming, 2001). A administração de progesterona suplementar no início da gestação aumentou o tamanho e o desenvolvimento morfológico do conceito, a produção embrionária de IFN- e a secreção de proteína uterina (Garrett et al., 1988).

Interferon- também ativa numerosos genes no útero que podem ser importantes para o reconhecimento da gestação, crescimento embrionário, remodelagem uterina e aspectos posteriores da placentação e implantação. Em ovelhas, IFN- faz a regulação ascendente do mRNA do receptor de prolactina no endométrio uterino (Martin et al., 2004). O receptor de prolactina é responsável pela ligação do lactogênio placentário (Biener et al., 2003), que estimula o desenvolvimento glandular uterino (Noel et al., 2003) e induz a secreção do histotrofo ou “leite uterino” (Spencer et al., 1999). O Interferon- também induz a produção de duas proteínas pelo útero, a proteína Mx (Charleston e Stewart, 1993; Hicks et al., 2003) e ISG-15 (Austin et al., 1996). Originalmente considerada como tendo apenas uma atividade antiviral (Staeheli et al., 1993), a secreção temporal da proteína Mx durante o início da gestação sugere que possa contribuir para a sobrevivência do embrião e a placentação. Ott et al. (1998) sugeriram que a proteína Mx é regulada pela progesterona porque no dia 1 do ciclo estral, quando a concentração de progesterona é menor, e no dia 15 do ciclo estral, quando a concentração do receptor de progesterona é menor, a proteína Mx está reduzida em ovelhas que estão ciclando. A função exata da proteína Mx não é clara, mas o momento de seu aparecimento sugere um envolvimento com o reconhecimento materno da gestação, maturação do embrião e placentação. A proteína uterina ISG-15 é um homólogo da ubiquitina que tem uma regulação ascendente no útero de vacas prenhes e se assemelha à secreção de IFN- pelo conceito (Austin et al., 1996, 2004). Em vacas prenhes, o mRNA de ISG-15 é evidenciado ao redor do dia 15, com teores máximos no dia 17, que permanecem elevados até o dia 21 (Hansen et al., 1997). Ainda que a função fisiológica de ISG-15 seja atualmente desconhecida, ela é expressa apenas em animais prenhes em resposta a IFN- (Austin et al., 1996, 2004). A conjugação de ISG-15 com proteínas endometriais citosólicas ocorre em uma fase precoce da gestação, e pode ser crítica para a manutenção da gestação em fase inicial em ruminantes (Johnson et al., 1998; Joyce et al., 2005).

Depois da elongação do embrião e do reconhecimento materno da gestação, a progesterona controla as secreções uterinas obrigatórias para a sobrevivência do conceito. Coletivamente, as secreções do útero durante o início da gestação têm sido denominadas “histotrofo uterino” (Bazer, 1975; Ing et al., 1989). Em vacas, a implantação placentária não está completa antes do dia 27 da gestação (King et al., 1980) e por isso o histotrofo parece ser um elemento importante para o desenvolvimento embrionário inicial, após o reconhecimento materno da gestação e antes da placentação (Geisert et al., 1988). Em ruminantes, a progesterona atua coordenando a secreção do histotrofo uterino por meio da regulação dos receptores uterinos de progesterona e induzindo a síntese e secreção de histotrofo (Spencer e Bazer, 1995; Robinson et al., 2001). A coordenação deste processo pela progesterona é crítica em ruminantes, uma vez que a secreção de histotrofo induzida pela progesterona é inibida até que o receptor de progesterona está corretamente regulado (Spencer et al., 1999; Johnson et al., 2000).

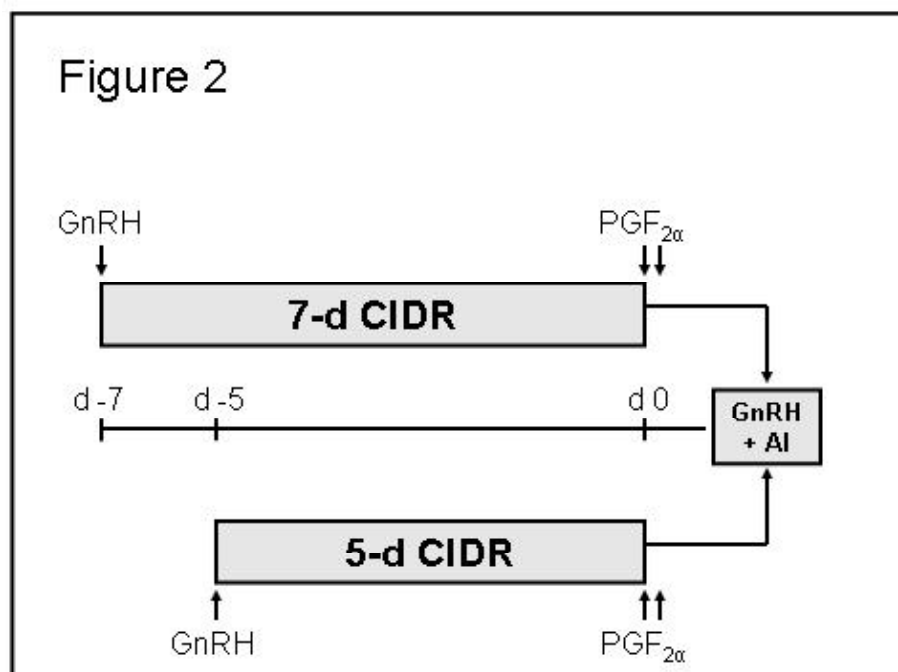
A importância das secreções uterinas é enfatizada pela pesquisa conduzida com ovelhas “knockout” para glândula uterina (UGKO). Nas ovelhas UGKO, a ablação das glândulas uterinas previne as secreções uterinas (Spencer et al. 1999; Gray et al. 2000). O aspecto mais marcante é que em ovelhas UGKO não foram detectadas gestações no dia 25 depois de repetidas coberturas com machos férteis ou transferência de embrião sincronizada (Gray et al., 2001, 2002). Dados de ovelhas UGKO sugerem que o desenvolvimento embrionário inicial (< 11 dias) pode ser independente do ambiente uterino e do histotrofo uterino, enquanto que os estágios posteriores do desenvolvimento do conceito, antes da placentação, exigem os histotrofos uterinos para a sobrevivência embrionária (Gray et al. 2001, 2002).

Um componente do histotrofo secretado pelo endométrio uterino que é regulado pela progesterona é a proteína do leite uterino (PLUT) (Moffatt et al., 1987; Ing et al., 1989). A proteína do leite uterino é uma glicoproteína e membro da família serpina de inibidores de serina protease (Hansen et al., 1987; Peltier e Hansen, 2001). Em ovelhas, a secreção de PLUT pelo epitélio glandular do útero inicia-se entre os dias 15 e 17, e aumenta significativamente durante toda a gestação (Moffatt et al., 1987; Stewart et al., 2000). Foi proposto que a produção de PLUT em vacas aparece ao redor do dia 18 da gestação (Ing et al., 1989). Contudo, foi recentemente relatado que o gene de expressão PLUT está significativamente elevado na porção cranial do útero bovino ao estro (Bauersachs et al., 2005). A secreção de PLUT aumenta durante toda a gestação e está positivamente correlacionada com a produção de lactogênio placentário pelo conceito (Spencer et al., 1999; Stewart et al., 2000). O priming com estradiol antes da exposição a progesterona não foi necessário nas ovelhas ovariectomizadas, tratadas com esteróide, para que houvesse a secreção de PLUT induzida pela progesterona (Ing et al., 1989).

Dados em ovelhas também sugerem que a osteopontina (OPN) é um importante componente do histotrofo uterino que é regulado pela progesterona (Johnson et al., 2000), e é importante para a implantação do embrião. Originalmente descoberto em osso, a OPN tem múltiplas funções dentro de sistemas biológicos, sendo o mais marcante o seu envolvimento com a adesão e comunicação célula a célula (revisado por Johnson et al., 2003). Em ovelhas prenhes, o mRNA da OPN é detectável nas glândulas uterinas ao redor do dia 13 e a proteína está presente em lavados uterinos em torno do dia 15 (Johnson et al., 1999a), sugerindo um envolvimento com o crescimento e a implantação do conceito. A osteopontina serve como uma proteína matriz, permitindo a adesão entre o epitélio da luz e o trofoderma nos estágios iniciais da placentação (Johnson et al., 1999b; Johnson et al., 2001). Em vacas, a OPN está presente no dia 16 da gestação mas a sua função exata ainda não foi esclarecida (Kimmins et al. 2004).

OTIMIZANDO OS PROGRAMAS DE SINCRONIZAÇÃO DE ESTRO

A nossa pesquisa e a pesquisa de outros autores sugerem que maximizar as concentrações de estradiol pré-ovulatório e de progesterona na fase lútea resultaria em uma melhor fertilidade. Assim sendo, os sistemas de sincronização de estro devem ser formulados de maneira a maximizar o potencial de produção *in vivo* tanto de estradiol pré-ovulatório como de progesterona na fase lútea. Uma abordagem potencial para aumentar a produção de estradiol pelo folículo ovulatório pode ser induzir a regressão do CL e remover os tratamentos com progesterona exógena mais próximo da emergência da onda folicular nos programas de sincronização de estro. A probabilidade de que isto aumentaria a secreção de estradiol é apoiada pela verificação (Valdez et al., 2005) de que, 4 dias após a emergência, os folículos dominantes aumentaram o estradiol intrafolicular e aumentaram a capacidade enzimática de produzir estradiol em comparação com os folículos dominantes no dia 6 ou 8 depois da emergência. Por isso, a suspensão da progesterona mais precocemente do que em programas tradicionais pode resultar em secreção de estradiol similar ou aumentada, ainda que por folículos menores. Além disso, esta abordagem pode permitir o prolongamento do intervalo da regressão lútea até a indução do pico de LH com GnRH ou estradiol exógeno. Este aumento na duração do proestro deveria resultar em estradiol elevado por um tempo mais prolongado e concentrações máximas de estradiol maiores (Bridges et al., 2004), com o objetivo de melhorar a fertilidade depois da ovulação induzida. Além disso, como o aumento das concentrações de progesterona foi evidenciado na maioria dos experimentos anteriores, quando a duração do proestro era prolongada, esta resposta também pode melhorar a fertilidade. Para testar esta abordagem, modificamos um protocolo de sincronização de estro comumente utilizado para promover um aumento nas concentrações de estradiol durante o proestro e, potencialmente, as concentrações de progesterona durante a fase lútea. Formulamos a hipótese de que diminuir o intervalo entre a administração de GnRH e o implante de CIDR e a retirada de PGF e CIDR de 7 a 5 dias em um programa CO-Synch + CIDR (Figura 2) aumentaria as taxas de prenhez.



Foi feita uma comparação entre o desempenho reprodutivo após a sincronização de estro com CO-Synch + CIDR 7 dias (7COSynch) e com CO-Synch + CIDR padrão de 5 dias (5COSynch) em dois anos consecutivos

no mesmo rebanho de vacas de corte em lactação (Figura 2). No primeiro ano, o protocolo 7COSynch (n = 112) foi comparado com o 5COSynch (n = 111) com todas as vacas em IA em tempo fixo concomitantemente com GnRH 60 h após a retirada de PGF e CIDR (Bridges et al., 2005). As vacas que estavam ciclando e em anestro foram identificadas pela determinação das concentrações séricas de progesterona. Além disso, para assegurar a regressão lútea, foram dadas duas injeções de PGF com 12 horas de intervalo após a retirada do CIDR. Induzir a regressão lútea mais cedo depois do GnRH inicial e, portanto, mais cedo após a emergência folicular, poderia permitir que o folículo ovulatório estivesse com sua capacidade máxima de produção de estradiol quando a progesterona fosse removida. Depois da inseminação inicial em tempo fixo, foi feita a detecção de estro durante aproximadamente 30 dias e IA 12 horas após a observação do estro. Os touros para repasse foram então colocados com o rebanho. Não houve detecção de diferenças significativas entre os tratamentos CO-Synch + CIDR de 7 e 5 dias (Tabela 2) para a IA em tempo fixo, taxas de prenhez globais com IA ou taxas de prenhez na estação de monta.

Tratamento	Ano 1		Ano 2	
	7 COSynch (n=112)	5 COSynch (n=111)	7 COSynch (n=111)	5 COSynch (n=105)
Taxa de concepção com IA em tempo fixo, %	52,7	56,8	66,7a	80,0b
Taxa de prenhez global com IA, %	69,4	67,3	80,2	84,8
Taxa de prenhez na estação de monta, %	96,4	90,0	93,7	96,2

Os resultados do primeiro ano sugeriram que, ainda que fossem 2 dias mais jovens no momento do PGF nas vacas que receberam o tratamento de 5 dias, os folículos dominantes eram capazes de secretar estradiol em concentrações suficientes durante as 60 horas do proestro, uma vez que não foi observada uma diminuição na taxa de concepção com IA em tempo fixo. Esta observação é apoiada pelos resultados em outro rebanho durante o mesmo ano (Bridges et al., 2005), em que as vacas receberam os mesmos tratamentos, exceto que o tratamento final com GnRH não foi dado. Permitiu-se que as vacas apresentassem estro, e não houve diferença nos intervalos até o estro entre os tratamentos ($57,3 \pm 1,0$ h). Além disso, neste rebanho não houve diferenças entre os tratamentos com relação às taxas de concepção (53,7%) com IA baseado na detecção de estro. Com base nestes resultados, os mesmos tratamentos CO-Synch + CIDR 5 e 7 dias foram usados no segundo ano, com uma modificação. No tratamento 5COSynch, o tempo desde o PGF até a IA em tempo fixo até a injeção de GnRH foi aumentado de 60 para 72 horas. Esta abordagem foi usada como um esforço para maximizar o estradiol pré-ovulatório pela regressão lútea quando os folículos eram altamente estrogênicos, permitindo um período de proestro estendido antes do GnRH e a inseminação em tempo fixo. As taxas de prenhez com IA em tempo fixo foram aumentadas ($P < 0,05$; Tabela 2) no tratamento 5COSynch (80,0%) em relação ao tratamento 7COSynch (66,7%). Não foram observadas diferenças ($P > 0,05$) entre as taxas gerais de prenhez por IA ou as taxas de prenhez da estação de monta entre os programas de sincronização. Assim, quando a regressão do corpo lúteo foi induzida mais cedo após a emergência da onda folicular e a duração do proestro foi estendida, as taxas de prenhez por IA em tempo fixo foram aumentadas em vacas de corte em lactação. Isto sugere que a fertilidade pode ser melhorada ao aumentar o suporte gonadotrópico do folículo ovulatório e permitindo que produza concentrações maiores de estradiol. Há evidências adicionais que dão suporte à teoria de que a regressão mais precoce do CL irá aumentar a fertilidade. Foi demonstrado que em um programa EB-CIDR de 8 dias, a injeção de PGF em vacas de corte pós-parto no 4º dia do tratamento

com CIDR aumentou a fertilidade de receptoras de TE em relação a vacas que receberam PGF no 8º dia (Moreno et al., 2002). Sa Filho et al. (2005) relataram que a administração de PGF nos dia 7 de um programa EB-CIDR de 9 dias tendeu a melhorar as taxas de prenhez com IA. A base para estes dois estudos foi que a luteólise ocorrendo mais cedo criaria um ambiente com baixo teor de progesterona (a única progesterona presente seria a do CIDR), alto teor de LH e estimularia um melhor desenvolvimento folicular. Seguindo um raciocínio similar, vacas de corte foram tratadas com 400 UI de eCG no 5º dia de um programa EB-CIDR de 8 dias, para aumentar exogenamente a estimulação gonadotrópica do folículo ovulatório (Tribulo et al., 2002). Quando usadas como receptoras para TE, a taxa de prenhez destas vacas também foi melhor do que em vacas que não receberam eCG. Também foi demonstrado que fornecer eCG exógeno na retirada do CIDR melhora as taxas de prenhez após a IA, bem como aumenta a secreção de progesterona pelo CL desenvolvido (Baruselli et al., 2004).

MÉTODOS ALTERNATIVOS PARA MELHORAR A FERTILIDADE

Outros pesquisadores estudaram métodos alternativos para melhorar a fertilidade após a inseminação, alterando as concentrações de hormônio esteróide. Uma das abordagens mais amplamente estudadas é a administração de progesterona suplementar através de uma fonte exógena de progesterona como CIDR ou induzindo uma ovulação adicional e o desenvolvimento de um CL acessório, administrando GnRH ou hCG na primeira onda folicular depois do estro. Muitos pesquisadores formularam uma hipótese de que o fato de haver uma alta correlação entre as concentrações de progesterona e o desenvolvimento embrionário (Kerbler et al., 1997), administrar progesterona suplementar no início da prenhez pode aumentar o desenvolvimento embrionário e as taxas de prenhez subsequentes. Na verdade, foi demonstrado que a administração de progesterona suplementar no início da gestação aumentou o tamanho do conceito, o desenvolvimento morfológico, a produção embrionária de IFN- τ e a secreção de proteína uterina (Garrett et al., 1988). A eficácia da progesterona suplementar para aumentar as taxas de prenhez em testes de campo aplicados, entretanto, é menos clara. Em vacas leiteiras de alta produção, a administração de hCG no dia 5 ou 7 após a inseminação melhorou a taxa de prenhez (Sianangama e Rajamehendran, 1992; Santos et al., 2001). Esta melhora foi devida ao desenvolvimento do CL acessório e um aumento da produção de progesterona luteal, como Santos et al. (2001) observaram um aumento de 5,0 ng/ml nas concentrações de progesterona na fase luteal média nos animais tratados com hCG. Usando novilhas de corte sincronizadas com MGA + PGF, Funston et al. (2005) também observaram um aumento nas concentrações de progesterona na fase luteal média quando hCG foi administrado nos dias 8 (local 1) ou 9 (local 2) depois de PGF. As novilhas foram inseminadas aproximadamente 12 horas depois da observação do estro. Este estudo foi realizado em dois locais diferentes, tendo sido observada uma interação entre o tratamento e o local do estudo. No local 1, o hCG não teve efeito sobre a taxa de concepção (hCG, 65%; controle, 70%), mas no local 2 a taxa de concepção tendeu ($P = 0,10$) a ser maior nos animais tratados (hCG, 61%; controle, 50%). Em um estudo adicional, em que as novilhas foram sincronizadas com MGA + PGF e a inseminação em tempo fixo foi feita 60 horas após o PGF, não foi observada nenhuma melhora na taxa de concepção quando a hCG foi administrada no dia 6 após a IA em tempo fixo (Funston et al., 2005). Nishigai et al. (2002) observaram taxas de prenhez mais altas na transferência de embriões em vacas Japanese Black, quando a hCG foi administrada no dia 6. Ainda que pareça que a injeção de hCG após a IA melhore as taxas de concepção, particularmente em vacas leiteiras em lactação, os resultados com outros métodos para aumentar a progesterona lútea são questionáveis. Sterry et al. (2005) não obtiveram nenhum aumento na taxa de concepção de vacas leiteiras com a colocação de um CIDR entre os dias 5 e 12, ou com a administração de GnRH nos dias 5 ou 7 depois da IA. Da mesma forma, Stevenson e Mee (1991) não observaram aumentos nas taxas de prenhez com IA quando um PRID foi colocado em vacas leiteiras em lactação do dia 5 ao dia 13 ou nos dias 13 a 21 depois

do estro. Outros autores (Robinson et al., 1989) viram melhoras nas taxas de prenhez com a inclusão de um dispositivo intravaginal de liberação de progesterona. De uma forma geral, não está clara a possibilidade de melhorar as taxas de prenhez pela utilização de uma progesterona exógena ou pela indução de um CL acessório. Dados científicos de peso sugerem que o aumento das concentrações de progesterona na fase lútea melhora a fertilidade. Contudo, muitos fatores podem contribuir para a variada resposta dos animais à progesterona suplementar. Em vacas leiteiras, as fontes exógenas de progesterona como o CIDR podem não aumentar as concentrações circulantes de progesterona até um nível que seja benéfico, devido a um rápido metabolismo hepático dos esteróides. Não se sabe se concentrações sub-ótimas de progesterona na fase lútea contribuem para a infertilidade em vacas de corte que ovulam espontaneamente. Não há dúvidas de que em rebanhos com programas de IA em tempo fixo, os animais que são induzidos a ovular folículos imaturos terão concentrações reduzidas de progesterona (Vasconcelos et al., 2001; Mussard et al. 2002; Mussard et al., 2003a, 2003b; Perry et al., 2003b; Peters e Pursley, 2003; Perry et al., 2005). Por isso, os efeitos benéficos da progesterona suplementar podem não ser observados em todas as situações.

Resumindo, tanto o estradiol pré-ovulatório como a progesterona lútea desempenham importantes funções fisiológicas no estabelecimento e manutenção da prenhez em bovinos de corte. Concentrações adequadas de estradiol são necessárias para preparar adequadamente o útero para a prenhez, enquanto que as concentrações adequadas de progesterona são necessárias para induzir a produção uterina de histotrofo para a sobrevivência do embrião. O nosso laboratório continua sua linha de pesquisas nesta área, em um esforço para determinar o mecanismo pelo qual a redução do estradiol pré-ovulatório e da progesterona da fase lútea reduz a fertilidade dos bovinos. Esta pesquisa tem por foco a maneira pela qual este meio hormonal altera o ambiente uterino e o crescimento embrionário subsequente. A importância de altas concentrações de estradiol pré-ovulatório e progesterona lútea não devem ser negligenciada na implantação de sistemas de sincronização de estro. O nosso trabalho inicial para melhorar os programas existentes de sincronização de estro sugere que pequenas modificações com o objetivo de aumentar a produção de estradiol pelo folículo ovulatório melhora as taxas de prenhez com IA em tempo fixo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alvarez, P., L. J. Spicer, C. C. Chase Jr., M. E. Payton, T. D. Hamilton, R. E. Stewart, A. C. Hammond, T. A. Olson, and R. P. Wettemann. 2000. Ovarian and endocrine characteristics during an estrous cycle in Angus, Brahman, and Senepol cows in a subtropical environment. *J Anim Sci* 78:1291-1302.
- Austin, K. J., S. K. Ward, M. G. Teixeira, V. C. Dean, D. W. Moore, and T. R. Hansen. 1996. Ubiquitin cross-reactive protein is released by the bovine uterus in response to interferon during early pregnancy. *Biol. Reprod.* 54:600-606.
- Austin, K. J., A. L. Carr, J. K. Pru, C. E. Hearne, E. L. George, E. L. Belden, and T. R. Hansen. 2004. Localization of ISG15 and conjugated proteins in bovine endometrium using immunohistochemistry and electron microscopy. *Endocrinology* 145:967-975.
- Baruselli PS, E. L. Reis, M. O. Marques, K. L. F. Nasser, and G. A. Bo. 2004. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrous beef cattle in tropical climates. *Anim. Reprod. Sci.* 82-83:479-486.
- Bauersachs, S., S. E. Ulbrich, K. Gross, S. E. M. Schmidt, H. H. D. Meyer, R. Einspanier, H. Wenigerkind, M. Vermehren, H. Blum, F. Sinowatz, and E. Wolf. 2005. Gene expression profiling of bovine endometrium during the oestrous cycle: detection of molecular pathways involved in functional changes. *J. Mol. Endocrin.* 34:889-908.
- Bazer, F. W. 1975. Uterine protein secretions: relationship to development of the conceptus. *J. Anim. Sci.* 41:1376-1382.
- Betteridge, K. J., M. D. Eaglesome, G. C. B. Randall, and D. Mitchell. 1980. Collection, description and transfer of embryos from cattle 10-16 days after oestrus. *J. Reprod. Fertil.* 59:205-216.
- Biener, E., C. Martin, N. Daniel, S. J. Frank, V. E. Centonze, B. Herman, J. Djiane, and A. Gertler. 2003. Ovine placental lactogen-induced heterodimerization of ovine growth hormone and prolactin receptors in living cells in demonstrated by fluorescence resonance energy transfer microscopy and leads to prolonged phosphorylation of signal transducer and activator of transcription (STAT) 1 and STAT3. *Endocrinology* 144:3532-3540.
- Blair, R. M., C. M. Coughlin, J. E. Minton, and D. L. Davis. 1994. Peri-oestrous hormone profiles, embryonic survival and variation in embryonic development in gilts and primiparous sows. *J. Reprod Fertil.* 101:167-173.
- Boice, M. L., R. D. Geisert, R. M. Blair, and H. G. Verhage. 1990. Identification and characterization of bovine oviductal glycoproteins synthesized at estrus. *Biol. Reprod.* 43:457-465.
- Bridges, G. A., M. L. Mussard, C. L. Gasser, D. E. Grum, and M. L. Day. 2004. Influence of duration of proestrus on circulating estradiol, the LH surge, and luteal function in cattle. *J. Anim. Sci.* 82(Suppl. 1):102: Abstr. 102.
- Bridges, G. A., C. L. Gasser, D. E. Grum, M. L. Mussard, L. A. Helser, and M. L. Day. 2005. Influence of reducing the interval between GnRH and PGF₂ to 5 days on reproductive performance of cows synchronized with GnRH-CIDR-PGF₂ programs. *J. Anim. Sci* 83 (Suppl. 1) 169.
- Buhi, W. C. 2002. Characterization and biological roles of oviduct-specific, oestrogen-dependent glycoprotein. *Reprod.* 123:355-362.
- Diskin, M. G., and J. M. Sreenan. 1980. Fertilization and embryonic mortality rates in beef heifers after artificial insemination. *J. Reprod. Fertil.* 59:463-468.

- Farin, C. E., K. Imakawa, T. R. Hansen, J. J. McDonnell, C. N. Murphy, P. W. Farin, and R. M. Roberts. 1990. Expression of trophoblastic interferon genes in sheep and cattle. *Biol. Reprod.* 43:210-218.
- Funson, R. N., R. J. Lipsey, T. W. Geary, and A. J. Roberts. 2005. Effect of administration of human gonadotropin after artificial insemination on concentrations of progesterone and conception rates in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 83:1403-1405.
- Garcia-Winder M., P. E. Lewis, D. R. Deaver, V. G. Smith, G. S. Lewis, and E. K. Inskeep. 1986. Endocrine profiles associated with life span of induced corpora lutea in postpartum beef cows. *J. Anim. Sci.* 62:1353-1362.
- Garrett, J. E., R. D. Geisert, M. T. Zavy, and G. L. Morgan. 1988. Evidence for maternal regulation of early conceptus growth and development in beef cattle. *J. Reprod. Fert.* 84:437-446.
- Geary, T. W., E. R. Downing, J. E. Bruemmer, and J. C. Whittier. 2000. Ovarian and estrous response of suckled beef cows to the select synch estrous synchronization protocol. *Prof. Anim. Sci.* 16:1-5.
- Geisert, R. D., M. T. Zavy, B. G. Biggers, J. E. Garrett, and R. P. Wettemann. 1988. Characterization of the uterine environment during early conceptus expansion in the bovine. *Anim. Reprod. Sci.* 16:11-25.
- Godkin, J. D., F. W. Bazer, J. Moffatt, F. Sessions, and R. M. Roberts. 1982. Purification and properties of a major, low molecular weight protein released by the trophoblast of sheep blastocysts at day 13-21. *J. Reprod. Fertil.* 65:141-150.
- Gray, C. A., K. M. Taylor, F. W. Bazer, and T. E. Spencer. 2000. Mechanisms regulating norgestomet inhibition of endometrial gland morphogenesis in the neonatal ovine uterus. *Mol. Reprod. Dev.* 57:67-78.
- Gray, C. A., K. M. Taylor, W. S. Ramsey, J. R. Hill, F. W. Bazer, F. F. Bartol, and T. E. Spencer. 2001. Endometrial glands are required for preimplantation conceptus elongation and survival. *Biol. Reprod.* 64:1608-1613.
- Gray, C. A., R. C. Burghardt, G. A. Johnson, F. W. Bazer, and T. E. Spencer. 2002. Evidence that absence of endometrial gland secretions in uterine gland knockout ewes compromises conceptus survival and elongation. *Reprod.* 124:289-300.
- Hansen, P. J., N. H. Ing, R. J. Moffatt, G. A. Baumbach, P. T. Saunders, F. W. Bazer, and R. M. Roberts. 1987. Biochemical characterization and biosynthesis of the uterine milk proteins of the pregnant sheep uterus. *Biol. Reprod.* 36:405-418.
- Hansen, T. R., K. J. Austin, and G. A. Johnson. 1997. Transient ubiquitin cross-reactive protein gene expression in the bovine endometrium. *Endocrinology* 138:5079-5082.
- Hicks, B. A., S. J. Etter, K. G. Carnahan, M. M. Joyce, A. A. Assiri, S. J. Carling, K. Kondali, G. A. Johnson, T. R. Hansen, M. A. Mirando, G. L. Woods, D. K. Vanderwall, and T. L. Ott. 2003. Expression of the uterine Mx protein in cyclic and pregnant cows, gilts, and mares. *J. Anim. Sci.* 81:1552-1561.
- Hommeida, A., T. Nakao, and H. Kubota. 2004. Luteal function and conception in lactating cows and some factors influencing luteal function after first insemination. *Theriogenology* 62:217-225.
- Ing, N. H., H. Francis, J. J. McDonnell, J. F. Amann, and R. M. Roberts. 1989. Progesterone induction of the uterine milk proteins: Major secretory proteins of sheep endometrium. *Biol. Reprod.* 41:643-654.
- Ing, N. H., and R. M. Roberts. 1989. The major progesterone-modulated proteins secreted into the sheep uterus are members of the serpin superfamily of serine protease inhibitors. *J. Biol. Chem.* 264:3372-3379.
- Ing, N. and Y. Zhang. 2004. Cell-specific expression of estrogen-responsive genes in the uteri of cyclic, early pregnant and ovariectomized ewes. *Theriogenology* 62:403-414.

- Johnson, G. A., K. J. Austin, E. A. Van Kirk, and T. R. Hansen. 1998. Pregnancy and interferon-tau induced conjugation of bovine ubiquitin cross-reactive protein to cytosolic uterine proteins. *Biol. Reprod.* 58:898-904.
- Johnson, G. A., T. E. Spencer, R. C. Burghardt, and F. W. Bazer. 1999a. Ovine osteopontin: I. Cloning and expression of messenger ribonucleic acid in the uterus during the periimplantation period. *Biol. Reprod.* 61:884-891.
- Johnson, G. A., R. C. Burghardt, T. E. Spencer, G. R. Newton, T. L. Ott, and F. W. Bazer. 1999b. Ovine osteopontin: II. Osteopontin and α_v integrin expression in the uterus and conceptus during the periimplantation period. *Biol. Reprod.* 61:892-899.
- Johnson, G. A., T. E. Spencer, R. C. Burghardt, K. M. Taylor, C. A. Gray, and F. W. Bazer. 2000. Progesterone modulation of osteopontin gene expression in the ovine uterus. *Biol. Reprod.* 62:1315-1321.
- Johnson, G. A., F. W. Bazer, L. A. Jaeger, H. Ka, J. E. Garlow, G. Pfarrer, T. E. Spencer, and R. C. Burghardt. 2001. Muc-1, integrin, and osteopontin expression during the implantation cascade in sheep. *Biol. Reprod.* 65:820-828.
- Johnson, G. A., R. C. Burghardt, F. W. Bazer, and T. E. Spencer. 2003. Osteopontin: Roles in implantation and placentation. *Biol. Reprod.* 68:1458-1471.
- Johnson, M. L., D. A. Redmer, and L. P. Reynolds. 1997. Effects of ovarian steroids on uterine growth, morphology, and cell proliferation in ovariectomized, steroid-treated ewes. *Biol. Reprod.* 57:588-596.
- Joyce, M. M., F. J. White, R. C. Burghardt, J. J. Muniz, T. E. Spencer, F. W. Bazer, and G. A. Johnson. 2005. Interferon stimulated gene 15 conjugates to endometrial cytosolic proteins and is expressed at the uterine-placental interface throughout pregnancy in sheep. *Endocrinology* 146:675-684.
- Kerbler, T. L., M. M. Buhr, L. T. Jordan, K. E. Leslie, and J. S. Walton. 1997. Relationship between maternal plasma progesterone concentration and interferon-tau synthesis by the conceptus in cattle. *Theriogenology* 47:703-714.
- Kieborz-Loos, K. R., H. A. Garverick, D. H. Keisler, S. A. Hamilton, B. E. Salfen, R. S. Youngquist, and M. F. Smith. 2003. Oxytocin-induced secretion of prostaglandin F_2 in postpartum beef cows: Effects of progesterone and estradiol 17- treatment. *J. Anim. Sci.* 81:1830-1836.
- Kimmins, S., H. C. Lim, and L. A. MacLaren. 2004. Immunohistochemical localization of integrin alpha V and beta 3 and osteopontin suggests that they do not interact during embryo implantation in ruminants. *Reprod. Biol. Endocrin.* 2:19-32.
- King, G. J., B. A. Atkinson, and H. A. Robertson. 1980. Development of the bovine placentome from days 20 to 29 of gestation. *J. Reprod. Fertil.* 59:95-100.
- Lamming, G. E., and G. E. Mann. 1995. Control of endometrial oxytocin receptors and prostaglandin F_2 production in cows by progesterone and oestradiol. *J. Reprod. Fertil.* 103:69-73.
- Lukaszewska J. and W. Hansel. 1980. Corpus luteum maintenance during early pregnancy in the cow. *J. Reprod Fertil.* 59:485-493.
- Lucy, M. C. 2001. Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? *J. Dairy Sci.* 84:1277-1293.
- Mann, G. E., G. E. Lamming, and M. D. Fray. 1995. Plasma oestradiol and progesterone during early pregnancy in the cow and the effects of treatment with buserelin. *Anim. Reprod. Sci.* 37:121-131.

- Mann, G. E. and G. E. Lamming. 1999. The influence of progesterone during early pregnancy in cattle. *Reprod. Dom. Anim.* 34:269-274.
- Mann, G. E. and G. E. Lamming. 2001. Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of the luteolytic mechanism in cows. *Reprod.* 121:175-180.
- Martin, C., L. Pessemesse, M. P. De La Llosa-Hermier, J. Martal, J. Djiane, and M. Charlier. 2004. Interferon-tau upregulates prolactin receptor mRNA in the ovine endometrium during the peri-implantation period. *Reprod.* 128:99-105.
- Maurer, R. R. and J. R. Chenault. 1983. Fertilization failure and embryonic mortality in parous and nonparous beef cattle. *J. Anim. Sci.* 56:1186-1189.
- Miller, B. G. and N. W. Moore. 1976a. Effects of progesterone and oestradiol on endometrial metabolism and embryo survival in the ovariectomized ewe. *J. Reprod. Fertil.* 46:535-536.
- Miller, B. G. and N. W. Moore. 1976b. Progesterone and oestrogen requirements for the survival of embryos in the ovariectomized ewe. *J. Reprod. Fertil.* 46:536-537.
- Miller, B. G., and N. W. Moore. 1983. Endometrial protein secretion during early pregnancy in entire and ovariectomized ewes. *Reprod. Fertil.* 68:137-144.
- Moffatt, J., F. W. Bazer, P. J. Hansen, P. W. Chun, and R. M. Roberts. 1987. Purification, secretion and immunocytochemical localization of the uterine milk proteins, major progesterone-induced proteins in uterine secretions of the sheep. *Biol. Reprod.* 36:419-430.
- Moore, N. W. 1985. The use of embryo transfer and steroid hormone replacement therapy in the study of prenatal mortality. *Theriogenology* 23:121-129.
- Moreno, D., L. Cutaia, H. Tribulo, R. Tribulo, M. L. Villata, M. Caccia and G. Bo. 2002. Effect of time of prostaglandin administration on pregnancy rates in embryo recipients treated with progesterone vaginal devices and transferred without estrus detection. *Theriogenology* 57:552.
- Mussard, M. L., C. R. Burke, E. J. Behlke, C. L. Gasser, A. R. Robison, J. E. Kinder, and M.L. Day. 2002. Influence of premature induction of an LH surge with GnRH on ovulation, luteal function and fertility in cattle. *Biol. Reprod.* 66:(Suppl.1): 266 Abstr. 415.
- Mussard, M. L., C. R. Burke, and M. L. Day. 2003a. Ovarian follicle maturity at induced ovulation influences fertility in cattle. In: *Proceedings of the Annual Conference of the Society for Theriogenology*, Columbus, OH, pp. 179-185.
- Mussard, M. L., C. R. Burke, C. L. Gasser, E. J. Behlke, K. A. Colliflower, D. E. Grum, and M. L. Day. 2003b. Ovulatory response, luteal function and fertility in cattle induced to ovulate dominant follicles of early or late maturity. *Biol Reprod.* 68(Suppl. 1):332 Abstr. 535.
- Murray, M. K., 1992. The effect of estrogen and progesterone on structural changes in the uterine glandular epithelium of the ovariectomized sheep. *Biol. Reprod.* 47:408-417.
- Nishigai M, H. Kamomae, T. Tanaka, and Y. Kaneda. 2002. Improvement of pregnancy rate in Japanese Black cows by administration of hCG to recipients of transferred frozen-thawed embryos. *Theriogenology* 58:1597-1606.
- Noel, S., A. Herman, G. A. Johnson, C. A. Gray, M. D. Stewart, F. W. Bazer, A. Gertler, and T. E. Spencer. 2003. Ovine placental lactogen specifically binds to endometrial glands of the ovine uterus. *Biol. Reprod.* 68:772-780.
- Ott, T. L., J. Yin, A. A. Wiley, H. Kim., B. Gerami-Naini, T. E. Spencer, F. F. Bartol, R. C. Burghardt, and

- F. W. Bazer. 1998. Effects of the estrous cycle and early pregnancy on uterine expression of Mx protein in sheep (*Ovis aries*). *Biol. Reprod.* 59:784-794.
- Peltier, M. R., and R. J. Hansen. 2001. Immunoregulatory activity, biochemistry, and phylogeny of ovine uterine serpin. *Amer. J. Reprod. Immun.* 45:266-272.
- Perry, G. A., T. W. Geary, M. C. Lucy, and M. F. Smith. 2002. Effect of follicle size at time of GnRH-induced ovulation on luteal function and fertility. *Proc. Western Sec., Amer. Soc. Anim. Sci.* 53.
- Perry, G. A., M. F. Smith, M. C. Lucy, A. J. Roberts, M. D. MacNeil, and T. W. Geary. 2003a. Effect of ovulatory follicle size at time of GnRH injection or standing estrus on pregnancy rates and embryonic/fetal mortality in beef cattle. *Proc. Western Sec., Amer. Soc. Anim. Sci.* 54.
- Perry, G. A., M. F. Smith, A. J. Roberts, M. D. MacNeil, and T. W. Geary. 2003b. Effect of ovulatory follicle size at time of GnRH injection on preovulatory serum concentrations of estradiol in beef cows detected or not detected in standing estrus. *Biol. Reprod.* 68(Suppl. 1):330 Abstr. 530.
- Peters, M. W., and J. R. Pursley. 2003. Timing of final GnRH and the ovsynch protocol affects ovulatory follicle size, subsequent luteal function, and fertility in dairy cows. *Theriogenology* 60:1197-1204.
- Pushpakumara, P.G., R. S. Robinson, K. J. Demmers, G. E. Mann, K. D. Sinclair, R. Webb, and D. C. Wathes. 2002. Expression of the insulin-like growth factor (IGF) system in the bovine oviduct at oestrus and during early pregnancy. *Reprod.* 123:859-868.
- Rizo, D., L. Burke, P. Duffy, M. Wade, J. F. Mee, K. J. O'Farrell, M. MacSiurtain, M. P. Boland, and P. Lonergan. 2005. Comparisons between nulliparous heifers and cows as oocyte donors for embryo production in vitro. *Theriogenology* 63:939-949.
- Robinson, N. A., K. E. Leslie, J. S. Walton. 1989. Effect of treatment with progesterone on pregnancy rate and plasma concentrations of progesterone in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 72:202-207.
- Robinson, R. S., G. E. Mann, T. S. Gadd, G. E. Lamming, and D. C. Wathes. 2000. The expression of the IGF system in the bovine uterus throughout the oestrous cycle and early pregnancy. *J. Endocrin.* 165:231-243.
- Robinson, R. S., G. E. Mann, G. E. Lamming, and D. C. Wathes. 2001. Expression of oxytocin, oestrogen and progesterone receptors in uterine biopsy samples throughout the oestrous cycle and early pregnancy in cows. *Reprod.* 122:965-979.
- Rowson, L. E., R. A. Lawson, R. M. Moor, and A. A. Baker. 1972. Egg transfer in the cow: synchronization requirements. *J. Reprod. Fertil.* 28:427-431.
- SaFilho, O. G., J. L. M. Vasconcelos, R. M. Santos, E. Oba, and G. C. Perez. 2005. Effects of the time of PG F₂ in fixed time embryo transfer protocols on synchronization and conception rates in IVF fresh embryo recipients. *J. Anim. Sci.* 83(Suppl. 1):168 abstract.
- Sangsritavong, S., D. K. Combs, R. Sartori, L. E. Armentano, and M. C. Wiltbank. 2002. High feed intake increases liver blood flow and metabolism of progesterone and estradiol-17 in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 85:2831-2842.
- Santos, J. E. P., W. W. Thatcher, L. Pool, and M. W. Overton. 2001. Effect of human chorionic gonadotropin on luteal function and reproductive performance of high-producing lactating Holstein dairy cows. *J. Anim. Sci.* 79:2881-2894.
- Sartori R., G. J. Rosa, and M. C. Wiltbank. 2002a. Ovarian structures and circulating steroids in heifers and lactating cows in summer and lactating and dry cows in winter. *J. Dairy Sci.* 85:2813-2822.
- Sartori, R., R. Sartor-Bergfelt, S. A. Mertens, J. N. Guenther, J. J. Parish, and M. C. Wiltbank. 2002b. Fertilization and early embryonic development in heifers and lactating cows in summer and lactating

- and dry cows in winter. *J. Dairy Sci.* 85:203-2812.
- Sartori, R., A. Gumen, J. N. Guenther, A. H. Souza, D. X. Caraviello, and M. C. Wiltbank. 2005. Comparison of artificial insemination versus embryo transfer in lactating dairy cows. *Theriogenology*. In press
- Segerson E. C., T. R. Hansen, D. W. Libby, R. D. Randel, and W. R. Getz. Ovarian and uterine morphology and function in Angus and Brahman cows. 1984. *J Anim Sci* 59:1026-1046.
- Sianangama, P. C. and R. Rajamahendran. 1992. Effect of human chorionic gonadotropin administered at specific times following breeding on milk progesterone and pregnancy in cows. *Theriogenology* 38:85-96.
- Smith, M. F., K. J. Nix, D. C. Kraemer, M. S. Amoss, M. A. Herron, and J. N. Wiltbank. 1982. Fertilization rate and early embryonic loss in Brahman crossbred heifers. *J. Anim Sci.* 54:1005-1011.
- Spencer, T. E. and F. W. Bazer. 1995. Temporal and spatial alterations in uterine estrogen receptor and progesterone receptor gene expression during the estrous cycle and early pregnancy in the ewe. *Biol. Reprod.* 53:1527-1543.
- Spencer, T. E., A. Gray, G. A. Johnson, K. M. Taylor, A. Gertler, E. Gootwine, T. L. Ott, and F. W. Bazer. 1999. Effects of recombinant ovine interferon tau, placental lactogen, and growth hormone on the ovine uterus. *Biol. Reprod.* 61:1409-1418.
- Staeheli, P., F. Pitossi, and J. Pavlovic, 1993. Mx proteins: GTPases with antiviral activity. *Trends Cell Biol.* 3:268-272.
- Sterry, R. A., M. L. Welle, and P. M. Fricke. 2005. Effect of GnRH or CIDR inserts administered early after first timed insemination on fertility of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 88(Suppl 1):86 abstract.
- Stevenson, J. S. and M. O. Mee. 1991. Pregnancy rates of holstein cows after postinsemination treatment with a progesterone-releasing intravaginal device. *J. Dairy Sci.* 74:3849-3856.
- Stewart, M. D., G. A. Johnson, C. A. Gray, R. C. Burghardt, L. A. Schuler, M. M. Joyce, F. W. Bazer, and T. F. Spencer. 2000. Prolactin receptor and uterine milk protein expression in the ovine endometrium during the estrous cycle and pregnancy. *Biol. Reprod.* 62:1779-1789.
- Taponen, J., T. Katila, and H. Rodriguez-Martinez. 1999. Induction of ovulation with gonadotropin-releasing hormone during proestrus in cattle: influence on subsequent follicular growth and luteal function. *Anim. Reprod. Sci.* 55:91-105.
- Taponen, J., M. Kulcsar, T. Katila, L. Katai, G. Huzenicz, H. Rodriguez-Martinez. 2002. Short estrous cycles and estrous signs after premature ovulations induced with cloprostenol and gonadotropin-releasing hormone in cycling dairy cows. *Theriogenology* 58:1291-1302.
- Taponen, J., P. Hjerpe, E. Kopra, H. Rodriguez-Martinez, T. Katila, and H. Kindahl. 2003. Premature prostaglandin F₂ secretion causes luteal regression in GnRH-induced short estrous cycles in cyclic dairy heifers. *Theriogenology* 60:379-393.
- Tribulo H., D. Moreno, L. Cutaia, G. Gatti, R. Tribulo, M. Caccia and G. A. Bo. 2002. Pregnancy rates in embryo recipients treated with progesterone vaginal devices, and eCG and transferred without estrus detection. *Theriogenology* 57:563.
- Valdez, K.E., S. P. Cuneo, P. J. Gorden, and A. M. Turzillo. 2005. The role of thecal androgen production in the regulation of estradiol biosynthesis by dominant bovine follicles during the first follicular wave. *J Anim Sci.* 83:597-603.

- Vasconcelos, J. L., R. Sartori, H. N. Oliveira, J. G. Guenther, and M. C. Wiltbank. 2001. **Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate.** *Theriogenology* 56:307-314.
- Wilmut, I., D. I. Sales, and C. J. Ashworth. 1986. Maternal and embryonic factors associated with prenatal loss in mammals. *J. Reprod. Fertil.* 76:851-864.
- Wolfenson D., G. Inbar, Z. Roth, M. Kaim , A. Bloch, and R. Braw-Tal. 2004. Follicular dynamics and



**X CURSO NOVOS ENFOQUES
NA PRODUÇÃO E
REPRODUÇÃO DE BOVINOS**

SANIDADE

MASTITE EM NOVILHAS: EPIDEMIOLOGIA E CONTROLE

Larry Fox

College of Veterinary Medicine

Washington State University

INTRODUÇÃO

Mastite em novilhas pode parecer um paradoxo, uma vez que novilhas poderiam ser consideradas provavelmente livres de patógenos causadores de mastite. A mastite é tradicionalmente considerada uma condição que afeta a glândula mamária em lactação ou involuída de vacas multíparas e um problema raramente observado na glândula ainda pouco desenvolvida da novilha. Sabia-se que as novilhas podiam desenvolver mastite durante o período pós-parto, mas não se sabia se estas infecções poderiam afetar negativamente a produção de leite, como afirmavam pesquisadores britânicos. Mesmo que uma novilha desenvolvesse mastite após o parto, não se sabia se este era um problema ocorrido no período de peri-parto ou se havia ocorrido anteriormente, durante o desenvolvimento mamário. Trabalhos conduzidos na Louisiana State University (Trinidad et al., 1990) estabeleceram claramente que as glândulas mamárias de novilhas podiam ser colonizadas e/ou infectadas antes da cobertura ou em fase inicial de gestação. Assim, aparentemente as novilhas também estão predispostas a infecções intramamárias de origem no período pré-parto.

PREVALÊNCIA

A prevalência de mastite em novilhas primíparas está apresentada na Tabela 1. A revisão dos dados da Tabela 1 claramente sugere que os estafilococos coagulase negativos (CNS) são a causa mais prevalente de infecções e que os estafilococos coagulase positivos, (CPS), algumas vezes reunidos em um único grupo e descritos como *S. aureus* ou patógenos ambientais podem ser o segundo grupo de maior prevalência em casos de mastite em novilhas. Estes dados podem sugerir que a epidemiologia desta doença depende da localidade geográfica.

EFEITOS

Nickerson e colaboradores publicaram em 1995 uma excelente revisão da literatura discutindo os efeitos da mastite em novilhas leiteiras. O fato de que grande parte do parênquima mamário já está desenvolvido durante a primeira prenhez sugere que qualquer infecção intramamária neste momento poderia ter potencial de ser altamente prejudicial. Na verdade, Nickerson e colaboradores (1995) relatam que a avaliação histológica do parênquima mamário de novilhas com infecções intramamárias pré-parto foi caracterizada por inflamação, com infiltração de leucócitos, redução da razão entre parênquima e estroma, hiperplasia dos dutos e formação de micro-abscessos com infecção. Com tal extensão de danos, seria de se esperar que a secreção do leite fosse negativamente influenciada por infecções intramamárias pré-parto em novilhas. Hallberg e colaboradores (1995) relatam que infecções intramamárias pré-parto tiveram efeito significativo sobre o início da secreção tanto pré- quanto pós-parto. Estes pesquisadores também relatam que o aumento nas contagens de células somáticas do leite está associado a uma qualidade mais serosa da secreção láctea.

Tabela 1. Prevalência¹ de Mastite em Novilhas Primíparas

Estudo	Número de amostras	Tipo de amostra	Número de infecções	CNS	CPS	Amb.	Outros
Nickerson et al., 1995	600	Q	58,4	27,9	8,0	4,2	1,4
Cook et al., 1992	525	C	43,0	43,0	6,0		8,0
Oliver et al., 1992	41	Q	55,4	39,0	0,6	4,9	
Pankey et al., 1991	382	Q	81,7	11,4	0,7	4,8	1,7
Roberson et al., 1994	828	C	54,0	39,0	8,0	13,0	
Myllys, 1995	236	Q	61,1	28,8	4,7	4,6	0,8
Oliver et al., 2003	332	Q	54,5	45,5	1,0	8,0	

¹Porcentagem de quartos mamários (Q) ou glândulas mamárias, amostra composta (C) em que se detectou presença de patógeno intramamário (CNS, estafilococos coagulase negativos; CPS, estafilococos coagulase positivos; AMB, patógenos ambientais, estreptococos não-agalactiae e bastonetes gram-negativos; e outros patógenos).

EPIDEMIOLOGIA

Em um amplo estudo de mastite em novilhas envolvendo quatro regiões distintas no mesmo país, foram coletadas amostras de 1.583 novilhas em várias granjas leiteiras por região (Fox et al., 1995). Somente 2 quartos mamários foram amostrados por novilha no pré-parto e todos os quartos foram amostrados no momento da parição. Os principais patógenos identificados como causadores de mastite, tanto pré- quanto pós-parto foram os estafilococos coagulase negativos. A prevalência de infecções por CNS e CPS tendeu a ser inferior no período pós-parto que no pré-parto, enquanto a incidência de mastite ambiental cresceu entre os dois momentos de amostragem. Foram identificados efeitos sazonais e de região geográfica influenciando a incidência de mastite pós-parto. O estado da Louisiana apresentou a taxa mais elevada de mastite infecciosa, especialmente por CPS. Estas infecções foram mais prevalentes nos meses de verão. O estado de Vermont apresentou a prevalência mais baixa de casos de mastite infecciosa. Novilhas mais velhas e novilhas infectadas durante a fase final de gestação apresentaram maior probabilidade de infecção. Além disso, o simples ato de coleta de amostras no pré-parto influenciou a taxa de infecção no pós-parto. Os quartos amostrados inicialmente apresentaram maior taxa de infecção no período pós-parto que os quartos controle. Myllys (1995) avaliou a mastite clínica em novilhas pré- e pós-parto. A mastite clínica causada por CNS foi a mais prevalente e em segundo lugar foram identificadas as infecções por CPS. Estes estudos demonstram de maneira geral que as infecções causadas por CNS são as mais prevalentes, mas importantes agentes causadores de mastite tais como CPS e organismos ambientais também contribuem significativamente para os casos de mastite em novilhas. Estação do ano e localidade geográfica também influenciam a incidência de mastite em novilhas.

CONTROLE

Considerando que áreas de clima mais quente, por exemplo os estados de Louisiana vs. Vermont e temperaturas mais elevadas (durante o verão) influenciavam a prevalência de mastite causada por CPS em novilhas, o grupo de pesquisadores da Louisiana investigou o papel das moscas na transmissão da mastite em novilhas (Owens, et al.; 1998, Nickerson et al., 1995). O trabalho deste grupo de pesquisa sugere que as

moscas têm o potencial de contribuir para a disseminação da mastite por CPS em novilhas e que o controle de moscas pode ter um efeito significativo para a redução dos casos de mastite em novilhas causados por este patógeno. Entretanto, a revisão dos dados também indica que CPS podem estar associados a problemas mensuráveis de mastite em novilhas mesmo em áreas e durante estações em que não existe problema significativo de moscas. Assim, as moscas poderiam ser apenas mais um dos fatores de risco associados à mastite em novilhas.

Roberson e colaboradores (1994a e 1994b) procuraram estudar os fatores de risco associados à mastite por CPS em novilhas. Em ambos os estudos, os rebanhos foram divididos em dois grupos: com alta prevalência (>10% do rebanho com mastite por CPS) e rebanhos com baixa prevalência (<5% do rebanho com mastite por CPS). Os supostos fatores de risco, tais como alojar conjuntamente novilhas desmamadas e primíparas e fornecer leite ordenhado de vacas com mastite não foram associados com maior risco de mastite por CPS. Foram coletadas amostras de vários pontos no corpo das novilhas além da glândula mamária. Em média, as novilhas provenientes de rebanhos de alta prevalência apresentavam maior probabilidade de colonização dos locais de amostragem que as novilhas de rebanhos de baixa prevalência. O dobro de novilhas dos rebanhos de alta prevalência apresentavam CPS na pele do úbere ou da mufla (mucosa nasal) se comparadas a novilhas de rebanhos de baixa prevalência. Alguns deste isolados eram do mesmo tipo de CPS isolado de leite coletado de vacas com mastite do rebanho em lactação. A identificação do tipo foi determinada por metodologias moleculares da cepa (tipo). Algumas das cepas de CPS, entretanto, foram encontradas apenas em novilhas e eram de origem desconhecida; nenhuma das amostras ambientais apresentou estes tipos específicos. Amostras ambientais foram coletadas da palha da cama, insetos, instalações, água, ração, mãos dos funcionários, animais não bovinos, ar e equipamentos. Mais amostras ambientais foram positivas para CPS em rebanhos de alta prevalência que nos rebanhos de baixa prevalência. Assim, considerando estes achados, parece que o ambiente em que o rebanho de alta prevalência era alojado constituía um fator de risco para a mastite por CPS. Os investigadores destes estudos concluíram que, embora a incidência de mastite por CPS fosse mais elevada em novilhas por ocasião do parto em rebanhos de alta prevalência, essa diferença não foi significativa. Assim nos parece que a vaca em lactação não representa o reservatório primário para a disseminação de mastite por CPS em novilhas. A vaca em lactação parece contribuir, mas existem também outras fontes significativas de infecção. A colonização da pele da glândula mamária por CPS na idade de cobertura aumentou o risco de mastite causada por este patógeno mais de três vezes em relação a novilhas que não apresentavam colonização da pele no pré-parto. Mais uma vez, estes dados sugerem que a própria novilha jovem desempenha um importante papel como reservatório da doença. Os pesquisadores concluíram que não existe uma única estratégia de controle que poderia ser adotada para reduzir a mastite por CPS em novilhas. Entretanto, talvez a desinfecção regular da pele da glândula mamária de novilhas em idade fértil poderia ter algum mérito; tal medida, entretanto, só teria impacto econômico significativo em rebanhos com alta prevalência de mastite por CPS em novilhas.

Trabalhos anteriores discutiram aspectos de biossegurança referentes a novilhas de reposição, tais como a quarentena, evitando a entrada de potenciais patógenos na granja leiteira. Por muitos anos, os rebanhos nos EUA eram pequenos, geralmente com menos de 100 vacas e com produção própria de novilhas de reposição, o que lhes conferia a característica de rebanhos “fechados”. Nos últimos 20 anos, entretanto, os rebanhos quintuplicaram de tamanho nos Estado de Washington. Atualmente, a expansão do rebanho depende da aquisição de animais de outras granjas, o que transforma as granjas em rebanhos “abertos” e cria preocupação com a biossegurança. Nossa hipótese era de que a mastite por CPS poderia ser importada para os rebanhos através da aquisição de animais de terceiros. Para testar esta hipótese, estudamos (Middleton et al., 2002) 15 rebanhos na região da costa noroeste dos EUA. Os rebanhos foram divididos em 4 grupos: 1) Rebanhos que contratavam a cria de novilhas; 2) Rebanhos que adquiriam novilhas de reposição; 3) Rebanhos que expandiam o número de vacas através de aquisição de animais adultos; e 4) Rebanhos que eram fechados,

que não permitiam a volta de animais para o rebanho e não adquiriam novos animais. Amostras compostas de leite foram coletadas de todas as vacas em lactação 3 vezes ao longo ano, em intervalos de 4 meses. Todas as vacas e novilhas recém-paridas foram também amostradas. Swabs da pele dos tetos foram coletados apenas de novilhas e os swabs eram repetidos antes de reunir novilhas e vacas. Um estudo anterior havia indicado que novilhas que apresentavam colonização da pele da glândula mamária por *Staphylococcus aureus* apresentavam uma probabilidade 3,5 vezes maior de parir e desenvolver mastite por *Staphylococcus aureus* (7). Assim, os swabs foram coletados para estimar a prevalência de infecções mamárias por *Staphylococcus aureus*. Além disso, as cepas de isolados de *S. aureus* foram identificadas pela técnica de “pulse field”. Foi observado que os rebanhos que adquiriam as novilhas de reposição de terceiros apresentavam maior prevalência de infecções intramamárias por *S. aureus* que rebanhos que adquiriam vacas adultas para expansão do rebanho. Além disso, rebanhos que adquiriam novilhas de reposição apresentavam mais cepas de *S. aureus* no rebanho e mais novas cepas que os rebanhos fechados. A maioria dos rebanhos fechados não apresentava introdução significativa de novas cepas. Estes resultados sugerem, em conjunto, que a introdução de novilhas de reposição no rebanho pode resultar na introdução de *S. aureus* causadores de mastite e que pode haver benefício em se manter o rebanho fechado. Ainda não está claro se quarentena e testes poderiam identificar com precisão as novilhas de reposição portadoras de novas cepas de *S. aureus*.

Um método óbvio de controle da mastite em novilhas é tratá-las antes do parto, o que equivale à terapia de vacas secas após a lactação. Pesquisadores da Louisiana (Owens et al., 1991; Trinidad et al., 1990b) estudaram os efeitos das preparações intramamárias de antibióticos para vacas secas usadas em diversos estágios da gestação em novilhas. Tal tratamento resultou em redução significativa na prevalência de patógenos causadores de mastite no momento do parto e durante os primeiros 60 dias em leite. Os protocolos de tratamento usados recomendam a administração 20 semanas (Trinidad et al., 1990) ou 10 a 12 semanas (Owens et al., 1991) antes da data prevista do parto. Um estudo conduzido pela equipe de pesquisadores da Louisiana (Owens et al., 2001) demonstrou que o terceiro trimestre (12 semanas antes da data prevista do parto) pareceu ser o mais eficaz para tratar as glândulas mamárias de novilhas com as preparações intramamárias de antibióticos recomendadas para vacas secas.

Dado o risco de eliminação de resíduos de antibióticos através do leite de novilhas primíparas após tratamento intramamário com antibióticos, pesquisadores da Universidade do Tennessee (Oliver et al., 2004; Oliver et al., 2003; Oliver et al., 1997; Oliver et al., 1992) avaliaram a eficácia das terapias indicadas para vacas em lactação para o tratamento das infecções intramamárias (IIM) em novilhas. O tratamento com preparações de antibióticos para uso em lactação, contendo cloxacilina, cefapirina e penicilina-novobiocina 7 a 14 dias antes da data prevista para o parto foi eficaz para a resolução das IIM em novilhas. De maneira geral, não se detectaram resíduos a partir de três dias após o parto, momento em que o leite já não contém colostro e pode ser ordenhado para venda. Desta forma, o tratamento durante o último trimestre de gestação parece ser o mais vantajoso, considerando o sucesso da terapia durante esta fase, o baixo risco de acúmulo de resíduos de antibióticos no leite durante o período peri-parto e o manejo mais intensivo das novilhas por ocasião do parto. Embora vários estudos sobre a eficácia do tratamento intramamário no peri-parto em novilhas sugiram que esta abordagem poderia reduzir as IIM, somente um estudo conduzido em um único rebanho (Oliver et al., 2003) demonstrou que esta prática é economicamente viável, resultando em aumento da produção de leite e redução em CCS. Assim, parecia necessário conduzir estudos complementares para avaliar a real viabilidade da terapia intramamária com antibióticos em novilhas primíparas, envolvendo vários rebanhos.

Novilhas prenhes (n = 545) de 9 rebanhos em 7 estados (EUA) e uma província (Canadá) foram incluídas em um estudo para testar a hipótese de que a terapia intramamária pré-parto poderia curar infecções intramamárias (IIM) existentes e resultar em maior produção de leite, redução da contagem de células somáticas e melhora do desempenho reprodutivo. A secreção láctea dos quartos mamários era coletada 10 a

21 dias antes da data prevista para o parto e as novilhas eram aleatoriamente designadas para receber terapia intramamária, que consistia de um tubo de cefapirina por quarto, indicada para vacas. As novilhas controle não foram tratadas. Em geral, 34,1% dos quartos mamários foram considerados infectados por patógenos causadores de mastite antes do parto. Os estafilococos coagulase-negativos foram responsáveis pela maioria das infecções intramamárias pré-parto (74,8%). *Staphylococcus aureus*, estreptococos ambientais e coliformes responderam por 24,5% das infecções pré-parto. Os quartos infectados pré-parto tratados com antibiótico apresentaram uma taxa de cura de 79,9%. Os quartos controle apresentaram uma taxa de cura espontânea de 31,7%. O tratamento teve efeito significativo ($P < 0,001$) sobre a taxa de cura dos quartos infectados, mas não afetou significativamente a produção de leite nem a transformação logarítmica da contagem de células somáticas (LCCS) nos primeiros 200 dias de lactação. Não houve efeito significativo sobre o número de serviços por concepção nem sobre o número de dias abertos quando os grupos de tratamento e controle foram comparados. Embora este estudo tenha demonstrado que a terapia intramamária pré-parto com antibióticos tenha reduzido a incidência de IIM em novilhas, esta melhora na saúde do úbere não se traduziu em melhora significativa de produção de leite nem em melhor desempenho reprodutivo durante os primeiros 200 dias da primeira lactação.

CONCLUSÃO

A mastite em novilhas não é tão rara quanto se acreditava no passado. As infecções intramamárias por estafilococos coagulase negativos são a forma mais prevalente de mastites em novilhas. Entretanto, infecções por estafilococos coagulase positivos podem ter prevalência de 5-8% em novilhas, dependendo da região. Regiões de clima quente podem ter a maior prevalência e trabalhos conduzidos na Louisiana sugerem que moscas podem transmitir esta doença e que o controle de moscas pode ser eficaz para reduzir a incidência da mastite em novilhas. Estudos realizados no estado de Washington indicam que a colonização pré-parto da pele da região inguinal de novilhas pode ser um fator de risco para o desenvolvimento de IIM no período pós-parto. Não existe, entretanto, um único método eficaz de controle. Um segundo estudo realizado no estado de Washington concluiu que rebanhos que importam novilhas de reposição apresentam maior número de cepas de *S. aureus* e uma maior prevalência de infecções intramamárias por *S. aureus* que outros rebanhos. Além disso, rebanhos fechados parecer apresentar menor incidência de problemas com infecções por *S. aureus*. Este dado pode sugerir que biossegurança pode ser importante para o controle de mastite por *S. aureus*, caso seja possível identificar os animais portadores. Logicamente, o uso de tratamento pré-parto com antibióticos, nos moldes da terapia intramamária de vacas secas, pode ter um importante papel no controle da mastite em novilhas. Trabalhos indicaram excelentes reduções na prevalência de IIM em novilhas com a utilização de tais tratamentos. Somente um único estudo demonstrou que haveria também uma vantagem econômica, traduzida em maior produção de leite e redução da contagem de células somáticas em novilhas que receberam antibióticos intramamários pré-termo. Um estudo conduzido em 6 estados americanos e em uma província canadense em 9 rebanhos não demonstrou que tal terapia seria capaz de aumentar a produção de leite na primeira lactação nem reduzir a contagem de células somáticas. Entretanto, tal terapia reduziu significativamente as infecções intramamárias durante a lactação. Assim, parece que a redução na incidência de infecções intramamárias em novilhas observada no estudo multicêntrico, não resultou em aumento da produção de leite nem redução de contagem de células, não resultando em vantagem econômica. Deve-se salientar que os resultados preliminares de um estudo recentemente conduzido na Holanda sugerem que o sucesso da terapia intramamária pré-parto com antibióticos pode ser uma função da prevalência de mastite no rebanho; o maior sucesso econômico estaria associado a rebanhos com altas contagens de células somáticas. Por sua vez, estas observações podem sugerir que tal eficácia pode ser ainda maior quando a mastite é causada predominantemente por importantes patógenos nas novilhas e a cura destas infecções levaria a aumento da produção de leite, redução da contagem de células somáticas e, portanto, vantagem econômica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Cook, W.F., E.A. Fiez, and L.K. Fox. 1992. Mastitis in first lactation southwest Idaho dairy cows. *J. Dairy Sci.* 75(Suppl. 1):158
- Fox, L. K., S. T. Chester, J. W. Hallberg, S. C. Nickerson, J. W. Pankey, and L. J. Weaver. 1995. Survey of intramammary infections in dairy heifers at breeding age and first parturition. *J. Dairy Sci.* 78:1619-1628.
- Hallberg, J.W., K.J.Dame, S.T. Chester, C.C. Miller, L.K.Fox, S.C. Nickerson, J.W. Pankey and L.J. Weaver. 1995. The visual appearance and somatic cell counts of mammary secretions collected during gestation and early post-partum from primigravid heifers. *J. Dairy Sci.* 78:1629-1636.
- Middleton J.R., L.K. Fox, J.M. Gay, J.W. Tyler, and T.E. Besser. 2002. Use of pulsed-field gel electrophoresis for detecting differences in *Staphylococcus aureus* strain populations between dairy herds with different cattle importation practices. *Epidemiol. Infect.* 129:387-395.
- Myllys, V. 1995. *Staphylococci* in heifer mastitis before and after parturition. *J. Dairy Res.* 62:51-60.
- Nickerson, S. C., W. E. Owens, and R. L. Boddie. 1995. Mastitis in dairy heifers: Initial studies on prevalence and control. *J. Dairy Sci.* 78:1607-1618.
- Pankey, J.W., P.A. Dreschler, and E.E. Wildman. 1991. Mastitis prevalence in primigravid heifers at parturition. *J. Dairy Science* 74:1550
- Oliver, S. P., B. E. Gillespie, S. J. Ivey, M. J. Lewis, D. L. Johnson, K. C. Lamar, H. Moorehead, H. H. Dowlen, S. T. Chester, and J. W. Hallberg. 2004. Influence of Prepartum Pirlimycin Hydrochloride or Penicillin-Novobiocin Therapy in Mastitis in Heifers During Early Lactation. *J. Dairy Sci.* 87:1727-1731.
- Oliver, S. P., M. J. Lewis, B. E. Gillespie, H. H. Dowlen, E. C. Jaenicke, and R. J. Roberts. 2003. Prepartum antibiotic treatment of heifers: Milk production, milk quality and economic benefit. *J. Dairy Sci.* 86(4):1187-1193.
- Oliver, S. P., M. J. Lewis, B. E. Gillespie, and H. H. Dowlen. 1997. Antibiotic residues and prevalence of mastitis pathogen isolation in heifers during early lactation following prepartum antibiotic therapy. *J. Vet. Med. B* 44:213-220.
- Oliver, S. P., M. J. Lewis, B. E. Gillespie, and H. H. Dowlen. 1992. Influence of prepartum antibiotic therapy on intramammary infections in primigravid heifers during early lactation. *J. Dairy Sci.* 75:406-414.
- Owens, W. E., S. C. Nickerson, P. J. Washburn, and C. H. Ray. 1991. Efficacy of a cephalosporin dry cow product for treatment of experimentally induced *Staphylococcus aureus* mastitis in heifers. *J. Dairy Sci.* 74:3376-3382.
- Owens, W. E., S. C. Nickerson, R. L. Boddie, G. M. Tomita, and C. H. Ray. 2001. Prevalence of mastitis in dairy heifers and effectiveness of antibiotic therapy. *J. Dairy Sci.* 84(4):814-817.
- Owens, W. E., S. C. Nickerson, P. J. Washburn, and C. H. Ray. 1991. Efficacy of a cephalosporin dry cow product for treatment of experimentally induced *Staphylococcus aureus* mastitis in heifers. *J. Dairy Sci.* 74:3376-3382.
- Roberson, J.R., L.K. Fox, and D.D. Hancock. 1994a. Ecology of *Staphylococcus aureus* isolated from various sites on dairy farms. *J. Dairy Sci.* 77:3354-3364.
- Roberson, J.R., L.K. Fox, D.D. Hancock, and C.C. Gay. 1994b. Coagulase positive *Staphylococcus* intramammary infections in dairy heifers. *J. Dairy Sci.* 77:958-969.
- Trinidad, P., S. C. Nickerson, and T. K. Alley. 1990. Prevalence of intramammary infection and teat canal colonization in unbred and primigravid dairy heifers. *J. Dairy Sci.* 73:107-114.

AVALIANDO O DESEMPENHO DE ORDENHA

D. J. Reinemann¹, G.A. Mein², M.D. Rasmussen³, e P.L. Ruegg¹

¹ Universidade de Wisconsin - Madison, EUA

² Universidade de Melbourne, Austrália

³ Instituto Dinamarquês de Ciências Agrícolas, Foulum, Dinamarca

INTRODUÇÃO

O desempenho do processo de ordenha é avaliado subjetivamente em cada ordenha pelo operador ou operadores e pelas vacas. Contudo, pode haver interpretações muito diferentes do que é considerado como uma “ordenha de sucesso”. Este trabalho traz uma visão geral de problemas comuns relacionados à máquina e ao operador e oferece algumas diretrizes para os métodos de avaliação. O principal objetivo de qualquer avaliação é esclarecer e enfatizar as interações entre o equipamento de ordenha, a vaca e operador. Este trabalho enfoca principalmente a informação que pode ser obtida com as observações realizadas durante a ordenha e, em menor grau, as mensurações feitas entre as ordenhas ou de outras fontes.

A Tabela 1 traz um resumo de problemas relacionados com a ordenha e algumas outras características e causas. Os problemas da ordenha relacionam-se com várias categorias amplas como eficiência da mão de obra, baixa produção de leite, baixa qualidade do leite, vacas nervosas ou operadores insatisfeitos. Dentro de cada uma destas áreas, pode-se medir uma ampla variedade de características que poderiam estar relacionadas direta ou indiretamente com o problema. Algumas são mais óbvias do que outras, e os observadores podem ter preferências diferentes por alguns testes ou medidas. As características podem ser subdivididas em medidas ou observações relacionadas à vaca, ao operador, à máquina ou ao ambiente. Ainda que o ambiente possa ter uma grande influência sobre fatores específicos, seu impacto não é o principal objetivo deste trabalho. As seções que se seguem oferecem diretrizes para selecionar os tipos de testes ou observações que podem ser apropriados para a resolução de tipos particulares de problemas relacionados à ordenha. Hamann, 1997 apresentou diretrizes para a avaliação da influência das ações do operador, comportamento animal, características da ordenhadeira mecânica e condições de alojamento sobre o processo de ordenha, baseando-se em uma revisão da literatura científica publicada a respeito. Nos oito anos que se seguiram, pesquisadores e profissionais clínicos usaram estes métodos, acrescentaram novos métodos de avaliação e determinaram sua utilidade para a aplicação no campo. Esta monografia atualiza a revisão da literatura científica e apresenta os métodos que comprovaram sua utilidade na aplicação prática no campo por consultores da área leiteira, especialistas em saúde do úbere e competentes técnicos de ordenhadeiras mecânicas. O nosso objetivo é trazer sugestões para medidas que quantifiquem diversos aspectos do desempenho de ordenha. Esta quantificação pode proporcionar a base para que sejam feitas recomendações no processo de ordenha e para determinar se uma intervenção prescrita produziu um benefício positivo.

VERIFICAÇÕES SIMPLES DA MÁQUINA E OBSERVAÇÕES DO TEMPO DE ORDENHA

Este nível de teste não tem por objetivo substituir os testes regulares da máquina nem o atendimento por técnicos qualificados. Um estudo realizado na França indicou que os problemas mais comuns das ordenhadeiras são o nível inadequado de vácuo, defeitos do pulsador e má condição dos componentes do conjunto, sendo que todos eles exigem a atenção da assistência técnica (Sauvee et al., 1998). Estas verificações simples destinam-se muito mais a ajudar na identificação de possíveis causas ligadas à ordenhadeira ou ao manejo da ordenha que resultam em ordenha lenta ou incompleta, de problemas ligados à condição dos tetos ou ajustes da máquina feitos pela assistência técnica.

Tabela 1. Preocupações relacionadas ao desempenho de ordenha.								
	Ordenha Lenta		Qualidade do Leite		Produção de leite	Condição do Teto	Comport. da vaca	Ordenhadores insatisfeitos
	Sintomas e quantificação da situação							
	Tempo máquina ligada (minutos) Leite por tempo de máquina ligada (kg/min)	Eficiência sala ordenha, vacas ordenhadas por hora (vacas/h)	Contagem Células Somáticas (CCS tanque de expansão e vacas individuais)	Qualidade Bacteriana do Leite (tanque de expansão CPP, CBT, Bactoscan, e outros microorg.)	Produção de leite (kg por vaca por ordenha e por dia)	Tetos ásperos, inchados, descolorados ou lesões (escurecimento e % rebanho afetado)	Pisando, coices, defecando (% vacas durante ordenha)	Lesões e queixas (difícil quantificar)
Possíveis causas e testes (ver no texto os números dos testes)								
Vacas	Alta prod. (1.16), canal do teto danificado, canal do teto diâmetro pequeno	Alta prod. (1.16), comportamento vaca (1.9)	Genética, canal do teto diâmetro grande	Mastite <i>Strep. agalactiae</i> , <i>Strep. uberis</i> (1.20)	Genética	Extrem. tetos (1.18), vaca ordenha lenta (1.16)	Raça	Mau comportamento vacas (1.9)
Operador	Remoção manual tardia (1.13, 1.17), má preparação (1.11), preparação (1.12)	Eficiência rotina de trabalho (1.10, 1.11, 1.12 1.13, 1.15)	Higienização pré e pós ordenha (1.11, 1.14), separação vacas infectadas (1.10)	Higienização vaca pré-ordenha (1.11), queda unidade (1.12) Rotinas limpeza equip. (NMC, 2004)	Manejo animal, rotina de ordenha (1.9, 1.16, 1.17), balanço unidade (1.12),	Remoção unidade manual tardia (1.13, 1.16, 1.17), cobertura imersão teto (1.14)	Manejo vacas sala de ordenha e área alojamento (1.9)	Controle ambiente trabalho, nível pagamento, deslizamento e queda unidade (1.12, 1.19, 1.21)
Ordenhadeira	Ajuste ACR (1.13, 1.17), nível vácuo ordenha (1.2, 1.4, 1.5, 1.6, 2.2, 2.3) pulsação (1.7, 2.1), desenho insuflador (1.1) manutenção (3)	No. insuficiente de conjuntos (1.15) Unidade ordenha desliza e cai (1.19) balanço unidade (1.12),	Nível vácuo ordenha (1.2, 1.4, 1.5, 1.6, 2.2, 2.3), pulsação (1.7, 2.1), desenho insuflador (1.1)	Efetividade limpeza do equipamento (1.3) Quedas da unidade de ordenha (1.19)	Ordenha completa (1.2, 1.17),	Nível vácuo ordenha (1.2, 1.4, 1.5, 1.6, 2.2, 2.3, 3), pulsação (1.7, 2.1), desenho insuflador (1.1), ajuste ACR (1.13, 1.17)	Alto vácuo ordenha (1.2, 1.4, 1.5, 1.6, 2.2, 2.3), hiper ordenha, (1.16, 1.17) insuflador não confortável (1.1), pulsação (1.7, 2.1)	Máquina funcionando corretamente (3), facilidade de uso, operadores treinados, Queda e deslizamento da unidade de ordenha (1.19)
Ambiente	Conforto vacas na área de espera e sala ordenha (1.9)	Limpeza vacas (1.8), facilidade movimentação vacas, portões, etc.	Alojamento limpo, seco, e áreas exercício para vacas (1.8)	Nível geral de higiene da granja (1.8)	Nutrição, acesso a água, stress vaca, temperatura, umidade, doença	Ambiente alojamento limpo, seco (1.8), contato produtos químicos, mudança clima	Fácil movimento vacas, iluminação, cães, outros estresses (1.9)	Ergonomia e níveis de luz nas áreas de trabalho, risco de lesões, Horário trabalho / intervalos, expectativas, comunicação (1.21)

Equipamento de teste

O equipamento necessário para teste nível de teste inclui um cronômetro, um nível de bolha de ar em álcool e um medidor de vácuo de precisão conhecida. O uso de uma coluna de mercúrio para as medidas a serem feitas na granja não é recomendado por causa dos potenciais riscos de saúde e segurança associados ao mercúrio.

Observações com a máquina desligada

Teteiras e Insufladores: Registrar a condição dos insufladores e dos tubos curtos de leite, anotando onde houver rachaduras visíveis ou distorção (abertura da câmara anular não é redonda, o insuflador do corpo da teteira não é redondo, o lábio da câmara anular não é chato, etc.). Os insufladores das teteiras devem estar em boas condições, sem rachaduras no tubo curto de leite que conecta o copo coletor, e sem alterações na superfície do lábio da câmara anular ou porção interna do corpo da teteira. Um aumento de volume e a distorção dos insufladores a ele associada é uma indicação de que foram usados por mais tempo do que permitia sua vida útil (Davis et al., 2000, Boast et al., 2004). O desempenho diminui com a idade do insuflador e suas propriedades físicas mudam (Gleeson e O'Callaghan, 1998).

Os insufladores das teteiras são desenhados de forma a se ajustar a tipos específicos de copos. Quando o insuflador está montado no copo da teteira deve ficar firme o suficiente para que uma torção não ocorra com facilidade e a câmara anular não deve ser distorcida. O comprimento do copo precisa ser equivalente ao comprimento do insuflador para que a montagem seja feita com a tensão correta (Capuco et al., 2000, Davis et al., 2000, Muthukumarappan et al., 1993, Szlachata et al., 2001, Mein et al., 1983). Deve-se medir o comprimento dos copos e comparar com a recomendação do fabricante para o tipo de insuflador que está sendo utilizado.

Observar o diâmetro do insuflador do corpo da teteira em relação ao tamanho médio dos tetos do rebanho. Um insuflador de corpo da teteira que tenha um diâmetro (medido a 75 mm do lábio da câmara anular) 1 a 2 mm menor do que o diâmetro médio do corpo da teteira (cerca de 22mm para os rebanhos típicos da raça Holandesa) parece permitir que os canais do teto da maioria das vacas se abram por completo, ao mesmo tempo em que limita a tensão interna resistente à tração aplicada sobre os tecidos da parede do teto (Williams & Mein, 1982). Se o diâmetro do corpo da teteira for substancialmente maior do que o diâmetro do teto, o insuflador ficará em uma posição muito alta no teto e o vácuo da câmara anular será relativamente elevado. Por outro lado, se o diâmetro do corpo da teteira for acentuadamente menor do que o diâmetro do teto, o insuflador ficará em uma posição muito baixa no teto (Rasmussen et al., 2004).

É preciso que o insuflador colapse ao redor da extremidade do teto para aliviar as tensões sobre os tecidos do teto induzidos pelo vácuo da ordenha. A zona efetiva de colapso para o insuflador é a parte do insuflador no corpo da teteira que as paredes tocam quando o vácuo da ordenha é aplicado ao insuflador enquanto estiver montado no corpo da teteira (Mein et al., 2004). A distância do lábio da câmara anular até a PARTE SUPERIOR da zona de colapso deve ser curta o suficiente para que o insuflador colapse ao redor dos tetos mais curtos do rebanho. A distância do lábio da câmara anular até a PARTE INFERIOR da zona de colapso deve ser longa o suficiente para que o insuflador colapse ao redor dos tetos mais longos do rebanho. Insufladores de diâmetro grande precisam ser mais longos porque o teto penetra mais profundamente em um insuflador com diâmetro maior. De acordo com Mein (1992), para os insufladores feitos de borracha natural ou sintética a distância do lábio da câmara anular até a parte final da zona de colapso deve ser maior do que:

- 135 mm para insufladores com diâmetro interno de 21-22 mm na porção média do corpo da teteira.
- 140 mm para insufladores com diâmetro interno de 23-24 mm na porção média do corpo da teteira.
- 145 mm para insufladores com diâmetro interno ≥ 25 mm na porção média do corpo da teteira.

Copos coletores: Observar a condição dos orifícios de entrada de ar nos copos coletores ou insufladores. No copo coletor, o orifício de entrada de ar deve estar livre, sem bloqueio. Em geral, os orifícios de entrada de ar nos copos coletores têm um diâmetro que varia de 0,5mm a 1,2 mm. O fluxo de ar mínimo para o copo coletor recomendado na ISO 5707 é 4 l/min de ar a pressão atmosférica. Para as vacas de ordenha rápida, entretanto, uma entrada de ar de 7 a 12 l/min irá minimizar a queda no vácuo e melhorar a estabilidade do vácuo (Bruckmaier et al., 1996, Johnson et al., 1994). Orifícios bloqueados reduzem o vácuo da ordenha. Medir o diâmetro dos orifícios de entrada de ar usando ferramentas especiais, disponibilizadas pelo fabricante, ou medir a entrada de ar usando um medidor de fluxo de ar apropriado. Estes valores devem ser comparados com a especificação do fabricante para determinar se os orifícios de entrada de ar estão adequados, e não sobredimensionados. Válvulas de fechamento automático no copo coletor reduzem a quantidade de ar não intencional e a entrada de debris durante a queda da unidade.

Linha do leite: Se a estabilidade do vácuo na linha do leite durante a ordenha indicar que pode estar ocorrendo fluidização agregativa (“slugging”), a inclinação da linha do leite deve ser medida. Deve haver uma inclinação contínua da linha do leite em direção à unidade final. Uma inclinação mínima de 1% é recomendada para facilitar a drenagem do leite e das soluções de limpeza. Foi demonstrado que inclinações de até 2% aumentam a capacidade de condução do leite e melhoram ainda mais a drenagem (Reinemann et al., 1995). É particularmente importante manter uma inclinação adequada da linha do leite próximo à unidade final e em áreas de cotovelos e encaixes. A entrada do leite deve ocorrer na metade superior da linha. As linhas do leite de nível elevado devem ser montadas tão baixo quanto for prático acima das vacas, e nunca mais do que 2 metros acima do nível de estação das vacas.

Testes a seco – Máquina funcionando mas sem ordenha

Nível de vácuo operacional: Verificar o vácuo operacional e a leitura do manômetro de vácuo da granja, comparando com um manômetro de vácuo separado, de precisão conhecida. Muitas vezes, os manômetros da granja estão danificados e não são precisos. Algumas vezes, a agulha indicadora fica presa e não se movimenta acima do nível de vácuo operacional para indicar um nível elevado de vácuo se o regulador falhar. Se o manômetro de vácuo da granja não estiver funcionando ou não for preciso, é necessário substituí-lo. O regulador de vácuo deve ser ajustado para que o vácuo médio do copo coletor seja 32-40 kPa durante o fluxo pico (ver seção 2.2 e ISO 5707). Níveis de vácuo mais baixos durante a ordenha prolongam o tempo em que a máquina fica ligada (Provolto et al., 1998), aumenta a frequência de deslizamentos do regulador, diminui a taxa de fluxo do leite e pode reduzir a produção de leite (Rasmussen e Madsen, 2000), enquanto que um nível de vácuo mais alto pode levar a uma congestão dos tecidos do teto, más condições da pele do teto e uma ordenha incompleta (Hamann et al., 1994; Mihina et al., 1998; Rasmussen e Madsen 1998; Reinemann et al., 2001a).

Resposta do regulador: Um teste simples da resposta do regulador é ouvir o som do ar entrando em um regulador convencional, ou a velocidade da bomba de vácuo se dispuser de um acionamento de frequência variável (VFD), quando o ar entrar através das unidades de ordenha. Abrir unidades de ordenha em número suficiente para que o ar que tenha entrado reduza o vácuo da unidade final em cerca de 3 kPa. Isto deveria fazer com que um regulador convencional fechasse, o que resultaria em uma redução notável no sibilo causado pelo ar entrando no regulador. O aumento nas rotações RPM da bomba de vácuo também

deve ser observado imediatamente, como resposta a esta entrada de ar. Se não parecer que o sistema está respondendo, examinar os filtros do regulador e as linhas de ar para os sensores do regulador. Se a limpeza destes componentes não melhorar a resposta, a empresa responsável pela assistência técnica deve ser chamada.

Teste de queda da unidade: Uma ordenhadeira deve ter capacidade para fluxo de ar suficiente para atender às necessidades operacionais normais da máquina, mais a entrada de ar não intencional que pode ocorrer durante a colocação ou a queda da unidade (ISO 5707). Um teste de queda da unidade pode ser realizado para determinar se a ordenhadeira tem capacidade de reserva suficiente. Medir o vácuo médio na unidade final com todas as unidades em operação e todas as teteiras ligadas. Abrir então uma unidade de ordenha para permitir a entrada de ar nas quatro teteiras e medir novamente o vácuo médio na unidade final (ISO 6690). Se o nível médio de vácuo na unidade final cair menos do que 2kPa, o sistema tem capacidade de reserva suficiente para lidar com uma queda da unidade (ISO 5707).

Pulsação: Ouvir com atenção cada pulsador como uma primeira verificação da uniformidade entre as unidades. O som de ar entrando no pulsador deve ser regular e intermitente. Esta verificação simples torna-se mais sensível cobrindo-se parcialmente a entrada de ar com um dedo. Um sibilo contínuo indica um vazamento (geralmente detritos ou sujeira) sob a sede da válvula do pulsador. Verificar se o filtro de ar do pulsador ou a entrada de ar está limpa, sem nenhuma obstrução. Olhar dentro de cada insuflador para assegurar que os insufladores não estejam retorcidos ou deformados em suas carcaças. Em cada conjunto, olhar atrás de pelo um insuflador para verificar se há sinais de resíduos de leite, o que poderia indicar um insuflador com fenda ou rachadura. Verificar se todos os insufladores estão pelo menos abrindo e fechando por completo em um ciclo de pulsação, acionando a válvula de fechamento do vácuo de um grupo de cada vez e colocando o polegar em uma teteira por vez. Estes testes simples são uma boa indicação da uniformidade da pulsação. Se houver qualquer dúvida sobre o desempenho do pulsador, deve-se chamar um técnico qualificado para testar os pulsadores (seção 2.1). Uma outra maneira de localizar os pulsadores que estão funcionando mal ou o mau funcionamento de componentes de uma baia individual é determinar as taxas médias de fluxo de leite por baia nas salas de ordenha equipadas com software de monitoramento das baias ou com medidores de leite (Eicker et al., 2000).

Observações durante a ordenha

O manejo da ordenha pode ter uma influência muito maior no sucesso do processo de ordenha do que os fatores ligados à ordenhadeira mecânica. Uma revisão sistemática dos procedimentos de ordenha talvez seja a parte mais importante na determinação da fonte dos problemas relacionados à ordenha.

Limpeza das vacas: Observe a condição das vacas antes da ordenha. A limpeza das vacas é um importante fator na determinação da eficiência da ordenha e da taxa de infecção intramamária. Estima-se que o tempo de preparação das vacas seja duas vezes maior para aquelas que entram na sala de ordenha com os úberes sujos, o que diminui o fluxo através da sala de ordenha (Reneau e Chastain, 1995). As práticas de manejo que reduzem a exposição da extremidade do teto a microrganismos ambientais irão reduzir o risco de desenvolvimento de mastite. Estudos realizados na França (Doumalin, 1995) e nos Estados Unidos (Schreiner e Ruegg, 2003) demonstraram que a limpeza do teto e do úbere está correlacionada com uma contagem média de células somáticas menor no rebanho. Em um grande estudo de campo realizado por Barkema et al, (1999), a taxa de incidência de mastite clínica causada por *Streptococcus uberis* e *Escherichia coli* estava associada com fatores relacionados com o alojamento dos animais.

Materiais usados como cama que sejam limpos, secos e confortáveis irão minimizar o crescimento de patógenos. Materiais inorgânicos como areia reduzem o número de patógenos se o material fecal for retirado diariamente da cama das baias e a areia for completada quando necessário. Outras melhorias na limpeza das vacas podem ser conseguidas removendo os pelos do úbere. É uma boa prática remover rotineiramente os pelos do úbere duas vezes por ano e manter a vassoura da cauda aparada. A limpeza dos tetos e partes do úbere que entram em contato com o insuflador durante a ordenha pode ser anotada segundo uma escala de 1 = limpo a 4 = completamente coberto por sujeira (Schreiner e Ruegg, 2003). Menos de 5% das vacas devem ser classificadas como molhadas e/ou sujas antes da preparação e todos os tetos devem estar limpos no momento da colocação da ordenhadeira.

Manejo das vacas e comportamento: As técnicas de manejo das vacas devem ser examinadas se as vacas relutarem em entrar na área de ordenha ou se defecarem com frequência durante a ordenha. A pesquisa mostra claramente que as interações homem/vaca podem ter uma importante influência sobre o processo de ordenha (Bondar, 1992; Seabrook, 1994; Munksgaard et al., 2001; Rushen et al., 2001). Se o manejo for bom, poucas vacas devem reagir de forma agressiva ao preparo pré-ordenha (Bondar, 1990). O manejo das vacas é um importante determinante da eficiência de ordenha. A liberação de adrenalina nos 30 minutos que antecedem o início da ordenha pode interferir com a descida do leite e prolongar o tempo na unidade (Svennersten-Sjauna et al., 2003). As vacas calmas entram na sala de ordenha sem dificuldade e geralmente não defecam na sala. Se mais de 5% das vacas defecarem ou escoicearem a unidade de ordenha ou o operador durante a ordenha, os procedimentos de manejo dos animais devem ser revistos.

Agrupamento das vacas: Observar se as vacas são agrupadas de acordo com o status de infecção por mastite. Vacas não infectadas devem ser agrupadas e ordenhadas para minimizar a exposição às vacas reconhecidamente infectadas, com mastite subclínica. Também observar os métodos usados para detecção, manejo e registro dos casos clínicos de mastite. É seguro pressupor que as vacas com diversos escores lineares de 4 ou mais (CCS>250,000) têm infecção crônica. A maioria das vacas que de forma consistente têm escores lineares <4 não estão infectadas. Vacas com um único escore elevado ou com escores flutuantes caem na categoria de situação desconhecida. Novilhas recém paridas geralmente são classificadas no grupo não infectado até que sua primeira CCS seja obtida. Vacas adultas recém paridas devem ser classificadas com base em seu status CCS anterior ou resultados de culturas obtidas ao parto. O escore CMT (California Mastitis Test) do colostro pode ajudar a detectar os quartos suspeitos, que apresentam uma diferença de mais de 2 escores CMT em uma escala de 5 pontos em relação ao quarto com o menor escore. Recomenda-se realizar o CMT e fazer o escore de todas as vacas recém paridas, vacas que vão entrar no período seco e vacas que tiveram a mastite tratada antes de voltar novamente ao rebanho normal. Em operações com sala de ordenha free-stall, as vacas não infectadas devem ser agrupadas e ordenhadas primeiro. Vacas com status de infecção desconhecido são ordenhadas a seguir e as vacas infectadas são ordenhadas por último. No sistema free-stall, o status de infecção pode ser usado para ordenar as vacas dentro do galpão para que as vacas infectadas sejam sempre ordenhadas por último. Como alternativa, uma ou mais unidades de ordenha podem ser identificadas e usadas sempre em vacas infectadas. O risco de uma nova infecção é alto imediatamente antes e depois da parição. Por isso, devem ser tomados cuidados especiais, ordenhando vacas recém paridas com uma ordenhadeira sanitária.

Preparação da vaca pré-ordenha: Observar os procedimentos de preparação da vaca na pré-ordenha e medir o tempo total despendido em contato com cada vaca. A preparação pré-ordenha é realizada para limpar os tetos antes da colocação da unidade de ordenha, verificar se há mastite clínica e leite anormal e estimular a descida do leite. Se houver uma preocupação com questões de qualidade do leite, observar se a higienização do teto antes da ordenha é completa. A higienização da extremidade do teto é importante para reduzir o número de bactérias no teto antes da colocação da unidade de ordenha, reduzindo desta

forma a transferência de microrganismos de vaca para vaca por meio da ordenhadeira. A desinfecção apropriada da extremidade do teto pode reduzir em 75% as bactérias da superfície (Ruegg et al., 2000; Galton et al., 1984; Galton et al., 1986). Há uma associação entre a pré-imersão com um produto sanitizante e a redução do conteúdo de patógenos no leite (Hassan et al., 1999), e esta prática mostrou-se eficaz no controle de patógenos ambientais (*E. coli* e estreptococos ambientais), mas tem uma eficácia limitada contra estafilococos coagulase negativos (Pankey, et al, 1987; Ruegg e Dohoo, 1997). Ainda que a limpeza dos tetos com água e a posterior secagem reduzam o número de microrganismos na pele do teto, a redução é significativamente maior quando os tetos são desinfetados (Brito et al., 2000). Para a maioria dos sanitizantes, é necessário que o tempo de contato seja de 20-30 segundos para que haja uma desinfecção eficaz.

Se uma lavagem for necessária para remover o excesso de esterco, foi demonstrado que os seguintes métodos reduzem o número de patógenos de forma significativa: 1) lavar somente os tetos; 2) usar um mínimo de água; 3) os tetos devem ser cuidadosamente secos (Rasmussen, 2000). A parte mais importante do processo de desinfecção dos tetos é a secagem completa das extremidades dos tetos. A secagem com ar não é um substituto satisfatório para a secagem manual, com uma toalha individual de pano ou papel. A água nos tetos ajuda no transporte de bactérias e as concentra na abertura do canal do teto. Em um estudo de Rasmussen et al., (1991), as toalhas de pano foram mais eficientes do que as de papel na remoção dos patógenos. Quando usadas, as toalhas de pano devem ser desinfetadas lavando com água sanitária ou água muito quente, e secas em secadora automática a temperaturas elevadas (Fox, 1997). Para verificar a eficácia da higienização e secagem do teto, pode-se esfregar um swab limpo na extremidade do teto antes da colocação da unidade de ordenha. O swab de um teto adequadamente preparado irá permanecer limpo. Um swab sujo indica que os métodos de preparação do teto devem ser melhorados.

Se houver uma preocupação com a qualidade do leite, observar se é feita a retirada dos primeiros jatos de leite. Esta retirada desempenha um papel crucial na redução das contagens de células somáticas no tanque de expansão, identificando vacas e quartos mamários com leite anormal. Foi demonstrado que o exame do colostro está associado com a redução de patógenos no leite do no tanque de expansão (Hassan, et al., 1999). Em 20% das granjas leiteiras, os ordenhadores não fazem a retirada dos primeiros jatos de leite antes da ordenha, fato que é identificado como tendo efeitos significativos sobre as contagens bacterianas e de células somáticas (Helmuth, 1996). Esta retirada deve ser praticada de forma a evitar a transferência de patógenos de vaca para vaca pelas mãos dos ordenhadores. Em rebanhos grandes, com longas jornadas de trabalho, a retirada dos primeiros jatos de leite pode ser uma tarefa que exige muito dos ordenhadores. Nestes casos, o enfoque deve ser nas vacas sob risco, isto é, durante o primeiro mês de lactação, vacas com CCS levedas e vacas com tendência a serem secas.

Se as taxas médias de fluxo de leite forem baixas, observar a rotina de ordenha para documentar o tempo de estimulação e o tempo de preparação (Worstorff e Dethlefsen, 1994; Reneau e Chastain, 1995). Observar também a porcentagem de vacas que recebem injeção de ocitocina como parte da rotina de preparação pré-ordenha. O tratamento crônico com ocitocina não deve ser necessário se uma estimulação adequada for parte da rotina pré-ordenha. Além disso, foi demonstrado que o tratamento crônico com ocitocina causa uma redução na ejeção do leite (Bruckmaier, 2003). O tempo de preparação pode ser estimado usando dados de salas de ordenha equipadas com medidores de leite (Eicker et al., 2000). A estimulação pré-ordenha do teto promove uma indução da ejeção de leite alveolar antes do início da ordenha, evitando desta forma as curvas bimodais de fluxo de leite (isto é, a interrupção do fluxo de leite depois da retirada do leite da cisterna), reduzindo o tempo que a ordenhadeira permanece na vaca (Bruckmaier e Blum, 1996, Bruckmaier e Blum, 1998, Bruckmaier et al., 2001). Em um amplo estudo de campo, o tempo de preparação teve um efeito significativo sobre a duração do fluxo de leite e o tempo em que a ordenhadeira

esteve ligada (Turki e Winnicki, 2001). A combinação de uma limpeza eficiente do teto e a retirada dos primeiros jatos de leite geralmente resulta em uma estimulação suficiente para a descida do leite em vacas leiteiras. Dez a vinte segundos de estimulação tátil é considerado como suficiente para promover a resposta de descida do leite em vacas Holandesas. Diferentes raças, entretanto, podem ter diferentes necessidades de estimulação (Bruckmaier, 1998; Costa e Reinemann, 2003). Uma preparação mais longa, por exemplo, aumentou significativamente a produção de leite de vacas Jersey na Dinamarca, mas não de vacas Holandesas nos Estados Unidos ou na Dinamarca (Rasmussen et al., 1992). Vacas em uma fase mais tardia da lactação podem requerer uma estimulação maior (Kiiman e Saveli, 2000) e o retardo na ejeção do leite depois do início da estimulação do teto muda durante o curso da lactação e depende do intervalo desde a ordenha anterior (Bruckmaier et al., 2001). Foi demonstrado que um retardo de cerca de um minuto entre a estimulação e a colocação da unidade de ordenha minimiza o tempo de coleta do leite (Rasmussen et al., 1992; Reneau e Chastain, 1995; Turki e Winnicki, 2001).

Colocação da unidade: Se houver uma preocupação com a estabilidade do vácuo na linha do leite, as unidades de ordenha que escorregam e se soltam ou a ordenha não for uniforme, deve-se registrar o método de colocação da unidade. A quantidade de ar que penetra durante a colocação da unidade é o fator isolado que tem a maior influência sobre o “slugging” na linha do leite e as quedas resultantes no vácuo (Reinemann et al., 1995). Observar se o ar está penetrando por uma única teteira ou múltiplas teteiras durante a colocação da unidade. Também observar se há algum esforço para limitar a quantidade de ar que penetra durante a colocação da unidade. Observar se as unidades são ajustadas de modo a pender uniformemente do úbere e se os suporte da mangueira estão sendo usados e/ou usados de forma efetiva. O tubo longo de leite deve ter suporte efetivo e as unidades devem ser ajustadas para que o peso do conjunto seja distribuído de maneira uniforme entre os 4 tetos. A distribuição uniforme do peso do conjunto e o suporte adequado para o tubo longo de leite irão fazer com que o insuflador escorregue menos e as unidades caiam menos, além de uma ordenha mais uniforme entre os quartos mamários.

Retirada da unidade: Se houver uma preocupação com a velocidade da ordenha e a ordenha ser completa, deve-se observar os métodos para retirada da unidade e avaliar o rendimento do repasse (ver seção 1.17). A retirada precoce da unidade pode resultar em uma redução da produção de leite e promover o desenvolvimento de uma mastite subclínica para uma fase clínica. A sobreordenha é o momento de maior risco de dano aos tecidos do teto (Hillerton et al, 2002b). Um experimento dinamarquês demonstrou que quando o ajuste do limiar nos Removedores Automáticos do Conjunto (ACR – Automatic Cluster Removers) era elevado de 0,2 kg/min para 0,4 kg/min, o tempo de acionamento da unidade era reduzido em meio minuto e havia uma melhora na condição do teto (Rasmussen, 1993). As unidades de ordenha devem ser removidas imediatamente quando a taxa de fluxo do leite do úbere cair abaixo de um endpoint de cerca de 0,3 a 0,5 kg/min. Ajustes em limiares mais elevados e retardos mais curtos na retirada resultam em uma melhor condição do teto e maior velocidade de ordenha, e têm sido aplicados com sucesso em rebanhos com ordenhas três vezes por dia, usando rotinas de ordenha com estimulação e tempos de preparação ótimos (Reid e Stewart, 1997; Stewart et al., 2002).

A função do ACR pode ser avaliada desconectando o mecanismo de remoção do copo coletor e observando o fluxo de leite em relação ao tempo em que a unidade é removida. Tanto na remoção manual como na automática, os conjuntos devem ser removidos desligando primeiro o vácuo para o copo coletor e depois removendo as teteiras, para que pouco ou nenhum ar entre nas teteiras quando estão sendo retiradas. Foi demonstrado que a retirada abrupta da unidade na presença de vácuo está associada com um maior risco de gradientes de pressão reversa no canal do teto (Rasmussen et al 1994). O repasse com a máquina não deve ser uma prática rotineira.

Manejo pós-ordenha: A adequacidade da pulverização ou imersão do teto após a ordenha pode ser avaliada colocando uma toalha de papel ao redor do teto. A anti-sepsia do teto após a ordenha foi inicialmente desenvolvida para reduzir a transmissão de patógenos da mastite contagiosa e recebeu ampla aceitação. As pulverizações são preferidas por alguns operadores por causa da conveniência e para evitar que a solução de imersão dos tetos seja contaminada por leite. Ainda que seja possível, na prática é difícil cobrir adequadamente o teto usando um spray como aplicador.

O último passo em uma rotina de ordenha eficiente é assegurar que as vacas permaneçam em estação pelo tempo que for possível após o término da ordenha. Esta recomendação baseia-se em estudos mostrando que os tecidos dos tetos precisam de 30 minutos a diversas horas para recuperar as condições anteriores à ordenha (Hamann et al., 1993; Neijenhuis et al., 2001a). a disponibilidade de água e ração fresca após a ordenha estimula este comportamento.

Rotinas de ordenha: Os objetivos de uma rotina de ordenha são proporcionar a higienização do teto, detectar a presença de leite anormal e de mastite clínica, além da estimulação pré-ordenha, de uma forma que seja favorável às vacas e eficiente para os ordenhadores. Há muitas maneiras de incorporar estas metas de desempenho a uma rotina de trabalho em um galpão ou sala de ordenha tie-stall. Se houver uma preocupação com a eficiência da mão de obra, documenta-se o tempo necessário para executar os diversos aspectos da rotina de ordenha.

Sistema tie-stall: Foi demonstrado que a padronização da rotina de ordenha em sistemas tie-stall ou baias individuais melhora a produção de leite (Rasmussen et al., 1990). As vacas devem ser preparadas e as unidades colocadas em um passo, com um tempo de preparação do teto de pelo menos 20 segundos. Se menos tempo for gasto na preparação, a colocação da unidade deve ser retardada em 20 a 30 segundos para evitar a ordenha de tetos vazios. Se não forem usados ACRs, é preciso dar atenção especial às unidades de retirada para evitar a sobreordenha. Para determinar a adequacidade das rotinas de ordenha, deve-se avaliar tanto a média como a variabilidade do tempo de preparação e colocação das unidades, bem como o tempo de permanência da unidade de ordenha e a sobreordenha. Quando ACRs são usados, o operador deve ordenhar com uma unidade a mais do que o necessário (com relação ao tempo na máquina), para que haja sempre uma unidade livre para ser colocada em uma vaca que acabou de ser preparada.

Salas de ordenha: Um bom desempenho na sala de ordenha começa com uma boa entrada da vaca, exige um posicionamento adequado da vaca, alinhamento correto dos conjuntos e saída imediata da vaca (Hillerton et al., 2002a). A avaliação da rotina de uma sala de ordenha deve incluir diversas medidas:

- Tempo para as vacas entrarem e saírem da sala de ordenha
- Tempo necessário para a preparação pré-ordenha da vaca e colocação da unidade
- O tempo em que a unidade de ordenha permanece na vaca
- Tempo para retirar as unidades de ordenha (se não forem usados ACRs)
- Tempo para higienização pós-ordenha.

O software de gestão de uma sala de ordenha que é usado em salas de ordenha equipadas com medidores de leite também pode ser usado para monitorar as rotinas de trabalho (Eicker et al., 2000). A medida do tempo gasto nestas tarefas pode ser usado para prever a produtividade teórica da sala de ordenha em vacas ordenhadas por hora (Armstrong e Quick, 1986; Reinemann, 1993; Chang et al., 1994; Thomas et al., 1996a, 1996b; Thomas et al., 1997). Este número pode ser comparado com a produtividade efetiva, estimando a eficiência da execução do trabalho de rotina e os fatores que resultarão em uma maior

melhoria na produtividade (Armstrong et al., 1994; Helmuth, 1996; Smith et al., 1998; Hansen, 1999; Reppo e Lindsaar, 2001).

Tempo de ordenha e taxa média de fluxo de leite: A taxa média de leite coletado é um bom indicador da eficiência da ordenha (efetividade da estimulação da vaca antes da ordenha, colocação no momento adequado da unidade de ordenha e ponto de retirada). A taxa média de coleta é calculada dividindo a produção total de leite pelo tempo total de máquina ligada. Em salas de ordenha equipadas com medidores de leite e sistemas automatizados de coleta de dados, a obtenção da taxa média de coleta para todo o rebanho é bastante fácil (Eicker et al., 2000). Se a sistema automatizado não estiver disponível, a medida deve ser feita em uma amostra aleatória de vacas do rebanho. Em um rebanho típico, uma amostra aleatória de 10 vacas permitirá uma estimativa da taxa média de fluxo dentro de uma faixa de $\pm 0,5$ kg/min. Uma amostra aleatória de 30 vacas irá melhorar a estimativa para um intervalo de $\pm 0,25$ kg/min (LeMire et al., 1998).

Estudos de campo realizados na Inglaterra (Clough et al. 1973) e nos Estados Unidos (Stewart et al. 1993) resultaram nas seguintes equações para o tempo médio de ordenha para vacas com uma produção de 10 a 20 kg de leite por ordenha. Um estudo mais recente (Reinemann et al., 2001a) reflete os tempos de ordenha mais curtos, representativos de ajustes mais agressivos nos removedores de uso comum nos EUA na época da realização daquele estudo.

$$t_m = 2,8 + 0,21 Y \quad (\text{Clough et al., 1973})$$

$$t_m = 3,6 + 0,26 Y \quad (\text{Stewart et al., 1993})$$

$$t_m = 2,7 + 0,19 Y \quad (\text{Reinemann et al., 2001a})$$

onde: t_m = tempo médio de ordenha por vaca (minutos)

Y = produção média de leite por vaca por ordenha (kg)

Em geral, os ajustes dos removedores automáticos dos conjuntos que promovem uma retirada mais precoce têm uma influência maior sobre o tempo médio de ordenha do que o aumento do nível de vácuo da ordenha, e introduz menos riscos para os tecidos do teto.

Uma baixa taxa de coleta de leite e tempos de ordenha mais longos podem resultar da interferência com a resposta de escoamento do leite devido à inquietação das vacas, estimulação inadequada das vacas, momento incorreto de colocação da unidade em relação ao escoamento do leite, problemas da ordenhadeira ou sobreordenha por causa de procedimentos inadequados de retirada.

Ordenha completa: A ordenha estar completa ou não pode ser avaliada pelo repasse manual de cada quarto imediatamente depois da retirada da ordenhadeira (Davis e Reinemann, 2001). Se as unidades de ordenha estiverem sendo removidas no momento adequado, a maioria dos quartos terá pouco ou nenhum leite presente após a retirada da unidade. É comum que o quarto de ordenha mais lenta tenha ainda algum leite presente nas partes mais baixas do úbere depois da retirada da unidade. Como orientação prática, deve-se suspeitar de um problema de ordenha incompleta se mais de 20% dos quartos tiverem mais de 100 ml de leite quando o repasse manual é feito imediatamente depois da retirada da unidade (Davis e Reinemann, 2001). As diferenças consistentes entre o resultado do repasse entre os quartos posteriores e os anteriores, ou entre o lado direito e o lado esquerdo do úbere, geralmente indicam um problema de mau posicionamento do conjunto ou um balanço de peso desigual entre as quatro teteiras.

Condição do teto: As extremidades dos tetos que se apresentam ásperas por causa da hiperqueratose excessiva são mais difíceis de limpar e parecem ter um risco um ligeiramente maior de mastite do que os tetos com aspereza moderada (Rasmussen et al., 2003; Neijenhuis et al., 2001b; Huusko, et al., 2002). Se a

mastite for motivo de preocupação, deve-se fazer um escore dos tetos com relação à gravidade dos anéis ou hiperqueratose nas extremidades dos tetos imediatamente após a retirada das unidades. A coloração avermelhada ou azul dos tetos depois da remoção da unidade indica um comprometimento circulatório, que pode contribuir para o desconforto das vacas e um tempo prolongado para a recuperação do teto. Deve-se registrar o número de tetos com uma boa condição (ausência de anel ou anel pequeno com pele lisa, sem aspereza na extremidade do teto, cor normal após a ordenha) e o número de tetos em má condição (anel elevado que se apresenta áspero e rachado, dando à extremidade do teto um aspecto de flor, ou tetos com uma descoloração azulada depois da ordenha). O critério sugerido é que menos de 20% das vacas devem ter tetos com uma condição considerada problemática. Entre os fatores do manejo da ordenha ou ligados à máquina, o tempo total por dia em que a taxa de fluxo do leite é inferior a cerca de 1 kg/min parece ter um importante efeito sobre a condição da extremidade do teto. Este fator é influenciado pelas práticas de preparação do úbere antes da ordenha ou grau de sobreordenha, bem como o equipamento de ordenha como os ajustes do ACR, alto vácuo durante a ordenha ou insufladores com câmara anular rígida. Maiores detalhes sobre os métodos para avaliar a condição do teto bovino são apresentados por Mein et al. (2001), Hillerton et al. (2001), e Reinemann et al. (2001b).

Frequência de deslizamento ou queda das teteiras: Observar o número de vezes que as unidades precisam ser ajustadas pelos operadores porque as teteiras deslizaram ou caíram. Uma meta prática é que menos de 5% das ordenhas necessitem ser corrigidas pelo operador (Mein e Reid 1996). Conjuntos pesados, distribuição não uniforme do peso dentro do conjunto, bloqueio dos orifícios de entrada de ar e vacas que escoiceiam os conjuntos são outras causas comuns de deslizamentos e quedas. Observar o estágio da ordenha em que ocorrem. Conjuntos de ordenha ou linha de leite com vazão excessiva tendem a causar o deslizamento ou queda no início da ordenha. Um insuflador com desenho inadequado, distribuição desigual do peso entre as quatro teteiras dentro do conjunto, e vacas escoiceando os conjuntos são as causas mais comuns de deslizamento e queda mais no final da ordenha.

Qualidade bacteriana do leite: A avaliação bacteriana do leite do tanque de expansão é feita periodicamente em todas as granjas, para assegurar que todas as exigências nacionais, estaduais e locais de processamento de leite estejam sendo atendidas. Em geral, estes testes incluem a contagem de células somáticas (CCS), a contagem padrão em placas (CPP) e podem incluir também a contagem preliminar à incubação (PI) ou outros testes. Estes testes proporcionam uma medida global da qualidade do leite mas têm pouco valor diagnóstico na determinação da fonte da contaminação bacteriana.

As duas principais fontes de bactérias no leite não pasteurizado são os microrganismos transportados do ambiente para o sistema de ordenha e os microrganismos da mastite presentes dentro do úbere. O crescimento bacteriano pode ocorrer durante a ordenha e pode ser uma preocupação significativa à medida que passa o tempo de ordenha. A contagem de coliformes do tanque de expansão proporciona uma indicação da limpeza do ambiente das vacas entre as ordenhas e a eficácia dos procedimentos de preparação da vaca durante a ordenha (ver seção 1.8). Se o sistema de ordenha e o equipamento usado com o leite não forem adequadamente limpos e higienizados, as bactérias depositadas podem multiplicar-se e tornar-se uma importante fonte de contaminação do leite não pasteurizado. Elevadas contagens de bactérias termorresistentes são o melhor indicador de uma falha na limpeza. Outros detalhes sobre os métodos de teste para diagnosticar problemas de qualidade bacteriana do leite são encontrados em NMC (2004) e Ruegg e Reinemann (2002).

Condições de trabalho: Observar o número de horas de trabalho que se espera dos operadores e o número de intervalos que são feitos. Observar também a posição do corpo e os movimentos repetitivos deste operadores. A postura de trabalho em uma sala de ordenha elevada deve ser o mais próxima possível

de uma postura ereta, com braços e mãos em uma posição de trabalho natural. As dimensões da sala e a localização das estações de ordenha devem ser projetadas de forma a acomodar boas posturas de trabalho (Gaudin et al., 1998). Observar se a rotina de trabalho exige uma inclinação repetida das costas e movimentos não naturais dos punhos quando os operadores estão preparando as vacas e colocando as unidades de ordenha.

Há um alto risco de lesão por esforço repetitivo na tarefa de ordenhar vacas (Gustafsson e Lundqvist, 1987; Lundqvist, et al., 1997). Problemas de mãos e punhos são muito comuns quando se trabalha na ordenha (Stal e Juliszewski, 2001). Por causa do cansaço físico, a eficiência pode diminuir depois de 2 horas de trabalho sem interrupção, mesmo em operadores altamente treinados e experientes, resultando em interrupções e erros na ordenha (Vostrikov, 1995). A ordenha em sistemas de linha alta “round-the-barn” é muito estressante para os joelhos, quadris e parte baixa das costas, enquanto que as salas de ordenha com plataformas elevadas para as vacas representam um esforço para pulsos, cotovelos, ombros e parte superior das costas. Foi verificado que altos valores de dorsiflexão e desvio radial poderiam contribuir para a alta prevalência de sintomas de mãos e punhos, como por exemplo a síndrome do túnel do carpo entre os ordenhadores. Além disso, a velocidade e a repetitividade estavam próximos dos valores descritos em trabalhos repetitivos com um alto risco de transtornos (Stal e Juliszewski, 2001). As altas cargas musculares em combinação com posições e movimentos extremos da mão e do antebraço poderiam contribuir para o desenvolvimento de lesões entre os ordenhadores (Pinzke, et al., 2001). Ordenhadeiras mecânicas montadas em trilhos ou cabos sustentam grande parte do peso da unidade de ordenha e aliviam o esforço sobre os ombros e costas dos trabalhadores.

Considerações estatísticas: Compreender alguns conceitos estatísticos básicos pode ajudar os pesquisadores de campo a fazer um melhor uso de seu tempo, coletando dados de forma mais eficiente para fazer o diagnóstico apropriado do desempenho de ordenha. Um exemplo de uma metodologia comum para avaliar as mudanças no processo de ordenha é fazer uma alteração e “esperar para ver o que acontece”. Esta abordagem não leva em consideração o viés do acaso que, ao longo do tempo, pode afetar a resposta. O resultado mais provável de um esforço deste tipo é uma conclusão indefinida (os novos insufladores, por exemplo, podem ter afetado alguma coisa mas não sabemos com certeza). Esta abordagem pouco contribui para um avanço no conhecimento do responsável pela granja ou do pesquisador.

Testes de campo são limitados pela disponibilidade de tempo, recursos e número de vacas. Os testes muitas vezes precisam ser realizados em uma ou duas ordenhas ou ao longo de um ou dois dias. Em uma granja leiteira de grande porte, com sistemas automatizados de coleta de dados, uma das limitações práticas para a realização de teste de tempo de ordenha é a organização das vacas para receberem o tratamento pretendido. Em granjas que não dispõem de sistemas automatizados, é provável que uma única pessoa colete os dados. Neste cenário, será altamente vantajoso desenhar um experimento com a melhor resolução que utilize o menor número de vacas. Isto pode ser conseguido usando um cuidadoso delineamento experimental que controle as muitas fontes de variabilidade.

As salas de ordenha equipadas com medidores de leite e sistemas eletrônicos de coleta de dados oferecem a possibilidade de uma avaliação automatizada do desempenho de ordenha em curto prazo. Os dados que podem ser usados para avaliar o operador ou o desempenho da ordenhadeira incluem tempo de ordenha, taxa média e pico de fluxo de leite, produção de leite por vaca, individual. A análise estatística pode ser uma ferramenta poderosa para se distinguir entre o efeito real e a ocorrência aleatória, mas toda a análise estatística é construída sobre um conjunto de premissas básicas. Se estas premissas forem violadas, a análise estatística subsequente terá muito pouco valor. Dados insuficientes ou dados do tipo errado irão resultar em um diagnóstico sem sustentação. Um excesso de dados resulta em tempo gasto de forma

improdutiva. Uma revisão dos métodos estatísticos e alguns exemplos de sua aplicação à avaliação do desempenho de ordenha foram apresentados por Engelke et al., 1996; LeMire et al., 1998; LeMire et al., 1999; Reneau, 2000.

TESTES BÁSICOS DO FUNCIONAMENTO DO PULSADOR E DO VÁCUO DURANTE A ORDENHA

O funcionamento adequado do pulsador é crítica para o sucesso do processo de ordenha. Seu funcionamento pode ser avaliado em um teste seco ou durante a ordenha. Os testes realizados durante a ordenha são o método mais direto para determinar a adequacidade da produção de vácuo e a regulação do vácuo em qualquer sistema de ordenha. Testes mais detalhados (como os descritos na Seção 3) podem ser usados para diagnosticar as causas de qualquer falha observada durante a realização destes testes básicos.

Equipamento de teste

Para testar corretamente os pulsadores há necessidade de uma unidade de registro de vácuo, com um canal único ou múltiplos canais, e pelo menos quatro tampões de teteiras. Como a maioria dos testadores do pulsador inclui uma opção para medir o nível de vácuo, a unidade de teste do pulsador pode ser usada como um manômetro de vácuo e para medir a estabilidade do vácuo na linha do leite e no copo coletor.

Os testes de estabilidade de vácuo exigem o uso de um registrador que possa mostrar os valores médio, máximo e mínimo de vácuo registrados ao longo de um período de tempo conhecido ou pré-estabelecido, com uma taxa de resposta e uma taxa de amostragem que sejam apropriados para o local onde o teste se realiza e as condições do teste (Reinemann et al., 2001c; Rasmussen et al., 2003). Um grupo de especialistas do International Dairy Federation elaborou uma lista de equipamentos para teste (IDF, 1999). Um simulador de fluxo (Stewart, 1997; O'Callaghan et al., 2001) pode ser usado para um teste úmido de níveis médios de vácuo no copo coletor, com taxas de fluxo conhecidas e queda de vácuo através dos componentes da linha do leite.

Teste do pulsador: Estes testes são realizados com as unidades de ordenha funcionando, os pulsadores operando e os insufladores ajustados aos tampões das teteiras. O objetivo destes testes é determinar se o sistema de pulsação e todos os pulsadores estão operando de acordo com as especificações do fabricante. Os testadores de pulsador são usados para determinar a taxa de pulsação e a duração das quatro fases de pulsação. Os principais parâmetros de interesse para os pulsadores são (ISO 5707; Hamann e Mein, 1996):

- A taxa de pulsação deve ser repetível de um dia para outro e não se desviar mais do que 3 ciclos por minuto de uma unidade para a seguinte.
- A razão do pulsador não deve diferir mais do que 5 unidades percentuais das especificações do fabricante ou de um pulsador a outro.
- A Fase B (ordenha ou fase de insuflador aberto) da pulsação deve ser pelo menos 30% do ciclo.
- A Fase D (massagem, repouso ou fase de insuflador fechado) do ciclo de pulsação não deve ser inferior a 15% e não menor do que 150 milissegundos.

Os fabricantes fornecem especificações mais detalhadas para os tipos individuais de pulsadores. Se qualquer característica de pulsação estiver fora destas diretrizes, recomenda-se que seja feita uma nova verificação por representante do fabricante.

Medida de vácuo durante a ordenha

A especificação do vácuo mais fundamental para a ordenha é que o nível de vácuo no copo coletor seja mantido dentro de uma faixa apropriada durante a ordenha. Para dar apoio a este objetivo, o vácuo na linha do leite e na unidade final ou próximo a ela deve estar dentro de uma faixa razoável durante a ordenha normal. A ordenha normal é considerada como sendo o tempo em que as unidades de ordenha estão colocadas nas vacas, incluindo eventos como a colocação e retirada das teteiras, deslizamento do insuflador e queda do conjunto. As recomendações para os métodos de medida e a interpretação de cada ponto de medida são apresentadas a seguir.

Vácuo médio no copo coletor: O vácuo médio recomendado para o copo coletor é de 32 a 42 kPa (média obtida em 5 a 10 segundos) durante o pico do fluxo de leite, para a maioria das vacas (ver seção 2.5 e ISO 5707). O vácuo deve ser ajustado no ponto de leitura do regulador para que este objetivo seja alcançado. Conectar um registrador de vácuo adequado ao copo coletor, usando um dos seguintes métodos:

- Conectar uma peça de teste em T, adequada, entre o tubo longo de leite e a saída do copo coletor (exceto para os copos coletores com saída na parte superior).
- Inserir uma agulha de calibre 12 ou 14 através do tubo curto de leite do insuflador. A agulha deve ter pelo menos 60 mm de comprimento para assegurar a localização adequada da agulha, passando através do “nipple” do copo coletor para dentro do copo. A extremidade da agulha deve estar localizada fora do fluxo do jato de leite.
- Deve ser usado um copo coletor que tenha uma abertura para o teste, localizada fora do fluxo do jato de leite.

Medir o vácuo médio do copo coletor durante o pico do fluxo de leite em uma amostra representativa das vacas do rebanho, de acordo com os métodos descritos por Rasmussen et al., 2003.

Estabilidade do vácuo na linha do leite e na unidade final: O vácuo na unidade final não deve ter uma diferença superior a 2kPa em relação ao vácuo de trabalho durante a ordenha normal (ISO 5707). Além disso, o vácuo na linha do leite não deve ter uma diferença superior a 2kPa em relação ao vácuo da unidade final em qualquer ponto da linha do leite durante pelo menos 95% do período de ordenha normal. Assegurar que os registros sejam feitos durante a operação de todo o equipamento que opera normalmente durante a ordenha. O vácuo nestes pontos deve ser registrado sob condições de pleno funcionamento com leite e fluxo de ar, ou seja, enquanto os conjuntos estiverem colocados nas vacas e depois quando os conjuntos são retirados. Estes testes devem ser realizados durante pelo menos 3 trocas de conjuntos (retirando de um grupo de vacas e colocando no grupo seguinte) em uma sala de ordenha ou galpão.

Conectar o registrador de vácuo na linha do leite. Se a alteração no vácuo na linha do leite (média menos valor mínimo e valor máximo menos média) não ultrapassar 2 kPa, a estabilidade do vácuo da linha do leite atende aos padrões internacionais. Se o sistema for aprovado no teste de estabilidade do vácuo da linha do leite não será necessário registrar a estabilidade do vácuo na unidade final. Medidas adicionais devem ser feitas na unidade final para determinar se as flutuações no vácuo que ultrapassam 2 kPa na linha do leite são causadas pelo “slugging” na linha do leite ou pela produção ou regulação inadequada do vácuo (Rasmussen et al., 2003).

Vácuo na câmara anular: Durante a ordenha, o vácuo na câmara anular pode ser medido com finalidades diagnósticas, para determinar se esta é uma causa dos anéis na base do teto e/ou tetos inchados ou com descoloração depois da ordenha. De acordo com Rasmussen, 1997, o vácuo médio na câmara anular deve ser pelo menos 10 kPa menor do que o vácuo médio do copo coletor durante o pico do fluxo de

leite. Esta é uma indicação de que o insuflador é capaz de fechar-se ao redor da extremidade do teto durante o colapso ou fase de massagem da pulsação. A congestão do teto e as marcas de anel na base do teto parecem ser reduzidas quando o vácuo médio da câmara anular não ultrapassa 20 kPa. O vácuo na câmara anular diminui à medida que os tetos penetram mais profundamente no insuflador, e ocorre uma mudança acentuada no vácuo da câmara anular no início da hiperordenha (Borkhus e Rønningen, 2003). Insufladores de diâmetro maior produzem vácuo maior na câmara anular (O' Callaghan, 2001).

Testes úmidos com simulação de fluxo: Um simulador de fluxo é uma ferramenta útil para determinar o nível correto do sistema de vácuo. Um simulador de fluxo proporciona um método fácil, conveniente e confiável de medir o vácuo médio do copo coletor, e a queda no vácuo através do tubo longo de leite e através do equipamento auxiliar, como sensores e medidores de leite com taxas de fluxo de água conhecidos. O vácuo deve ser ajustado no regulador para alcançar o nível médio de vácuo desejado no copo coletor durante o pico do fluxo de leite. Taxas de fluxo de 3,5 l/min a 5,5 l/min cobrem o intervalo de taxas de pico de fluxo esperadas para as vacas de alta produção. Os resultados das medidas de vácuo realizadas usando um simulador de fluxo podem ser comparados com o vácuo médio do copo coletor registrado durante a ordenha para estimar a taxa de pico de fluxo de leite de vacas individualmente. Os simuladores de fluxo podem ser usados como uma estimativa razoável do vácuo médio no copo coletor, mas não permitem uma estimativa confiável das flutuações de vácuo no copo coletor ou no tubo curto de leite durante a ordenha (Stewart et al. 1996).

AValiação Profissional Completa da Máquina

Um técnico de ordenhadeira mecânica deve realizar uma avaliação completa do sistema depois de cada período de 500 - 1.000 horas de operação, como parte de um serviço regular de testes contrato de manutenção. Além disso, uma avaliação completa do sistema deve ser realizado em todos os sistemas novos, a cada modificação que for feita na ordenhadeira ou quando os testes de tempo de ordenha indicarem que pode haver um problema com a ordenhadeira. Uma avaliação completa do nível de vácuo e fluxo de ar das ordenhadeiras mecânicas inclui as seguintes medidas:

- Taxa e razão de todos os pulsadores (Seção 2.1)
- Limiar de retirada para os removedores automáticos dos conjuntos
- Vácuo operacional na unidade final e diferença de vácuo entre a unidade final e a bomba de vácuo, regulador e pulsador da linha de ar.
- Teste de queda da unidade para determinar se o sistema tem capacidade de reserva suficiente para lidar com uma queda de unidade (Seção 1.6).
- Reserva efetiva e reserva manual.
- Teste de sensibilidade do regulador quando uma unidade é aberta e depois fechada.
- Ar usado pelos componentes: sistema de pulsação, conjuntos, regulador e outros equipamentos auxiliares.
- Vazamento do sistema
- Capacidade da bomba de vácuo

Prioridade das recomendações

É importante ter em mente que há muitas razões para sugerir mudanças em um sistema de ordenha, incluindo:

- Melhorar o desempenho de ordenha (velocidade/ordenha completa).
- Melhorar controle de mastite e qualidade do leite
- Diminuir consumo de força/energia
- Diminuir o desgaste dos componentes da bomba
- Melhorar desempenho de limpeza
- Razões estéticas ou cosméticas.

Quando a avaliação da ordenhadeira tiver sido completada, as recomendações devem ser apresentadas por ordem de prioridade, de acordo com sua relação custo/benefício mais provável para o cliente:

Prioridade 1 – Mudanças urgentes e importantes

Prioridade 2 – Melhoras importantes mas não urgentes

Prioridade 3 – Melhoras cosméticas e outras

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Armstrong, D. V., and A. J. Quick. 1986. Time and motion to measure milking parlor performance. *J. Dairy Sci.* 69, no. 4: 1169-77.
- Armstrong, D. V., J. F. Smith, and M. J. Gamroth. 1994. Milking parlor performance in the United States. *Proceedings of the 1994 Annual Meeting of the NMC*, pp. 175-87.
- Barkema, HW, YH Schukken, TJGM Lam, ML Beiboer, G Benedictus, and A Brand. 1999. Management practices associated with the incidence rate of clinical mastitis. *Journal of Dairy Science* 82(8):1643-1654.
- Boast, D., M. Hale, D. Turner, E. Hillerton, N. Middleton, and I. Ohnstad. 2004 Variation in the rubber chemistry and dynamic mechanical properties as liners age. In: *IDF World Dairy Summit, Bruges (Belgium) 2003 - 100 Years with Liners and Pulsators in Machine milking*. Bulletin of the International Dairy Federation No 388, 65-74
- Bondar, RM., 1990 Repeatability of Milking Behaviour in Cows. 5th All-Union Symposium on Machine Milking of Farm Animals.
- Bondar, AA. 1992. Characteristics of Cow Behaviour During Milking. *Nauchno Tekhnicheskii Byulleten Ukrainskii Institut Zhivotnovodstva* 61:81-86.
- Borkhus, M. and O. Rønningen. 2003. Factors affecting mouthpiece chamber vacuum in machine milking. *J. Dairy Res.* 70:283-288.
- Brito, JRF, MAV Paiva e Brito, and R da S Verneque. 2000. Bacterial counts on the surface of the teats of cows milked under different methods of udder preparation, including cows milked by hand and stimulated by suckling a calf. *Ciencia Rural* 30(5):847-850.
- Bruckmaier, RM, O Wellnitz, and JW Blum. 1996. Effects of pulsation and air vent in the claw on milk removal in cows. *Agrarforschung (Switzerland)* 3(8):381-383
- Bruckmaier, RM. 1998. Pre-stimulation, milkability and milk yield in Herens cows. *Agrarforschung* 5(5):221-224.
- Bruckmaier, RM, and JW Blum. 1998. Oxytocin release and milk removal in ruminants. *J. Dairy Sci.* 81:939-949.
- Bruckmaier, RM, A ed. Baldi, and K Stelwagen. 2001. Milk ejection during machine milking in dairy cows. *Livestock Production Science*, Special issue: Fifth International Workshop on the Biology of Lactation in Farm Animals. 70(1-2):121-124.
- Bruckmaier, RM. 2003. Chronic oxytocin treatment causes reduced milk ejection in dairy cows. *Journal of Dairy Research* 70(1):123-26.
- Capuco, A.V., Wood, D.L. & Quast, J.W. Effects of teatcup liner tension on teat canal keratin and teat condition in cows. *J. Dairy Res.* 67:319-327 (2000).
- Chang, W., D. H. Streeter, and L. R. Jones. 1994. An object-oriented model for simulating milking parlor operations. *J. Dairy Sci.* 77(1): 84-93.
- Clough, P.A., D.R. Westgarth and D.F. Williams. 1973. In *Proceedings of British Society of Animal Production* 2:73.
- Costa, D.A., and D. J. Reinemann. 2003. The need for stimulation in various bovine breeds and other species. In: *IDF World Dairy Summit, Bruges (Belgium) 2003 - 100 Years with Liners and Pulsators in Machine milking*. Bulletin of the International Dairy Federation No 388, 22-27.
- Davis, MA, DJ Reinemann, and GA Mein. 2000. Relationships between physical characteristics and milking

- characteristics of the aging liner. ASAE Annual International Meeting Technical Paper no. 00-3014.
- Davis M.A., and D.J. Reinemann, 2001. Methodology of Measuring Strip Yield. Proceedings, AABP-NMC International Symposium on Mastitis and Milk Quality, Vancouver, BC, Canada. September 2001.
- Doumalin, L. 1995. Variation des taux cellulaires. Le bâtiment, premier responsable. *Production Latiere Moderne*, fev. Rennes, France.
- Eicker, S, S Stewart, D Reid, and P Rapnicki. 2000. New tools for measuring the effect of stimulation and take-off on milk flow. Proceedings of the National Mastitis Council 39th Annual Meeting, pp. 127-133.
- Engelke, E, G Wehowsky, F Troger, and O Lind. 1996. Methodology of comparing three milking clusters in a large dairy herd. *Journal of Dairy Science* 79(3):384-389.
- Fox, L.K. 1997. Effectiveness of laundering udder cloth towels to reduce mastitis pathogens. *J Dairy Sci.* 80 (Suppl. 1):234.
- Gaudin, V, P Billon, and O Sauvee. 1998. What kind of milking parlour for efficient and comfortable working conditions? *Rencontres Recherches Ruminants* 5:321-326.
- Galton, D. M., L. G. Petersson, W. G. Merrill, D. K. Bandler, and D. E. Shuster. 1984. Effects of premilking udder preparation on bacterial population, sediment, and iodine residue milk. *J. Dairy Sci.* 67(11):2580-2589
- Galton, D.M., L.G. Petersson and W. G. Merrill. 1986. Effects of premilking udder preparation practices on bacterial counts in milk and on teats. *J. Dairy Sci.* 69(1):260-266.
- Gleeson, DE, and EJ O' Callaghan. 1998. A note on the effect of ageing on teatcup liner performance. *Irish Journal of Agricultural and Food Research* 37(1):93-95
- Gustafsson, B., and P. Lundqvist. 1987. Working postures and human health problems in Swedish milk production. *Latest Developments in Livestock Housing*. : 118-126.
- Hamann, J, GA Mein, and S Wetzel. 1993. Teat tissue reactions to milking: effects of vacuum level. *J. Dairy Sci.* 76(4): 1040-1046.
- Hamann, J., Burvenich, C., Mayntz, M., Østerås, O. & Haider, W. 1994. Machine-induced changes in the status of the bovine teat with respect to the new infection risk. *Bulletin of the Intl. Dairy Fed.* 297:13-22.
- Hamann, J, and GA Mein. 1996. Teat thickness changes may provide biological test for effective pulsation. *Journal of Dairy Research* 63(2):179-189;
- Hamann, J. 1997. Guidelines for evaluation of the milking process. *Bulletin of the International Dairy Federation* 321:26-35;
- Hansen, MN. 1999. Optimal number of clusters per milker. *Journal of Agricultural Engineering Research* 72(4):341-346.
- Hassan, L, HO Mohammed, RN Gonzalez, PL McDonough, MV Thrusfield, and EA Goodall. 1999. Milking practices associated with the presence of *Listeria monocytogenes* in New York State dairy farms. Proceedings of the Society for Veterinary Epidemiology and Preventive Medicine Meeting 1-7;
- Hellmuth, U. 1996. A survey of 1500 dairy farms investigating the milking practices of dairy farms with loose cow housing and establishing appropriate recommendations for milking parlour equipment. *KTBL Arbeitspapier* 233:178-183.
- Hillerton, J.E, W.F. Morgan, R. Farnsworth, F. Neijenhuis, J.R. Baines, G.A. Mein, I. Ohnstad, D.J. Reinemann and L. Timms, 2001. Evaluation of Bovine Teat Condition in Commercial Dairy Herds: 2. Infectious

- Factors and Infections. Proceedings, AABP-NMC International Symposium on Mastitis and Milk Quality, Vancouver, BC, Canada. September 2001.
- Hillerton, JE, I Ohnstad, JR Baines, and KA Leach. 2002a. Performance differences and cow responses in new milking parlours. *Journal of Dairy Research* 69(1): 75-80.
- Hillerton, JE, JW Pankey, and P Pankey. 2002b. Effect of over-milking on teat condition. *Journal of Dairy Research* 69(1):81-84.
- Huusko, M, M Yli Hynnila, K Dredge, and S Pyorala. 2002. Teat-end condition and udder health of dairy cows in a health management project of dairy farms in South Pohjanmaa, Finland 1998. *Suomen Eläinlääkärilehti* 108(1):12-17.
- IDF, 1999. Instruments for mechanical tests of milking machines. *Bulletin of the International Dairy Federation* 338:27-37.
- ISO 5707:1996. Milking Machine Installations: Construction and Performance. International Organization for Standardization (ISO), Geneva, Switzerland.
- ISO 6690:1996. Milking Machine Installations: Mechanical tests. International Organization for Standardization (ISO), Geneva, Switzerland.
- Kiiman, H, and O Saveli. 2000. Working procedures in machine milking and its connection with milk somatic cell count. *Agraarteadus* 11(4):306-310.
- LeMire, SD, DJ Reinemann, GA Mein, and MD Rasmussen. 1998. Statistical considerations for milking time tests. ASAE Annual International Meeting Technical Paper no. 98-3128.
- LeMire, S.D., DJ Reinemann, GA Mein, MD Rasmussen, 1999. Recommendations for Field Tests of Milking Machine Performance. ASAE Annual International Meeting Technical Paper no. 993020.
- Lundqvist, P., M. Stal, and S. Pinzke. 1997. Ergonomics of cow milking in Sweden. *J. Agromed.* 4(1/2)169-76.
- Mihina, S, V Tancin, V Brestensky, J Broucek, and JP Chastain. 1998. Lesion of teats in different types of milking equipment. *Proceedings of the Fourth International Dairy Housing Conference (USA)* pp. 103-109
- Mein, G.A., F. Neijenhuis, W.F. Morgan, D.J. Reinemann, J.E. Hillerton, J.R. Baines, I. Ohnstad, M.D. Rasmussen, L. Timms, J.S. Britt, R. Farnsworth, N. Cook, and T. Hemling, 2001. Evaluation of Bovine Teat Condition in Commercial Dairy Herds: 1. Non-Infectious Factors. Proceedings, AABP-NMC International Symposium on Mastitis and Milk Quality, Vancouver, BC, Canada. September 2001
- Mein, G.A. and D.A. Reid. 1996. Milking time tests and guidelines for milking units. *Proceedings of the National Mastitis Council 35th Annual Meeting*, pp. 235-244
- Mein, G.A., 1992. Simple checks of a milking system. *Proc. 31st Annual Meeting, National Mastitis Council*, Arlington, VA, pp 103-107.
- Mein, GA, MR Brown, and DM Williams. 1983. Pulsation failure as a consequence of milking with short teatcup liners - Effects on teat condition and mastitis in cows. *J. Dairy Res.* 50(3): 249-258.
- Mein, G.A., D. Reinemann, I. Ohnstadt and E. O'Callaghan. 2004. 100 years with liners and pulsators: where the rubber meets the teat and what happens to milking characteristics. *Bulletin of IDF* No 388/2004: 28-34.
- Munksgaard, L., DePassillé, A.M., Rushen, J., Herskin, M.S. & Kristensen, A.M., 2001. Dairy cows' fear of people: social learning, milk yield and behaviour at milking. *Appl. Anim. Beh. Sci.* 73: 15-26.
- Muthukumarappan, K., D.J. Reinemann, and G.A. Mein, 1993. Compressive load applied by the teatcup liner to the bovine teat. ASAE paper No. 933538, Presented at the 1993 winter meeting of the American Society of Agricultural Engineers, Chicago, Illinois, USA.

- Neijenhuis, F, GH Klungel, and H. Hogeveen. 2001a. Recovery of cow teats after milking as determined by ultrasonographic scanning. *J. Dairy Sci.* 84, no. 12: 2599-2606.
- Neijenhuis, F, HW Barkema, H Hogeveen, and JPTM Noordhuizen. 2001b. Relationship between teat-end callosity and occurrence of clinical mastitis. *J. Dairy Sci.* 84, no. 12: 2664-72.
- NMC, 2004. Troubleshooting Cleaning Problems in Milking Systems. DJ Reinemann, GA Mein, DR Bray, D Reid and JS Britt, National Mastitis Council, Madison, Wisconsin, USA.
- O' Callaghan, EJ. 2001. Influence of liner design on interactions of the teat and liner. *Irish Journal of Agricultural and Food Research* 40(2):169-176.
- Pankey, J. W., E. E. Wildman, P.A. Drechsler, and J. S. Hogan. Field trial evaluation of pre-milking teat disinfection. 1987. *J Dairy Sci.*, 70:867-872
- Pinzke, S, M Stal, and GA Hansson. 2001. Physical workload on upper extremities in various operations during machine milking. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* 8(1):63-70.
- Provolo, G, F Sangiorgi, and JP Chastain. 1998. Low-vacuum high-frequency milking: Results of field tests. *Proceedings of the Fourth International ASAE Dairy Housing Conference*, St. Louis, Missouri, USA pp. 110-116.
- Rasmussen, M.D., E. S. Frimer, Z. Horvath and N.E. Jensen. 1990. Comparison of a standardized and variable milking routine. *J. Dairy Sci.* 73:3472-3480.
- Rasmussen, MD, DM Galton, and LG Petersson. 1991. Effects of pre-milking teat preparation on spores of anaerobes, bacteria, and iodine residues in milk. *Journal of Dairy Science* 74(8):2472-2478.
- Rasmussen, M.D., E.S. Frimer, D.M. Galton, and L.G. Petersson, 1992. The influence of pre-milking teat preparation and attachment delay on milk yield and milking performance. *J Dairy Sci.* 75:2131-2141.
- Rasmussen, M.D., 1993. Influence of switch level of automatic cluster removers on milking performance and udder health. *J Dairy Res.* 60:287-297.
- Rasmussen, M. D., E. S. Frimer, & E. L. Decker. 1994. Reverse pressure gradients across the teat canal related to machine milking. *J. Dairy Sci.* 77:984-993.
- Rasmussen, M.D. 1997. The relationship between mouthpiece vacuum, teat condition, and udder health, *Proc. 36th Annual Meeting, National Mastitis Council*, Albuquerque, NM, pp 91-96.
- Rasmussen, MD, and NP Madsen. 1998. Low vacuum milking: effects on the teat. *Proceedings of the National Mastitis Council 37th Annual Meeting*, pp. 85-92.
- Rasmussen, M.D. and N.P. Madsen. 2000. Effects of milking vacuum, pulsator airline vacuum, and cluster weight on milk yield, teat condition, and udder health. *J. Dairy Sci.* 83:77-84.
- Rasmussen, M.D. 2000. A review of milking preparation: the science. *Proc. 39th Annual Meeting, National Mastitis Council*, Albuquerque, NM, pp 104-110.
- Rasmussen, M.D., J. Baines, F. Neijenhuis, and E. Hillerton. 2003. Teat condition and mastitis. In: *IDF World Dairy Summit, Bruges (Belgium) 2003 - 100 Years with Liners and Pulsators in Machine milking. Bulletin of the International Dairy Federation No 388*, 43-48.
- Reid, D.A. and S. Stewart. 1997. The effects on parlor performance by variations in detacher settings. *Proc. 36th Annual Meeting, National Mastitis Council*, Albuquerque, NM, pp 101-103.
- Reinemann, D.J., 1993. *Milking Center Advisor: Interactive software for estimating milking parlor performance and costs*. UW Extension Bulletin, A3574. Updated versions available for download from the web site: www.uwex.edu/uwmril

- Reinemann, DJ, M.A. Davis, D. Costa, and A.C. Rodriguez, 2001a. Effects of Milking Vacuum on Milking Performance and Teat Condition. Proceedings, AABP-NMC International Symposium on Mastitis and Milk Quality, Vancouver, BC, Canada. September 2001.
- Reinemann, D.J., M.D. Rasmussen, S. LeMire, F. Neijenhuis, G.A. Mein, J.E. Hillerton, W.F. Morgan, L. Timms, N. Cook, R. Farnsworth, J.R. Baines, and T. Hemling, 2001b. Evaluation of Bovine Teat Condition in Commercial Dairy Herds: 3. Getting the Numbers Right. Proceedings, AABP-NMC International Symposium on Mastitis and Milk Quality, Vancouver, BC, Canada. September 2001.
- Reinemann, DJ, MD Rasmussen, and GA Mein. 2001c. Instrument requirements and methods for measuring vacuum in milking machines. Transactions of the ASAE 44(4): 975-981.
- Reinemann, DJ, P Billon, O Ronningen, and GA Mein. 1995. New guidelines for sizing milk-lines. Proc. 3rd International Dairy Federation, International Mastitis Seminar, May 28 - June 1, Tel Aviv Israel.
- Reneau, J. K. and J. P. Chastain. 1995. Pre-milking cow prep: Adapting to your system. Pp 46 in Proc. Regional Meeting. Natl. Mastitis Council, Harrisburg, PA. Natl. Mastitis Council, Inc., Madison, WI.
- Reneau, JK. 2000. Process control: timely feedback for quality milk production at the farm. Proceedings of the National Mastitis Council 39th Annual Meeting, pp. 140-148.
- Reppo, B, and I Lindsaar. 2001. Milker's work load rate and energy load by machine milking. Transactions of the Estonian Academic Agricultural Society 15:67-70.
- Ruegg, P.L. and I. R. Dohoo. 1997. A benefit to cost analysis of the effect of pre-milking teat hygiene on somatic cell count and intra-mammary infections in a commercial dairy herd. Can Vet J., 38:632-636.
- Ruegg, P., M.D. Rasmussen and D. Reinemann. 2000. The seven habits of highly successful milking routines. A3725 UW Extension publications, Madison, WI. 7p.
- Ruegg, PL, and DJ Reinemann, 2002. Milk Quality and Mastitis Tests. The Bovine Practitioner, 36:41-54.
- Sauvee, O, P Billon, V Gaudin, and S Poirier. 1998. Milking machine testing: working order of milking machines in France - what is the best interval between two controls? *Rencontres Recherches Ruminants* 5:327-330.
- Schreiner, D.A. and P.L. Ruegg. 2003. Relationship between udder and leg hygiene scores and sub-clinical mastitis. *J. Dairy Sci.* 86:3460-3465.
- Seabrook, M. 1994. Psychological interaction between the milker and the dairy cow. Proc. Third ASAE International Dairy Housing Conference on ,Dairy Systems for the 21st Century, Orlando, FL, pp 49-58.
- Smith, J. F., D. V. Armstrong, M. J. Gamroth, and J. III. Harner. 1998. Factors affecting milking parlor efficiency and operator walking distance. *Appl. Eng. Agric.* 14, no. 6: 643-47.
- Stal, M, and T Juliszewski. 2001. Analysis of wrist angles and movements applied to machine milking. *Farm Work Science Facing the Challenges of the XXI Century. Proceedings XXIX CIOSTA GIGR V Congress, Krakow, Poland, 25-27 June, 2001, pp. 273-276.*
- Stewart, S., P. Billon and G.A. Mein. 1993. Predicted maximum milk flowrates in milking systems. Proc. 32nd Annual Meeting, National Mastitis Council, Kansas City, MO, pp 125-132.
- Stewart, S., R. Farnsworth, G.A. Mein, D.A. Reid, A.P. Johnson, G. Beelie, and J. Paasch. 1996. Field measurement of vacuum levels using a portable flow simulator. Proc. 35th Annual Meeting, National Mastitis Council, Nashville, TN, pp 214-227.

- Stewart, S. 1997. Vacuum level measurement using flow simulation. Proc. 36th Annual Meeting, National Mastitis Council, Albuquerque, NM, pp 97-100.
- Stewart, S, S Godden, P Rapnicki, D Reid, A Johnson, and S Eicker. 2002. Effects of automatic cluster remover settings on average milking duration, milk flow, and milk yield. *Journal of Dairy Science*, 85(4): 818-23.
- Svennersten-Sjauna, K, R Bruckmaier, J Hamann, and M Woolford, 2003. Stimulation of milk ejection - a basic need or just a time consuming routine? In: IDF World Dairy Summit, Bruges (Belgium) 2003 - 100 Years with Liners and Pulsators in Machine milking. Bulletin of the International Dairy Federation No 388: 11-19.
- Szlachta, J, A Lubersanski, and A Krzys. 2001. Effect of rubber liner tension on intensity of bovine teat massage and vacuum stability. *Inżynieria Rolnicza (Poland)* 5(1):303-311.
- Thomas, CV, MA DeLorenzo, and DR Bray. 1996a. Factors affecting the performance of simulated large herringbone and parallel milking parlors. *Journal of Dairy Science* 79(11): 1972-1980.
- Thomas, CV, MA DeLorenzo, and DR Bray. 1996b. A network simulation model of large herringbone and parallel milking parlors. *Journal of Dairy Science* 79(11): 1960-1971.
- Thomas, C. V., M. A. DeLorenzo, D. R. Bray, R. N. Weldon, R. A. Bucklin, and J. G. III. Martin. 1997. A stochastic economic analysis of large herringbone and parallel milking parlors. *J. Dairy. Sci.* 80, no. 10: 2418-28.
- Turki, H, and S Winnicki. 2001. Effect of pre-milking procedures of cows on milk flow duration and machine-on time. *Folia Universitatis Agriculturae Stetinensis, Zootechnica*. 2001(42) : 157-162.
- Vostrikov, VA. 1995. Development of methods for relieving fatigue in milking machine operators. *Tekhnika v Sel'Skom Khozyaistve*. 199(4)24-26.
- Williams, D.M. and G.A. Mein, 1982. Physical and physiological factors affecting milk flowrate from the bovine teat during machine milking. In: *Proceedings, Dairy Production from Pasture* pp 42-74. Hamilton, NZ (1982).
- Worstorff, H, and A Dethlefsen. 1994. Correct udder stimulation promotes milk ejection. *Milchpraxis* 32(3)136-39.

USO DE UM NOVO TESTE RÁPIDO PARA CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS

Pamela L. Ruegg, DVM, MPVM

Universidade de Wisconsin, Madison

INTRODUÇÃO

A identificação rápida e precisa dos casos de mastite é útil para a tomada de decisões relativas a tratamento, descarte ou isolamento de vacas suspeitas. Numerosos métodos são usados para identificar estas vacas suspeitas. A maioria das tecnologias tradicionais, como o exame microbiológico das amostras de leite ou contagem de células somáticas, exige que as amostras de leite sejam encaminhadas a um laboratório. Estes métodos são distantes da granja e têm sido pouco adotados por causa da percepção de que são demasiado lentos para serem integrados de forma eficaz com as decisões a serem tomadas na granja. Como alternativa para os métodos de detecção laboratoriais, medidas indiretas das células somáticas (como o California Mastitis Test [CMT]) têm sido usadas para orientar as decisões relativas ao controle de mastite a serem tomadas na granja. O CMT vem sendo usado há mais de 50 anos e continua tendo uma utilidade considerável para os programas de controle da mastite nas granjas leiteiras, mas diversos novos testes rápidos (“teste rápido”) foram recentemente desenvolvidos. O objetivo deste trabalho é revisar a pesquisa relativa a novas tecnologias para uso na granja na determinação de CCS e discutir o uso prático potencial destas tecnologias nos programas de controle de mastite.

DIAGNÓSTICO DE MASTITE SUBCLÍNICA

A mastite ocorre quando bactérias (como *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* spp. coagulase negativo ou *Streptococcus* spp. do meio ambiente) conseguem invadir com sucesso o úbere e causar uma infecção. Em muitos casos, os quartos infectados pelos patógenos da mastite alternam-se entre um estado clínico (leite anormal) e um estado subclínico. Por definição, a mastite subclínica infere que o leite da glândula infectada parece visualmente normal, mas contém um grande número de células inflamatórias. Estas células inflamatórias são compostas por leucócitos e, ocasionalmente, células epiteliais descamadas que são denominadas células somáticas. Algumas células somáticas são encontradas no leite bovino normal que se origina de glândulas saudáveis. Estas células incluem neutrófilos (1 – 11%), macrófagos (66 – 88%), linfócitos (10 – 27%) e células epiteliais (0 – 7%) (Lee et al., 1980). Os macrófagos são o tipo de célula predominante na glândula não infectada, e atuam na vigilância contra patógenos invasores. Quando as bactérias invadem e colonizam com sucesso a glândula mamária, os macrófagos respondem com o desencadeamento da resposta inflamatória que atrai as células polimorfonucleares para fagocitar e destruir as bactérias (Harmon, 2001). Por isso, o fator que mais influencia a contagem de células somáticas (CCS) do leite é a mastite (Hortet e Seegers, 1998). A CCS de um quarto (ou vaca) não infectado pela mastite geralmente é inferior a 200.000 células/ml e muitas vacas mantêm valores de CCS inferiores a 100.000 células/ml. Mais de 90% da CCS de glândulas infectadas são compostas por neutrófilos e uma CCS superior a 200.000 células/ml é um forte indicador de mastite.

As contagens de células somáticas são usadas rotineiramente nos programas de controle de mastite e é importante lembrar que a maioria dos valores CCS (testes DHIA mensais, por exemplo) são obtidos em amostras de leite combinadas dos 4 quartos mamários. Há alguns problemas óbvios no uso de CCS de amostra

composta de leite para identificar as vacas infectadas, por causa da diluição de células somáticas com leite de quartos não infectados. Podemos considerar a situação hipotética em que uma vaca esteja produzindo 20 kg de leite por ordenha, uniformemente distribuídos entre os 4 quartos (5,0 kg por quarto), mas apenas 1 quarto está infectado, com mastite subclínica. Se o CCS do leite dos 3 quartos não infectados for 100.000 células/ml, o valor da CCS da amostra composta não vai alcançar o limiar de 200.000 células/ml até que o CCS do quarto infectado ultrapasse 700.000 células/ml (Figura 1). Este longo período de infecção não reconhecida pode resultar no desenvolvimento de infecções crônicas que não são reconhecidas, e o uso de testes rápidos de triagem para a detecção de mastite subclínica pode ajudar na produção de leite de alta qualidade.

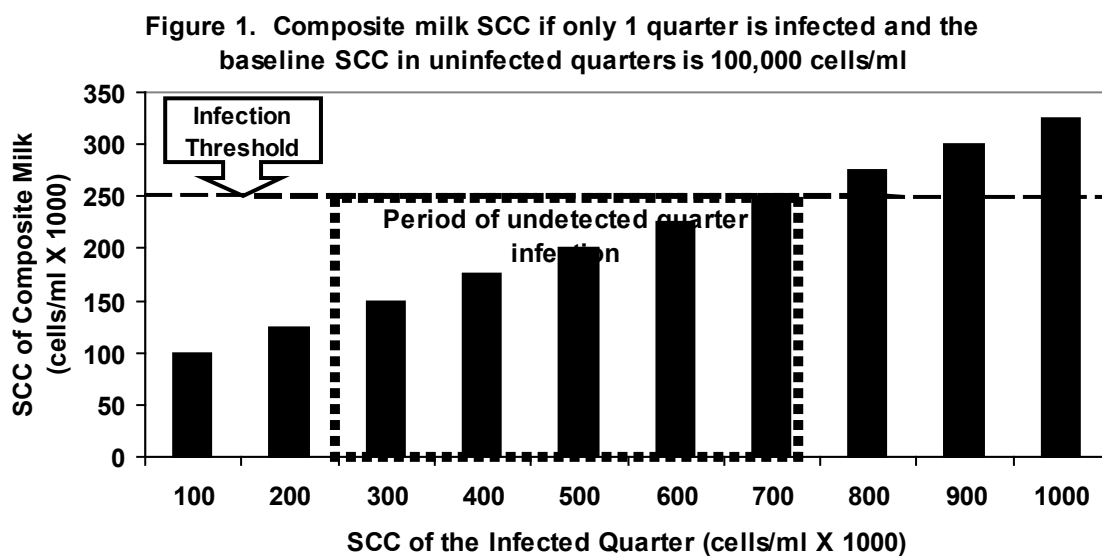


Figura 1. CCS de amostra composta de leite se apenas 1 quarto estiver infectados e a CCS inicial em quartos não infectados for 100.000 células/ml

TESTES RÁPIDOS DE TRIAGEM

California Mastitis Test. Durante 50 anos, o CMT foi o único teste rápido de triagem confiável para mastite subclínica. O CMT não identifica o tipo de bactéria que causa a mastite, mas é usado para identificar os quartos mamários que têm mastite subclínica. O teste foi desenvolvido para testar leite dos quartos mamários individuais, mas também tem sido usado em amostras compostas de leite e amostras de leite do tanque (Schalm e Noorlander, 1957). Leite fresco, não refrigerado, pode ser testado usando CMT por um período de até 12 horas, e leituras confiáveis podem ser obtidas em amostras de leite refrigerado por até 36 horas. Se for usado leite armazenado, a amostra de leite precisa ser cuidadosamente misturada antes do teste, porque as células somáticas segregam com a gordura do leite. O escore da reação CMT precisa ser feito 15 segundos depois da mistura porque as reações fracas desaparecem depois deste tempo. O reagente CMT é simplesmente um detergente mais violeta de bromocresol (usado como indicador de pH). O grau de reação entre o detergente e o DNA do núcleo das células é uma medida do número de células somáticas no leite. A relação entre os valores CCS e CMT não é precisa por causa do alto grau de variabilidade nos valores CCS em cada escore CMT (Tabela 1).

Tabela 1. Interpretação da reação do California Mastitis Test

Escore CMT CMT	Reação Visível	Intervalo CCS (células/ml)	Ponto médio CCS aproximado
Negativo	Mistura permanece líquida – sem evidência de precipitado	0 – 200.000	100.000
Traço	Precipitado ligeiro, melhor visualizado com inclinação, desaparece movimentação contínua	150.000 – 500.000	400.000
1	Precipitado claro mas sem tendência a formação de gel	400.000-1.500.000	800.000
2	Mistura fica imediatamente viscosa, movimenta-se para o centro	800.000 – 5.000.000	1.600.000 3.200.000
3	Formação de gel e a superfície fica convexa	>5.000.000	6.400.000

O uso de CMT para identificar os quartos infectados com mastite contagiosa tem sido amplamente avaliado (Barnum e Newbould, 1961, Brookbanks, 1966, Painter e Schnepfer, 1965, Wesen et al., 1968). Em geral, com o aumento da reação CMT aumenta a probabilidade de recuperar bactérias patogênicas. Também foi relatada a capacidade de CMT de detectar quartos infectados de vacas recém-paridas (Sargeant et al, 2000). Neste estudo, o teste CMT foi realizado em amostras de leite dos quartos todos os dias desde a parição até o 10º dia após o parto. Quando o teste CMT positivo era definido como uma reação ≥ 1 , cerca de 57% dos quartos foram identificados com exatidão (43% passaram despercebidos). Um estudo anterior usou CMT para testar 7.431 amostras compostas de leite, obtidas de rebanhos em que cerca de 35% das vacas estavam com infecção subclínica por *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae* (Brookbanks, 1966). Quando foi usado um escore CMT traço ou maior, 92% das vacas infectadas foram corretamente identificadas. Quando foi usado um valor CMT >1 apenas 72% das vacas infectadas foram corretamente identificadas. Para minimizar o número de resultados falso negativos, o teste deve ser lido como positivo quando pelo menos uma reação traço for aparente.

Contador Direto de Células Delaval. O Contador Direto de Células Delaval (DCC) é um novo dispositivo para ser usado nas granjas, para uma rápida enumeração de células somáticas. Coloca-se aproximadamente 1µl de leite fresco em um pequeno cassete, sendo o leite automaticamente corado no próprio cassete e inserido em um contador óptico de células, operado por uma pequena bateria. Em menos de 1 minuto, o DCC produz uma contagem de células somáticas dentro de um intervalo entre 10.000 e 4.000.000 células/ml. Determinamos as características do teste em um experimento com o Contador Direto de Células (Ruegg, Hulland e Reith, 2005). Amostras de leite de quartos mamários (n = 800) foram obtidas de vacas (n = 200) durante os dias 3-9 após o parto. Os testes CMT e DCC foram realizados na granja e duplicatas adicionais das amostras de leite foram utilizadas para as determinações de CCS no laboratório e análises microbiológicas. As infecções pelos principais patógenos (*S. aureus*, *Streptococcus* e *E. coli* ambiental) ou pelos patógenos menos importantes (*Staphylococcus* coagulase negativo, *Corynebacterium*) foram definidas com base no isolamento das duas amostras em duplicata de cada quarto. Não houve diferença significativa entre \log_{10} CCS (5,1) e o \log_{10} DCC (5,1; $P = 0,76$). A correlação entre \log_{10} CCS e \log_{10} DCC foi 0,92 ($P < 0,001$). Quando a mastite subclínica foi definida com base em um limiar de 200.000 células/ml, foi observada uma concordância de 95,4% entre CCS e DCC e kappa foi 0,90. O \log_{10} DCC foi maior para as amostras de leite em que foram recuperados patógenos, principais (5,8) ou de menor importância (5,5), do que nas amostras de

leite que foram negativas (5,0) ($p < 0,001$). O \log_{10} DCC foi mais alto (5,3) para as amostras de leite obtidas de quartos que tinham desenvolvido um caso clínico durante as primeiras 12 semanas de lactação do que nos quartos que permaneceram saudáveis (5,1) ($P=0,05$). Concluímos que DCC parece ser um método preciso para a rápida determinação dos valores de CCS.

O PortaSCC®. O PortaSCC® (PortaScience, Portland ME) é outro teste rápido de determinação de células somáticas comercializado para uso na granja. Este teste é uma adaptação de um produto usado para pacientes humanos portadores de câncer, para monitorar as contagens de leucócitos. O teste mede apenas os leucócitos (não as células epiteliais) e tem um limite superior de detecção de 3.500.000 células/ml. O teste consiste de uma pequena tira que recebe uma gota de leite e um reagente. A tira requer uma incubação em temperatura ambiente durante 45 minutos, e a leitura é feita com um pequeno medidor de mão (handheld). Recentemente usamos o produto para avaliar a CCS de amostras de leite de quartos mamários, obtidas de vacas mantidas em 10 granjas leiteiras separadas (Amaral e Ruegg, 2005). Os dados de 289 amostras de quartos foram usados na comparação de resultados de CCS determinados em laboratório com os obtidos com o PortaSCC. A correlação entre o \log_{10} PortaSCC e o \log_{10} CCS foi 0,81. Quando um limiar de 200.000 células/ml foi usado para definir a infecção, houve uma concordância de 88% entre CCS e o PortaSCC e o kappa (uma medida de concordância) foi 0,73.

Os resultados do CMT estavam disponíveis para 200 amostras de leite que também tinham sido testadas usando o PortaSCC. O \log_{10} PortaSCC aumentou com o aumento do escore CMT (Tabela 2).

Tabela 2. Valores do PortaSCC segundo o escore CMT

Escore CMT	Número	Log PortaSCC	PortaSCC (células/ml)	CCS (células/ml)
Negativo	147	4,5 ^a	107.844	104.687
Traço	12	5,4 ^b	486.583	386.500
Um	13	5,6 ^{b,c}	406.462	481.462
Dois	13	6,2 ^{c,d}	1.705.000	1.633.000
Três	16	6,2 ^d	1.988.000	2.328.000

^{a,b,c,d} médias com sobrescrito são diferentes ($P < 0,05$)

O \log_{10} CCS estimado usando o PortaSCC foi mais elevado para as amostras de leite das quais foram recuperados os patógenos principais (5,8) ou menos importantes (5,1) do que para as amostras de leite que foram negativas (4,6) ($p < 0,001$).

O Teste Somaticell. O teste Somaticell é uma versão pré-embalada do Wisconsin Mastitis Test e é comercializado por uma empresa brasileira (Madasa). O teste consiste de frascos calibrados, reagentes e outros materiais. O teste baseia-se no mesmo princípio que o CMT, mas permite uma estimativa mais precisa da CCS por causa dos frascos calibrados, que permitem estimar a CCS entre 69.000 células/ml e 1.970.000 células/ml. Avaliamos recentemente este teste usando 323 amostras de leite de quartos (Rodrigues e Ruegg, 2005, não publicado).

Duplicatas de amostras de leite de quartos foram coletadas de dois rebanhos leiteiros comerciais. Uma amostra de leite foi usada para realizar o teste Somaticell e a outra foi submetida a análise microbiológica

e contagem eletrônica de células somáticas usando Fossomatic. As infecções intramamárias causadas pelos principais patógenos (*Staphylococcus aureus*, estreptococos ambientais, coliformes) ou pelos menos importantes (*Staphylococcus* coagulase negativo, *Corynebacterium* spp.) foram definidas com base no isolamento do mesmo patógeno das duas amostras. A correlação entre \log_{10} Somaticell e \log_{10} Fossomatic foi 0,92. Quando um limiar de 205.000 células/ml foi usado para definir a infecção, foi observada uma concordância de 95% entre Somaticell e Fossomatic, e kappa foi 0,82. Os resultados microbiológicos foram classificados como principais (6%), menos importantes (8%), sem crescimento (83%) e contaminados (3%). Houve uma relação significativa entre os resultados do Somaticell e o status infeccioso. O \log_{10} Somaticell foi mais elevados para as amostras de leite em que foram recuperados os patógenos principais (6,0) ou menos importantes (5,4) quando comparados com as amostras de leite que foram negativas (5,0).

Todos estes testes parecem ser uma melhora significativa em relação ao CMT, porque são capazes de contar as células somáticas com maior exatidão em limiares muito mais baixos do que o teste CMT, eliminando o aspecto subjetivo da observação visual.

USOS POTENCIAIS DOS TESTES DE CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS NA GRANJA

O uso da contagem de células somáticas para identificar as vacas infectadas e os quartos infectados é amplamente reconhecido, e os novos testes disponíveis para a contagem de células somáticas na granja parecem ser precisos o suficiente para serem úteis no controle de mastite. Nenhuma destas novas tecnologias deve ser considerada como um substituto para os programas mensais de testes de CCS. A CCS mensal, realizada por serviços de teste, são muito mais eficientes para a triagem em larga escala dos rebanhos leiteiros. A aplicação destes testes rápidos é mais apropriadamente direcionada para a tomada de decisão em relação às vacas individualmente. Como ocorre com qualquer outro teste, a utilidade dos testes CCS rápidos será determinada pelas decisões de manejo que forem tomadas com base nos seus resultados. A decisão de segregar, tratar, realizar culturas, reter o leite com altas CCS ou de descarte são decisões de manejo que poderiam ser ajudados pelo uso destes novos testes.

A segregação ou descarte das vacas é uma ferramenta de manejo útil para os rebanhos que estão tentando o controle da mastite contagiosa. O princípio da segregação é simplesmente identificar e agrupar as vacas que têm infecção subclínica causada por patógenos causadores da mastite contagiosa. A mastite contagiosa dissemina-se por todo o rebanho quando os tetos de vacas não infectadas entram em contato com as bactérias presentes no leite proveniente do úbere de vacas infectadas. A sala de ordenha é o ponto de exposição mais comum ao leite infectado e os testes de CCS rápidos poderiam ser feitos rotineiramente em vacas, antes que fossem transferidas para um grupo formado por animais não infectados. Em rebanhos com um problema de *Staphylococcus aureus* bem identificado (originalmente confirmado por cultura), vacas com 1 ou mais quartos com >200.000 células/ml poderiam ser consideradas suspeitas e segregadas, submetidas a cultura ou descartadas. Quando comparados com o CMT, os novos testes rápidos, realizados na granja, serão mais precisos e realizados no momento adequado para a identificação de quartos infectados, por causa do amplo grau de variabilidade que ocorre na leitura de um escore traço do CMT.

Geralmente o tratamento durante a lactação não é recomendado no caso de quartos com CCS altas, e que têm um leite de aparência normal, exceto quando *Streptococcus agalactiae* for o agente. Há, entretanto, um interesse cada vez maior em programas de tratamento estratégico de vacas recém paridas, e os novos testes de triagem, mais sensíveis, podem ser um preditor mais exato de quais os animais que podem responder bem ao tratamento. Há dados indicando que a ocorrência de infecções subclínicas (CCS altas) durante o início da lactação influencia a qualidade do leite durante a lactação. Tem sido demonstrado que o primeiro teste

CCS (5-35 dias de lactação) é capaz de prever o risco de ocorrência de mastite clínica durante o restante da lactação (Rupp e Bouchard, 2000). Neste estudo, as vacas com o primeiro teste CCS de 150.000 a 400.000 células/ml tinham uma probabilidade 1,9 vezes maior de ter um caso de mastite clínica em relação a vacas com < 35.000 células/ml na primeira CCS. Seria difícil detectar este intervalo de CCS usando CMT.

Com qualquer um dos métodos, o uso de testes CCS em vacas logo após o parto pode levar a resultados não confiáveis. Em dados não publicados, comparamos o último teste CCS com o primeiro teste CCS em 6.323 vacas multíparas que pertenciam a 20 rebanhos leiteiros comerciais. Todas as vacas foram submetidas a tratamento para vaca seca. Neste grupo, 45%, 15%, 31% e 9% das vacas tiveram valores CCS indicando que não estavam infectadas nos dois testes, estavam infectadas nos dois testes, estavam infectadas apenas no último teste ou infectadas apenas no primeiro teste, respectivamente. Chamou a atenção o fato de que a produção de leite na atual lactação foi acentuadamente menor e a CCS linear média acentuadamente mais alta nos animais que tiveram CCS >250.000 células/ml tanto no primeiro como no último teste. Estes dados indicam que a triagem dos quartos no final da lactação e novamente após o parto pode ser útil na identificação de quartos que estavam infectados nos dois intervalos. O número de quartos com altos valores CCS também pode ser de interesse. No estudo que realizamos usando o DCC (Ruegg, et al., 2005), o número de quartos com valores de CCS >200.000 células/ml depois da parição estava relacionado com o valor do primeiro teste de CCS ($P = 0,01$). O primeiro teste CCS foi 125.000, 220.000 e 482.000 para vacas que tinham altas CCS após o parto em nenhum quarto, 1-2 quartos ou 3-4 quartos, respectivamente. Pode ser útil tratar, reter o leite ou segregar as vacas que têm quartos com altas CCS nos dois intervalos. Os testes rápidos são adequados para este teste.

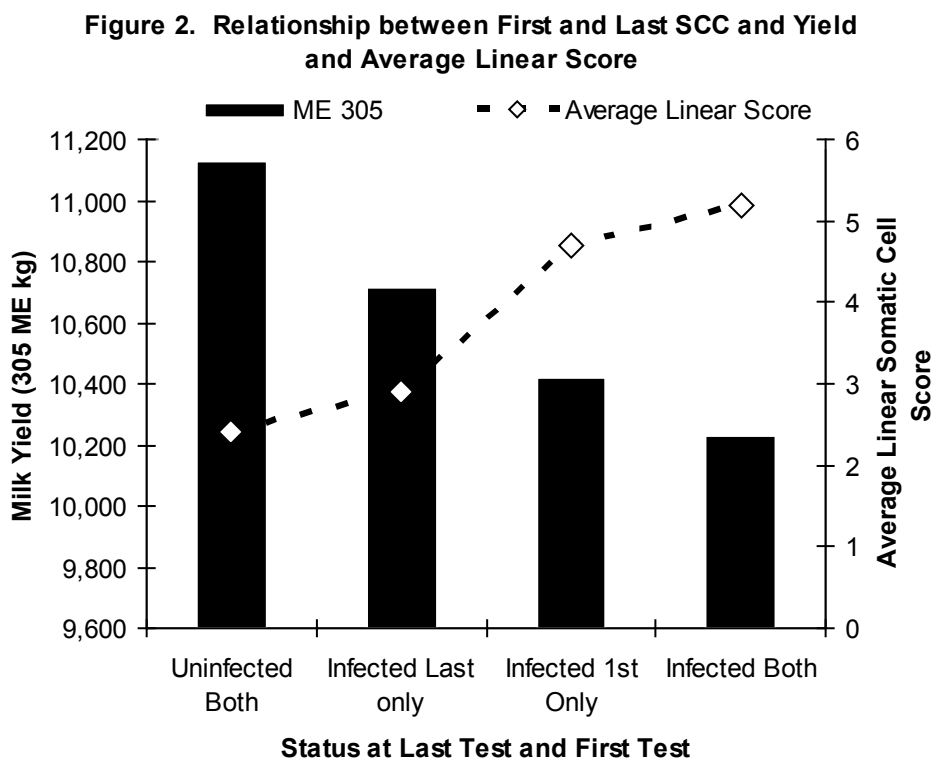


Figura 2. Relação entre a primeiro e a última CCS e a produção e o escore linear médio.

É importante reconhecer que os valores da CCS imediatamente após a parição não são necessariamente preditivos de infecção. A CCS de muitos quartos não infectados pode ser bastante alta durante a primeira semana após o parto. Em dados não publicados, coletamos amostras de leite de quartos ($n = 571$) de úberes de vacas durante a primeira semana após a parição. Fizemos culturas das duplicatas das amostras dos quartos e também determinamos o valor CCS usando o DCC. Houve uma forte correlação entre o dia da amostragem e o valor CCS para os quartos que estavam infectados ou não infectados (Figura 3), e a CCS das amostras de leite obtidas antes do 5º dia após a parição provavelmente não é confiável para a identificação de mastite subclínica.

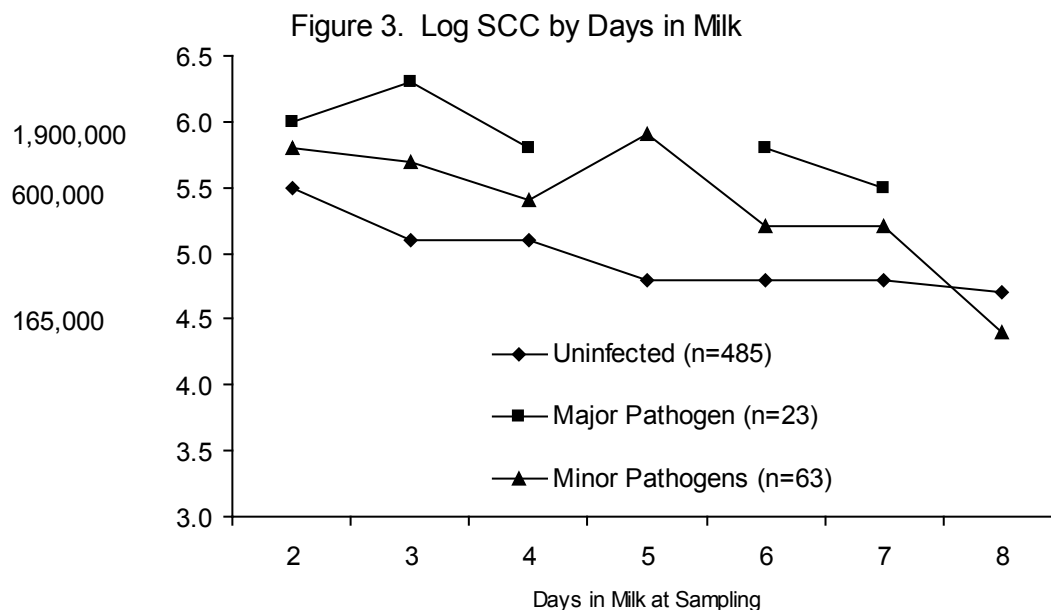


Figura 3. Log CCS por dias em lactação.

Finalmente, em muitas partes do mundo o leite que contém menos células somáticas tem mais valor para o processador do que o leite com CCS mais alta. Em Wisconsin, por exemplo, os rebanhos com CCS <350.000 células/ml no tanque recebem valores progressivamente mais elevados por unidade de leite à medida que os valores da CCS do tanque diminuem, quando comparados com os rebanhos com CCS mais elevados no tanque. Em regiões com estruturas de preço similares, o uso dos testes CCS rápidos para identificar e separar o leite dos quartos que têm contagens cronicamente elevadas pode ser eficaz do ponto de vista do custo.

RESUMO

A detecção e o diagnóstico da mastite subclínica é um importante componente do controle da mastite. Recentes avanços na tecnologia de testes têm resultado no desenvolvimento de diversos testes rápidos de contagem de células somáticas para serem usados na granja. Em geral, os novos testes parecem ter uma exatidão aceitável e cada um deles tem seus pontos fortes e pontos fracos. A utilidade destes testes nas granjas leiteiras irá depender das decisões de manejo que forem tomadas utilizando a informação resultante.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amaral, T. and P. L. Ruegg. 2005. Association between Results of PortaSCC, the CMT and Isolation of Mastitis Pathogens. In Proceedings of the 44th Annual Meeting National Mastitis Council. Feb 11-14, Orlando, FL, pp 289-291.
- Barnum, D. A., and F. H. S. Newbould . 1961. The use of the California Mastitis test for the detection of bovine mastitis. *Canad. Vet J.*, 2:83-90.
- Brookbanks E.O. 1966. The correlation between California mastitis test results and the presence of mastitis pathogens in composite milk samples. *New Zealand Vet J.* 14:89-91.
- Lee C.Ss, F.B. P. Wooding, and P. Kemp. 1980. Identification properties, and differential counts of cell populations using electron microscopy of dry cows secretions, colostrums and milk from normal cows. *J Dairy Res.* 47:39.
- Harmon R. J. Somatic cell counts: a primer. 2001. In Proceedings of the 40th Annual Meeting National Mastitis Council. Feb 11-14, Reno, NV, pp 3-9.
- Hortet P, and H. Seegers. 1998. Loss in milk yield and related composition changes resulting from clinical mastitis in dairy cows. *Prev. Vet. Med.* 37:1-20.
- Painter, E.V, and G. H. Schnepfer. 1965. Detection efficiency of mastitis screening tests. *J Milk and Food Tech.* 28:5-8.
- Ruegg, P.L., C. M. Hullan and B. Rieth. 2005. Performance of the Direct Cell Counter used on Milk Samples Obtained During the First Week of Lactation In Proceedings of the 44th Annual Meeting National Mastitis Council. Feb 11-14, Orlando, FL, pp 291-292.
- Rupp and Bouchard, 2000. Relationship of early first lactation somatic cell count with risk of subclinical first clinical mastitis. *Livestock Production Science* 62:169-180.
- Sargeant, J.M., K. E. Leslie, J. E. Shirley, et al. 2000. Evaluation of the California Mastitis test for screening dairy cows for intramammary infection at calving. *Proc Am Assoc Bov Prac* 33:139-140.
- Schalm W.L., and D. O. Noorlander. 1957. Experiments and observations leading to development of the California mastitis test. *J Amer Vet Med Assoc.* 130:199-207.
- Wesen, D.P., L. O. Luedecke, and T. L. Forster. 1968. Relationship between California Mastitis Test reaction and bacteriological analyses of stripping samples. *J Dairy Sci* 51:679-684.

REVISÃO DE PRÁTICAS DE LIMPEZA E SANITIZAÇÃO DE ORDENHADEIRAS MECÂNICAS

Douglas J. Reinemann, Grea M.V.H. Wolters, Pierre Billon,

Ole Lind e Morten Dam Rasmussen

INTRODUÇÃO

O requisito fundamental de desempenho de um esquema de limpeza para equipamento utilizado em granjas leiteiras é que a qualidade do leite não seja substancialmente reduzida entre o momento da sua obtenção e a retirada da granja. A limpeza do equipamento é conseguida por uma combinação de processos químicos, térmicos e físicos, e esta combinação tem um tempo mínimo de reação para ser eficaz. Uma falha na limpeza pode ser o resultado da falha de qualquer um destes processos. Até um certo ponto, qualquer um destes fatores pode ser intensificado para suprir a deficiência de um outro. Assim, por exemplo, ocorrerá uma falha na limpeza se as soluções de limpeza não forem adequadamente distribuídas a todas as partes do sistema de ordenha. Se houver pouco ou nenhum contato da solução de limpeza com uma determinada superfície, as ações químicas e térmicas não poderão ocorrer. Os componentes das soluções de limpeza e sanitização promovem a ação de limpeza química. O aquecimento das soluções de limpeza ou sanitização antes da circulação proporciona a energia térmica. O calor também pode ser adicionado através de trocadores de calor no circuito do fluxo de limpeza. A energia mecânica é produzida pelo fluxo turbulento das soluções através da tubulação e dos equipamentos com corte transversal relativamente pequeno. Em componentes com corte transversal e/ou volumes maiores, as soluções podem ser pulverizadas sobre as superfícies de contato do produto, produzindo ação mecânica. É comum aumentar as concentrações dos produtos químicos onde a energia mecânica ou térmica é limitada.

As ordenhadeiras mecânicas são geralmente limpas pelo menos duas vezes ou até três vezes por dia, correspondendo à frequência de ordenha do rebanho. As ordenhadeiras mecânicas precisam ser limpas com mais frequência do que o equipamento de plantas leiteiras, por causa da maior carga de resíduos e maior carga bacteriana resultante da manipulação de um produto não pasteurizado.

DESENHO DO SISTEMA E PROCESSOS DE LIMPEZA MECÂNICA

Assegurar uma ação de limpeza mecânica adequada geralmente representa um pequeno custo adicional, mas depende da habilidade do instalador do equipamento. Com a crescente complexidade das ordenhadeiras mecânicas, é cada vez mais complicada a tarefa de assegurar uma ação de limpeza mecânica adequada em todas as peças da ordenhadeira. Há um interesse cada vez maior por sistemas de limpeza que reduzem o consumo de energia e minimizam outros impactos ambientais. Estas metas de caráter geral podem ser auxiliadas assegurando-se que as forças da limpeza mecânica sejam usadas com o maior proveito. A otimização das ações de limpeza mecânica irá resultar em uma redução do uso de produtos químicos e de água.

Antes de utilizar qualquer ordenhadeira mecânica nova, é preciso submetê-la a testes cuidadosos tanto com relação ao desempenho na ordenha como de sua limpeza, cabendo ao fornecedor da ordenhadeira mecânica a responsabilidade de executar estes testes. O operador deve receber do fornecedor instruções completas para a operação da ordenhadeira mecânica tanto no modo ordenha como no modo limpeza. Também devem ser apresentados resultados de testes realizados por terceiros, documentando que a ordenhadeira mecânica é funcional e com as medidas de:

- Nível de vácuo no regulador ou medidor de vácuo
- Nível de vácuo na ordenha (vácuo médio no copo coletor no pico do fluxo de leite)
- Taxa e proporção do pulsador com uma verificação de cada pulsador feita por terceiros
- Fluxo de ar efetivo e reserva manual
- Sincronização do injetor de ar
- Taxa de fluxo de água através de cada unidade de ordenha durante o ciclo de lavagem
- Ciclos recomendados para limpeza
- Concentrações recomendadas dos produtos químicos para cada ciclo

As linhas de leite precisam ter uma inclinação de 0,5 a 2% (ISO 5707) em direção ao jarro da unidade final, para evitar a fluidização agregativa ou “slugging” nas linhas de leite durante a ordenha, e que forma um cilindro de líquido, o “slug”. Todas as tubulações, mangueiras e componentes também precisam ser instalados de forma que haja drenagem por gravidade entre os ciclos de limpeza. A drenagem é um importante aspecto da limpeza porque qualquer água parada no sistema leva a uma mistura com as soluções de limpeza, reduzindo sua eficiência e aumentando os riscos de crescimento bacteriano entre as ordenhas. Todas as partes do sistema de ordenha (tanto sanitárias como não sanitárias) devem drenar quando o sistema estiver desligado. O sistema de ordenha deve ser inspecionado para verificar se há qualquer tubulação, mangueira, encaixe ou equipamento que não esteja drenando quando o sistema estiver desligado.

As partes não sanitárias do sistema de ordenha (linha de ar do pulsador, sistema de fluxo inverso, etc.) também podem ser fonte de contaminação bacteriana. Se os testes de qualidade do leite indicarem que há problemas de limpeza e sanitização do equipamento no sistema de ordenha e a fonte não puder ser identificada na unidade de ordenha, mangueiras, linha do leite ou unidade final, é recomendado que se faça uma inspeção visual das linhas de ar e equipamento auxiliar. Estas partes não sanitárias do sistema devem ser limpas periodicamente como parte da manutenção rotineira do sistema. As vedações e gaxetas e todas as peças de borracha devem ser trocadas pelo menos uma vez por ano. A borracha envelhecida torna-se porosa e é muito difícil de limpar.

Uma regra primordial para um projeto eficiente e eficaz de sistema CIP (Clean-In-Place) é manter o comprimento dos tubos e o número de encaixes em um mínimo. Isto irá reduzir o custo de instalação e de operação do sistema CIP, além de melhorar o desempenho tanto da ordenha como da limpeza. A unidade final deve estar localizada de forma que o número de cotovelos e encaixes na linha de leite seja mantido em um mínimo. A unidade final não deve ser colocada em um local que interfira com o movimento dos operadores durante a ordenha. A pia de lavagem geralmente está localizada próximo da entrada do tanque de expansão para facilitar a mudança de configuração da tubulação de ordenha para limpeza. O comprimento da tubulação da sala de leite para a de ordenha deve ser mínimo, para reduzir o volume de água de limpeza, perda de calor durante a limpeza e dificuldade de controlar a circulação.

Limpeza manual

Ordenhadeiras simples, como as ordenhadeiras de balde, geralmente são desmontadas e limpas manualmente. Mesmo nas máquinas mais complexas, que utilizam limpeza por circulação, entretanto, há componentes que precisam ser desmontados e limpos manualmente (como os componentes dos conjuntos de válvulas, por exemplo). A fonte da ação mecânica de limpeza geralmente é uma escova usada para remover os depósitos de leite. O uso de tempo de contato prolongado (deixando peças de molho em uma pia) também é comum para pequenos componentes.

Limpeza com pulverização

Os tanques de expansão e outros recipientes grandes que podem ser parte do sistema de ordenha (medidores de leite) são limpos cobrindo suas superfícies internas pulverizando uma lâmina de água. Geralmente é mais difícil manter as temperaturas superficiais nas operações de pulverização do que nas condições de fluxo na tubulação. A ação mecânica também é significativamente reduzida quando comparada com a limpeza pela circulação. Por isso, as concentrações dos produtos químicos e as temperaturas da água de lavagem têm uma importância crítica para o sucesso da limpeza com pulverização.

Fluxo de inundação (“Flooded flow”)

A linha de transferência do leite (da bomba de leite para a pia de lavagem) é limpa em uma condição de inundação (“flooded”), com a bomba de leite proporcionando a velocidade do fluido. Ordenhadeiras mecânicas com diâmetros inferiores a 48 mm na linha de leite têm usado o fluxo de inundação para fazer circular as soluções de limpeza pelas linhas de leite. O fluxo de inundação também é encontrado em componentes como as mangueiras das unidades de ordenha em que o diâmetro interno é muito pequeno. A velocidade de fluxo desejada para os componentes inundados está acima de 1,5 metros/segundo.

Entrada de ar constante

A quantidade de água necessária para inundar um sistema de ordenha com linhas de leite muito longas e/ou com diâmetros muito grandes torna o processo pouco prático. A potência disponível para alcançar uma velocidade de fluxo adequada também é limitada com o equipamento disponível como parte da ordenhadeira. A entrada de ar tem sido usada para produzir um fluxo de duas fases (ar/água) e superar estas limitações. Uma entrada de ar constante é utilizada em algumas linhas de leite de diâmetro pequeno (< 48 mm) para reduzir o volume de água necessário e aumentar as velocidades de fluxo. Algumas unidades de ordenha e medidores de leite também são desenhados de forma a introduzir uma entrada de ar constante durante a limpeza. Esta entrada de ar constante irá melhorar um pouco a ação mecânica da limpeza, mas torna mais difícil equilibrar o fluxo de água através das unidades e aumenta a capacidade da bomba de vácuo necessária para a limpeza.

Entrada de ar em ciclos (injetores de ar) e fluxo de “slug”

A entrada de ar em ciclos é uma prática comum em ordenhadeiras com diâmetros de 60 mm ou maior nas linhas de leite. O objetivo do fluxo de ar injetado é formar um “slug” ou cilindro de solução de limpeza e movimentar este “slug” por toda a tubulação. Os “slugs” podem variar desde alguns centímetros até vários metros de comprimento. A área entre os “slugs” contém uma lâmina de líquido de movimentação mais lenta na parte baixa da tubulação. As velocidades do “slug” desenvolvidas com um fluxo de ar de duas fases pode ser 3 a 5 vezes maior, e as forças de cisalhamento desenvolvidas na parede são dez a vinte vezes maiores do que as obtidas nos circuitos CIP inundados. O tempo de contato entre o “slug” e a parede da tubulação, entretanto, é significativamente reduzida.

As velocidades do “slug” de 7 a 10 m/s maximizam a tensão de cisalhamento desenvolvida na parede, mas minimizam a variação da tensão de cisalhamento ao longo da tubulação. A taxa de entrada de ar na linha de leite deve ser controlada para que o “slug” alcance estas velocidades. As taxas de entrada de ar acima deste máximo irão resultar em uma redução da densidade do “slug” e uma redução na ação de limpeza mecânica da linha de leite. Os métodos para ajustar o ciclo de injeção de ar são apresentados por Reinemann et al (1997).

Quando a entrada dos ciclos de ar é aplicada ao coletor de lavagem, a tubulação e os componentes são enchidos e esvaziados alternadamente. Lind (1990) denominou este processo de pulsação controlada de lavagem. Um estudo realizado por Verheij e Wolters (1993) mostrou que um aumento no vácuo do sistema melhorou a remoção de leite residual das unidades de ordenha, medidores de leite e linhas do leite em sistemas inundados durante o processo de pré-enchágüe. Se o coletor não for completamente enchido e esvaziado em cada ciclo, pode ocorrer uma variação significativa nos componentes do fluxo (Reinemann et al 1997), e deve ser evitado em grandes sistemas de salas de ordenha.

A capacidade de limpeza da bomba de vácuo inclui o uso normal de ar de todos os componentes em operação durante a limpeza (cerca de 30 l/min por unidade de ordenha), mais o que é usado pela entrada de ar constante ou em ciclos. O ar necessário para os injetores de ar usados para criar o fluxo “slug” na linha do leite é apresentado na Tabela 1 (ISO 5707). Com projeto de sistema e estratégias de controle adequados, a capacidade da bomba de vácuo necessária para a limpeza da maioria das ordenhadeiras mecânicas é menor do que o mínimo recomendado para a ordenha. Em sistemas grandes, usando ciclos de injeção de ar em múltiplos locais, poderá ser necessária uma capacidade adicional da bomba de vácuo

Ainda que os desenhos dos sistemas variem consideravelmente, as características comuns da sala de ordenha CIP são apresentadas na Figura 1. As soluções de limpeza são transportadas do tanque ou dorna de lavagem através das partes sanitárias do sistema e de volta para o tanque de lavagem durante o processo CIP. Os padrões de fluxo em duas fases são determinados pelo diâmetro dos componentes do sistema e pelas taxas de fluxo de água e ar. Os diâmetros internos variam de 10 mm em tubos curtos de leite a 98 mm ou mais na linha do leite, ultrapassando 150 mm nos medidores de leite. Por isso, as velocidades dos fluxos e os padrões de fluxo apresentam grande variação entre as diferentes partes do sistema. Normalmente, a injeção de ar é usada para produzir o fluxo “slug” na linha do leite. Os objetivos e as estratégias para o controle ideal da entrada de ar e água na unidade de ordenha e outros componentes não são os mesmos que para a tubulação. As unidades de ordenha são inundadas ou alternam entre serem inundadas e esvaziadas. Os grandes componentes, como alguns medidores de leite são geralmente limpos com spray ou lâmina de água nas superfícies internas.

Diâmetro interno da linha de leite (mm)	Ar necessário para o fluxo “slug” (l/min) para diversos níveis de vácuo no sistema		
	40 kPa	45 kPa	50 kPa
38	326	299	272
48	521	477	434
60	814	746	678
73	1205	1104	1104
98	2171	1990	1809

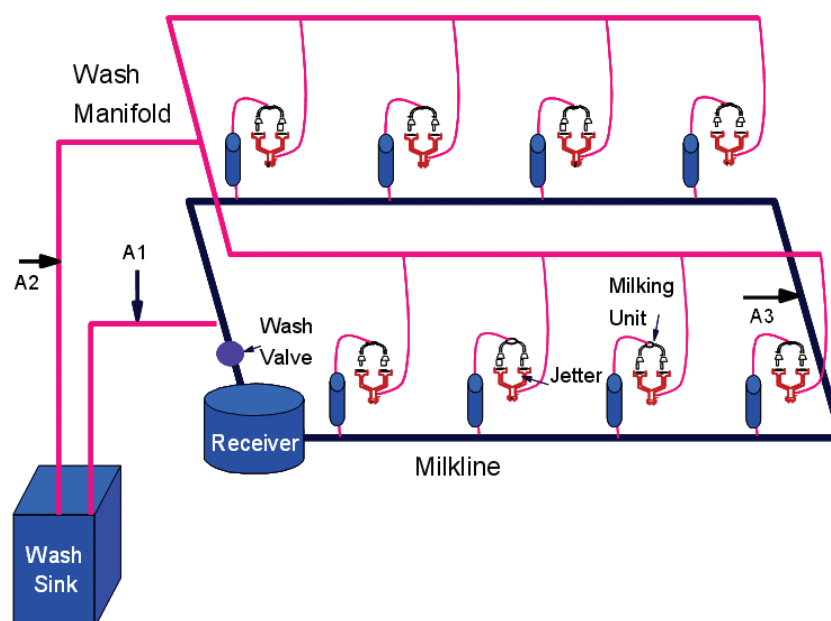


Figura 1. Componentes de um sistema de limpeza para uma sala de ordenha. Injeção de ciclos de ar pode ser introduzida na linha do leite no ponto A1 ou A3 (mas não nos dois). A válvula de lavagem é eliminada se o ar for injetado em A3. O ar pode ser injetado em A2 em combinação com A1 ou A3. Isto melhora a limpeza de componentes como medidores de leite, mas complica a tarefa de conseguir uma distribuição uniforme do fluxo.

Nas salas de ordenha, as unidades de ordenha são comumente ligadas a conjuntos de lavagem (“jetters”) alimentados a partir de um coletor de lavagem. O coletor de lavagem é formado por esta rede de tubulações de arrasto da água e “jetters”. A injeção de ciclos de ar pode penetrar através do coletor de lavagem, da linha do leite ou de ambos. Quando o ar é injetado apenas através do coletor de lavagem, é comum incluir uma mangueira ou tubulação da linha de arrasto de água diretamente para a linha do leite. A injeção de ar na linha do leite pode ocorrer na unidade final (exigindo uma válvula de lavagem entre o injetor de ar e a unidade final) ou na extremidade final da linha do leite (sem válvula de lavagem na linha do leite). Ar e água são separados no jarro da unidade final. O ar viaja até o tanque de distribuição e é removido do sistema pela bomba de vácuo. A água retorna ao tanque de lavagem pela bomba de leite através da linha de transferência de leite. Se for usada injeção de ar, a sincronização do tempo do ciclo de injeção de ar é crítica para se alcançar o resultado desejado.

Uma outra estratégia é que as instalações que não dispõem de injeção de ar controlada ajustem o volume de água na pia de lavagem, para que a pia seja esvaziada depois de inundar os componentes críticos da ordenhadeira, sendo o ar então retirado para as linhas de lavagem. Esta entrada de ar aumenta as velocidades do fluxo com a remoção das soluções de limpeza do sistema. Esta estratégia torna-se mais difícil de controlar quando aumenta o tamanho das instalações de ordenha.

Pode ocorrer uma grande variação no fluxo de água entre as unidades na sala de ordenha quando não se procura ajustar o fluxo. O vácuo do sistema, o diâmetro e o comprimento da linha e o desnível da pia de lavagem determinam a capacidade de fluxo do coletor de lavagem. Um fluxo excessivo através das primeiras unidades pode drenar o coletor de lavagem, resultando em pouco ou nenhum fluxo através das unidades no final da linha.

A capacidade da bomba de leite é muitas vezes o fator limitante dos sistemas CIP. A distribuição do fluxo de água entre as unidades deve ser o mais uniforme possível de modo a tornar mais eficiente o uso de água e ar na limpeza do equipamento de ordenha, evitando ultrapassar a capacidade da bomba de leite. Estudos de campo indicaram que 3 l/min é suficiente para limpar a maioria das unidades de ordenha e é a taxa de fluxo mínima recomendada. Ainda que muitas unidades sejam limpas com taxas de fluxo abaixo deste valor, o risco de falha na limpeza parece aumentar. Sistemas com medidores de leite ou jarros de pesagem exigem 4,5 a 6 l/min para uma limpeza efetiva. Para assegurar que a taxa de fluxo mínima seja alcançada em cada unidade de ordenha, deve-se recorrer a controladores de fluxo colocados estrategicamente ou a algum outro método, o que permite que se alcance uma uniformidade razoável de fluxo em todas as unidades.

PROCESSOS TÉRMICOS E QUÍMICOS

Os produtos de limpeza são geralmente classificados como compostos ácidos ou alcalinos. A função principal dos compostos ácidos é dissolver depósitos inorgânicos (minerais), enquanto que os compostos alcalinos são usados principalmente para dissolver depósitos orgânicos (gordura e proteína). Diversos outros componentes são adicionados para ampliar os processos ácido/alcalino de remoção e para proteger as superfícies do equipamento contra os compostos de limpeza. A atividade das soluções de limpeza geralmente aumenta com o aumento da temperatura e da concentração química, mas temperaturas excessivas podem causar volatilização de alguns componentes químicos, reduzindo a eficiência ou promovendo a desnaturação da proteína e acelerando a deposição mineral. A concentração química excessiva pode levar a corrosão ou outras formas de danos aos componentes do sistema ou a presença de resíduos no leite.

A água é o principal componente de quase todos os compostos de limpeza e sanitização. A presença de sólidos em suspensão, minerais e outros componentes dissolvidos pode ter uma influência significativa sobre a eficácia dos agentes de limpeza e sanitização. Em alguns casos, o tratamento da água para remover certos componentes específicos como ferro e silicatos pode ser a única opção para se alcançar uma limpeza e sanitização adequados. As concentrações de substâncias químicas podem ser aumentadas para atender a certos componentes da água, como a dureza. Pode ser mais econômico tratar a água usada para limpeza e sanitização, do que controlar pela adição de mais substâncias químicas. A tabela a seguir apresenta diversos sistemas de calcificação para a dureza da água.

	Unidades Internacionais (mmol CaCO ₃ / litro)	Dureza como ppm de CaCO ₃	Graus de dureza escala alemã (°dH)
Mole	< 1,6	<160	< 9
Ligeiramente dura	1,6 a 3,2	160 to 320	9 a 18
Dura	3,2 a 4,6	320 to 460	18 a 26
Muito dura	> 4,6	> 460	> 26

Em geral, um esquema de limpeza/sanitização é formado pelos seguintes processos químicos, alguns dos quais podem ser combinados em um único passo e alguns podem conter diversos passos. A maior parte do leite residual no sistema deve ser removido antes de iniciar o processo de limpeza, permitindo a drenagem de seus componentes. A passagem de ar comprimido ou de ar sob vácuo através dos componentes do sistema pode facilitar este processo.

Enxágüe com água

Um pré-enxágüe pode ser utilizado para remover leite residual preso às superfícies e outros depósitos facilmente solúveis ou em suspensão. Estes enxágües não devem ser circulados, mas descartados depois de uma única passagem pelo sistema. Em geral, a temperatura do pré-enxágüe fica entre 38°C e 55°C. O limite inferior é estabelecido acima do ponto de fusão da gordura do leite. O limite superior tem sido especificado com base na suposição de que as proteínas podem ser “assadas” nas superfícies. Um benefício do enxágüe inicial é aquecer o equipamento para reduzir a queda na temperatura durante os ciclos subseqüentes. Este benefício será mínimo quando os ciclos subseqüentes não forem iniciados no prazo de 5 minutos depois do enxágüe. Enxágües com água também podem ser utilizados entre os ciclos químicos para remover os produtos químicos residuais da limpeza, para que não ocorra uma mistura entre produtos químicos incompatíveis. Um enxágüe final pode ser utilizado para retirar sujidades em suspensão durante o passo de limpeza e remover resíduos de soluções de limpeza.

Detergente alcalino

Os detergentes alcalinos são usados para remover sujidades orgânicas como gordura e proteínas do leite. Os detergentes reduzem a tensão superficial da água de forma que a solução possa molhar com mais eficiência e penetrar nas sujidades que aderiram às superfícies. Os detergentes contêm compostos para reduzir a tensão superficial da solução, saponificar gorduras, peptizar proteínas e dispersar e suspender estas sujidades na solução. A maioria dos detergentes tem uma faixa de temperatura de trabalho entre 43°C e 77°C, mas há também formulações disponíveis para baixas temperaturas. A eficácia da limpeza dos detergentes melhora com o aumento da temperatura e com a diminuição da dureza da água. A concentração do detergente precisa ser ajustada de forma a atender a estes fatores, bem como a presença de outros elementos como ferro ou bactérias sulfurosas. A alcalinidade da solução a ser circulada geralmente fica entre 250 a 500 ppm de alcalinidade (expressa como Na_2O) para ordenhadeiras e 400 a 800 ppm de alcalinidade para os tanques de armazenagem do leite. A alcalinidade da solução depende da temperatura da solução de lavagem, tipo de materiais da ordenhadeira e a razão entre a área da superfície a ser limpa e o volume da solução de limpeza. O cloro é muitas vezes adicionado aos detergentes alcalinos como agente peptizante, para auxiliar na remoção de proteína e para melhorar a capacidade de enxágüe do detergente. O teor de cloro varia de 75 a 200 ppm de NaOCl para ordenhadeiras e 100 a 200 ppm de NaOCl para os tanques de armazenagem do leite.

Enxágüe ácido

Um ciclo de enxágüe ácido é realizado para remover os depósitos minerais da água e do leite. Pode ser um enxágüe frio ou quente. A frequência do enxágüe ácido depende da qualidade da água usada para a limpeza. As soluções para o enxágüe ácido geralmente têm pH igual a 3.5 ou menor.

Água acidificada em ebulição

O método da água acidificada em ebulição é usado em algumas partes do mundo. Um detergente ácido é usado a uma temperatura de pelo menos 95°C. A solução de lavagem faz uma única passagem pelo sistema e não circula. O ácido é adicionado à água quente durante os dois primeiros minutos do processo. A água quente passa através do sistema por um período adicional de 5 a 7 minutos. O objetivo é manter todas as superfícies a uma temperatura acima de 77°C durante 2 minutos pelo menos. Neste processo, a desinfecção é conseguida pela ação térmica da água quente sem o uso de desinfetantes químicos. A ação química dos detergentes alcalinos também é substituída pela ação térmica intensificada. Exige atenção especial para alcançar as elevadas temperaturas da água e chegar aos componentes do sistema de ordenha que podem suportar estas temperaturas elevadas.

Desinfecção

Quando aplicada a equipamento de processamento leiteiro, entende-se por desinfecção (ou sanitização) a redução de microrganismos a níveis aceitavelmente baixos. A sanitização difere da esterilização, que implica na destruição de todas as formas de vida microbiana. Os desinfetantes são aplicados em superfícies que já foram limpas para matar os microrganismos que sobreviveram à limpeza e/ou ao processo de armazenagem do equipamento. Os depósitos residuais de sujidades reduzem a eficácia da sanitização por representarem locais de incubação para os microrganismos, protegendo-os contra os agentes sanitizantes, ou a reação de matéria orgânica com desinfetantes químicos. Os produtos à base de cloro são a forma mais comum usada em equipamentos de processamento do leite nas granjas. A variedade de microrganismos mortos por produtos à base de cloro provavelmente é muito mais ampla do que a de qualquer outro desinfetante aprovado. O cloro é eficaz contra bactérias gram positivas e gram negativas, e condicionalmente contra certos vírus e esporos. Bactérias, vírus, fungos, leveduras, esporos, algas e protozoários são inibidos em uma certa proporção.

Os desinfetantes à base de cloro são usados em concentrações de 100 a 200 ppm de cloro disponível. Os compostos à base de cloro mais ativos e mais amplamente utilizados são hipoclorito de cálcio (CaOCl) e sódio (NaOCl). O cloro ativo reage com matéria orgânica residual e é por ela inativado. O cloro é bastante volátil durante o armazenamento, especialmente se for armazenado de forma inadequada, ou durante a mistura antes do uso, especialmente se as soluções forem preparadas a temperaturas elevadas. A volatilização do cloro pode reduzir significativamente o cloro disponível nos produtos e/ou soluções para sanitização. O gás de cloro é formado quando os produtos à base de cloro são misturados com ácido. Este gás é perigoso se for inalado e também é corrosivo para o aço inoxidável. Deve-se ter cuidado para assegurar que cloro e compostos ácidos não sejam misturados.

Desinfetantes à base de cloro são circulados imediatamente antes da ordenha, para matar as bactérias que tenham sobrevivido ao processo de limpeza. A desinfecção pré-ordenha não pode ser realizada em máquinas que não tenham ficado paradas por mais do que diversas horas entre o ciclo de lavagem anterior e a ordenha subsequente, ou quando um desinfetante for combinado com ciclo de lavagem com detergente ou ciclo de enxágüe ácido, ou quando for usada água para enxágüe depois de cada ciclo de tratamento químico.

Os desinfetantes ácidos são considerados toxicologicamente seguros, e com estes produtos a remoção de minerais e a desinfecção podem ser combinadas em um único passo. Surfactantes ácidos aniônicos são misturas de um ácido, geralmente fosfórico, com um detergente aniônico. O espectro de bactérias mortas pelos surfactantes ácidos aniônicos inclui células vegetativas de espécies gram negativas e gram positivas, mas os esporos bacterianos e fúngicos são resistentes. A eficácia dos desinfetantes ácidos sobre microrganismos individuais é dose dependente.

Os ácidos orgânicos como acético, láctico, propiônico e fórmico, são usados com maior frequência. Os ácidos neutralizam a alcalinidade dos detergentes e previnem a formação de depósitos alcalinos sobre as superfícies. Os produtos ácidos são mais eficientes em superfícies de aço inoxidável ou quando o tempo de contato pode ser estendido. Os ácidos têm vantagens por serem termo-estáveis até 100°C , serem relativamente pouco afetados pela presença de matéria orgânica, serem eficientes em um amplo espectro de células vegetativas. As desvantagens dos ácidos são o alto custo e a corrosividade para o ferro e alguns outros materiais.

Produtos para limpeza manual

Os produtos para limpeza manual diferem das formulações de baixa espuma para uso na circulação. Em geral, os produtos para limpeza manual contêm mais surfactantes do que os produtos para circulação e são formulados para serem eficazes a temperaturas mais baixas.

Esquemas de limpeza típicos

A escolha do esquema de limpeza a ser usado depende em grande parte dos hábitos e da regulamentação de cada país, do custo relativo de energia para aquecer a água, do custo dos produtos químicos e da disponibilidade e eficácia do processo. Granjas com rebanhos muito pequenos (menos de 30 vacas) tendem a usar um alto grau de limpeza e desinfecção manuais. Geralmente envolve a limpeza manual de alguns ou todos os equipamentos usados na coleta e armazenagem do leite. Rebanhos de porte pequeno a médio (30 a 500 vacas) comumente usam equipamento de lavagem automática. Este equipamento mistura automaticamente os produtos químicos com o volume apropriado de água na temperatura adequada, e circula estas soluções por toda a ordenhadeira. Nas granjas de porte grande (1.000 vacas ou mais) pode haver uma pessoa presente para misturar as soluções químicas e operar as válvulas para a circulação. Os processos químicos descritos acima são usados em diversas combinações ao redor do mundo.

- Na Holanda, França e grande parte da Europa, o esquema de limpeza padrão consiste de: pré-enxágüe com água quente (35-45°C), combinação de detergente alcalino e desinfetante (8 -10 minutos), seguido por um pós-enxágüe com água fria. Um esquema similar é usado com uma solução ácida uma ou duas vezes por semana ou uma vez por dia, dependendo da dureza da água.
- A rotina mais comum nos Estados Unidos é uma combinação de: pré-enxágüe, detergente alcalino, enxágüe ácido (a frequência depende da dureza da água), e desinfecção pré-ordenha.
- Uma prática usada na Nova Zelândia é uma lavagem com água acidificada em ebulição (periodicamente alternada com detergente alcalino), seguida por um enxágüe com água fria.
- Um procedimento convencional dinamarquês é composto por: pré-enxágüe, detergente alcalino, enxágüe com água fria, enxágüe ácido e um enxágüe com água pura imediatamente antes da ordenha.

MÉTODOS PARA AVALIAÇÃO DA LIMPEZA

Inspeção visual

As falhas na limpeza geralmente resultam em um acúmulo visual ou filme residual em alguma parte do equipamento de coleta ou armazenagem do leite. Alguns destes filmes têm um aspecto característico, o que pode ajudar a determinar a causa da falha na limpeza. Há duas categorias gerais de filmes residuais: filmes orgânicos, como gordura e proteína, e filmes inorgânicos como minerais de água dura, ferro e sílica. Também pode ocorrer uma descoloração das superfícies devido a corrosão e/ou micro-fissuras. Os filmes que contêm gorduras são moles quando molhados e secos. Os filmes de proteína são duros quando molhados ou secos, e têm uma cor marrom clara. Os filmes minerais são duros quando molhados ou secos e geralmente têm uma textura áspera, porosa, e são invisíveis quando molhados e brancos quando secos. Os filmes de proteína são solúveis em cloro, ao passo que os filmes minerais são solúveis em ácido. Os filmes de gordura podem ser removidos com água a temperatura alta e/ou detergentes alcalinos. Os filmes podem ser diagnosticados esfregando uma pequena área com soluções ácidas concentradas e/ou detergentes.

Culturas de leite a granel

Periodicamente, todas as granjas realizam alguma forma de teste para determinar a contaminação bacteriana do leite a granel, assegurando o cumprimento das exigências nacionais, estaduais e locais. As duas principais fontes de bactérias no leite não pasteurizado são os microrganismos transportados do ambiente para a ordenhadeira e os microrganismos causadores de mastite presentes no interior do úbere. As

bactérias depositadas no equipamento de manipulação do leite multiplicam-se e tornam-se uma importante fonte de contaminação se o equipamento não for limpo adequadamente. O diagnóstico diferencial pode ser realizado usando diversos métodos de cultura bacteriana para determinar a provável fonte das elevadas contagens bacterianas no leite a granel. A coleta de amostras de leite não pasteurizado para o teste deve ser feita cuidadosamente. As amostras precisam ser obtidas sem contaminação (nunca colher amostra na saída do tanque de expansão) e armazenadas abaixo de 4°C ou congeladas até o processamento. O teste rotineiro é recomendado para fortalecer a capacidade diagnóstica e identificar situações problemáticas antes que os limites de qualidade ou legais sejam alcançados. Deve ser realizado um mínimo de três testes para conseguir um diagnóstico com confiança.

Muitas granjas produzem leite de alta qualidade de forma consistente, mas elevações esporádicas nas contagens bacterianas podem ocorrer em muitas granjas. Quando o teste de rotina no tanque de expansão indica que existe um problema, podem ser realizados testes mais detalhados para isolar a fonte do problema e recomendar os métodos mais eficazes para sua solução. A amostragem estratégica de leite em diferentes **pontos** irá determinar se a localização de uma falha na limpeza e/ou problema de incubação está nas unidades de ordenha, na linha do leite e unidade final, na linha de transferência do leite (incluindo filtros e pré-resfriadores), ou no tanque de expansão. A amostragem estratégica de leite em diferentes **momentos** durante o processo de ordenha irá determinar se a incubação no sistema de manipulação do leite durante a ordenha é uma importante fonte de contaminação.

CONTAGEM PADRÃO EM PLACA

Em todo o mundo, os padrões regulatórios oficiais para o leite baseiam-se na determinação do número de bactérias presentes no leite não pasteurizado. O método mais comum usado para avaliar a qualidade bacteriana do leite não pasteurizado é a contagem padrão em placa (CPC). Em muitos países, o limite legal para o leite classificado é de 100.000 ufc/ml. A CPC é um ponto crítico de controle para a qualidade do leite e muitos compradores de leite têm padrões que são mais rigorosos do que os níveis máximos permitidos por lei. Uma meta razoável para a CPC é ≤ 5.000 ufc/ml e uma contagem de >10.000 ufc/ml geralmente é um indicador de que há um problema.

A CPC dá uma medida global da qualidade bacteriana do leite mas tem pouco valor diagnóstico na determinação da fonte da contaminação bacteriana. A CPC elevada no leite a granel pode ser causada por um ou mais dos seguintes itens:

- Falha na limpeza da ordenhadeira
- Falha na limpeza do tanque do leite a granel
- Resfriamento inadequado do leite
- Higiene inadequada do teto e do úbere
- Microrganismos da mastite com acesso ao leite.

A CPC é realizada seguindo métodos estabelecidos e, por causa das diferenças na metodologia, os resultados não devem ser comparados com as culturas qualitativas do tanque de expansão. Resumindo, o procedimento é realizado pipetando diluições padrão de leite em placas de Petri, adicionando agar de métodos padrão e incubando as placas a 32°C durante 48 horas. As colônias bacterianas são então contadas usando diversos métodos, dependendo do tipo de colônias presentes. A CPC é computada com base na diluição e no número de colônias presentes. São testes de amplo espectro que não identificam os tipos de microrganismos presentes. Há várias alternativas para a CPC. A contagem em alça em placa (“plate loop count” PLC) é

um método equivalente mas não é considerado como preciso quando as contagens bacterianas de leite não pasteurizado ultrapassam 200.000 ufc/ml. A contagem em espiral em placa (“spiral plate count” SPL) requer menos experiência técnica, é considerada equivalente a CPC e não exige nenhuma diluição quando se espera que os números bacterianos fiquem entre 500 e 500.000 ufc/ml. CPC, PLC e SPL são métodos diretos baseados na contagem de colônias bacterianas visíveis. O método **Bactoscan®** é um recente avanço tecnológico que utiliza microscopia epifluorescente contínua para contar as células bacterianas coradas com acridina laranja. Bactoscan® foi comparado de forma favorável aos métodos bacteriológicos tradicionais e é considerado como menos variável e mais reprodutível.

CONTAGEM DE BACTÉRIAS TERMODÚRICAS

Outro teste para leite a granel que tem valor diagnóstico é a contagem de bactérias termodúricas ou Contagem de Pasteurizado no Laboratório (CPL). As bactérias termodúricas estão muitas vezes relacionadas com a deterioração do leite pasteurizado. A CPL é uma CPC realizada com leite que foi aquecido a 62,8°C e mantido durante 30 minutos (pasteurização baixa temperatura, longo tempo). As bactérias causadoras de mastite (incluindo os coliformes) não sobrevivem à pasteurização. As bactérias termodúricas podem incluir *Micrococcus*, *Microbacterium*, *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Clostridium* e eventualmente *Streptococcus*. Estes microrganismos crescem e se multiplicam no equipamento de manipulação do leite se os procedimentos de limpeza e sanitização forem inadequados. A CPL deve ficar abaixo de 100 a 200 ufc/ml e uma CPL abaixo de 10 ufc/ml indica uma excelente higiene do equipamento.

CONTAGEM DE COLIFORMES

A contagem de coliformes permite obter uma indicação tanto da eficácia dos procedimentos de preparação da vaca durante a ordenha como da limpeza do ambiente da vaca, uma vez que uma importante fonte de bactérias coliformes no leite do tanque de expansão é o transporte de sujidades dos tetos e úberes para a ordenhadeira. Os coliformes, entretanto, também podem incubar nos filmes residuais do equipamento de ordenha. As contagens de coliformes são realizadas semeando diluições de leite não pasteurizado em meios seletivos, como agar bile violeta vermelho. As placas são incubadas a 32°C durante 24 horas.

Contagens de coliformes inferiores a 10/ml indicam excelência tanto na higiene pré-ordenha como na sanitização do equipamento. As contagens de coliformes precisam estar abaixo de 10/ml quando o leite não pasteurizado puder ser vendido aos consumidores. Uma higiene de ordenha inadequada geralmente resulta em contagens de coliformes entre 100 e 1000 com uma elevação proporcional na CPC e uma CPL quase normal, se a ordenhadeira estiver limpa. As contagens de coliformes acima de 1000 sugerem que o crescimento bacteriano está ocorrendo no equipamento que manipula o leite. Em casos de falhas prolongadas na limpeza, a contagem de coliformes, a CPC e a CPL estarão elevadas porque coliformes e outras bactérias estão crescendo nos filmes de sujidades na ordenhadeira.

MICRORGANISMOS DA MASTITE E CPC

As bactérias no leite não pasteurizado podem vir diretamente do ambiente ou serem microrganismos da mastite. “Picos” bacterianos (definidos como “aumentos temporários, esporádicos, nos valores de CPC que ultrapassaram o intervalo de confiança de 95% para a CPC média e eram >10.000 ufc/ml”) foram associados a estreptococos (sobretudo *Streptococcus uberis*) e bactérias gram negativas. Foi documentada uma eliminação

muito alta em vacas com mastite por *S. uberis* e *S. agalactiae*. Problemas de mastite subclínica devem ser considerados quando tanto a SCC como a CPC estiverem elevadas. Esta situação é mais comum em pequenos rebanhos, em que uma ou duas vacas que estejam eliminando as bactérias podem ter uma influência significativa sobre os valores totais do tanque de expansão. Nestes casos, tanto a SCC como a CPC são geralmente altas e o microrganismo causador deve ser evidenciado por uma cultura quantitativa do tanque de expansão.

Enxágüe do sistema

IDF (1984) descreve um método de enxágüe da ordenhadeira para determinar a eficácia do esquema de limpeza adotado. A máquina é enxaguada com água esterilizada e as amostras são analisadas com relação à população bacteriana da água de enxágüe. Para este método, a contagem da placa padrão precisa ser <20.000 ufc/ml, bactérias termodúricas <2.000 ufc/ml, coliformes <100 ufc/ml e bactérias psicrotróficas (como *Pseudomonas*) <2.000 ufc/ml.

Bioluminescência do ATP

Os resultados de testes bacterianos não estão disponíveis até dois ou três dias após a realização do teste. O recente desenvolvimento de métodos de detecção de ATP usando bioluminescência permitiu que um método rápido fosse proposto para determinar a eficiência da sanitização na indústria leiteira. A bioluminescência do ATP é um método de detecção rápida, adequado para a amostragem no local e demora menos de cinco minutos para ser realizado. A bioluminescência do ATP tem potencial para ser uma ferramenta útil na avaliação da eficácia dos procedimentos de limpeza usados nas ordenhadeiras.

O método ATP parece ser mais sensível para detectar diferenças na eficácia da limpeza do que os métodos de cultura do tanque de expansão (Reinemann e Ruegg, 2000). Há uma variação considerável nos dados coletados, entretanto, e o método precisa ser usado cuidadosamente e com um número suficiente de testes para obter resultados significativos. O tamanho da amostra necessária irá depender da habilidade do usuário e da estabilidade do sistema sendo monitorado. É preciso ter cuidado para evitar a contaminação das superfícies internas dos componentes quando são abertos para o uso do swab. A variabilidade nos dados do ATP pode ser significativamente reduzida usando os mesmos pontos de medida ao longo do tempo.

QUESTÕES AMBIENTAIS

Em algumas partes do mundo, há diversas questões ambientais que estão começando a influenciar as práticas de limpeza. A descarga dos produtos químicos usados na limpeza e desinfecção no meio ambiente pode ser um problema no caso de elementos como o fósforo e o cloro. Muitos trabalhos têm sido feitos para o desenvolvimento de enzimas como agentes limpadores ou aditivos para as soluções convencionais de limpeza. Os produtos de limpeza à base de enzimas têm tido sucesso limitado e ainda não foram amplamente adotados para as ordenhadeiras. Um fator crítico para o sucesso destes produtos parece ser a utilização da enzima adequada para o tipo específico de solo. Isto pode ser uma limitação quando os solos são compostos por uma ampla variedade de substâncias. Os produtos de limpeza à base de enzimas também precisam operar em uma faixa estreita de temperatura e pH para evitar a sua desativação, o que também pode ser uma limitação em muitas situações de limpeza. Está sendo pesquisado o uso de ozônio como desinfetante para substituir o cloro, mas de uma forma geral ainda não chegou ao mercado.

O volume de água usado para limpeza e posteriormente descarregado no meio ambiente pode ser um problema em áreas em que há falta de água. A energia usada para aquecer e bombear a água também tem implicações ambientais. Várias publicações citadas nas referências bibliográficas trazem diversos métodos para reduzir o volume da água, volume dos produtos químicos e necessidades de energia para a limpeza através de um projeto e controle eficiente do sistema, reutilização das soluções de limpeza.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Book, J.M., and D.J. Reinemann, 1994. New Ideas for Washing Pipelines. Proc. of the National Mastitis Council Regional Meet. Pp 10-15.
- Bramley AJ, Dodd FH, Mein GA and Bramley JA (1992) Milk Hygiene and Machine Milking. *Machine Milking and Lactation*. Insight Books, Huntington, VT.
- British Standards Organization, 1982. BS5226, Cleaning of Milking Machines,.
- Britt, J.S., F. Hartmann and D.J. Reinemann, 1997. Use of Microbiology and Strategic Sampling at strategic times to solve High Bacteria Count Problems in bulk Tank Milk. Proc. Ann. Meet. Natl. Mastitis council. 36:80-90.
- Clegg and Cousins 1969. Cleaning of Milking Machines. Proceedings of the 1968 Symposium on Machine Milking, National Institute for Research in Dairying
- Cousins and McKinnon, 1977. Cleaning and Disinfection. In Machine Milking. Published by the National Institute for Research in Dairying.
- Guterbach, W.M., and P.E. Blackmer, 1984. Veterinary Interpretation of Bulk Tank Milk. Veterinary Clinics of North America: Large Animal Practice, Vol. 6, No. 2:257-268.
- Grasshoff, A. and D.J. Reinemann, 1993. Zur Reinigung von Milchsammelleitungen mit Hilfe einer 2-Phasen Stroemung. Kieler Mischwirtschaftliche Forschungsberichte, 45, 205-234.
- IDF 1984. Assessment of Bacterial Contamination of Pipeline Milking Installation. International Dairy Federation Document A-79, Brussels..
- IDF 1982. Testing the Efficiency of Cleaning Units for Milking Installations. International Dairy Federation Document A-67, Brussels.
- IDF, 1987. Hygienic Design of Dairy Processing Equipment. International Dairy Federation, Bulletin no 218, Brussels.
- Lind, O., 1990. Cleaning-in-place (CIP) of the milking machine. Physical forces. In Proc. Seminar on Machine Milking and Mastitis, Aarhus, Denmark, Aug 6-8 1990. pp. 162-173.
- Muljadi, A., D.J. Reinemann, and A.C.L. Wong, 1996. Air injected Clean-In-Place for milking systems: Development of a Study Method and Characterization of Chemical, Mechanical and Thermal Factors. ASAE paper No. 963019. American Society of Agricultural Engineers.
- Murphy, S. 1997. Raw Milk Bacteria Tests: SPC, PI, LPC, and Coli – What do they mean to your farm? Proc. National Mastitis Council, Regional Meeting, Syracuse New York, 34-42.
- Peebles, R.W., and D.J. Reinemann, 1995. Control Strategies to Reduce the Vacuum Pump Capacity Required for Cleaning Milking Systems. Paper No. 953274. Int. Meet. American Society of Agricultural Engineers, June 18-23, 1995, Chicago, Illinois
- Reinemann, D.J., and P.L. Ruegg, 2000. An Investigation of ATP Bioluminescence and Quantitative Bulk Tank Cultures to Assess Cleanliness of Milking Machines. Paper No. 003009. ASAE Ann. Int. Meet., Milwaukee, Wisconsin, July 10-13.
- Reinemann, D.J., R.W. Peebles and G.A. Mein, 1997. Control Strategies for Milking Parlor Clean-In-Place Systems. Transactions of the ASAE Vol. 40 No 6. Pp. 1749-1753.
- Reinemann, D.J., G.A. Mein, D.R.. Bray, D Reid and J.S Britt, 1997. Troubleshooting High Bacteria counts in Farm Milk. Proc. Ann. Meet. Natl. Mastitis Council, 36:16-19.

- Reinemann, D.J., 1996. Technical Design and assessment of tube equipment using two-phase flow for cleaning and disinfection. *Zbl. Hyg. International Journal of Hygiene and Environmental Medicine*. Vol. 199 No pp. 355-365. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, Germany.
- Reinemann, D.J., and G.A. Mein, 1995. Sizing Vacuum Pumps for Cleaning Milking Systems. *Proc. Natl. Mastitis Council Ann. Meet.*, 34:100-110.
- Reinemann, D.J., 1995. System Design and Performance Testing for Cleaning Milking Systems. *Proc. Designing a Modern Milking Center, Northeast Regional Agri. Engineering Service National Conference*, Rochester New York, Nov 29 - Dec. 1.
- Reinemann, D.J. and J.M. Book, 1994. Airflow Requirements, Design Parameters and Troubleshooting for Cleaning Milking Systems. *Proc. ASAE/NMC Dairy Housing Conference*, 31 January- 4 Feb, 1994, Orlando Florida, USA. pp. 26-35.
- Reinemann, D.J., and A. Grasshoff, 1994. Two phase cleaning flow dynamics in air-injected milklines. *Transactions of the ASAE* 47(5): 1531-1536.
- Reinemann, D.J. and R.W. Peebles, 1994. Flow Dynamics in Milking Parlor Clean-In-Place Systems. ASAE Paper No. 943567. *Int. Winter Meet. American Society of Agricultural Engineers*, Atlanta, Georgia, December 13-16, 1994.
- Reinemann, D. J., A.C.L. Wong and E. Rabotski, 1993. Interaction of chemical, thermal and physical actions on the removal of bacteria from milk contact surfaces. ASAE paper No. 933536. *Int. Winter Meet. American Society of Agricultural Engineers*, Chicago, Illinois, USA.
- Reinemann, D.J., A. Grasshoff, and ACL Wong, 1992. "Clean-ability Assessment of Milking Systems". ASAE paper No. 923540. *Int. Winter Meet. American Society of Agricultural Engineers*, Nashville, Tennessee.
- Robinson, R.K. (1990) *Dairy Microbiology Volume 1: The Microbiology of Milk*. Elsevier Applied Science, London and New York.
- Slaghuis, B.A., G.M.V.H Wolters, H.J. Soede and J.A.M. Boerekamp, 1994. Effect of different rinsing steps on cleaning of milking equipment. *Proc. Fouling and cleaning in Food Processing*, Cambridge, March 1994
- Soede H.J. and G.M.V.H. Wolters, 1995. Effect vacuumverhoging en spoelen in kolom men op uitspoelen melk (English summary: optimizing the pre- and after rinse by using a higher vacuum and/or using slugs) PR rapport 161.
- Tragardh, C., and I. Von Bockelmann, 1980. Mechanical cleaning effect and pressure drop of air-water flow in horizontal glass tubes (vacuum dairy pipelines). *J. Food Process Eng.* 3:77-90.
- Verheij J.G.P. and G.M.V.H. Wolters, 1993. Miheusparend reinigen melkwinningsapparatuur, PR 80.
- Vries Tj. De and J. Stadhouders, 1977. Boterzuurbacteriën in melk. *Bedrijfsontwikkeling* 8, 2 (februari): 123-128.
- Wolters G.M.V.H. and J.A.M Boerekamp, 1996. Effect of re-use of cleaning solutions of milking equipment on raw milk quality. *Proc. IDF-symp. Bacteriological Quality of raw milk*, Wolfpassing, Austria, March 1996
- Wolters G.M.V.H. and J.A.M. Boerekamp, 1996. Comparison of different cleaning systems for milking equipment. *Proc. IDF-symp. Bacteriological Quality of raw milk*, Wolfpassing, Austria, March 1996.
- Wolters, G.M.V.H., J.A.M. Boerekamp and H.J. Soede, 1995. Reinigen melkwinningsapparatuur onder procesbewaking, PR 101.

Wolters G.M.V.H. and J.A.M. Boerekamp, 1994. Reduction of wastewater from cleaning of milking equipment. Proc. Third Int. Dairy Housing Conference, Orlando, Florida, February 1994. 700-703.

Verheij J.G.P. and G.M.V.H. Wolters, 1993. Energie-efficiënt reinigen melkwinningsapparatuur. Publikatie nr. 85 Proefstation voor de Rundveehouderij, Schapenhouderij en Paardenhouderij (PR), 1993, pp. 31.

RESOLVENDO PROBLEMAS DE LIMPEZA EM SISTEMAS DE ORDENHA

Este guia para a resolução de problemas tem por objetivo ajudar os produtores e o pessoal de assistência técnica a identificar as fontes de contaminação bacteriana, e a solucionar problemas de altas contagens bacterianas no leite não pasteurizado. Os métodos apresentados neste guia lidam principalmente com o diagnóstico de problemas relacionados com a higiene da vaca na pré-ordenha e a sanitização do equipamento de ordenha. Há outras publicações que trazem mais detalhes sobre métodos de diagnóstico e tratamento de problemas de mastite.

Os formulários anexos podem ser usados como um auxílio no diagnóstico e na solução de problemas. Quando altas contagens bacterianas forem encontradas, podem ser usados alguns ou todos os procedimentos apresentados neste guia. O processo é iniciado com um simples teste de rotina. A informação adquirida com a interpretação dos resultados iniciais pode ser usada para prosseguir de uma forma lógica para testes mais complexos e abrangentes.

Desenho do Sistema CIP

Desenhar um diagrama do sistema CIP da ordenhadeira.

Medir o comprimento e o diâmetro de todas as linhas e indicar a localização do injetor (injetores) de ar.

Tipo de sistema: ____ Sala de Ordenha ____ “Round-the-barn”

Número de unidades _____

Tipo de copo coletor _____

Tipo de copo e insuflador _____

Tipo de medidor de leite ou jarro pesagem _____

Outros equipamentos _____

Diâmetro da linha do leite _____

Diâmetro(s) da linha de lavagem _____

Tipo de lavador automático _____

Tipo(s) de injetor de ar _____

Tipo de válvula leite/lavagem: ____ pá ____ borboleta ____ tampão

Há limitadores nos “jetters” ou mangueiras do “jetter”? S N Tamanho orifício _____

Há limitadores nas linhas de lavagem? S N Tamanhos orifício _____

Data da última troca de insuflador _____

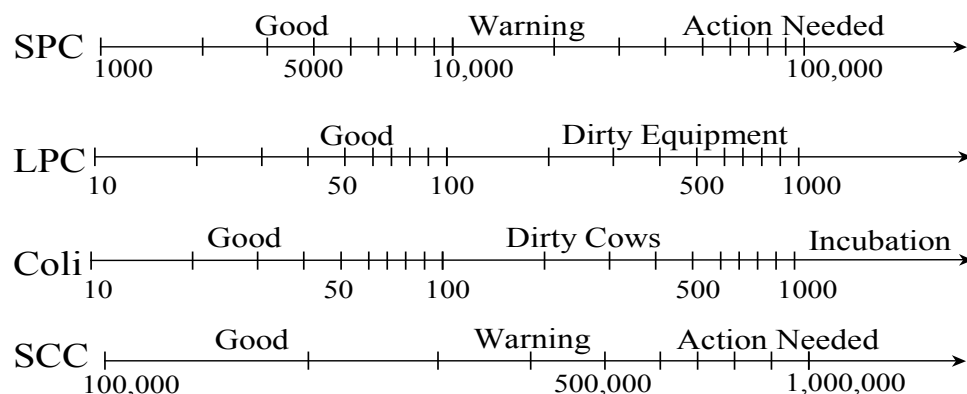
Frequência de troca dos insufladores? _____

Data da última troca de mangueiras e outras peças de borracha _____

Outras características do sistema CIP _____

Parte 1a. Análise de rotina da qualidade do leite do tanque de expansão

As culturas do tanque de expansão podem ser usadas para diagnosticar problemas de limpeza e sanitização do equipamento, incubação de bactérias no sistema de manipulação do leite durante a ordenha, higiene pré-ordenha inadequada e mastite. Apresentamos aqui uma lista de metas, diagnósticos e níveis de ação para cada tipo de teste.



- Problemas no equipamento de limpeza e sanitização geralmente resultam em contagens de Pasteurizado no Laboratório (CPL) elevadas (em geral, 100 – 1000/mL).
- Higiene pré-ordenha inadequada irá resultar em número elevado de coliformes (ou outros microrganismos ambientais) (em geral, 100 a 1.000/ml).
- A incubação of bactérias no sistema de ordenha resulta em contagens elevadas de coliformes (ou outros microrganismos ambientais) e CPL (acima de 1.000/ml). A incubação pode ocorrer durante ou entre as ordenhas.
- Se tanto a Contagem de Células Somáticas (CCS) como a Contagem Padrão em Placa (CPC) forem altas, os microrganismos da mastite podem ser a causa das altas contagens bacterianas. Deve ser feita uma determinação dos microrganismos da mastite.

Amostras compostas de leite devem ser coletadas do tanque de expansão no momento em que o leite é despachado da granja. Os testes indicados acima devem ser realizados rotineiramente, pelo menos uma vez por mês nas granjas de pequeno porte e semanalmente nas de grande porte. Se houver um problema, os testes devem ser realizados com mais frequência. Para fazer um diagnóstico, é preciso um mínimo de três testes, registrar os resultados das culturas e datas dos testes na tabela abaixo:

Data												
CPC												
CPL												
CC												
CCS												

Parte 1b. Amostragem estratégica do leite

Se a análise de rotina do tanque de expansão indicar que pode haver um problema na limpeza e sanitização do equipamento, a fonte do problema deve ser investigada. Amostras de leite devem ser coletadas da unidade ou unidades finais, da linha ou linhas de transferência e do tanque de expansão depois que o primeiro grupo de vacas tiver sido ordenhado (uma vaca para cada unidade de ordenha) e depois de cada 4 horas de ordenha (ou desde que o sistema foi lavado), com uma amostra final sendo coletada ao final da ordenha (ou antes do próximo ciclo de lavagem). Registrar os resultados de CPC, CPL e/ou Bactoscan na tabela abaixo.

Momento da amostragem	Início da Ordenha	Depois de 4 horas	Depois de 8 horas	Final da ordenha
Unidade final 1 (e 2 se presente)				
Linha de transferência				
Tanque de expansão				

- Contagens elevadas nas amostras da unidade final no início da ordenha provavelmente indicam um problema de limpeza nas unidades de ordenha, medidores de leite, linha do leite, ou mangueiras. Se esta situação existir, realizar a análise de fluxo CIP.
- Contagens elevadas nas linhas de transferência mas não na unidade final, depois do primeiro grupo de vacas, indica falha na limpeza na linha de transferência e no equipamento entre a unidade final e o tanque de expansão, como os resfriadores de placa e os filtros para o leite.
- Uma elevação contínua durante a ordenha indica incubação de bactérias aderidas aos filmes na ordenhadeira causados pela pesada carga de sujidades durante a ordenha, ou filmes que não foram removidos durante a limpeza. As soluções para este problema podem incluir a redução da carga de sujidade por meio de uma melhor higienização do úbere, lavar o sistema de forma mais cuidadosa ou com maior frequência, ou trocar o filtro com mais frequência.

Partes 2a e 2b. Observação dos procedimentos CIP

Uma parte padrão da avaliação de qualquer esquema de limpeza é documentar as condições “como encontradas” e “como praticadas”. O objetivo da Parte 2a é determinar se os procedimentos CIP recomendados estão sendo seguidos corretamente. Todos os sistemas de ordenha deveriam ter um conjunto de instruções por escrito para o processo CIP. Deveria incluir os ciclos recomendados com os tempos sugeridos, temperaturas e concentrações de produtos químicos especificadas para cada ciclo. Se o consultor para o equipamento e os produtos químicos não fornecer estas instruções, as seções correspondentes dos formulários podem ser usadas para estabelecer as especificações. Assegurar que toda equipe de ordenha tenha conhecimento sobre os procedimentos CIP recomendados e seja devidamente treinada. Em geral, ferramentas e procedimentos usados para a limpeza do equipamento de ordenha são diferentes dos usados para o tanque de expansão.

A temperatura do leite em diferentes pontos do sistema irá ajudar a determinar se o sistema de resfriamento está operando de forma correta. O resfriamento inadequado irá aumentar as contagens de bactérias por permitir que haja um ambiente melhor para o crescimento bacteriano durante a armazenagem. O leite deve ser resfriado a 4,4°C ou menos dentro de 30 minutos após a ordenha. O leite deve ser mantido entre 0°C e 4,4 °C até a pasteurização. Se o leite não for adequadamente agitado no tanque, pode ocorrer uma estratificação de temperatura de forma que as camadas superiores do leite não são adequadamente resfriadas.

Uma sequência completa de limpeza deve ser observada para documentar os ciclos usados. As concentrações dos produtos químicos e a temperatura da água que retorna à pia de lavagem devem ser anotadas ao início e ao final de cada ciclo. Determinar a frequência com que cada ciclo é realizado. Alguns ciclos de limpeza são negligenciados como prática rotineira ou feitos da forma mais simples. Os lavadores automáticos mais novos podem registrar se os ciclos de limpeza ocorreram efetivamente e os intervalos de temperatura de cada ciclo.

O primeiro passo na avaliação da dinâmica do fluxo é entender o circuito do fluxo que se busca. Um diagrama do sistema CIP irá ajudar a entender o circuito do fluxo, bem como irá documentar as condições para referência futura e consultas com a assistência técnica do equipamento. O diagrama deve indicar o diâmetro e o comprimento de todas as linhas e a localização de componentes críticos como a unidade(s) final, pia(s) de lavagem, injetor(es) de ar, válvula(s) de lavagem, bem como qualquer outro equipamento auxiliar que seja limpo ou usado para limpeza. Documentar a localização de qualquer válvula manual ou automática que pode ser operada antes ou durante os ciclos de lavagem, se o ar esteja sendo arrastado para a pia de lavagem, e a sincronização do tempo do injetor de ar. Problemas de fluxo geralmente são resultado da localização inadequada do injetor de ar e/ou sincronização do tempo dos ciclos. A resposta usual é um sistema inundado. Se você responder sim a 2 ou mais destas perguntas, é provável que a dinâmica do fluxo de ar injetado não esteja correta.

(Assinalar um)

A válvula sanitária coletora se fecha durante o procedimento CIP?

S N

O ar é aspirado para as unidades ou linhas de lavagem na pia de lavagem?

S N

A esfera é removida do coletor sanitário durante a lavagem?

S N

São drenados mais do que 5 galões de água do tanque de balanço depois dos ciclos de lavagem?

S N

A bomba de leite funciona continuamente durante os ciclos de lavagem?

S N

Há algum resíduo visível nos componentes do sistema?

S N

Localização Cor/Textura Sol. ácido Sol. detergente Sol. cloro

O sistema é periodicamente limpo com temperatura muito elevada ou produtos químicos excessivos?

S N

(Estes tratamentos periódicos de “choque” indicam que a função da limpeza normal não é adequada e causa falha prematura do equipamento.)

Se sim, qual a frequência? _____ (Anotar datas de tratamento de choque nos registros de culturas do tanque de expansão.)

Algum componente do sistema deixa de drenar depois do procedimento CIP?

S N

Se sim, indicar os componentes _____

Há alguma válvula ativada manualmente antes ou durante o procedimento CIP?

S N

Se sim, indicar a válvula(s) no diagrama do sistema

Temperatura leite: Entrada tanque expansão _____ Final da ordenha _____

2 horas após a ordenha _____

Documentar os ciclos de limpeza usados

	Desinfecção Pré-ordenha	Enxágüe pré- lavagem	Lavagem com detergente	Enxágüe ácido	Outros
Temp inicial					
Temp final					
Tempo ciclo					
Produto usado					
Conc. rótulo					
Temp rótulo					
Concentração usada					
Outras medidas (pH, alcalinidade, etc.)					
Diretrizes	Seguir in- struções rótulo qto ao tempo, temperatura e conc.	43-54°C	Seguir instruções rótulo. 6-10 min, em geral 49 – 77°C	Seguir instruções rótulo, 2 min, em geral 32–43°	

Parte 3. Qualidade e quantidade de água

Pode ser necessário ajustar a concentração dos produtos químicos de limpeza por causa da dureza da água. Anotar a dureza da água para determinar se as concentrações são adequadas.

Dureza da água _____ Teor de ferro da água _____

Resultados de outros testes da água _____

Há um deionizador instalado? S N

O deionizador está carregado e funcionando? S N

Aquecedor água: Temperatura _____ Capacidade _____

Tanques recuperação calor: Temperatura _____ Capacidade _____

Capacidade da pia de lavagem: _____

Determinar o volume mínimo de água necessário por ciclo de lavagem, para uma dinâmica de fluxo adequada em sistemas de ordenha com injeção de ar.

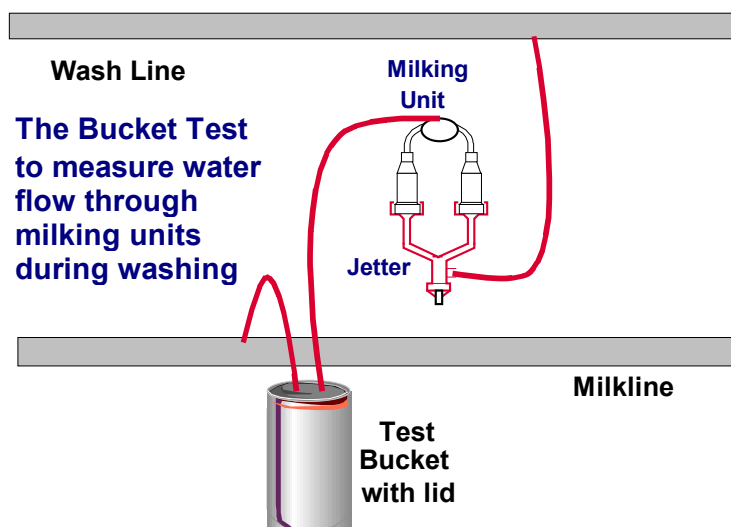
Usar esta estimativa para dimensionar a pia de lavagem nos sistemas novos ou para verificar se a água efetivamente usada por ciclo atende aos requisitos mínimos. Os requisitos para os medidores de leite, tanque de lavagem e pré-resfriadores são aproximados, e podem variar com componentes com diferentes desenhos. Se a injeção de ar não for usada, multiplicar o total de galões para a linha de leite por 3. Se forem usados jarros de pesagem, multiplicar os galões do medidor de leite por 4. Estas estimativas são para a sala de ordenha com injeções de ar controladas e outras ordenhadeiras com grande volume interno. Esta estimativa do volume de água baseia-se em ter volume de água suficiente no sistema de leite para inundar os componentes críticos e, ao mesmo tempo, assegurar que a pia de lavagem não ficará vazia durante o ciclo de injeção de ar.

Medidores na linha do leite	Diâmetro linha 98 mm	Multiplicador 1,50	Litros
	73 mm	0,84	
	60 mm	0,57	
	48 mm	0,36	
	38 mm	0,23	
Medidores de lavagem e linha de transferência do leite			
	Diâmetro linha	Multiplicador	Litros
	73 mm	4,2	
	60 mm	2,8	
	48 mm	1,8	
	38 mm	1,1	
Volume da unidade final(s)		Multiplicador	Litros
	Litros	0,33	
Número de unidades de ordenha		Multiplicador	Litros
	Unidades	1	
Número de medidores de leite		Multiplicador	Litros
	Medidores	1	
Metros de mangueira de leite	Diâmetro Mangueira	Multiplicador	Litros
	14 mm	0,15	
	16 mm	0,20	
Número de pré-resfriadores		Multiplicador	Litros
	Pré-resfriadores	8	
Número de tanques de lavagem		Multiplicador	Litros

Observação: O método de estimativa do volume de água na França é de 7,5 litros de solução por metro quadrado de superfície a ser limpa. Este método de estimativa foi verificado em instalações de campo na França e resulta em um volume de água menor do que o do método de estimativa descrito acima, podendo ter como resultado que a pia de lavagem seja esvaziada durante os ciclos de lavagem.

Parte 4. Medida de fluxo na unidade na sala de ordenha

Um problema comum nos sistemas de sala de ordenha é a distribuição irregular de água para as unidades de ordenha. Indicadores visuais de baixo fluxo em uma combinação unidade de ordenha/ “jetter” inclui: fluxo reverso nas mangueiras do “jetter” e os copos coletores da unidade de ordenha nunca inundem durante o ciclo de limpeza. A taxa de fluxo através das unidades de ordenha e os medidores de leite pode ser medida usando o método ilustrado (o balde do teste também pode ser substituído por um medidor de leite mecânico como o Tru-Test). Documentar o fluxo na primeira unidade, na última e na do meio, e em qualquer unidade que pareça estar suja. O ideal é que as salas de ordenha tenham um fluxo uniforme através de todas as unidades de ordenha. Estudos de campo indicam que 3 l/min (0,8 gpm) é suficiente para limpar a maioria das unidades de ordenha. Ainda que muitas unidades fiquem limpas com taxas de fluxo abaixo deste valor, o risco de falha na limpeza parece aumentar. Sistemas com medidores de leite ou jarros de pesagem requerem 4,5 a 6 l/min (1,2 a 1,6 gpm) para uma limpeza efetiva.



Os limitadores de fluxo devem ser instalados em cada “jetter” para equilibrar o fluxo. Os limitadores de fluxo não devem ser colocados na linha de lavagem que alimenta os “jetters”. Mudar a taxa de fluxo para as unidades de ordenha ou medidores de leite pode exigir um ajuste na sincronização do tempo do injetor de ar e/ou o volume de água necessário por ciclo. Não alterar nenhum deles sem consultar a assistência técnica e/ou consultor de produtos químicos.

Para todos os sistemas novos e depois de qualquer mudança na configuração do sistema deve-se medir o fluxo de água para todas as unidades. O teste de rotina deve ser feito na primeira, na do meio e na última unidade de cada lado da sala, bem como nas unidades que pareçam sujas. As unidades de ordenha devem ter pelo menos 3 litros/min (7 lb/min ou 0,8 gpm) com uma variação não superior a 50% entre a unidade mais alta e a mais baixa. Poderá ser necessária uma taxa de fluxo mais alta para limpar alguns componentes como os medidores de leite ou jarros de pesagem. Consultar as recomendações do fabricante.

MEDIDAS DE FLUXO DAS UNIDADES

Unidade No. (ver diagrama)	Tipo e tamanho do limitador	Volume de água (l)	Tempo de amostragem (min)	Taxa de fluxo média (l/min)
Como Encontrado				
Após a mudança				

Parte 5. Análise do fluxo “slug” na linha do leite

A injeção de ar é geralmente usada para melhorar a ação de limpeza mecânica e reduzir o uso de água em salas de ordenha grandes e linhas de leite longas. O objetivo da entrada de ar em ciclos é formar um “slug” com a solução de limpeza que viaja pelas linhas de leite. Apenas um técnico qualificado dispondo do equipamento de testes adequado deve tentar o ajuste e a solução de problemas de dinâmica do fluxo “slug”. Um dispositivo de registro de vácuo, comumente usado para avaliar o desempenho da ordenha, é uma peça essencial do equipamento de teste necessário para avaliar o fluxo “slug” do ar injetado durante a limpeza e fazer o ajuste da sincronização do tempo do injetor de ar. As referências bibliográficas trazem mais detalhes sobre os métodos diagnósticos usando um dispositivo de registro de vácuo para a análise CIP. Foi desenvolvido o seguinte procedimento para fazer o ajuste da sincronização do tempo do injetor de ar e diagnosticar as falhas. O fluxo para as unidades de ordenha e/ou medidores de leite deve ser verificado e ajustado antes de prosseguir para o teste do fluxo “slug” na linha do leite.

Ajustar o tempo de abertura do injetor de ar: O tempo de abertura do injetor de ar é um número relativamente fácil de calcular, e deve ser o primeiro passo no ajuste de um ciclo de limpeza ótimo. A duração do tempo em que o injetor de ar está aberto, juntamente com a velocidade do “slug”, determina a distância percorrida pelo “slug”. O “slug” formado no ponto da injeção de ar deve viajar até a unidade final sem se romper. Medir a distância que o “slug” precisa percorrer **desde o ponto da injeção de ar** até a unidade final. Dividir a distância a percorrer pelo “slug” pela velocidade desejada para o “slug” para determinar o tempo de abertura do injetor de ar. Para uma ótima ação mecânica, a velocidade do “slug” deve ficar entre 7 e 10 m/s

Verificar a velocidade do “slug” e ajustar a taxa de entrada de ar: A velocidade do “slug” deve ser medida usando um dispositivo de registro de vácuo e a taxa de entrada do ar ajustada para alcançar a velocidade desejada. A taxa de passagem do ar através do injetor de ar determina a velocidade do movimento do “slug”. A conexão física com a linha do leite é obtida com uma válvula T inserida em linha com a mangueira do leite, próximo à entrada do leite. Para a conexão com o registrador são usadas peças de tubulação transparente com 2 a 3 m de comprimento. Estes tubos devem ser cuidadosamente observados e sangrados com frequência para impedir que a água chegue até o registrador. Para minimizar o risco da água entrar no dispositivo de registro do vácuo, é aconselhável deixar as mangueiras sempre desconectadas, exceto quando uma medida estiver sendo feita. Coletores de umidade ficam cheios de água rapidamente e não são recomendados. As informações que podem ser obtidas destes registros de vácuo são:

Velocidade do “slug”: A velocidade do “slug” pode ser calculada dividindo a distância percorrida pelo “slug” entre dois pontos de medida pelo tempo entre as quedas de vácuo nestes pontos de medida. Os pontos de teste devem estar a pelo menos 10 metros um do outro, para que a medida seja precisa.

Queda de vácuo: Uma rápida queda de vácuo é medida quando o “slug” passa pelos pontos de teste. A queda de vácuo em um “slug” é uma medida da ação de limpeza mecânica produzida. O intervalo de queda de vácuo recomendado no “slug” é apresentado na tabela. A queda de vácuo deve estar próxima do valor máximo do intervalo no início do trajeto do “slug”. Esta queda de vácuo no “slug” irá diminuir lentamente à medida que percorre a linha, devido à desintegração do “slug” e arrasto de ar. A queda de vácuo inadequada no “slug” indica que o “slug” é muito curto e/ou que há um excesso de ar passando através do “slug”. Uma taxa lenta de queda de vácuo indica que o “slug” está se movimentando lentamente, em geral por causa do excesso de água na tubulação ou uma válvula de lavagem/leite com vazamento excessivo.

Queda de vácuo recomendada no “slug”	
Diâmetro da linha do leite mm (polegadas)	Queda de vácuo kPa (“Hg)
48 (2)	18 - 37 (5,3 - 11)
60 (2,5)	15 - 32 (4,4 - 9,5)
73 (3)	13 - 29 (3,8 - 8,6)
98 (4)	11- 24 (3,2 - 7,1)

Ajustar o tempo de fechamento do injetor de ar: A quantidade de água que é aspirada durante cada ciclo é determinada pelo tempo em que o injetor de ar está fechado (ou desligado). Se o coletor sanitário estiver inundando ou água em excesso estiver sendo transferida através do coletor, o tempo de fechamento deve ser reduzido. O tempo de fechamento deve ser ajustado de forma que o tamanho do “slug” que alcança a unidade final seja o suficiente para lavar a unidade final. Se o tempo de fechamento for reduzido ao valor mínimo disponível no controlador e ainda ocorrer a inundação, poderá ser necessário aumentar a capacidade da bomba de leite. Muitas salas de ordenha têm uma tubulação adicional para levar água para a linha do leite, além da que é fornecida pelas unidades de ordenha. Na maioria das aplicações, o fluxo de água através destas tubulações deve ser restrito para evitar a inundação do sistema. Para conseguir a velocidade do “slug” e as taxas de aspiração de água adequadas é necessário que haja o controle independente de água e fluxo de ar.

Teste final do registrador de vácuo e testes de unidade de fluxo: Depois do ajuste do sistema de acordo com os passos 1, 2 e 3, repetir o teste do fluxo do “slug” com o registrador de vácuo. Verificar a presença e a força do “slug” no início, fim e outras localizações críticas na linha do leite. O ajuste fino do injetor de ar também deve ser feito nesta ocasião. O injetor de ar deve fechar imediatamente antes que o “slug” chegue ao jarro da unidade final. Se o injetor de ar permanecer aberto depois que o “slug” principal alcançar a unidade final, pode haver um excesso de água sendo carregado através do coletor sanitário. Depois do ajuste fino do injetor de ar, verificar novamente o fluxo da unidade em localizações críticas, incluindo a primeira unidade, a última e a do meio dos dois lados da sala de ordenha, e em qualquer unidade onde haja um acúmulo visível.

Injeção de ar sequencial: A injeção de ar não é necessária para limpar a maioria das unidades comerciais de ordenha. A injeção de ar deve ser usada na linha do “jetter” apenas se houver a presença de unidades difíceis de limpar, como jarros de pesagem ou algum medidor de leite. Se estes componentes não estiverem presentes, a injeção de ar deve ser usada apenas na linha do leite. Se houver injeção de ar tanto para a linha do leite como para a linha do “jetter”, devem ser usados dois pontos de injeção de ar, com injeção sequencial para que os dois injetores não estejam abertos ao mesmo tempo. Em geral, a sincronização do tempo ótima para o injetor de ar não é a mesma para os coletores de lavagem e para a linha do leite. A injeção de ar sequencial permite a otimização de ambos, melhorando assim a ação de limpeza no sistema de ordenha, bem como reduzindo as demandas sobre a bomba de vácuo.

Medidas do fluxo do “slug” na linha do leite para sistemas que utilizam injeção de ar controlada

Estimativa do tempo de abertura do injetor de ar _____ Injetor 1 _____ Injetor 2 _____

Distância percorrida pelo “slug” do injetor de ar através da linha do injetor de ar e da linha do leite até a unidade final _____ metros

Tempo esperado de abertura do injetor de ar time: dividir a distância percorrida pelo “slug” por 8 m/s ou outra velocidade do “slug”. _____ segundos

Estimativa do tempo esperado entre as quedas de vácuo nos pontos de teste _____

Distância entre os pontos de teste (pontos em que o registrador de vácuo está ligado à linha do leite) _____ metros

Tempo entre as quedas de vácuo: dividir a distância entre os pontos de teste por 8 m/s ou outra velocidade do “slug”. _____ segundos

Medidas da queda de vácuo e velocidade do “slug”: Anexar os registros de vácuo ao formulário

	Tempo injetor fechado (s)	Tempo de abertura injetor de ar da linha do leite (s)	Tempo abertura injetor da linha de lavagem (s), se presente	Ajuste da taxa de fluxo do injetor de ar	Tempo entre quedas de vácuo nos pontos de teste		Velocidade do “slug”				Queda de vácuo nos pontos de teste			
					Loop 1	Loop 2	Loop 1	Loop 1	Loop 2	Loop 2	Loop 1 Ponto 1	Loop 1 Ponto 2	Loop 2 Ponto 1	Loop 2 Ponto 2
Como encontrado														
1º Ajuste														
2º Ajuste														
3º Ajuste														
Posição final														
Diretriz	Longo o suficiente para formar um “slug”	Longo o suficiente só para o “slug” chegar até a unidade final	Longo o suficiente só para liberar a linha de lavagem	Ajustar a taxa de fluxo de ar p/ mudar a velocidade do “slug”	7 - 10 m/s		12- 20 kPa para uma linha de 73 mm							

Queda de vácuo em outros locais _____

Local (diagrama como referência) _____

Queda de vácuo kPa _____

MASTITE POR *Staphylococcus aureus*: FATORES CRÍTICOS ASSOCIADOS À INFECÇÃO

Larry Fox

Faculdade de Medicina Veterinária

Washington State University

Pullman, WA 99164-7060

INTRODUÇÃO

A prevalência de infecções intramamárias por *S. aureus*, assim como em qualquer caso de doença contagiosa, é uma função da incidência, da taxa de adição de novos casos e da taxa de remoção, via curas e descartes. A taxa de incidência é governada pela probabilidade de contato, em que contato é claramente controlado pelas estratégias de prevenção de mastite. A taxa de incidência também é governada pela virulência do patógeno e quanto maior sua virulência, maior será a probabilidade de que haverá hospedeiros suscetíveis. A virulência também afeta a duração da infecção, pois quanto mais virulento o agente, menor a probabilidade de que a vaca apresente uma cura espontânea. A taxa de cura não depende apenas da suscetibilidade do hospedeiro e da virulência do patógeno, mas também da capacidade de identificação das vacas infectadas e da seleção de um tratamento adequado para a eliminação do patógeno. A taxa de descarte também mede o sucesso da identificação de animais infectados. Desta forma, a redução da prevalência de mastite por *S. aureus* em um rebanho depende de uma série de fatores, tais como: controle ou prevenção; virulência do patógeno; identificação adequada do patógeno; descarte dos hospedeiros infectados e cura da doença. Estes fatores atuam geralmente de maneira multifatorial, pois influenciam diretamente o resultado do controle da doença e se sobrepõem em suas ações. O principal foco deste artigo será a discussão da ação e interação destes fatores críticos que influenciam as infecções intramamárias por *Staphylococcus aureus*.

PATOGENIA E VIRULÊNCIA

Embora a mastite por *S. aureus* possa ser associada à mastite gangrenosa, não resulta tipicamente em casos clínicos agudos e geralmente causa infecções sub-clínicas. Deve-se salientar, entretanto, que a mastite clínica por *S. aureus* está relacionada a uma queda significativa da produção de leite e constitui uma importante causa de descarte de vacas nos rebanhos estudados (Grohn et al., 2005). O *S. aureus* está frequentemente associado a uma forma branda de inflamação, como relata um estudo da Virginia Tech, em que 40% de todas as vacas com mastite por *S. aureus* apresentavam contagens de células somáticas no leite inferiores a 400.000 células/ml. Tanto o nosso grupo de pesquisa quanto o da Universidade de Cornell observaram que muitas vezes se isolam menos de 100 ufc de *S. aureus*/ml de leite de quartos infectados. Ainda assim, estas infecções são bastante persistentes e o organismo pode ser altamente contagioso. Na Granja leiteira da Washington State University (Smith et al., 1998), recentemente tivemos um surto de *S. aureus* que elevou a prevalência da doença de <5% para mais de 30% ao longo de um ano e resultou em elevação significativa da contagem de células somáticas no leite de algumas vacas, apesar das excelentes práticas de higiene de ordenha. Quais são os fatores de virulência que permitem que este patógeno se estabeleça, cause infecção, danos aos tecidos e persista?

Excelentes revisões da literatura descrevem os fatores de virulência do *S. aureus* (Foster, 1991 e Sutra e Poutrel, 1994). O *S. aureus* produz adesinas, fatores que facilitam sua aderência à pele e à superfície interna da mucosa da glândula mamária. Acredita-se que esta capacidade de aderência seja característica de patógenos causadores de mastite contagiosa, que falta aos patógenos não contagiosos. A colonização permite aos patógenos contagiosos transformar a vaca em reservatório da infecção. Assim, a aderência é um fator primário de virulência que permite ao *S. aureus* se estabelecer na glândula mamária. Uma vez aderido, o patógeno pode se disseminar até o orifício do teto e causar infecção intramamária. A aderência também parece ser importante para outro fator de virulência, a capacidade de invadir as células epiteliais mamárias. Recentes evidências geradas por nosso grupo de pesquisa sugerem que o *Staphylococcus aureus* pode induzir a internalização pelo epitélio mamário *in vitro*, causando apoptose ou morte celular em seguida (Bayles et al., 1998). Os passos envolvidos neste processo parecem ser os seguintes: o *Staphylococcus aureus* liga-se à membrana externa da célula epitelial, possivelmente através de uma ponte de proteína que liga a fibronectina. Tal ligação induz a internalização em um endossomo ligado à membrana. O patógeno então escapa deste endossomo, possivelmente através de secreção de hemolisina e promove a apoptose. Estes eventos, caso ocorram *in vivo*, podem conferir proteção ao *Staphylococcus aureus* dos antibióticos e do sistema imunológico. Além disso, poderia explicar em parte a queda significativa na produção de leite associada à mastite por *Staphylococcus aureus*. Dados da França (Hensen et al., 2000) sugerem que a invasão das células pelo *S. aureus* é um evento pós-aderência e que diferentes cepas têm capacidade variável de aderência. No interior da glândula, outros fatores de virulência atuam. O *Staphylococcus aureus* produz toxinas, enzimas e outros fatores que potencializam sua ação patogênica. Algumas das toxinas, as hemolisinas e a leucocidina, podem causar lise celular e assim destruir diretamente as células imunológicas. Talvez estas toxinas celulolíticas também contribuam para a patogenia através da destruição das superfícies internas da mucosa da glândula mamária, facilitando a colonização por aderência do *S. aureus*. Acredita-se que outras toxinas, como as enterotoxinas, atuem como super-antígenos ou agentes que podem interferir com o sistema imunológico. Estes super-antígenos podem fazer com que seja difícil para o sistema imunológico mamário combater e eliminar a infecção. As enterotoxinas estão associadas a casos de doenças veiculadas por alimentos em seres humanos e vários tipos já foram identificados. Dependendo do trabalho, a porcentagem de isolados de *Staphylococcus aureus* causadores de mastite e produtores de enterotoxinas pode ser nula (Lee et al., 1998) ou pode chegar a 50% (Adesiyun et al, 1998). Raramente, uma cepa de *Staphylococcus aureus* causador de mastite é capaz de produzir mais de um tipo de toxina. Estes fatores de virulência, entretanto, podem estar associados aos casos de mastite crônica por infecção intramamária por *Staphylococcus aureus* (Matsunaga et al., 1993).

Como parte da resposta imunológica ao patógeno invasor, as células T interagem com a célula apresentadora do antígeno antes de produzir e liberar as citocinas. Mas existe uma classe de proteínas que são produzidas por bactérias, denominadas super-antígenos, que interferem com o processo de interação entre a célula apresentadora do antígeno e a célula T. Existem evidências que as enterotoxinas do *Staphylococcus aureus* podem atuar como super-antígenos (Bohach, 1997). O efeito preciso dos super-antígenos sobre estas células ainda não foi identificado. A maior parte das pesquisas nesta área utilizou técnicas *in vitro* e linhagens celulares humanas e de roedores. Os dados obtidos até o momento indicam que os super-antígenos causam uma proliferação super-abundante de certos tipos de células T e uma liberação anormal de citocinas. Uma vez que a resposta imunológica parece ter uma regulação muito estrita, tal super-estimulação poderia reduzir muito a capacidade do hospedeiro de eliminar o patógeno.

Nosso grupo de pesquisa examinou em vários estudos o efeito que um super-antígeno, a enterotoxina C bovina, tem sobre a resposta imunológica em bovinos. O efeito primário da enterotoxina C sobre os linfócitos séricos de bovinos ocorre em um sub-conjunto de células T denominadas CD4 e CD8. As células CD4 são conhecidas como células helper, promovendo a resposta imunológica, enquanto as células CD8 são células

supressoras, geralmente com atividade citotóxica. A proporção destas células é crítica e em caso de perda de controle, é de se esperar que a resposta imunológica seja amplificada, porém não em demasia. O grupo de nosso laboratório observou que ocorre uma variação dramática na população de linfócitos bovinos CD4 e CD8 após cultura com enterotoxina C (Ferens et al., 1998). Inicialmente, ocorre uma queda no número de células CD4 e pouca alteração na população de células CD8. Mas a este período de relativa quiescência segue-se uma explosão de resposta proliferativa, favorecendo principalmente as células CD8, com queda na razão CD4:CD8 do valor normal de 1,5 para um valor inferior a 0,3. Além disso, as células CD8 parecem ser anormalmente ativadas, exibindo proteínas de superfície que não são normalmente observadas.

Alguns autores sugerem que muitos *S. aureus* produzem uma substância capsular. Existem evidências que sugerem que esta cápsula torna o *S. aureus* “escorregadio”, dificultando a ação de ingestão do patógeno pelas células somáticas do leite, como neutrófilos ou fagócitos, o que confere ao *S. aureus* uma vantagem real, uma vez que os fagócitos são importantes para a defesa da glândula contra os patógenos invasores. Além disso, o material capsular é composto de antígenos não reconhecidos pelas células T e, portanto, não estimula a memória imunológica. Evidências foram apresentadas que sugerem que as cepas bovinas de *S. aureus* produzem um material capsular e podem ser sorotipadas em base nesta cápsula (Guidry et al., 1998). Além disso, os *S. aureus* causadores de mastite produzem biofilme e têm maior probabilidade de produzir esta matriz de polissacarídeos que outros *S. aureus* isolados em granjas leiteiras, mas que não causam mastite (Fox et al., 2005). A produção desta matriz de biofilme pode levar à formação de colônias e estar associada à resistência à terapia e à imunidade do hospedeiro.

O *S. aureus* também produz e secreta uma série de enzimas, que podem potenciar a capacidade de invasão, colonização e infecção da glândula pelo patógeno. Uma série de lipases permite às bactérias obter os nutrientes necessários de substratos normalmente não disponíveis para outros micróbios e podem ajudar a degradar a membrana celular das células do hospedeiro, favorecendo a colonização de porções internas da glândula mamária. A nuclease é outra enzima extracelular produzida por *S. aureus*. Esta enzima pode não ser um fator de virulência em si, mas parece potenciar a ação letal da alfa-hemolisina. Coagulase, quinase e as proteases participam nos sistemas de coagulação sanguínea e fibrinólise. Estas enzimas podem ajudar o patógeno a se enredar em proteínas plasmáticas coaguladas, isolando-o da ação do sistema imune. Existe uma discussão quanto à significância destes fatores de virulência, especialmente em relação à mastite, uma vez que não existem co-fatores do leite para coagulação de fibrina. Entretanto, estudos sobre a patologia da mastite por *S. aureus* indicam a formação de micro-abscessos no úbere. Estes micro-abscessos também isolam o patógeno dos antibióticos. Além disso, existem evidências que indicam que o *S. aureus*, mesmo quando fagocitado, pode resistir e manter-se viável após a morte do fagócito, podendo ser liberado e reinfectar a glândula. Enquanto no meio intracelular, o patógeno permanece protegido da ação dos antibióticos. Muitos do *S. aureus* causadores de mastite também produzem a proteína A, um composto que pode inativar anticorpos e imunoglobulinas. Um recente estudo de Bogni e colaboradores (1998) sugere que vários fatores conjuntos determinam a virulência e que na ausência da capacidade de produção destes fatores, o agente passa a ser não virulento (Bogni et al., 1998).

IDENTIFICAÇÃO E DIAGNÓSTICO

Staphylococcus aureus é um coco gram positivo, catalase positivo. O isolamento deste patógeno e a identificação dos fatores de virulência constituem o método tradicional para diagnosticar a mastite por *S. aureus*. A definição clássica do *S. aureus* era o estafilococo que resultava em coagulação do plasma, mas aplicada apenas aos estafilococos coagulase positivos. Todos os estafilococos coagulase positivos eram considerados *S. aureus* e todos os coagulase negativos eram considerados *S. epidermidis*. O manual de bacteriologia de Bergey de 1994 lista 5 espécies de estafilococos coagulase positivos e 23 espécies de

coagulase negativos. Embora o teste de coagulase não seja suficiente para identificação definitiva de *S. aureus*, um estudo conduzido nos estados de Washington e Califórnia identificou mais de 95% de todos os isolados coagulase positivos de mastite estafilocócica eram de *S. aureus*. Os demais isolados eram, com raríssimas exceções, de *S. hyicus*. Os padrões alfa e beta hemolíticos também foram usados para identificar a espécie dos estafilococos, embora este método seja menos confiável que coagulase. Os padrões de hemólise podem ser influenciados por diferentes partidas de agar sangue. Além disso, nem todos os *S. aureus* produzem estas hemolisinas, enquanto alguns isolados coagulase negativos chegam a produzi-las. Em nosso laboratório, observamos que o crescimento em agar 'P' permite diferenciar *S. aureus* de outros estafilococos coagulase positivos associados a casos de mastite. Testes para nuclease termo-estável e termonuclease também podem ser usados para identificar o *S. aureus*.

Recentemente, o teste de anticorpos anti-Staphylo ou teste SATK passou a ser comercializado como ferramenta diagnóstica para a mastite por *S. aureus*. A base deste teste é a identificação de anticorpos anti-*S. aureus*. Nosso grupo de pesquisa determinou que o teste não pode ser usado para identificar o quarto positivo para *S. aureus*, uma vez que os níveis de anticorpos se mostram elevados em todos os quartos de um úbere infectado, embora os títulos mais elevados de anticorpos sejam detectados no quarto infectado. Além disso, o teste não é confiável para identificar quartos infectados por *S. aureus* em vacas que produzem menos de 13,6 kg e estejam com menos de 30 dias em leite. Os resultados do teste podem ser inconclusivos quando o nível de anticorpos está em uma região intermediária, tornando difícil a interpretação dos resultados. A tabela a seguir apresenta um resumo da sensibilidade e especificidade do SATK.

Tabela 1. Estimativas de Sensibilidade e Especificidade do teste de anticorpos anti-Staphylo.

Estudo	Nº de vacas	Nº de rebanhos	Sensibilidade	Especificidade
El-Rashidy et al.	19	1	86%	100%
Hicks et al.	>200	5	69%	61%
Poutrel et al.	32	3	85%	89%
ProScience	602	?	93%	99%
Watts et al.	229	4	59%	97%
Snoep et al.	383	8	73%	87%

Uma vez que especificidade é a medida do erro associado a resultados falso positivos e a sensibilidade é a medida dos erros falso negativos, a revisão dos estudos indica que o teste é seguro quanto aos falso positivos. Isto é lógico, considerando que para o produtor é melhor ter certeza que o animal está livre de *S. aureus*, ou seja, um verdadeiro negativo, que suspeitar que uma vaca esteja infectada, um falso positivo. Recomendo que se o teste de anticorpos anti-Staphylo for usado, que seja para a triagem de vacas para mastite por *S. aureus*. Quaisquer vacas positivas para anticorpos devem ter seu leite submetido a cultura bacteriana. A cultura ainda é o padrão ouro para o diagnóstico. A sensibilidade e a especificidade do teste de anticorpos anti-Staphylo sugerem que o teste está correto 65-70% das vezes. Os resultados da cultura do leite podem ser mais sensíveis quando o inoculo usado é de maior volume. Embora o padrão seja um inóculo de 0,01 ml, recomendo que se usem 0,1 ml de leite para cultura. Também diria que se uma única colônia for observada na placa de agar-sangue, esta colônia é indicativa de mastite. É verdade que o *S. aureus* pode residir em locais extra-mamários, mas na grande maioria das vezes em que é encontrado em locais extra-mamários, também está causando infecção intramamária. Claro que coletas de amostra e testes em duplicata e triplicata podem aumentar a precisão do diagnóstico de infecções intramamárias.

PREVALÊNCIA

Vacas

Historicamente, o *Streptococcus agalactiae* sempre foi o patógeno de mastite contagiosa mais prevalente. Com o advento da higiene de ordenha, imersão do teto e terapia de vacas secas, este patógeno foi erradicado da maioria, senão de todas, granjas leiteiras nos EUA. Desta forma, o *S. aureus* emergiu como o patógeno de mastite contagiosa mais prevalente. Um levantamento de 1980 em granjas leiteiras do noroeste dos EUA indicou que 84% estavam infectadas com *S. aureus*. Um levantamento feito na Inglaterra na mesma época sugeriu que 93% dos rebanhos estavam infectados. Estes dois levantamentos se basearam em coleta asséptica de amostras compostas de leite das vacas durante a ordenha para estimar a prevalência nos rebanhos. Ambos estimaram que 20% das vacas estavam infectadas. Estimativas mais atuais dos EUA sugerem prevalências menores de rebanhos e vacas infectados. Um estudo conduzido na Califórnia sugere que 8% das vacas estejam infectadas em 100% dos rebanhos. Um estudo da Universidade da Pensilvânia avaliou a prevalência de *S. aureus* em rebanhos com excelentes ou más práticas de higiene de ordenha. Os rebanhos de controle excelente apresentavam 6% dos quartos mamários infectados, enquanto nos rebanhos de controle insatisfatório a prevalência de quartos infectados era de 6,6%, 11 vezes maior. Conduzimos um levantamento semelhante em Wisconsin e observamos prevalências de 3,0% e 14,6% de mastite por *S. aureus* em rebanhos de controle excelente e insatisfatório de mastite, respectivamente. Deve-se salientar que pode haver várias cepas de *S. aureus* em um mesmo rebanho e este aspecto foi estudado e revisado por Rabello e colaboradores (2005). Embora possa haver diferentes cepas em um mesmo rebanho, uma das cepas geralmente predomina e ainda não está claro se a cepa predominante é a mesma entre granjas e até mesmo entre países. Uma vez que o reservatório primário do *S. aureus* é vaca com mastite, a cultura microbiológica do leite do tanque de expansão da granja pode ser usada para estimar a prevalência de *S. aureus* no rebanho. O aparecimento de *S. aureus* no leite do tanque de expansão geralmente indica que existem vacas com mastite por *S. aureus* naquele rebanho. Em base na análise do tanque de expansão, um recente levantamento conduzido pela Universidade do Estado da Pensilvânia observou que 45,4% dos rebanhos tinham vacas com mastite por *S. aureus* e um levantamento em Vermont estimou a prevalência em 50%. Estes levantamentos baseados em resultados de cultura de tanque de expansão claramente subestimam a prevalência de *S. aureus* se comparados a levantamentos em que se obtém cultura de amostras de vacas individuais. Isto sugere que a cultura do leite do tanque de expansão é uma determinação menos sensível da prevalência de *S. aureus*. Ainda que os dados demonstrem claramente que a mastite por *S. aureus* é amplamente prevalente nos EUA, tanto em rebanhos de controle excelente e insatisfatório da higiene e de controle de mastite. Assim, anos de higiene de ordenha e terapia de vacas secas não erradicaram esta doença. Entretanto, estes procedimentos de controle são claramente eficazes para a redução da prevalência da condição.

Novilhas

Um dos motivos pelos quais esta doença não foi erradicada pelas práticas de higiene de ordenha e terapia de vacas secas é que as novilhas podem parir infectadas com *S. aureus* e introduzir novas cepas do agente nos rebanhos. Dr. Jerry Roberson, atualmente na Kansas State, passou vários anos estudando este problema quando trabalhava em Washington. Jerry observou que rebanhos com maior prevalência de mastite por *S. aureus* nas vacas em lactação tendiam a ter maior prevalência nas novilhas recém-paridas. Esta relação, entretanto, não tinha muito poder estatístico. Além disso, algumas vezes as novilhas introduziam uma nova cepa no rebanho e outras vezes pariam infectadas pela cepa já existente no rebanho. Jerry observou que novilhas colonizadas por *S. aureus* na pele do teto já no pré-desmame apresentavam probabilidade 3,34 vezes maior de ter mastite por *S. aureus* que novilhas não colonizadas. Algumas novilhas mantiveram-se persistentemente colonizadas por *S. aureus* em diferentes regiões do corpo, principalmente em mucosas de

orifícios externos. Esta pesquisa sugeriu que estas novilhas persistentemente colonizadas poderiam representar o reservatório primário de *S. aureus* para outras novilhas da granja, especialmente quando a colonização incluía a área da pele do teto.

Um estudo conduzido nos estados de Washington, Vermont, Califórnia e Louisiana determinou a prevalência da mastite em novilhas recém-paridas, e os efeitos de localidade e estação. A prevalência da mastite por *S. aureus* em novilhas foi consistentemente mais elevada na Louisiana, chegando a 9% de todas as novilhas primíparas afetadas por esta doença no estado. Parece que o clima pode ter influência sobre a mastite por *S. aureus* em novilhas. Todos os estados relataram menos de 2% de prevalência no inverno e os demais estados além da Louisiana relataram consistentemente prevalências de menos de 3%. Estes outros estados têm clima mais temperado que o da Louisiana, que pode ser extremamente quente e úmido, subtropical, no final da primavera e início do outono. O grupo de pesquisa da Louisiana sugeriu que as moscas poderiam contribuir para a transmissão de *S. aureus* para a pele do teto, com colonização da região da lesão pela picada. A colonização da pele do teto por *S. aureus* poderia ser facilitada pelas picadas e evidências demonstram que esta colonização poderia predispor a novilha à mastite por *S. aureus* após o parto. Alguns dados do grupo da Louisiana sugerem que o controle de moscas pode reduzir a incidência de mastite por *S. aureus* em novilhas. Entretanto, os dados referentes a controle de moscas e redução da mastite por *S. aureus* em novilhas ainda não são conclusivos.

CONTROLE

As técnicas de higiene de ordenha baseadas em: toalhas de papel descartáveis para lavar e secar úberes, desinfecção do teto pré- e pós-ordenha, uso de luvas de látex pelos ordenhadores e desinfecção das ordenhadeiras (backflush) são comprovadamente eficazes para reduzir a incidência de mastite por *S. aureus* em vacas leiteiras. Estes programas de controle foram muito bem estudados pelo National Institute for Research e Dairying (NIRD) na Inglaterra. Os estudos foram compilados e discutidos no Boletim Técnico nº 4 (Technical Bulletin #4), sobre Controle de Mastite e Manejo do Rebanho. Dada a natureza contagiosa do *S. aureus* e sua capacidade de colonizar a pele do teto antes de causar infecção, é óbvio por que estas técnicas tiveram tanto sucesso. Elas evitam a disseminação de *S. aureus* de teto a teto durante a ordenha por meio da limpeza de fômites, via eliminação das toalhas de úbere e adoção de toalhas de papel descartável, uso de luvas de borracha pelos ordenhadores (superfície lisa a ser limpa entre ordenhas) e por limpeza da ordenhadeira entre vacas (backflush). Em seguida, qualquer *S. aureus* residual na superfície da pele antes ou depois da ordenha pode ser eliminado com desinfetantes. Aliada à terapia de vacas secas, a higiene de ordenha ocupa a posição de prática mais eficaz de controle da mastite. Alguns pesquisadores argumentaram que estas práticas de controle deveriam ser capazes de controlar todos os problemas e potenciais problemas ligados ao *S. aureus*. Outros, por sua vez, disseram que, caso as práticas de higiene de ordenha falhem, os produtores deveriam segregar as vacas com mastite por *S. aureus* das não infectadas e ordenhar estas vacas por último. Infelizmente, a experiência não teve sucesso em nosso grupo de pesquisa em mastite. Nosso estudo inicial de segregação de vacas infectadas por *S. aureus* indicou que mesmo em rebanhos em que se pratica rígida higiene de ordenha, apenas a segregação não é suficiente para reduzir a disseminação da mastite por *S. aureus*. Outros autores, entretanto, relatam sucesso com esta prática (Wilson, et al., 1995; e Zecconi Piccinini, e Fox, 2003).

O descarte de vacas com mastite por *S. aureus* pode ser uma medida mais extrema da segregação. Enquanto o descarte elimina as vacas problema, não elimina o problema de manejo que levou à exposição das vacas à doença. As vacas podem desenvolver mastite por *S. aureus* apesar da aplicação de excelentes práticas de higiene de ordenha e outras práticas de controle de mastite. Entretanto, estas vacas que ocasionalmente desenvolver mastite por *S. aureus* deveriam ser a exceção, não a regra. As práticas de controle de mastite

deveriam ser completas o suficiente para suportar uma falha ocasional, um caso de uma vaca que desenvolvesse mastite por *S. aureus*. Quando estas práticas não são completas e ocorre um surto de mastite por *S. aureus*, devem ser reavaliadas antes que um programa de descarte seja instituído. Os pontos fracos do programa de controle podem ser identificados e, embora o descarte estratégico de vacas com mastite por *S. aureus* possa reduzir a prevalência da doença rapidamente, apenas o descarte não será suficiente para reduzir a incidência de longo prazo. O desenvolvimento e a implementação de um programa otimizado de controle de mastite é o melhor método para eliminar o surto de mastite por *S. aureus*.

Muitos dos recentes trabalhos de controle da mastite por *S. aureus* dedicaram-se a avaliar a vacinação. Dennis Watson (1989) indica que o primeiro estudo relatado sobre o controle da mastite por *S. aureus* via vacinação data de 1907. Mas somente em 1961, quando Derbyshire iniciou estudos na Inglaterra, houve um reaquecimento do interesse sobre o controle através da vacinação. Poder-se-ia pensar que, depois de 100 anos de pesquisas e de 40 anos de pesquisas mais modernas e intensivas, haveria uma vacina contra a mastite disponível para ser usada pelos produtores. Existem algumas vacinas comerciais no mercado e o setor continua a manter um forte interesse no desenvolvimento de uma vacina contra o *S. aureus*, mas o atual nível de uso de vacinas para o controle desta doença nem chega perto do uso da vacina J5 que controla a mastite por coliformes.

Os principais problemas enfrentados no desenvolvimento de uma vacina contra a mastite por *S. aureus* são: 1) O *S. aureus* produz super-antígenos que podem alterar a resposta imunológica; 2) O *S. aureus* produz uma camada externa, a cápsula, que impede a fagocitose; 3) Existem inúmeras cepas deste patógeno que causam mastite e parece que cada rebanho tem sua própria cepa (Joo et al., 2001; Young et al., 2001). Considerando uma cepa própria de cada rebanho, os esforços são para desenvolver uma vacina que contenha bacterinas da cepa específica do rebanho (Sears e Belschner, 1999). O raciocínio que guia o trabalho de Sears e Belschner (1999) é potencializar a terapia com a resposta imunológica que é montada contra os antígenos específicos da cepa de *S. aureus* que afeta o rebanho. Seus dados preliminares sugerem sucesso. Para combater os efeitos de antigenicidade da cápsula, O'Brien e colaboradores, 2001, relatam que a imunização do antígeno de *S. aureus* incorporado em microesferas pode estimular a resposta fagocítica ao *S. aureus* pós-vacinação. As microesferas parecem melhorar a apresentação do antígeno capsular aos imunócitos da vaca, o que supera o problema de desenvolvimento de uma resposta imunológica contra a cápsula. Superar os efeitos dos super-antígenos ainda continua sendo um problema (Ebling et al., 2001).

Existem recentes relatos de estudos indicando que vacinas podem ter efeitos positivos na prevenção de mastite por *S. aureus*. O leitor deve ser cauteloso ao transpor estes achados para diferentes situações de campo. Existem poucas vacinas comerciais contra o *S. aureus* no mercado e a maior parte dos relatos envolvendo vários rebanhos indica que em alguns deles a vacina parece ter efeito positivo, enquanto em outros rebanhos não tem nenhum efeito. Mais uma vez, isto levanta o problema das diferentes cepas e que não existe a possibilidade de desenvolver proteção cruzada contra os diferentes fatores antigênicos. Nickerson, 1999, indica sucesso na imunização de novilhas com uma vacina comercial. Pode haver alguma lógica em se tentar imunizar uma novilha ainda relativamente suscetível com uma vacina polivalente.

TRATAMENTO

A mastite é uma doença que pode ser evitada na maior parte das vezes, principalmente quando se trata de patógenos de mastite contagiosa. Assim, o tratamento reflete a falta de capacidade de controlar ou prevenir a doença. Terapias à base de antibióticos podem ser usadas em casos sub-clínicos ou clínicos de mastite, durante a lactação ou durante o período seco. As taxas de sucesso em relatos esporádicos sobre o tratamento da mastite por *S. aureus* com antibióticos intramamários são bastante baixas. Muitas publicações, entretanto,

sugerem uma taxa de sucesso bastante razoável. Minha revisão de 32 ensaios que avaliaram o sucesso do tratamento da mastite por *S. aureus* durante o período seco indica que, em média, 63% das infecções foram curadas, com taxas de cura variando de 14% a 100%. A revisão de 10 ensaios de tratamento clínico da mastite por *S. aureus* sugere uma taxa de cura média de 54%, variando entre 26% e 92%. A revisão de 16 ensaios de tratamento da mastite sub-clínica por *S. aureus* sugere uma taxa média de cura de 48%, variando entre 17% e 95%. Embora o tratamento da mastite sub-clínica por *S. aureus* seja frequentemente desaconselhado, Swinkels et al. (2005) defendem tais tratamentos quando a possibilidade de transmissão é muito elevada. Estes autores alertam que as taxas de transmissão não são função apenas do manejo, mas podem ser cepa-dependentes. Assim, parece que o tratamento durante o período seco tem maior taxa de sucesso, enquanto o tratamento de casos sub-clínicos é mais frustrante. Uma explicação para estes resultados hierárquicos é que as terapias de vaca seca geralmente contêm maiores concentrações de antibióticos em preparações de ação prolongada, ao contrário das terapias de vacas em lactação. Tais formulações mais potentes são administradas durante o período seco, pois há menos preocupação de descarte de leite associado a resíduos de antibióticos.

Poder-se-ia argumentar que a terapia de casos de campo de mastite por *S. aureus* raramente tem o mesmo sucesso que em condições experimentais. Possíveis explicações para esta disparidade em taxas de sucesso entre o que é relatado na literatura e o que é observado por veterinários e produtores pode ser decorrente de uma série de fatores. Ron Erskine, da Michigan State, relata que muitas infecções por *S. aureus* recidivam após tratamento. Isto sugere que o antibiótico não foi capaz de eliminar completamente o patógeno. Pior, o antibiótico reduziu o *S. aureus* para níveis abaixo do limite de detecção. Isto é bastante possível, considerando que o *S. aureus* geralmente causa infecção intramamária com muito menos unidades formadoras de colônias que outros patógenos de mastite. Phil Sears, quando trabalhava na Universidade de Cornell, relatou que mesmo na ausência de tratamento, o *S. aureus* é periodicamente eliminado através do leite em níveis muito baixos, algumas vezes em níveis abaixo dos limites de detecção de nossos métodos. Assim, é fácil compreender como a terapia com antibióticos pode levar a uma condição de infecção latente, resultando em cura aparente, porém falsa positiva. Além disso, alguns modelos de pesquisa incluem infecções experimentais. Uma infecção experimental que não tenha tido tempo de causar dano patológico ao úbere seria logicamente muito mais fácil de tratar e eliminar que uma infecção crônica natural.

Por que o *S. aureus* é tão refratário ao tratamento? Existem várias explicações que devem ser consideradas em conjunto para se tentar obter sucesso com o tratamento. Existem evidências que sugerem que o dano patológico causado pelo *S. aureus* resulta em oclusão ductal e assim impede a difusão do antibiótico até o diversos focos de infecção. Steve Nickerson, da Louisiana, foi capaz de demonstrar este fenômeno visualmente, ao comparar a difusão de corantes através da glândula mamária de quartos infectados e não infectados. Achados histológicos de Roar Gudding demonstram que há formação de micro-abscessos em resposta à infecção por *S. aureus*. Por estes motivos, alguns autores estudaram o uso de tratamentos sistêmicos combinados à terapia intramamária. Logicamente, tal abordagem deve aumentar as chances de sucesso do tratamento. Entretanto, embora pesquisas tenham observado que a maior parte dos protocolos de tratamento sistêmico/intramamário aumentam as taxas de cura da mastite por *S. aureus*, nem sempre a taxa de sucesso é suficientemente alta para compensar os custos adicionais de drogas e de manejo.

Outro motivo que explica por que o *S. aureus* é tão resistente à terapia é que este patógeno desenvolveu uma resistência genética a alguns antibióticos. Além, disso, foi demonstrado que o *S. aureus*, quando exposto à penicilina, pode formar uma progênie que não possui a L-forma da parede celular e assim passa a ser resistente aos antibióticos beta-lactâmicos (penicilina). Por fim, também foi observado que o *S. aureus* internalizado, no interior do fagócito, pode resistir e não ser afetado pelo antibiótico no meio circundante. Este *S. aureus* internalizado pode então reinfetar a glândula com a morte e lise do fagócito, quando então é novamente liberado. Todos estes fatores de resistência ao tratamento podem ter efeito interativo. Por exemplo, Sol e colaboradores, 2000, observaram que todas as cepas isoladas de vacas em um estudo eram sensíveis

a uma série de antibióticos *in vitro*. Algumas cepas, entretanto, eram produtoras de beta lactamase. Estas cepas positivas para beta lactamase seriam provavelmente mais refratárias a tratamento que as cepas não produtoras. Além disso, os quartos mamários infectados por *S. aureus* com contagens de células somáticas no leite menores antes do tratamento apresentavam maior chance de cura.

Novas abordagens foram relatadas em relação ao tratamento da mastite por *S. aureus*. Sears e Belschner (1999) relatam algum sucesso na associação de vacinação com terapia. Eles sugerem que, mesmo que as bacterinas de *S. aureus* não sejam capazes de conferir proteção duradoura e resposta imunológica persistente, a terapia com o antibiótico e a imunomodulação atuam em conjunto para curar infecções intramamárias por *S. aureus*. Alguns de seus dados suportam esta hipótese. Gruet e colaboradores (2001) indicam em uma recente revisão que as taxas de cura do *S. aureus* são geralmente as piores de todos os patógenos causadores de mastite. Estes autores indicam que os imunomoduladores, como as citocinas e formulações inéditas, como incorporação em lipossomos e micropartículas, podem favorecer a liberação da droga e aumentar as taxas de cura. Entretanto, até que estas novas formulações e terapias estejam disponíveis, o produtor ainda precisa se valer dos produtos atualmente disponíveis. Por fim, devemos considerar que se o uso de terapias significa que houve falha de controle da doença, prevenir é sempre melhor que remediar.

Novilhas

O tratamento de novilhas pré-parto com antibióticos intramamários foi objeto de uma série de projetos recentes. A maior parte dos ensaios indica que há uma significativa taxa de cura da mastite por *S. aureus* quando se usam terapias de vaca seca ou protocolos de antibioticoterapia de lactação em novilhas. As preparações de vacas secas resultam em melhor taxa de cura que a terapia de lactação. A questão dos resíduos é o principal problema com o tratamento intramamário de novilhas pré-parto. Caso o rebanho tenha um problema com mastite por *S. aureus* em novilhas, então a terapia pré-parto poderia ser parte do programa de controle. Os problemas em sugerir o uso de antibióticos intramamários para todas as novilhas pré-parto envolvem resíduos no leite após o primeiro parto e infecção acidental. Entretanto, as novilhas podem desenvolver mastite clínica durante o período peri-parto, algumas vezes até pré-parto (Wage et al., 2000). O tratamento de forma geral foi eficaz para a eliminação do patógeno. Entretanto, mais de um terço das novilhas tratadas neste estudo apresentava lesões de úbere, resultando em quartos mamários não funcionais ou até descarte do animal.

CONCLUSÕES

Assim como com qualquer infecção, a prevalência da doença é uma função da taxa de novas infecções e a taxa de saída dos indivíduos da população de infectados. A taxa de novas infecções depende do número de hospedeiros suscetíveis e do contato com o patógeno. Assim, a manutenção da imunidade do rebanho e controle e prevenção do contato entre o patógeno e o hospedeiro são fatores críticos. A vacinação contra o *Staphylococcus aureus* não tem sido bem sucedida. Desta forma, as estratégias de controle, especialmente a higiene durante a ordenha e a segregação de animais infectados têm sido os melhores métodos para a redução da taxa de novas infecções. O *Staphylococcus aureus* é um patógeno extremamente virulento e conta com uma série de recursos que potenciam sua capacidade infecciosa. Estes fatores de virulência são críticos para o complexo da doença e enfatizam a necessidade de métodos adequados de controle. A taxa de saída de indivíduos infectados pode ser resultante de curas ou descartes. Infelizmente, diversos fatores críticos fazem com que as taxas de sucesso do tratamento de *S. aureus* sejam bastante baixas. Assim, o descarte de animais infectados ainda constitui o principal aspecto dos programas de controle da mastite por *S. aureus*. Descarte, tratamento e segregação dependem da identificação de animais infectados tornando a identificação um fator crítico que determina a prevalência da mastite por *S. aureus*. Esta doença só pode ser controlada através da

compreensão destes fatores críticos e aplicação do conhecimento em programas de controle destinados a minimizar ou eliminar novas infecções e aumentar a taxa de saída de vacas infectadas.

O *Staphylococcus aureus* é atualmente a principal causa de mastite contagiosa. Talvez mais de 90% de todos os rebanhos e 10% de todas as vacas nos EUA tenham esta doença. O *Staphylococcus aureus* produz uma série de toxinas, que contribuem para sua extrema virulência em casos de mastite. A maior parte das toxinas faz com que o patógeno escape da resposta imunológica mamária e causar dano ao tecido glandular, permitindo que a infecção se estabeleça e resista à terapia intramamária. Estas toxinas podem ser usadas para o diagnóstico da doença. O melhor método de controle da mastite por *S. aureus* ainda é a prevenção. As técnicas preventivas procuram bloquear a transmissão do *S. aureus* de vaca a vaca através de fômites contaminados e seu foco é a higiene de ordenha, enfatizando o uso de toalhas de papel descartável para lavar e secar os úberes durante a preparação da vaca, uso de desinfetantes na solução de lavagem pré-ordenha, uso de luvas pelos ordenhadores, uso de desinfecção da ordenhadeira via backflush entre vacas e desinfecção pós-ordenha do teto para remover *S. aureus* residual. A terapia de vacas secas com antibióticos tem efeito marginal para eliminar a mastite por *S. aureus*, mas tem a vantagem de evitar problemas de descarte de leite. A segregação de animais infectados é uma proposta freqüente e nossa experiência demonstra que pode ser um procedimento eficaz de controle da mastite por *S. aureus*, porém apenas quando todas as demais práticas de controle estiverem implementadas. O descarte de vacas infectadas, além de extremamente dispendioso, é somente eficaz quando o problema é identificado e os elos mais fracos do programa de controle tiverem sido otimizados. Finalmente, a mastite por *S. aureus* pode ser prevenida através de medidas que impeçam o contato do patógeno com o teto. Animais infectados devem ser identificados por meio de diagnóstico preciso, os procedimentos de controle devem ser revistos e otimizados e só então o *S. aureus* poderá ser controlado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adesiyun, A. A., L. A. Webb, and H. T. Romain. 1998. Prevalence and characteristics of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bulk and composite milk and cattle handlers. *J. of Food Prot.* 61:629.
- Anderson, J. C. 1982. Progressive pathology of staphylococcal mastitis with a note on control, immunization, and therapy. *Vet. Rec.* 110:372.
- Bayles, K.W., C. A. Wesson, L. E. Liou, L. K. Fox, G. A. Bohach, and W. R. Trumble. 1998. Intracellular *Staphylococcus aureus* escapes the endosome and induces apoptosis in epithelial cells. *Infect. Immun.* 66:336-342.
- Bohach, G. A. 1997. Staphylococcal enterotoxins B and C: Structural requirements for superantigenic and enterotoxigenic activities. In: *Superantigens: relevance to Human Disease and Basic Biology*. D. Y. M. Leung, B. Huber, and P. M. Schlievert, ed. Marcel Dekker, Inc., New York, NY.
- El-Rashidy, A.A., L.K. Fox, and J.M. Gay. 1992. Diagnosis of *Staphylococcus aureus* intramammary infection by detection of specific antibody titer in milk. *J. Dairy Sci.* 75:1430-1435.
- Erskine, R. J., R. J. Eberhart, L. J. Hutchinson and S. B. Spencer. 1987. Herd management and prevalence of mastitis in dairy herds with high and low somatic cell counts. *JAVMA.* 190:1411.
- Erskine, R. J., P. C. Bartlett, P. C. Crawshaw, and D. M. Gombas. 1994. Efficacy of intramuscular oxytetracycline as a dry cow treatment for *Staphylococcus aureus* mastitis. *J. Dairy Sci.* 77:3347.
- Fluharty, D. M. and D. Wright. 1982. Mobile lab hit the road to help Northwest dairyman. *Hoard's Dairyman* 127:1101.
- Ferens, W. A., W. C. Davis, Mary Jo Hamilton, Y. H. Park, C. F. Deobald, L. K. Fox, and G. A. Bohach. 1998. Activation of bovine lymphocyte subpopulations by staphylococcal enterotoxin C. *Inf. And Immun.* 66:573.
- Bogni, Cristina, M. Segura, Jose Giruado, A. Giruado, A. Calzolari, and R. Nagel. 1998. Avirulence and Immunogenicity in mice of a bovine mastitis *Staphylococcus aureus* mutant. *Can J. Vet. Res.* 62:293:298.
- Foster, T.J. 1991. Potential for vaccination against infections caused by *Staphylococcus aureus*. *Vaccine* 9:221-227
- L.K. Fox, R.N. Zadoks and C.T. Gaskins. 2005. Biofilm production by *Staphylococcus aureus* associated with intramammary infection. *Vet Micro.* 107: 295-299
- Fox, L. K. and D. Scott Adams. 1999. Use of the enzyme linked immunosorbent assay to detect antibody against *Staphylococcus aureus* in milk: Where are we today. *Proceedings of the National Mastitis Council Annual Meeting, Arlington, VA.,* pages 58-67.
- Fox, L. K., T. E. Besser, and S. M. Jackson. 1996. Evaluation of a coagulase-negative variant of *Staphylococcus aureus* as a cause of intramammary infections in a herd of dairy cattle. *JAVMA* 209:1143.
- Fox, L.K., S.T. Chester, J.W. Hallberg, S.C. Nickerson, J.W. Pankey, and L.D. Weaver. 1995. Survey of intramammary infections in dairy heifers at breeding age and first parturition. *J. Dairy Sci.* 78:1619-1628.
- Fox, L.K., J.A. Nagy, J.K. Hillers, J.D. Cronrath, and D.A. Ratkowsky. 1991. Effects of postmilking teat treatment on the colonization of *Staphylococcus aureus* on chapped teat skin. *Am. J. Vet. Res.* 52:799-802.

- Fox, L.K., and D.D. Hancock. 1989. The effect of segregation on prevention of intramammary infections by *Staphylococcus aureus*. *J. Dairy Sci.* 72:540-544.
- Goldberg, J.J. J. W. Pankey, P. A. Drechsler, D. B. Murdough, and P. A. Howard. 1991. An update survey of bulk tank milk quality in Vermont. *J Food Prot.* 54:549
- Gonzalez, R. N. , D. E. Jasper, T. B. Farver, R. B. Bushnell, and C. E. Franti. 1988. Prevalence of udder infections and mastitis in 50 California dairy herds. *J. Amer. Vet. Med. Ass.* 193:323.
- Gruet, P., P. Maincent, X. Berthelot, and V. Kalsatos. 2001. Bovine mastitis and intramammary drug delivery: review and perspectives. *Advanced Drug Delivery reviews.* 50:245-259.
- Gudding, R. J. S. McDonald, and N. F. Cheville. 1984. Pathogenesis of *Staphylococcus aureus* mastitis: Bacteriologic, histologic, and ultrastructural pathologic findings. *Am J. Vet. Res.* 45:2525.
- Guidry, A. A. Fattom, Atul Patel, C. O'Brien, S. Shepherd, and J. Lohuis. 1998. Serotyping scheme for *Staphylococcus aureus* isolated from cows with mastitis. *AJVR* 59: 1537_1539.
- Grohn YT, Gonzalez RN, Wilson DJ, Hertl JA, Bennett G, Schulte H, Schukken YH. 2005. Effect of pathogen-specific clinical mastitis on herd life in two New York State dairy herds. *Prev Vet Med.* 71:105-25.
- Hensen, S.M., M.J.A.M.P. Paviclc, J. A. C. M. Lohuis, and B. Poutrel. 2000. Use of bovine primary mammary epithelial cells for the comparison of adherence and invasion ability of *Staphylococcus aureus* strains. *J. Dairy Sci.* 83:418-429.
- Hogan, J.S. and K. L. Smith. 1997. Occurrence of clinical and subclinical environmental streptococcal mastitis. *Proceedings of a Symposium on: Udder Health Management for Environmental Streptococci, Ontario Veterinary College*, page 36.
- Hutton, C.T., L. K. Fox, and D. D. Hancock. 1990. Mastitis control practices. Differences between herds with high and low milk somatic cell counts. *J. Dairy Sci.* 73:1135.
- 23a) Joo, Y. S., L. K. Fox, W. C. Davis, G. A. Bohach, and Y. H. Park. 2001. *Staphylococcus aureus* associated with mammary glands of cows: Genotyping to distinguish different strains among herds. *Vet Micro* 80:131-138
- Jones, G. M., R. E. Pearson, G. A. Clabaugh, and C. W. Heald. 1984. Relationships between somatic cell counts and milk production. *J. Dairy Sci.* 67:1823.
- Laboratory Handbook on Bovine Mastitis. 1999. National Mastitis Council, Inc, Madison, Wisconsin.
- Lee. S. U. M. Quesnell, L. K. Fox, J. W. Yoon, Y. H. Park, W. C. Davis, D. Falk, C. F. Deobald, G. A. Bohach. 1998. Characterization of staphylococcal bovine mastitis isolates using the polymerase chain reaction. *J. Food Prot.* 61:1384.
- Matsunaga, T., Kamata, S., Kakiichi, N. and Uchida, K. 1993. Characteristics of *Staphylococcus aureus* isolated from peracute, acute, and chronic bovine mastitis. *J. Vet. Med. Sci.* 55:297.
- Matsushita, T., R. P. Dinsmore, R. J. Eberhart, G. M Jones, J. S. McDonald, P. M. Sears, and D. Scott Adams. 1990. Performance studies of an enzyme-linked immunosorbent assay for detecting *Staphylococcus aureus* antibody in bovine milk. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2:163.
- Neave F. K. F. H. Dodd, R. G. Kingwill, and D. R. Westgarth. 1969. Control of mastitis in the dairy herd by hygiene and management. *J. Dairy Sci.* 52:696..
- Neave F. K., and J. Oliver. 1962. The relationship between the number of mastitis pathogens placed on the teats of dry cows, their survival and the amount of intramammary infections caused. *J. Dairy Res.* 29:79.

- Nickerson, S. C. 1999. Role of Vaccination and treatment programs. Proceedings of the National Mastitis Council 38th Annual Meeting, Arlington, VA. Page 76.
- Nickerson, S. C. and C.W. Heald. 1981. Histopathologic response of the bovine mammary gland to experimentally induced *Staphylococcus aureus* infection. *Am. J. Vet. Res.* 42:1351.
- Nickerson, S.C. 1999. Role of vaccination and treatment programs. Proceedings of the 38th Annual National Mastitis Council, Madison, WI
- Oliver, S. P., M. J. Lewis, B. E. Gillespie, and, H.H. Dowlen. 1992. Influence of prepartum antibiotic therapy on intramammary infections in primigravid heifers, during early lactation. *J. Dairy Sci.* 75:406.
- O'Brien, C.M. A. J. Guidry, L. W. Douglass, and D. C. Westhoff. Immunization with *Staphylococcus aureus* lysate incorporated into microspheres. *J. Dairy Sci.* 84:1791-1799.
- Opdebeeck, J. P. A. J. Frost, D. O'Boyle, and N. L. Norcross. 1987. The expression of capsule in serum-soft agar by *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis. *Vet. Micro.* 13:225.
- Owens, W. E. J. L. Watts, and R. L. Boddie. 1988. Antibiotic treatment of mastitis: comparison of intramammary and intramammary plus intramuscular therapies. *J. Dairy Sci.* 71:3143.
- Owens, W. E., S. P. Oliver, B. E. Gillespie, C. H. Ray and S. C. Nickerson. 1998. The role of horn flies (*Haematobia irritans*) in *Staphylococcus aureus* mastitis in dairy heifers. *Am J. Vet. Res.* 59; 9:1122-1124.
- Rabello RF, Souza CR, Duarte RS, Lopes RM, Teixeira LM, Castro AC. 2005. Characterization of *Staphylococcus aureus* isolates recovered from bovine mastitis in Rio de Janeiro, Brazil. *Journal of Dairy Sci.* 88:3211-32199
- Roberson, J. R. 1995. Epidemiology of *Staphylococcus aureus* intramammary infections in prepartum dairy heifers. Proceedings of the 3rd International Mastitis Seminar, Tel Aviv, Israel. Page 13, section 6.
- Roberson, J.R., L.K. Fox, D.D. Hancock, and C.C. Gay. 1994. Coagulase positive *Staphylococcus* intramammary infections in dairy heifers. *J. Dairy Sci.* 77:958-969.
- Roberson, J.R., L.K. Fox, D.D. Hancock, and T.E. Besser. 1992. Evaluation of methods for differentiation of coagulase-positive *Staphylococci*. *J. Clin. Micro.* 38:3217-3219.
- Sears, P.M. and Belschner, A.P. 1999. Alternative management and economic consideration in *Staphylococcus aureus* elimination. Proceedings of the 38th Annual National Mastitis Council, Madison, WI.
- Sears, P. M., M. Tettinger, and J. Marsh-Salin. 1987. Isolation of L-form variants after antibiotic treatment in *Staphylococcus aureus* mastitis. *JAVMA* 196:681.
- Sears, P. M. and A. P. Belschner. 1999. Alternative management and economic consideration in *Staphylococcus aureus* elimination programs. Proceedings of the National Mastitis Council 38th Annual Meeting, Arlington, VA. Page 86.
- Sears, P. M., B. J. Smith, P. B. English, P. S. Herer, and R. N. Gonzalez. 1990. Shedding pattern of *Staphylococcus aureus* from bovine intramammary infections. *J. Dairy Sci.* 73:2785.
- Smith, T.H., L.K. Fox, and J.R. Middleton. 1998. Outbreak of mastitis caused by one strain of *Staphylococcus aureus* in a closed dairy herd. *JAVMA* 212:553-556
- Sol, J. O.C. Sampimon, H. W. Barkema, and Y. H. Schukun. Factors associated with cure after therapy of clinical mastitis caused by *Staphylococcus aureus*. *J. Dairy Sci.* 89:278-284.
- Sutra, L. and B. Poutrel. 1994. Virulence factors involved in the pathogenesis of bovine intramammary

- infections due to *Staphylococcus aureus* . J. Med. Micro. 40:79-89.
- Swinkels, L.J.M., H. Hogeveen and R. N. Zadoks. 2005. A partial budget model to estimate economic benefits of lactational treatment of subclinical *Staphylococcus aureus* mastitis. J Dairy Sci. 88:4273-87.
- Trinidad, P. S. S. C. Nickerson, T.K. Alley, and R. W. Adkinson. 1989. Efficacy of intramammary treatment of unbred and primigravid dairy heifers. J. Am. Vet. Med. Assoc. 197:465.
- Waage, S., H. R., Skel, J. Rise, T. Rogdo, S. Sviland, and S. A. Odegaard. Outcome of clinical mastitis in dairy heifers assessed by reexamination of cases one month after treatment. J. Dairy Sci. 83:70-75.
- Wanasinghe, D. O.,. 1981. Adherence as a prerequisite for infection of the bovine mammary gland by bacteria. Acta. Vet. Scand. 22:109.
- Watson, D.L. 1989. vaccination against mastitis caused by *Staphylococcus aureus*. Proc. Of the 28th National Mastitis Council, Arlington, VA.
- Wilson, D. D. and M. S. Richards. 1980. A survey of mastitis in the British dairy herd. Vet. Res. 106:431.
- Wilson, D. J., R. N. Gonzalez and P. M. Sears. 1995. Segregation or use of separate milking units for cows infected with *Staphylococcus aureus*- Effects on prevalence of infection and bulk tank somatic cell count. J. Dairy Sci. 78:2083-2085.
- Wilson, D. J., Ruben N. Gonzalez, and H. H. Das. 1997. Bovine mastitis pathogens in New York and Pennsylvania: Prevalence and effects on somatic cell count and milk production. Journal of Dairy Sci. 80:2592.
- Young, F., Platt, D, Lougue, D., Ternent, H., and J. Fitzpatrick. 2001. Bovine *Staphylococcus aureus* mastitis; strain recognition and dynamics of infection. Journal of Dairy Research. 68:377-388.
- Zecconi, A., R. Piccinini, and L. K. Fox. 2003. Epidemiologic study of intramammary infections with *Staphylococcus aureus* during a control program in nine commercial dairy herds. JAVMA. 223: 684-688.

SELEÇÃO DE ANTIBIÓTICOS PARA O TRATAMENTO DA MASTITE

Pamela Ruegg

Universidade de Wisconsin

Madison, WI

INTRODUÇÃO

Embora progressos consideráveis tenham sido obtidos na melhora da qualidade do leite, a mastite continua a ser a doença mais freqüente e de maior impacto econômico em vacas leiteiras. Recentemente, rebanhos leiteiros de Wisconsin participantes de um programa de melhora da qualidade do leite ($n = 181$) relataram que a mastite clínica ocorria em 6-8 vacas em cada 100 vacas ordenhadas por mês. Os produtores estimaram que cada caso de mastite clínica lhes custava ao redor de US\$ 91,00 (Rodrigues et al., 2005). O tratamento da mastite também representa o principal motivo de uso de antibióticos em granjas leiteiras. Em um recente levantamento de rebanhos leiteiros submetidos a manejo convencional em Wisconsin ($n = 20$), as vacas em lactação recebiam 6 doses de antibiótico ao ano e 80% do uso estava relacionado a tratamento ou prevenção de mastite (Pol e Ruegg, 2006). Os princípios do sucesso do tratamento de mastite já foram revisados (Erskine et al., 2003, Ruegg, 2004) e dependem de diagnóstico precoce e preciso da mastite. Além disso, é preciso estar ciente de que a probabilidade de sucesso deste tratamento depende de fatores ligados à vaca e ao patógeno envolvido. O objetivo deste trabalho é rever os conceitos relacionados à seleção de antibióticos usados para o tratamento da mastite clínica.

AValiação da Eficácia Clínica

É difícil avaliar se o tratamento de mastite clínica teve sucesso ou não. O objetivo prático do tratamento é rapidamente reduzir os sintomas clínicos, reduzir as contagens de células somáticas (CCS) e manter o rendimento leiteiro. As respostas de contagem de células somáticas são geralmente monitoradas, mas é importante reconhecer as imperfeições desta abordagem. Os valores mensais de CCS obtidos do DHIA não demonstram em nível de quarto as possíveis infecções devido à diluição das células somáticas do quarto infectado pelo leite dos quartos não infectados. A CCS é parte da resposta imune e pode declinar gradativamente, enquanto as bactérias residuais claramente provêm do quarto afetado. Finalmente, como foi demonstrado que a CCS anterior à ocorrência de um caso clínico é preditiva de cura, o uso da CCS para monitorar a resposta ao tratamento pode ser enganoso.

As taxas de cura bacteriológica são geralmente usadas em estudos experimentais para avaliar a eficácia do tratamento, mas pouquíssimos produtores ou veterinários avaliam o grau de eliminação do patógeno na glândula afetada. A cura bacteriológica é geralmente constatada com certo atraso em relação à cura clínica. Por exemplo, em um ensaio clínico com bom desenho experimental, a taxa de cura clínica foi de 52-63%, enquanto a taxa de cura bacteriológica nos mesmos quartos (obtida 20 dias pós-tratamento) foi de apenas 22-38% (Deluyker et al., 1999). A capacidade de se obter uma cura bacteriológica vai depender da gravidade do caso, variação da resposta imune entre vacas, eficácia do protocolo de tratamento e quão precocemente este tratamento foi instituído (Hillerton e Berry, 2003). Diversos fatores influenciam a probabilidade de isolamento de bactérias de amostras de leite, tais como freqüência de amostragem, volume de leite usado

como inóculo, tempo decorrido após término da terapia até a amostragem e tempo entre a coleta de amostras consecutivas (Ruegg e Reinemann, 2002). Sol et al. (1997) recomendam que a definição de cura deveria ser baseada em pelo menos duas culturas, pois observaram alta porcentagem de quartos infectados 30 dias após o tratamento (65%), se comparados a 16 dias após tratamento (45%), sugerindo que os quartos de vacas tratadas que ainda estavam infectados voltavam a eliminar o patógeno após término do tratamento. Desta forma, as taxas relatadas de curas bacteriológicas devem ser reavaliadas criticamente, tanto em condições experimentais quanto de campo antes que se possa confirmar sucesso terapêutico.

USO DE TESTES DE SENSIBILIDADE PARA DETERMINAÇÃO DE EFICÁCIA CLÍNICA

Os ensaios de sensibilidade *in vitro* foram os métodos de escolha para a seleção de terapias para casos de mastite por muitos anos, mas pesquisadores relataram taxas variáveis de sucesso quando os utilizaram para prever o resultado do tratamento da mastite bovina (Pyörälä e Syvajarvi, 1987; Owens et al., 1997; Shpigel et al., 1998; Cattell et al., 2001; Constable e Morin, 2002; Constable e Morin, 2003; Hoe e Ruegg, 2005). Pelo menos 1 estudo concluiu que o teste de sensibilidade usando o Disco de Difusão de Kirby Bauer não permitia prever com precisão a duração dos sinais clínicos ou a cura bacteriológica da mastite (Constable e Morin, 2002). Em outro estudo, resultados de sensibilidade a antimicrobianos em difusão de agar não permitiram prever o grau de inflamação da glândula mamária (Pyörälä e Syvajarvi, 1987). Outro estudo determinou as concentrações inibitórias mínimas (CIM) e sugeriu que os valores de CIM para casos de infecção crônica por *S. aureus* não tinham valor preditivo positivo para prever os resultados terapêuticos (Owens et al., 1997).

Recentemente conduzimos um estudo prospectivo para determinar se havia associação entre os resultados de testes de sensibilidade de patógenos de mastite e o resultado de um tratamento definido (Hoe e Ruegg, 2005). Vacas com mastite branda ou moderada em um único quarto (n = 133) foram tratadas uma vez ao dia por 2 dias usando pirlimicina intramamária; tratamentos adicionais usando o mesmo produto foram administrados caso o leite ainda se mantivesse anormal depois de completado o tratamento inicial. Nenhum outro tratamento foi permitido. A duração do tratamento e a duração de leite anormal (cura clínica) foram registradas. A sensibilidade dos isolados bacterianos foi testada usando uma técnica de microdiluição em caldo (Sensititre). *Streptococcus* ambientais, coliformes e *Staphylococcus* coagulase-negativos foram os patógenos mais comumente isolados. A duração do tratamento (3,3 dias) e a duração do leite anormal (4,1 dias) não foram significativamente diferentes da mastite causada por patógenos resistentes ou suscetíveis. As taxas de cura bacteriológica determinadas 21 dias após o tratamento não foram significativamente diferentes para a mastite causada por bactérias suscetíveis (49%) ou resistentes (47%). Resultados semelhantes foram obtidos quando a análise foi restrita à mastite causada por bactérias Gram-positivas. Concluímos que não houve associação entre os resultados dos testes de sensibilidade dos patógenos de mastite e resultados clínicos do tratamento quando as vacas apresentam mastite branda ou moderada.

A constatação da incapacidade dos testes de sensibilidade de prever os resultados clínicos ou bacteriológicos da mastite resultou em necessidade de identificar um método alternativo para a seleção dos antibióticos a serem usados no tratamento da mastite. Atualmente, ainda não existem testes específicos que possam ser usados para prever o sucesso terapêutico e, considerando a dificuldade em definir medidas apropriadas de resultado, é provável que o desenvolvimento de um teste adequado ainda deverá demorar.

FATORES CRÍTICOS RELACIONADOS AO SUCESSO DO TRATAMENTO DA MASTITE CLÍNICA

Embora não exista um teste específico que possa assegurar a eficácia dos tratamentos com antibióticos, diversos fatores podem ser usados para identificar os casos de mastite clínica que têm maior probabilidade de responder à antibioticoterapia.

1. Seleção Adequada de Casos para Tratamento: A seleção adequada de casos para tratamento intramamário ou sistêmico é provavelmente a decisão mais importante em relação aos resultados esperados do tratamento da mastite. Os antibióticos permitem que o sistema imune da vaca elimine as bactérias da glândula infectada; portanto, um sistema imune funcional é necessário para que ocorra a cura. Qualquer depressão do sistema imune da vaca resulta em resultados clínicos insatisfatórios. O esfíncter do teto é a primeira barreira à infecção e danos nesta região do esfíncter resultam em casos de mastite de resolução muito difícil. A menos que o animal seja extremamente valioso, vacas com danos da extremidade do teto não são boas candidatas a tratamento. A ocorrência de doenças metabólicas que influenciam o sistema imune da vaca também reduz a probabilidade de cura. Vacas recém-paridas, com acidose, laminite ou outros distúrbios metabólicos têm menor possibilidade de responder aos tratamentos de mastite. Cada vez fica mais claro que quartos que não responderam a um tratamento prévio têm muito baixa probabilidade de responder a tratamentos subsequentes. Da mesma forma, mastite em múltiplos quartos indica prognóstico ruim de cura, pois provavelmente existe alguma outra causa que favorece a infecção de múltiplos quartos. Novos casos de mastite em animais de primeira lactação deveriam ser de alta prioridade para tratamento. Diversos estudos demonstraram altas taxa de cura neste grupo de animais (Sol, et al, 1997; Pyörälä e Pyörälä, 1998).

2. Características do Patógeno: A probabilidade de cura é altamente influenciada pelas características do patógeno. As taxas de cura terapêutica para diversos patógenos causadores de mastite (leveduras, pseudomonas, mycoplasma, prototheca, etc.) são essencialmente zero. Não se considera economicamente viável tratar a mastite clínica em vacas cronicamente infectadas com *Staph aureus*, pois as taxas de cura são geralmente muito baixas e na maior parte dos casos, a infecção só regride até um estado sub-clínico. As respostas terapêuticas de vacas infectadas com *Staph aureus* estão fortemente relacionadas à duração da infecção sub-clínica. Em um estudo, as taxas de cura bacteriológica para infecções crônicas (> 4 semanas de duração) por *Staph aureus* foram de apenas 35%, em comparação a 70% para infecções recém-adquiridas (< 2 semanas de duração) (Owens, et al., 1997). As taxas de cura de mastite causada por *Staph aureus* são reduzidas com a idade (de 81 % em vacas de idade ≤ 48 meses para 55% em vacas com idade ≥ 96 meses), número de quartos infectados (de 73% para 1 quarto infectado para 56% para 4 quartos infectados) e CCS crescentes (Sol et al., 1997).

Em muitos rebanhos de alta produção, a mastite clínica é freqüentemente causada por estreptococos ambientais. A taxa de cura espontânea de mastite causada por estreptococos ambientais é geralmente baixa e a taxa de recidiva pode superar 40%, a menos que sejam administrados tratamentos adequados à base de antibióticos (Chamings, et al., 1984; Guterbock et al., 1993). Tratamento agressivo à base de antibióticos em vacas com mastite causada por estreptococos ambientais geralmente resulta em taxas relativamente altas de cura (Hillerton et al., 2002; Pyörälä et al. 2001).

A maior parte dos casos de mastite causada por coliformes são brandos, mas 10-30% dos animais podem apresentar grave comprometimento sistêmico. Dos animais gravemente afetados, até 25% morrem ou são descartados (Erskine et al., 2002). O uso de antibióticos intramamários para tratar os animais com mastite branda ou moderada por coliformes tem sido questionado devido à alta taxa de cura espontânea

e baixa eficácia da maior parte dos antibióticos para organismos Gram-negativos (Pyörälä, et al. 1994; Roberson et al., 2004). Em um estudo recente que avaliou os resultados de casos brandos e moderados de mastite clínica, não houve diferenças significativas no número de dias de leite alterado ou nas taxas de cura bacteriológica entre os casos por patógenos Gram-positivos (n = 75) ou Gram-negativos (Hoe e Ruegg, 2005).

Muitas das granjas mais modernas estão utilizando o OFC (on-farm culturing = cultura na granja) para selecionar os tratamentos intramamários de infecções que têm alta possibilidade de responder aos antibióticos disponíveis. De maneira geral, uma vez feito o diagnóstico de um caso de mastite clínica, a vaca é examinada e se obtém uma amostra de leite. Se o caso receber um escore grau 1 ou 2 (mastite branda a moderada) e a vaca não apresentar sinais de doença clínica sistêmica, não se administra tratamento com antibiótico até que se conheçam os resultados do OFC (geralmente 24 horas). O método mais básico de OFC é a determinação infecções causadas por Gram-positivos ou Gram-negativos. Este método pode ser apropriado quando se considera improvável que a mastite seja contagiosa (poucas infecções causadas por *Staph aureus* ou *Mycoplasma spp.*). Neste caso, antibióticos intramamários são usados para o tratamento de infecções por Gram-positivos e não se usam antibióticos quando as infecções são por agentes Gram-negativos. Em algumas granjas, a mastite é causada por um mix diversificado de patógenos e pode exigir diagnóstico de *Streptococcus spp.* (para terapia intramamária prolongada) ou de *Staph aureus* (para tratamento de infecções selecionadas e/ou descarte ou segregação de vacas cronicamente infectadas). Nestes casos, sistemas mais sofisticados podem ser necessários. Os resultados preliminares de um estudo atualmente em andamento indicam que o sistema de cultura na granja parece ser suficientemente preciso (Lago et al., 2006).

3. Seleção do Composto Apropriado: Uma revisão completa da ação dos antibióticos disponíveis para tratamento de mastite está além do escopo deste artigo. A maior parte dos produtos comercializados para tratamento intramamário tem indicação de rótulo para *Streptococcus* e *Staphylococcus*, mas poucos são comprovadamente eficazes contra patógenos Gram-negativos. A capacidade de diferenciar os compostos é limitada, pois existem muito poucos estudos comparativos e os antibióticos existentes no mercado de forma geral atuam contra os principais patógenos causadores de mastite. Os antibióticos usados para o tratamento de mastite têm normalmente um espectro de atividade contra classes específicas de organismos. Por exemplo, os antibióticos - lactâmicos são geralmente ativos contra bactérias Gram-positivas e têm atividade limitada contra bactérias Gram-negativas. Compostos à base de penicilina têm um espectro mais limitado de ação e podem ser ineficazes contra bactérias que produzem penicilinase. O espectro dos compostos do grupo das cefalosporinas foi ampliado com o lançamento de novas classes de produtos. As cefalosporinas de primeira geração (cefalotina, cefazolina, cefapirina, cefalexina, etc.) têm um espectro bastante limitado de atividade direcionado principalmente para organismos Gram-positivos. As cefalosporinas de terceira (ceftiofur, cefaperazone, etc.) e quarta (cefoxitina, etc.) geração têm geralmente melhor ação contra bactérias Gram-negativas. Os macrolídeos (eritromicina, tilmicossina e tilosina) geralmente penetram bem em tecidos inflamados e são geralmente considerados compostos de amplo espectro. As lincosamidas (lincomicina, pirlimicina) penetram seletivamente no úbere, mas como não conseguem penetrar as paredes celulares de Gram-negativos, considera-se de forma geral que tenham eficácia limitada contra estes organismos.

4. Seleção da Via Apropriada: A maior parte dos antibióticos disponíveis para uso sistêmico em vacas de leite não têm a capacidade de atravessar a barreira da glândula mamária a partir da circulação e resultar em concentração eficaz contra os patógenos causadores de mastite. Os compostos ácidos com baixa solubilidade em lipídeos (tais como penicilina, cloxacilina, sulfonamidas, ampicilina e spectinomomicina) tendem a se concentrar no plasma e não nos tecidos. É bastante improvável que a administração sistêmica destes compostos resulte em concentração adequada no úbere para que seja eficaz. O leite mastítico tem pH básico e drogas que sejam bases fracas e lipofílicas (tilosina, lincomicina, eritromicina, trimetoprim, espiramicina) podem atingir concentrações mais elevadas no leite que no plasma. Entretanto, a concentração real da maior parte dos antibióticos no sítio de infecção é desconhecida, pois fatores tais como inflamação, fibrose e diluição no leite podem resultar em concentrações distintas das esperadas. Por exemplo, a penicilina administrada por via sistêmica pode atingir uma concentração mais elevada no úbere inflamado que no úbere saudável e assim ser eficaz mesmo em baixa CIM (Franklin et al., 1986). Entretanto, o custo de usar esta via de administração de penicilina pode ser excepcionalmente alto, devido ao período muito longo e imprevisível de eliminação de resíduos de antibiótico no leite. A farmacocinética dos produtos intramamários existentes no mercado faz com que resultem em altas concentrações da droga no úbere, independentemente de rendimento leiteiro e a administração usando esta via é preferível para os casos de mastite em que não há acometimento sistêmico do animal.

A terapia com antibióticos sistêmicos é recomendada para animais gravemente afetados com mastite por coliformes. Quando as bactérias são destruídas pelo sistema imune da vaca, liberam endotoxinas de sua parede celular. Em 5-15% destes casos, a intensa liberação de endotoxinas resulta em grave acometimento sistêmico das vacas. Em mais de 40% dos animais gravemente doentes, as bactérias podem escapar do úbere e atingir a circulação (Wenz, et al., 2001). Um recente estudo demonstrou que a proporção de vacas que morreram ou foram descartadas foi significativamente menor quando foram tratadas com ceftiofur sistêmico (14%) se comparadas a vacas que receberam apenas terapia de suporte (37%) (Erskine et al., 2002).

5. Administração por Tempo Adequado: O objetivo do tratamento da mastite é geralmente prevenir a doença sistêmica e voltar a comercializar o leite. De maneira geral, a duração do tratamento com antibióticos é a mais curta possível para minimizar os prejuízos financeiros associados ao descarte do leite. A duração apropriada de administração de antibióticos usados para tratar mastite clínica não está bem definida e difere de acordo com o patógeno causador. Muitos antibióticos usados para a terapia de mastite destroem as bactérias de forma tempo-dependente (e não concentração-dependente). Isto significa que a droga vai ser eficaz para eliminar as bactérias contanto que a concentração no local da infecção esteja acima da CIM pelo tempo adequado. A concentração de pico para este tipo de composto não é tão importante. Existem fortes evidências de que a administração prolongada de antibióticos aumenta as taxas de cura para patógenos que têm a capacidade de invadir o tecido secretório da glândula (*Staph aureus* e *Strep uberis*). As taxas de cura para casos clínicos de *Staph aureus* foram de 42% versus 29% para animais que receberam tratamentos sistêmicos de 5 ou 3 dias de penicilina, respectivamente (Pyörälä e Pyörälä 1998). Da mesma forma, as taxas de cura de mastite sub-clínica causada por *Staph aureus* tratada com ceftiofur intramamário foram 0 % (sem tratamento), 7% (2 dias), 17% (5 dias) e 36% (8 dias) (Oliver et al., 2004). Parece que a duração da terapia deveria ser maior para estes tipos de patógenos.

CONCLUSÃO

A seleção de antibióticos para o tratamento de mastite deve ser baseada em diagnóstico do tipo de patógeno que tem a maior probabilidade de estar causando a infecção. Embora algumas granjas utilizem sistemas de cultura em laboratório próprio para ajudar a melhor definir os tratamentos, para muitas outras é impossível e impraticável obter o diagnóstico antes de instituir o tratamento. Entretanto, é extremamente importante obter regularmente dados de cultura para atualização e definição adequada dos protocolos de tratamento. Em casos de mastite clínica branda ou moderada, recomenda-se a administração intramamária de antibióticos comerciais. O sucesso do tratamento da mastite é baseado em seleção adequada de casos que irão responder ao tratamento e não acreditar na administração do “antibiótico ideal.” Animais jovens e saudáveis que estejam sendo acometidos pela primeira vez, um único quarto afetado, devem ser submetidos a agressivo tratamento intramamário de duração adequada usando um composto de espectro apropriado. As taxas de cura de animais com casos de recidivas frequentes de mastite em múltiplos quartos são extremamente baixas. Vacas que apresentem casos graves de mastite com suspeita de envolvimento de coliformes devem receber terapia sistêmica apropriada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Cattell M. B., R. P. Dinsmore, A. P. Belschner, J. Carmen and G. Goodell. 2001. Environmental gram-positive mastitis treatment: in vitro sensitivity and bacteriologic cure. *J Dairy Sci* 84: 2036-2043.
- Chamings, R. J. 1984. The effect of not treating mild cases of clinical mastitis in a dairy herd. *Vet Rec* 115: 499-500.
- Constable P. D. and D. E. Morin. 2002. Use of antimicrobial susceptibility testing of bacterial pathogens isolated from the milk of dairy cows with clinical mastitis to predict response to treatment with cephalixin and oxytetracycline. *J Am Vet Med Assoc* 221: 103-108.
- Constable P. D. and D. E. Morin. 2003. Treatment of clinical mastitis using antimicrobial susceptibility profiles for treatment decisions. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 19: 139-155.
- Deluyker, H. A., S. T. Chester and S.N. van Oye. 1999. A multilocation clinical trial in lactating dairy cows affected with clinical mastitis to compare the efficacy of treatment with intramammary infusions of a lincosin/neomycin combination with an ampicillin/cloxacillin combination. *J Vet Pharm Therapeutics*. 22:274-282.
- Erskine, R. J., P. C. Bartlett, J. L. VanLente and C. R. Phipps. 2002. Efficacy of systemic ceftiofur as a therapy for severe clinical mastitis in dairy cattle. *J Dairy Sci* 85:2571-2575.
- Erskine, R. J., S. A. Wagner, and F.J. DeGraves. 2003. Mastitis therapy and pharmacology. in *Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*. 19(1):109-138.
- Franklin A.H., A. F. Eorn, M. Rantizlen et al., 1986. Concentration of penicillin, streptomycin and spiramycin in bovine udder tissue. *Am. J. Vet Res.* 47:804-807.
- Hillerton, J. E. and K. E. Kliem. 2002. Effective treatment of *Streptococcus uberis* clinical mastitis to minimize the use of antibiotics. *J Dairy Sci* 85: 1009-1014.
- Hoe, F.G.H., and P. L. Ruegg. 2005. Relationship between antimicrobial susceptibility of clinical mastitis pathogens and treatment outcomes. *J Am. Vet. Med. Assoc.* 227:1461-1468.
- Lago, A., K. Leslie, R. Dingwell, P. Ruegg, L. Timms., and S. Godden. 2006. Preliminary validation of an on-farm culture system. *Proc. NMC*, pp 290-291.
- Guterbock, W. M., A. L. Van Enennaam, R. J. Anderson, I. A. Gardner, J. S. Cullor, and C. A. Holmberg. 1993. Efficacy of intramammary antibiotic therapy for treatment of clinical mastitis caused by environmental pathogens. *J Dairy Sci* 76: 3437-3444.
- S. P. Oliver, B. E. Gillespie, S. J. Headrick, H. Moorehead, et al. 2004. Efficacy of Extended Ceftiofur Intramammary Therapy for Treatment of Subclinical Mastitis in Lactating Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 87: 2393-2400
- Owens, W. E., C. H. Ray, J. L. Watts and R. J. Yancey. 1997. Comparison of success of antibiotic therapy during lactation and results of antimicrobial susceptibility test for bovine mastitis. *J Dairy Sci.* 80: 313-317.
- Pol, M. and P. L. Ruegg, 2006. Relationship between reported antimicrobial usage and phenotypic antimicrobial susceptibility of mastitis pathogens. In *Proceedings of the 45th Annual Meeting National Mastitis Council*. Jan 22-25, Orlando, FL, pp 304-305.
- Pyörälä, S., L. Kaartinen, H. Käck and V. Rainio. 1994. Efficacy of two therapy regimens for treatment of experimentally induced *Escherichia coli* mastitis in cows. *J Dairy Sci* 77: 453-461.
- Pyörälä, S.H. and E. O. Pyörälä. 1998. Efficacy of parenteral administration of three antimicrobial agents in treatment of clinical mastitis in lactating cows: 487 cases (1989-1995). *J Am Vet Med Assoc.* 212:407-412.

- Pyörälä S. and J. Syväjärvi. 1987. Part II. Effect of mastitis pathogens, initial inflammatory reaction and therapy on the outcome of the disease. *J Vet Med B* 34: 629-639.
- Pyörälä, S., S. Taponen, K. Dredge, B. Henriksson, A. M. Pyyhtiä, L. Suojala, R. Junni and K. Heinonen. 2001. Efficacy of intramammary treatment with procaine penicillin G vs procaine penicillin G plus neomycin in bovine clinical mastitis-A double blind field study. Pages 219-223 in *Proc. 2nd International Symposium on Mastitis and Milk Quality*, Vancouver, BC, Canada. Natl. Mastitis Counc., Inc., Madison, WI. Am. Assoc. Bovine Practitioners, Rome, GA.
- Roberson, J. R., L. D. Warnick and G. Moore. 2004. Mild to moderate clinical mastitis: efficacy of intramammary amoxicillin, frequent milk-out, a combined intramammary amoxicillin, and frequent milk-out treatment versus no treatment. *J Dairy Sci* 87:583-592.
- Rodrigues, A.C.O., D. Z. Caraviello, and P. L. Ruegg. 2005. Management of Wisconsin Dairy herds enrolled in Milk Quality Teams. *J. Dairy Sci.* 88:2660-2651.
- Ruegg, P.L., 2004. Estratégias de tratamentos da mastite clínica in proceedings VIII Curso Novos Enfoques Na Produção e reprodução de bovinos. Uberlândia, March 18-21.
- Shpigel N. Y., M. Winkler, G. Ziv and A. Saran. 1998. Relationship between in vitro sensitivity of coliform pathogens in the udder and the outcome of treatment for clinical mastitis. *Vet Rec* 142: 135-137.
- Sol, J., O. C. Sampimon and J. J. Snoep and Y. H. Schukken. 1997. Factors associated with bacteriological cure during lactation after therapy for subclinical mastitis caused by *Staphylococcus aureus*. *J Dairy Sci* 80:2803-2808.
- Wenz, J. R., G. M. Barrington, F. B., Garry, et al., 2001. Bacteremia associated with naturally occurring acute coliform mastitis in dairy cows. *J Am Vet Med Assoc* 219:976-981.

MASTITE POR MYCOPLASMA: UM NOVO PARADIGMA

L. K. Fox

College of Veterinary Medicine

Washington State University, Pullman, WA

INTRODUÇÃO

Embora tenham sido publicados relatos anteriores sobre mastite por mycoplasma, o grupo de pesquisadores da Califórnia em Davis conduziu muitos dos trabalhos pioneiros sobre a questão (Bennett e Jasper, 1977; Bennett e Jasper, 1978; Boothby et al., 1986; Boothby et al., 1982; Boothby et al., 1988; Dellinger e Jasper, 1972; Dellinger et al., 1977; Jain et al., 1967; Jain et al., 1969; Jasper, 1981; Jasper, 1982; Jasper et al., 1974; Jasper et al., 1979; Jasper et al., 1966; Kirk et al., 1997; Thomas et al., 1981). Estes estudos identificaram a natureza do problema, da prevalência à epidemiologia e resposta do hospedeiro. Os dois principais fatores primários de risco para a mastite bovina, como definido por Jasper (1981), são a introdução de animais doentes no rebanho em lactação e problemas com procedimentos durante a ordenha, principalmente higiene inadequada. Assim, existia o dogma de que a mastite por mycoplasma era uma condição contagiosa e que sua transmissão era muito semelhante em natureza à dos outros dois principais patógenos causadores de mastite, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae*. Jasper (1981), entretanto, reconhece em sua revisão os potenciais fatores de risco para a mastite por mycoplasma, além do contato de vacas doentes com animais suscetíveis. Já em 1985, havia sido observado que a transmissão da mastite por mycoplasma poderia nem sempre seguir as vias sugeridas pelo grupo de pesquisadores da Califórnia (Pfutzner e Schimmel, 1985). Novos dados sugerem que muitos novos casos desta doença são de origem e evolução diferentes do que se acreditava anteriormente (Fox et al., 2003). O consenso geral é que a mastite por mycoplasma é uma condição contagiosa que pode ser controlada através de rígidas medidas de higiene durante a ordenha, que incluem assepsia dos tetos após a ordenha e identificação e descarte de animais infectados (Gonzalez e Wilson, 2003). Embora esta estratégia de controle tenha sido confirmada como eficaz em relatos de caso (Byrne et al., 1998; Mackie et al., 2000; Brown et al., 1990; Rhoda, 2000), atuais observações da epidemiologia das doenças por mycoplasma em vacas leiteiras sugerem que tal estratégia de higiene, associada à identificação e descarte de animais infectados pode não evitar a emergência de novos casos de mastite por mycoplasma e possíveis surtos da doença. Esta revisão descreve as características do agente, a prevalência da doença, evidências de que a epidemiologia da doença difere do atual dogma e estratégias de controle. Trabalhos complementares sobre diagnóstico e como lidar com surtos de mastite por mycoplasma em uma granja leiteira serão citados a seguir.

MYCOPLASMA COMO AGENTE CAUSADOR DE MASTITE

Mycoplasma sp. parecem ser organismos simples. Não têm a capacidade de produzir uma parede celular, possuem menos código genético que a maior parte das bactérias e podem sobreviver na condição de saprófitas de vida livre ou como parasitas de plantas e animais (Gonzalez e Wilson, 2003; Fox e Gay, 1993). Além disso, por necessitar de condições especiais para seu cultivo, associadas à sua lenta replicação e difícil identificação, em muitos laboratórios, mastites por mycoplasma acabam sendo sub-diagnosticadas.

O tratamento do mycoplasma é geralmente decepcionante. Pela própria natureza deste organismo que não possui parede celular, os antibióticos beta lactâmicos não afetam o crescimento do mycoplasma.

Jasper (1981) revisou uma série de estudos que testaram a sensibilidade do mycoplasma a antibióticos aminoglicosídeos e macrolídeos e indica que alguns ensaios demonstraram sucesso na terapia. Entretanto, Bushnell (1984) relata sua experiência em granjas leiteiras comerciais e sugere que a terapia não constitui uma estratégia economicamente viável para controlar a doença e somente adia o momento em que a vaca infectada será descartada.

As espécies de mycoplasma mais comumente associadas com a mastite por mycoplasma são: *M. alkalescens*, *M. bovis*, *M. bovis genitalium*, *M. californicum*, e *M. canadense*. A maior parte dos relatos indica que o *M. bovis* é o patógeno mais comum causador da mastite e pode ser responsável por 50-86% de todos os casos de mastite por mycoplasma (Kirk et al., 1997; Jasper et al., 1979; e Anônimo, 2003a).

PREVALÊNCIA DA MASTITE POR MYCOPLASMA

Dado o grau de dificuldade de isolamento deste patógeno, a mastite por mycoplasma no rebanho é geralmente monitorada através de culturas do tanque de expansão. A hipótese é de que a detecção de mycoplasma no leite do tanque de expansão indica que há pelo menos uma vaca no rebanho com mastite por mycoplasma. Embora não se possa descartar a contaminação ambiental (Boughton, 1979), acredita-se que *Mycoplasma sp.* que causa infecções intramamárias é originário de um hospedeiro vivo. Assim, as estimativas de prevalência no rebanho através de culturas de *Mycoplasma sp.* a partir do leite do tanque de expansão sugerem que entre 1%-8% de todos os rebanhos têm pelo menos uma vaca com mastite por mycoplasma (Kirk et al., 1997; Kunkel, 1985; Jasper et al., 1979; Anônimo, 2003a; Fox et al., 2003). Deve-se salientar que estas estimativas de prevalência se referem somente aos EUA. Bramley e Dodd (1984) observaram: “Problemas com mastite por mycoplasma parecem ser mais comuns nos EUA, especialmente na Califórnia, embora isto reflita em parte o grau de entusiasmo na busca do agente causal.” Apesar desta afirmação (Bramley e Dodd, 1984), a mastite por mycoplasma já foi identificada como um problema que afeta a indústria leiteira em todo o mundo. Problemas com mycoplasma foram relatados por inúmeros investigadores fora dos EUA (Ghadersohi et al., 1999; Feenstra et al., 1986; Pfutzner e Sachse, 1996; Boughton, 1979; Jackson e Boughton, 1991; Brice et al., 2000; Mackie et al., 2000; Pfutzer e Schimmel, 1985; Jurmanova et al., 1983).

INTRODUÇÃO DA MASTITE POR MYCOPLASMA NO REBANHO LEITEIRO

Problemas de mastite contagiosa no rebanho são geralmente caracterizados por incidência de média a baixa de mastite clínica, mas com aumento progressivo das contagens de células somáticas (Bramley, 1992). Por outro lado, problemas de mastite ambiental podem ser associados a rebanhos com baixas contagens de células somáticas no leite, mas com episódios de mastite clínica (Bramley, 1992). A mastite por mycoplasma foi caracterizada como uma mastite contagiosa, mas a instalação deste complexo em um rebanho parece seguir o padrão ambiental de um problema episódico. Bushnell (1994) indica que uma pergunta freqüente a respeito de um surto de mastite é: “Como é que essa doença apareceu?” Bushnell (1994) postula que o mycoplasma está freqüentemente presente na população de vacas leiteiras e invade a glândula mamária e causa mastite quando a oportunidade se apresenta. Bushnell (1994) e outros (Jasper, 1981; Gonzalez e Wilson, 2003) sugerem que a transmissão geralmente ocorre a partir da introdução de animais de reposição na granja leiteira. Na verdade, trabalhos sugerem que grandes rebanhos que apresentam grande taxa de reposição de vacas e que estão em expansão apresentam maior risco de mastite por mycoplasma (Thomas et al., 1981; Fox et al., 2003). Assim, pode-se supor que a introdução de novos animais no rebanho leiteiro, sejam novilhas de reposição ou vacas em lactação, poderá introduzir mycoplasma no rebanho, que pode resultar em surtos de mastite. A transmissão ocorreria tipicamente de úbere para úbere. Existem também

evidências que suportam a hipótese de uma transferência interna de mycoplasma de órgãos extra-mamários para a glândula mamária. Tanto Bennet e Jasper (1978) quanto Jain e colaboradores (1969) observaram que após inoculação intramamária experimental de mycoplasma e estabelecimento de infecções, o mycoplasma foi posteriormente isolado da circulação sanguínea e de órgãos internos. Isto claramente sugere a disseminação hematogênica a partir da glândula mamária para outros órgãos. Além disso, em ambos os estudos, embora a inoculação tivesse envolvido apenas um quarto mamário, vários quartos tornaram-se infectados. Bennet et al. (1978) tomaram medidas especiais para evitar que a contaminação dos demais quartos ocorresse através da unidade de ordenha e mesmo assim vários quartos foram infectados em ambos os estudos (Bennet e Jasper, 1978; Jain et al., 1969). Estes dados sugerem a ocorrência de disseminação hematogênica ou linfática de um quarto para o outro. Além disso, Biddle e colaboradores (2005) conduziram um estudo e coletaram isolados de mycoplasma de vários pontos do organismo de vacas de granjas leiteiras comerciais com infecções ativas de mastite por mycoplasma. As amostras foram coletadas antes e depois do abate. Mais de 90% dos isolados de mycoplasma de locais extra-mamários apresentavam o mesmo padrão molecular dos isolados de mastite. Gonzalez e colaboradores (1993) relatam que isolados de *Mycoplasma sp.* foram associados a surtos de pneumonia e artrite. Além disso, o subtipo do mycoplasma de origem mamária e extra-mamária era o mesmo, sugerindo uma forte correlação. Estes dados também sugerem uma transmissão interna por via hematogênica ou linfática. Esta hipótese contraria o relato de Feenstra et al. (1991). Estes investigadores observaram que o padrão molecular de mycoplasmas isolados de casos de mastite não eram os mesmos que de coletados de amostras nasais e vaginais.

O sistema respiratório de bezerros é frequentemente colonizado por *Mycoplasma sp.* Woldehiwet et al. (1990) observaram que 92% dos bezerros amostrados apresentavam colonização das narinas por *Mycoplasma sp.* Além disso, observaram também que a colonização era em função da idade e não relacionada a variações em temperatura e umidade. Woldehiwet et al. (1990) concluíram que alguns *Mycoplasma sp.* eram comensais, enquanto outros apresentavam, potencial de se tornarem patogênicos, mas não ficou claro quais os fatores que podem induzir a doença. Pfuntzer e Sachse (1996) indicaram que a mastite por mycoplasma em vacas em lactação poderia estar associada a surtos de doença respiratória em bezerros e/ou artrite causada por *Mycoplasma sp.*

Outras evidências, que suportam a hipótese de que surtos de mastite por mycoplasma podem ser originados a partir de portadores assintomáticos e não a partir da transmissão de animais recém-introduzidos com disseminação durante a ordenha, podem ser encontradas em relatos de surtos durante o período seco. Jackson e Boughton (1991) relatam um surto de *M. bovis genitalium* em 16 de 99 vacas que teve origem em 13 vacas secas e uma recém-parida. Neste caso, a transmissão de vaca a vaca durante o período seco teria sido muito improvável. Assim, uma explicação plausível seria a presença de condições que favoreceram a evolução da doença de um estado assintomático para um quadro clínico da doença. Por outro lado, poder-se-ia pensar que tenha havido rápida transmissão durante a fase de parição, quando as vacas paridas tiveram contato com vacas doentes. Observações semelhantes quanto à provável fonte de origem de surto de mastite por mycoplasma já haviam sido relatadas pelos mesmos pesquisadores em ocasião anterior, porém em um rebanho fechado (Jackson et al., 1981). Mackie e colaboradores (2000) também relatam um surto de mastite por mycoplasma em vacas recém-paridas. Eles indicam que este foi um caso de infecção mista de *M. californicum* e *M. canadense* e suspeitam que a doença tenha tido origem no trato urogenital, uma vez que as culturas de swabs vaginais foram positivas para ambos os patógenos. Os autores também observam que este surto foi semelhante a outro anteriormente relatado pelo mesmo grupo de pesquisadores (Mackie et al., 1986).

A progressão de um estado de portador assintomático para um caso de mastite pode ser a origem predominante dos casos de mastite por mycoplasma atualmente observados no noroeste dos EUA (Fox et al., 2003). Dados de mais de 70% de 93 rebanhos, com resultados positivos para *Mycoplasma sp* nos

testes do tanque de expansão, indicam que estes mesmos rebanhos conseguiram negativar as contagens de mycoplasma em apenas um mês depois do teste positivo. Isto sugere que a doença não se disseminou e que as vacas infectadas foram efetivamente removidas do rebanho em lactação. Uma explicação lógica para a tendência descrita por Fox et al. (2003) é que a doença estava confinada a apenas algumas poucas vacas, talvez portadoras assintomáticas, como descreveram Pfutzner e Schimmel (1985). Estas vacas infectadas foram identificadas e removidas do rebanho. Além disso, neste mesmo estudo, (Fox et al., 2003), a alternância de um patógeno causador de mastite para outro, *S. aureus* e *S. agalactiae*, não foi correlacionada a alterações nas contagens de mycoplasma. Este dado sugere que os surtos de mastite por mycoplasma descritos neste estudo não apresentaram forte correlação com perda de controle da mastite contagiosa.

CONTROLE DA MASTITE POR MYCOPLASMA

Sejam os surtos de mastite por mycoplasma originados a partir da introdução de vacas ou novilhas ou a partir de animais previamente infectados ou colonizados que desenvolvem ou transmitem o mycoplasma causador da mastite, os esquemas de controle descritos são os mesmos. O principal ponto comum das estratégias de controle da mastite por mycoplasma é a identificação dos animais infectados e seu isolamento através de segregação em áreas que minimizem a exposição de vacas não infectadas. Brown e colaboradores (1990) indicam que um surto de mastite por mycoplasma pode ser controlado através de um trabalho intensivo de identificação de vaca infectadas, descarte das improdutivas e então segregação e ordenha das demais vacas positivas por último. Este esquema foi aplicado em um rebanho que praticava somente a assepsia pós-ordenha dos tetos como rotina de higiene. Bicknell e colaboradores (1983) relataram que o esforço intensivo de identificação de vacas positivas para mastite por mycoplasma, com segregação e descarte foi suficiente para controlar esta doença. Bicknell et al. (1983) não descrevem nenhuma medida especial de higiene de ordenha, além da recomendação aos funcionários quanto à adoção de boas práticas de higiene. Dados de um estudo conduzido durante 8 anos em dois rebanhos sugerem que o nicho dos surtos de mastite foi a introdução de novilhas portadoras de mycoplasma (Bayoumi et al., 1988). Mas dados deste mesmo estudo também sugerem que o manejo da sala de ordenha não foi eficaz para deter a disseminação da mastite por mycoplasma. Em primeiro lugar, os surtos de mastite por mycoplasma foram associados a surtos de outros patógenos contagiosos, indicando higiene inadequada de ordenha. Em segundo lugar, o rebanho adotava um rígido programa de identificação de mastite por mycoplasma e descarte imediato das vacas. Desta forma, poder-se-ia pensar que a mastite por mycoplasma estava se disseminando mais rápido nestes rebanhos que o controle através da remoção de animais infectados. Este estudo também revelou que novos casos de mastite por mycoplasma foram observados na baia-hospital. Como se praticava o descarte imediato de vacas com mastite por mycoplasma, estas vacas mantidas na baia-hospital foram provavelmente infectadas por via extra-mamária pelo mycoplasma, ou a doença foi transmitida através de fômites durante o período em que ainda estavam alojadas conjuntamente. Isto sugere que uma fonte significativa de novos casos de mastite por mycoplasma poderiam ser vacas que apresentavam casos clínicos de outras doenças por mycoplasma que não a mastite ou que estas vacas eram portadoras assintomáticas de mycoplasma.

Assim, o consenso quanto às medidas de controle de mastite por mycoplasma se concentra na aplicação de rígidas práticas de higiene de ordenha que incluem: desinfecção do úbere antes da ordenha, uso de luvas de superfície lisa e limpeza das mãos do ordenhador entre a ordenha de cada vaca, uso de assepsia pós-ordenha dos tetos e retrolavagem da ordenhadeira entre vacas (Kirk e Luerman, 1994; Rhoda 2000; Jasper, 1981, Gonzalez e Wilson, 2003; Pfutzner e Sachse 1996). Uma vez que um surto de mastite por mycoplasma tenha sido identificado, os pesquisadores concordam que a associação das medidas de higiene com identificação e segregação ou descarte de animais infectados é a estratégia mais eficaz de controle para esta doença (Byrne et al., 1998; Mackie et al., 2000; Brown et al., 1990; Rhoda, 2000). Uma exceção ao

consenso foi publicada por Jackson e Boughton (1991), que relataram que a segregação e descarte não eram necessariamente obrigatórios para que a doença fosse controlada. A maior parte dos surtos de mycoplasma pode ser restrito a um período de curta duração. Em um levantamento de 4 rebanhos, a duração foi inferior a 2 meses (Ruhnke et al., 1976), semelhante ao relatado por Fox et al., 2003. Entretanto, foi relatado um surto de duração muito mais longa (Bayoumi et al., 1988).

VACINAÇÃO

Rosengarten et al. (1994) estudaram a antigenicidade das cepas de *Mycoplasma sp.* de isolados obtidos de casos clínicos de mastite, artrite e pneumonias bovinas. Observaram uma ampla variação em tipos de antígenos expressos pelas cepas. A partir de seu trabalho, concluíram que certamente seria difícil desenvolver uma vacina para a mastite por mycoplasma que fosse capaz de proteger contra a ampla variedade de imunógenos de *Mycoplasma sp.* Boothby et al. (1986) estudaram o efeito da vacinação com vacina produzida a partir de uma única cepa de *M. bovis* e indicam que a vacinação por via sistêmica e intramamária produziu uma forte reação de hipersensibilidade tanto imediata quanto tardia, evidenciada pelo teste cutâneo. Entretanto, estes pesquisadores relatam que a vacinação não protegeu contra as infecções por mycoplasma causador de mastite. As vacas vacinadas desafiadas com a mesma cepa de *Mycoplasma sp.* usada na vacina desenvolveram infecções intramamárias da mesma forma que as vacas controle, não vacinadas. Além disso, os quartos mamários não desafiados com *Mycoplasma sp.* também desenvolveram infecções. Embora a secreção de leite dos quartos mamários de vacas vacinadas e desafiadas parecesse normal, a produção foi significativamente reduzida e a reação CMT mais intensa em comparação aos quartos desafiados de vacas controle. Entretanto, os quartos desafiados de vacas vacinadas apresentaram resolução das infecções, ou as infecções estiveram latentes, enquanto a maioria dos quartos controle correspondentes mantiveram-se infectados. Um estudo subsequente conduzido pelo mesmo grupo de pesquisa (Boothby et al., 1988) manteve o foco sobre a resposta de anticorpos à vacinação. Estes autores relatam que a vacinação desencadeou uma resposta específica de IgG, mas a resposta de IgA local foi desencadeada somente por infecções intramamárias. Talvez esta observação explique por que os quartos desafiados de vacas vacinadas responderam de maneira diferente à infecção que os quartos desafiados de vacas controle (Boothby et al., 1986). Os resultados destes 3 estudos indicam que existem dificuldades significativas associadas ao desenvolvimento de uma vacina contra a mastite por mycoplasma.

A vacina mais amplamente utilizada por produtores leiteiros para o controle da mastite é a vacina contra *E. coli* (R-mutante). O levantamento do Sistema Nacional de Monitoramento de Saúde Animal indica que 57,1% de todas as vacas recebem esta vacina, que é eficaz para reduzir os sinais clínicos da mastite por coliformes, mas não altera a taxa de IIM (Tyler, 1993). Os autores deste manuscrito sabem que existe uma nova bacterina de *M. bovis* produzida pela Bioimune Co. (Lenexa, KS, EUA) disponível no mercado. Relatos indicam que esta vacina reduz o número de casos de mastite clínica por mycoplasma. Entretanto, como a vacina para coliformes, não afeta a taxa de IIM. A mastite por coliformes é uma doença não contagiosa e não é transmitida de vaca para vaca, mantendo-se limitada ao animal individual e às condições que levaram ao surto. A mastite por mycoplasma é de natureza contagiosa e pode ser transmitida de vaca para vaca. Dadas as dificuldades de detecção deste patógeno, talvez seja benéfico que a mastite por mycoplasma se manifeste em forma clínica. Geralmente se recomenda que as vacas com mastite clínica sejam testadas primeiro para identificar as com mastite por mycoplasma. Desta forma, uma vacina que reduza os sinais clínicos desta doença poderia dificultar ainda mais sua identificação. Gonzalez e Wilson (2003) indicam que alguns relatos de veterinários associados da Associação Americana de Clínicos de Bovinos sugerem que o sucesso com a vacina contra mycoplasma mencionada acima têm sido bastante variáveis. Observações de campo de estudos de Kirk (2004, dados não publicados) indicam que o uso da vacina pode não ser uma maneira eficaz de controlar a mastite por mycoplasma. Gonzalez e Wilson (2003) indicam que desconhecem que tenha havido publicações relatando a eficácia desta nova vacina contra mastite por mycoplasma.

CONCLUSÕES

Tradicionalmente, a mastite por mycoplasma tem sido considerada uma doença contagiosa, transmitida de maneira semelhante à de outros patógenos causadores de mastite contagiosa (*S. aureus* e *S. agalactiae*). Acredita-se que tal transmissão ocorre frequentemente por ocasião da ordenha e que a introdução da mastite por mycoplasma pode resultar da entrada de animais infectados de fora do rebanho. Esta revisão discutiu o paradigma da epidemiologia da mastite por mycoplasma, pois foram revistos estudos que indicam que a transmissão do mycoplasma pode ocorrer internamente. A partir de um nicho extra-mamário de colonização, o mycoplasma pode ser transmitido à glândula mamária e vice-versa. Dados recentes indicam que talvez este modo de transmissão esteja se tornando mais comum, ou seja, de portadoras assintomáticas revertendo para casos de mastite clínica. Novos métodos de prevenção precisam ser desenvolvidos para enfrentar este modo de transmissão. As práticas estabelecidas de controle da mastite contagiosa envolvem rígida higiene de ordenha que inclui assepsia pós-ordenha dos tetos e identificação dos animais afetados, seu isolamento por separação e descarte, têm tido bons índices de sucesso e representam o método indicado para o controle de surtos de mastite por mycoplasma. A falha deste sistema é que, embora controle os surtos uma vez que tenham ocorrido, não é muito eficaz para evitar que novos surtos ocorram.

Os métodos de controle da mastite contagiosa são eficazes para o controle de surtos de mastite por mycoplasma. Entretanto, novos métodos de controle talvez sejam necessários, métodos que sejam capazes de evitar os surtos. Os dados atuais sugerem que um número significativo de novos surtos pode ocorrer via transmissão interna ou de animal para animal, a partir de portadoras assintomáticas dos patógenos causadores da mastite por mycoplasma.

REFÊRENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anonymous, 2003a. Mycoplasma in bulk tank milk in U.S. dairies. Animal and Plant Health and Inspection Service, USDA, Info Sheet # 395.053, Fort Collins, CO.
- Anonymous, 2003b. Highlights of NAHMS Dairy 2002. Animal and Plant Health and Inspection Service, USDA, Info Sheet # N418.1203., Fort Collins, CO.
- Bayoumi, F. A., T. B. Farver, B. Bushnell, and M. Oliveria, 1988: Enzootic mycoplasmal mastitis in a large dairy during an eight-year period. JAVMA. 192, 905.
- Bennett, R. H., and D. E. Jasper, 1977: Nasal Prevalence of Mycoplasma bovis and IHA Titers in Young Dairy Animals. Cornell Vet.. 67, 361.
- Bennett, R. H., and D. E. Jasper, 1978: Immunologic and Pathologic Responses of Cows to Naturally Occurring Mycoplasma bovis Mastitis. Vet. Micro. 2, 325.
- Bicknell, S. R., G. Jackson, E. Boughton, C. D. Wilson, 1978: Mycoplasma bovis mastitis in the dry cow. Vet. Rec. 102, 389.
- Biddle, M. K., L. K. Fox, and D. D. Hancock, 2003: Patterns of mycoplasma shedding in the milk of dairy cows with intramammary mycoplasma infection. JAVMA 223, 1163.
- Biddle, M. K., L. K. Fox, D. D. Hancock, C. T. Gaskins, and M. A. Evans, 2004: Effects of storage time and thawing methods on the recovery of mycoplasma species in milk samples from cows with intramammary infections. J. Dairy Sci. 87, 933.
- Biddle, M. K., L. K. Fox, M. A. Evans, and C. C. Gay. 2005. Pulsed-field gel electrophoresis patterns of Mycoplasma isolates from various body sites in dairy cattle with Mycoplasma mastitis. JAVMA 227:445.
- Bochlich, H., H. Pfutzner, J. Martin, G. Templin, and S. Kreusel, 1986: Mycoplasma bovis abortion in cows after experimental infection. Arch. Expl. Vet. Med. 8, 48.
- Boothby, J. T., D. E. Jasper, and C. B. Thomas, 1986: Experimental Intramammary Inoculation with Mycoplasma bovis in Vaccinated and Unvaccinated Cows: Effect on Milk Production and Milk Quality. Can. J. of Vet. Res. 50, 200.
- Boothby, J. T., D. E. Jasper, J. G. Zinkl, C. B. Thomas, and J. D. Dellinger, 1982: Prevalence of mycoplasmas and immune responses to Mycoplasma bovis in feedlot calves. Am. J. of Vet. Res.. 44(5), 831.
- Boughton, E., 1979: Mycoplasma bovis Mastitis. The Vet. Bulletin. 49(6), 377.
- Bramley, A. J., and Dodd, F. H., 1984: Reviews of the progress of Dairy Science: Mastitis control- Progress and Prospects. J. Dairy Res. 51, 481.
- Bramley, J., 1992: Identifying mastitis problems and strategies for control. Proc. of the 31st National Mastitis Council, Inc., Arlington, Va. pp. 5.
- Brice, N., D. Finlay, D. G. Bryson, J. Henderson, W. McConnell, and H. J. Ball, 2000: Isolation of Mycoplasma bovis from cattle in Northern Ireland, 1993 to 1998. Vet. Rec. 146, 643.
- Brown, M. B., J. K. Shearer, and F. Elvinger, 1990: Mycoplasmal mastitis in a dairy herd. JAVMA 196, 1097.
- Bushnell, R. B., 1994. Mycoplasma Mastitis. Vet. Clin. N. America, Food Animal Practice. 6, 301.
- Byrne, W. J., H. J. Ball, R. McCormack, and N. Brice, 1998. Elimination of Mycoplasma bovis mastitis from an Irish dairy herd. Vet. Rec.. 142, 516.

- Dellinger, J. D., and D. E. Jasper, 1972: Polyacrylamide-Gel Electrophoresis of Cell Proteins of *Mycoplasma* Isolated from Cattle and Horses. *Am. J. Vet. Res.* 33(4), 769.
- Dellinger, J. D., D. E. Jasper, and M. Ilic, 1977: Characterization Studies on *Mycoplasmas* Isolated from Bovine Mastitis and the Bovine Respiratory Tract. *Cornell Vet.* 67, 351.
- Feenstra, A., E. B. Madsen, N. F. Friis, A. Meyling, and P. Ahrens, 1991: A Field Study of *Mycoplasma bovis* Infection in Cattle. *J. of Vet. Med. B.* 38, 195.
- Fox, L. K., and J. M. Gay, 1993: Contagious Mastitis in Update on Bovine Mastitis, *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice.* 9, 475.
- Fox, L. K., D. D. Hancock, A. Mickelson, and A. Britten, 2003: Bulk tank milk analysis: Factors associated with appearance of *mycoplasma* sp. in milk. *J. Vet. Med. B* 50, 235.
- Fox, L. K., 2004: *Mycoplasma mastitis*. *Proc. of the 22nd Annual ACVIM Forum, Minneapolis, MN.* pp. 250.
- Fox, L.K., and D. S. Adams, 2000: The ability of the enzyme linked immunosorbent assay to detect antibody against *Staphylococcus aureus* in milk following experimental intramammary infection. *J. Vet. Med. B.* 47, 517.
- Gonzalez, R.N. and D. J. Wilson, 2003: *Mycoplasma mastitis* in dairy herds. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice.* 19, 199.
- Gonzalez, R. N., B. M. Jayaro, S. P. Oliver, and P. M. Sears, 1993: Pneumonia, arthritis, and mastitis in dairy cows due to *Mycoplasma bovis*. *Proceeding of The National Mastitis Council, Arlington, VA.* pp. 178.
- Gonzalez, R. N., P. M. Sears, R. A. Merrill, and G. L. Hayes, 1992: Mastitis Due to *Mycoplasma* in the State of New York During the Period 1972-1990. *Cornell Vet.* 82, 29.
- Holt, J. G., N. R. Krieg, Peter H.A. Sneath, J. T. Staley, and S. T. Williams, 1994: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology.* Williams & Wilkins; 9th edition, pp. 705-714.
- Hotzel, H., K. Saschse, and H. Pfutzner, 1996: Rapid detection of *Mycoplasma bovis* in milk samples and nasal swabs using the polymerase chain reaction. *J. Appl. Bact.* 80, 505.
- Jackson, G., E. Boughton, and S. G. Hamer, 1991: An outbreak of bovine mastitis associated with *Mycoplasma canadense*. *Vet. Rec.* 108, 31.
- Jackson, G., and E. Boughton, 1991. A milk outbreak of bovine mastitis associated with *Mycoplasma bovigenitalium*. *Vet. Rec.* 129, 444-446.
- Jain, N. C., D. E. Jasper, and J. D. Dellinger, 1967: Experimental bovine mastitis due to *mycoplasma*. *Cornell Vet.* 59, 10.
- Jain, N. C., D. E. Jasper, and J. D. Dellinger, 1969. Serologic response of cows to *mycoplasma* under experimental and field conditions. *Am. J. Vet. Res.* 30, 733.
- Jasper, D. E., 1981: Bovine *Mycoplasma* Mastitis. *Advances in Veterinary Sciences and Comparative Medicine* 25, 121.
- Jasper, D. E., 1982: The role of *Mycoplasma* in bovine mastitis. *JAVMA.* 181, 158.
- Jasper, D. E., J. M. Al-Aubaidi, and J. Fabricant, 1974: Epidemiologic Observations on *Mycoplasma* Mastitis. *Cornell Vet.* 64, 407.
- Jasper, D. E., J. D. Dellinger, M. H. Rollins, and H. D. Hakanson, 1979: Prevalence of *Mycoplasma* Bovine Mastitis in California. *Am. J. Vet. Res.* 40, 1043
- Jasper, D. E., N. C. Jain, and L. H. Brazil, 1966: Clinical and laboratory observations on bovine mastitis due to *Mycoplasma*. *JAVMA.* 148, 1017.

- Jurmanova, K., and M. Hajkova, 1983: Further evidence of the involvement of *Mycoplasma californicum* in bovine mastitis in Europe. *Vet. Rec.* 112, 608.
- Kirk, J. H., K. Glenn, L. Ruiz, and E. Smith, 1997: Epidemiologic analysis of *Mycoplasma* spp isolated from bulk-tank milk samples obtained from dairy herds that were members of milk cooperative. *JAVMA* 211, 1036.
- Kirk, J. H., and L. H. Lauerman, 1994: *Mycoplasma* mastitis in dairy cows. *The Compendium*. 16:541.
- Kunkel, J. R., 1985: Isolation of *Mycoplasma bovis* from bulk milk. *Cornell Veterinarian*. 75, 398.
- Le Grand, D., D. Calavas, M. Brank, C. Citti, R. Rosengarten, P. Bezille, and F. Poumarat, 2002: Serological prevalence of *Mycoplasma bovis* infection in suckling beef cattle in France. *Vet. Rec.* 150, 268.
- Mackie, D. P., H. J. Ball, and E. F. Logan, 1986: *Mycoplasma californicum* mastitis in the dry dairy cow. *Vet. Res.* 19, 350.
- Mackie, D. P., D. Finlay, N. Brice, and H. J. Ball, 2000: Mixed mycoplasma mastitis outbreak in a dairy herd. *Vet. Rec.* 147, 335.
- Pfutzner, H., and K. Sachse, 1996: *Mycoplasma bovis* as an agent of mastitis, pneumonia, arthritis and genital disorders in cattle. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 15, 1477.
- Pfutzner, H. B., and Schimmel, 1985: Demonstration of *Mycoplasma bovis* in descendants of cows affected with *M. bovis* mastitis and its epidemiological significance. *Zbl. Vet. Med. B.* 32, 265.
- Pinnow, C. C., J. A. Butler, K. Sachse, H. Horzel, L. L. Timms, and R. Frosenbusch, 2001. Detection of *Mycoplasma bovis* in preservative-treated field milk samples. *J. Dairy Sci.* 84, 1640.
- Rhoda, D. A., 2000. How we tackled a *Mycoplasma* problem. *Hoard's Dairyman* 766.
- Ruhnke, H. L., D. Thawley, and F. C. Nelson, 1976: Bovine mastitis in Ontario due to *Mycoplasma agalactiae*, subsp. *Bovis*. *Can J. Comp. Med.* 40, 142.
- Thomas, C. B., P. Willeberg, and D. E. Jasper, 1981: Case-control study of bovine Mycoplasmal mastitis in California. *Am. J. Vet. Res.* 42:511.
- Thurmond, M. C., J. W. Tyler, D. M. Luiz, C. A. Holmberg, and J. P. Picanno, 1989: The effect of pre-enrichment on recovery of *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, and mycoplasma from bovine milk. *Epidem. Inf.* 103, 465.
- Woldehiwet, Z., B. Mamache, and T. G. Rowan, 1990: Effects of age, environmental temperature and relative humidity on the colonization of the nose and trachea of calves by *Mycoplasma* Spp. *British Vet. J.* 146, 419.

A NECESSIDADE DE ESTIMULAÇÃO EM VÁRIAS RAÇAS BOVINAS E OUTRAS ESPÉCIES

Debora A. Costa and Douglas J. Reinemann

University of Wisconsin-Madison, Laboratório de Ensino e Pesquisa de Ordenha

RESUMO

Para a maioria das espécies estudadas, a descida do leite ocorre após a ativação de um mecanismo neuroendócrino que resulta na liberação de oxitocina na corrente sanguínea, que causa a contração das células mioepiteliais que circundam os alvéolos, forçando a expulsão do leite. Entretanto, o padrão de ejeção do leite varia marcadamente de uma espécie para outra, o que pode estar relacionado à necessidade ou grau de liberação da oxitocina na ordenha. Outros fatores que podem interferir na fisiologia do reflexo de ejeção do leite entre as espécies são o número de progênie, frequência e duração da amamentação, e a estrutura anatômica da glândula mamária (p. ex., presença de cisternas mamárias). O objetivo deste estudo foi comparar os requisitos de estimulação para a descida do leite de algumas espécies e, em particular, alguns resultados de um estudo realizado no Brasil com vacas mestiças (cruzamento holandês/zebu), onde a presença dos bezerros durante a ordenha não estava associada ao aumento da estimulação da descida do leite.

FISIOLOGIA COMPARATIVA DA RETIRADA DO LEITE

Um mecanismo comum de ejeção do leite através da liberação de oxitocina seguida de contração das células mioepiteliais e retirada do leite alveolar parece aplicar-se à maioria das espécies estudadas. Entretanto, há diferenças de espécies em termos da necessidade ou grau de liberação de oxitocina na ordenha (Akers, 2002). Por exemplo, utilizam-se dois modelos animais para explicar os diferentes padrões do reflexo de ejeção do leite. No modelo de coelhos, o início da mamada pela ninhada induz a liberação de um pulso único de 20 a 50 mμ de oxitocina, e a retirada do leite é concluída em 2 a 5 minutos. No modelo de ratos, pulsos múltiplos de 0,5 a 1,0 mμ são liberados a intervalos de 5 a 15 minutos durante períodos de amamentação de 30 a 60 min. A ejeção do leite da porca é semelhante à do modelo de coelhos, ao passo que o padrão de ejeção do leite de humanos e ruminantes é mais semelhante ao do modelo de ratos (Cross, 1977).

Há grandes diferenças na proporção do leite total armazenado dentro da cisterna entre as espécies ruminantes leiteiras. As vacas leiteiras especializadas armazenam menos de 30 % do volume total de rendimento de leite na cisterna após um intervalo de amamentação normal (Ayadi *et al.*, 2003). Em contraste, o leite da cisterna perfaz até 75 % nas cabras leiteiras (Marnet e McKusick, 2001), e nas ovelhas varia de mais de 50 % para as raças leiteiras (McKusick *et al.*, 2002) para menos de 30 % para as raças de corte (Caja *et al.*, 1999).

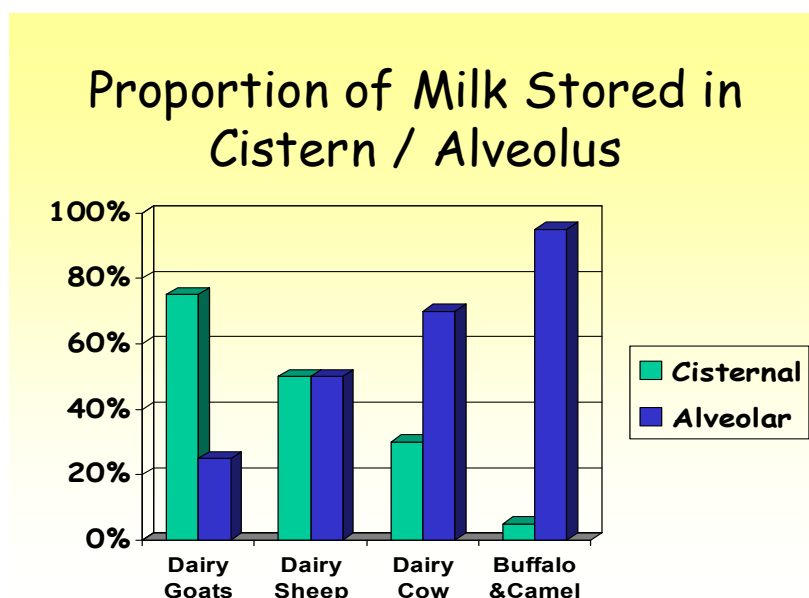
Tem-se discutido que a ejeção do leite pode não ser essencial para a retirada adequada do leite em animais que armazenam a maior parte do leite nas cisternas glandulares (Cross, 1977; e Akers, 2002). Em caprinos, demonstrou-se que a liberação de oxitocina ocorre imediatamente após o início da estimulação, provocando leves mudanças na vazão do leite, que tendia a diminuir ao invés de aumentar, conforme observado em vacas (Bruckmaier *et al.*, 1994). Contudo, Marnet e McKusick (2001) afirmaram que a ejeção do leite mediada pela oxitocina ainda tem importância substancial nos pequenos ruminantes para a extração de leite com teor mais alto de gordura. Embora o compartimento das cisternas armazene a maior parte do leite produzido nos

pequenos ruminantes, os alvéolos retêm a maior parte da gordura do leite secretada, que só pode ser retirada com eficiência quando ocorre a ejeção do leite (McKusick *et al.*, 2002)

As búfalas possuem cisterna do úbere menor, e quase 95% do leite é armazenado no compartimento alveolar. Idealmente, as unidades de ordenha só deveriam ser colocadas após o início das respostas de ejeção do leite, por causa da pequena fração de leite presente na cisterna. Em decorrência disso, a estimulação pré-ordenha é de extrema importância para a resposta ótima de ejeção do leite em búfalas. Diferentemente das vacas, o compartimento da cisterna das búfalas é mais proeminente nos tetos do que na glândula (Thomas *et al.*, 2003). A estimulação das búfalas para descida do leite exige mais tempo do que em comparação com as vacas, em média 2 minutos. Para esse fim, usa-se o bezerro bubalino, na maioria dos casos, quando se faz a ordenha manual. Contudo, não se adota a prática de usar bezerros em alguns rebanhos onde as búfalas são ordenhadas mecanicamente em salas de ordenha (Svennersten-Sjaunja, 2000).

Nos camelos, a presença do bezerro é considerada imperativa para a descida do leite, usando-se também a massagem manual para melhorar a resposta. A descida do leite nessa espécie é facilmente observável após um curto período de mamar (1,5 minuto) quando os tetos subitamente se intumescem, tornando-se muito maiores do que antes. Devido a esse fato, alguns autores supõem que os camelos não têm cisternas mamárias. A ordenha deve ser feita logo após o intumescimento dos tetos, já que a duração da resposta de descida do leite também é muito curta, cerca de 1,5 min (Yagil *et al.*, 1999).

A porca possui de 3 a 10 pares de glândulas mamárias sem cisternas. Um estudo realizado para analisar o reflexo de ejeção do leite constatou que toda a leitegada tinha de estar mamando para ocorrer a resposta de ejeção do leite, que ocorreu entre 2 e 4 min do início do período de massagem inicial dos úberes. Os intervalos de amamentação ocorreram a cada 45 min aproximadamente e duraram somente de 8 a 40 s (Ellendorff e Poulain, 1984).



Um fator que pode influenciar a ativação do mecanismo neuroendócrino de reflexo de ejeção do leite e que varia entre as espécies mamíferas é a capacidade de liberar oxitocina na presença de um estímulo exteroceptivo (evocado pela visão, olfato e/ou som dos filhotes mamando ou do local da ordenha). Em ratas (Voloschin e Tramezzanni, 1979), coelhas (Fuchs *et al.*, 1984) e cobaias (Robinson e Jones, 1982) lactantes, verificou-se que a liberação de oxitocina ocorria em resposta somente à estimulação tátil (tipo “não condicionado” de reflexo de ejeção do leite). Por outro lado, Fuchs *et al.* (1987) mostraram que as ovelhas respondiam com a liberação de oxitocina sob condições de estimulação exteroceptiva. Há algumas indicações de que os estímulos exteroceptivos geralmente se transformam em reflexos “condicionados” de ejeção do leite, principalmente quando se adota uma rotina regular de ordenha (Hamann e Dodd, 1992).

Um fato interessante que não ficou claramente demonstrado é que os estímulos auditivos na forma de chamados dos bezerros causam a liberação de oxitocina e que afetam a taxa de ejeção do leite em vacas holandesas (Pollock e Hurnik, 1978). Analogamente, Mayer *et al.* (1991) não encontraram nenhuma evidência que indicasse que a liberação condicionada de oxitocina fosse desencadeada por estímulos audiovisuais. Contrariamente, Hurley (2002) argumentou que a estimulação tátil do teto não é essencial para a liberação de oxitocina e subsequente ejeção do leite. De acordo com ele, aproximadamente 38 % das vacas liberam oxitocina por sinais condicionados visuais e auditivos, tais como a visão e sons da sala de ordenha.

Fuchs *et al.* (1987) sugeriram que respostas divergentes a diferentes estimulações poderiam ser consequência de diferenças na configuração anatômica da glândula mamária entre mamíferos. Eles propuseram que espécies nas quais o estímulo tátil é o único meio de desencadear a resposta da oxitocina não possuem cisternas mamárias para armazenar o leite, ao passo que as que liberam oxitocina ao ver, ouvir ou cheirar seus filhotes possuem esses compartimentos.

REQUISITOS DE ESTIMULAÇÃO PARA RETIRADA DO LEITE EM VACAS LEITEIRAS

O reflexo de ejeção do leite é um reflexo instintivo que não está sob o controle consciente do animal. Sabe-se que a amamentação e a ordenha manual e mecânica causam estimulação mecânica suficiente para induzir a resposta da oxitocina, embora haja relatos controversos na literatura sobre as diferenças na intensidade causada pela amamentação e ordenha mecânica. Por exemplo, demonstrou-se que a amamentação possui um efeito mais forte (Bar-Peled *et al.*, 1995; Samuelsson e Svennersten-Sjaunja, 1996 e Lupoli *et al.*, 2001), mais fraco (Akers e Lefcourt, 1982) ou semelhante (de Passilé *et al.*, 1997; Tancin *et al.* 2001; e Negrão e Marnet, 2002) na estimulação da descida do leite em comparação com vacas ordenhadas mecanicamente sem a presença do bezerro. Contudo, a maioria dos autores (Akers e Lefcourt, 1982; de Passilé *et al.*, 1997; e Tancin *et al.* 2001) concordam que há uma liberação mais alta de oxitocina em resposta à amamentação em comparação à ordenha na presença do bezerro. Em comparação com a ordenha manual, a ordenha mecânica resultou em liberação mais baixa de oxitocina (Gorewit *et al.*, 1992). Em um estudo, a amamentação e a ordenha durante o mesmo período resultaram em baixa ejeção do leite (Krohn, 2001). Portanto, dependendo do tipo de estimulação tátil da glândula mamária, ocorrerão diferentes respostas na liberação da oxitocina (Bruckmaier e Blum, 1998).

A liberação da oxitocina precisa ser mantida em concentração elevada durante toda a ordenha para uma melhor retirada do leite. Em vista disso, a ejeção do leite alveolar precisa já ter começado no início da ordenha, podendo-se induzi-la através de boa estimulação pré-ordenha (Bruckmaier e Blum, 1996; Bruckmaier 2001). A extensão dos efeitos da estimulação manual é variável, possivelmente decorrente da variação inter-raças na resposta aos estímulos (Walsh, 1974).

A oxitocina possui uma meia-vida curta de aproximadamente 1,5 a 2 minutos (Nickerson, 1992) e o tempo de reação do início da estimulação tátil do teto até o início da liberação do leite varia de 60 a 120 segundos e depende do grau de preenchimento do úbere, que, por sua vez, depende do intervalo entre ordenhas e do estágio da lactação (Bruckmaier, 2001). Mayer *et al.* (1991) mostraram que não há indicações de diminuição na secreção da oxitocina em resposta à estimulação pré-ordenha durante toda a lactação para um nível abaixo do limiar exigido para a ejeção do leite. No entanto, Bruckmaier e Blum (1998) explicaram que, devido ao volume reduzido de leite armazenado no úbere no fim da lactação, há uma maior exigência estimulatória para induzir a resposta de ejeção do leite, que geralmente demora mais tempo para ocorrer. Por esse motivo, a estimulação pré-ordenha é ainda mais importante durante esse período.

Quando não se faz corretamente uma estimulação pré-ordenha, ocorre uma resposta insuficiente de ejeção do leite, e este não é retirado completamente da glândula mamária. O inibidor de feedback de lactação (FIL) é uma proteína contida no leite sintetizada pelas células excretoras que possui ação inibidora sobre essas células, limitando assim a secreção posterior do leite (Wilde e Peaker, 1990). O FIL só é ativo nos alvéolos, em contato com as células excretoras, e seu efeito depende da concentração. Portanto, quanto maior o volume de leite residual, menor a taxa de secreção do leite. A distribuição do leite entre o compartimento das cisternas e dos alvéolos influenciará o grau de supressão nas diferentes espécies (Knight *et al.*, 1994). O excesso de leite residual devido à ordenha ineficiente impede a liberação desse FIL nessa ordenha, dessa forma diminuindo a secreção de leite para a próxima ordenha.

REQUISITOS DE ESTIMULAÇÃO PARA RETIRADA DO LEITE EM VACAS MESTIÇAS

As vacas taurinas vêm sendo intensamente selecionadas geneticamente para produção de leite há muitas gerações em comparação com as vacas zebuínas. Em rebanhos leiteiros geneticamente melhorados, a amamentação, estimulação natural para a descida do leite, foi substituída com êxito pela estimulação da ordenha manual ou mecânica. Talvez uma das conseqüências da seleção genética das vacas taurinas tenha sido uma alteração na regulação da ejeção do leite (Tancin and Bruckmaier, 2001). Como essas vacas também foram selecionadas para ordenha rápida e fácil, tem-se sugerido que elas provavelmente adquiriram uma menor dependência do reflexo de ejeção do leite (Akers, 2002).

Em contraste, a retirada artificial do leite através das mãos de pessoas desconhecidas ou de ordenhadeiras mecânicas ainda não é muito bem aceita em algumas vacas zebuínas. O mecanismo completo responsável pela inibição da ejeção do leite em vacas ainda não está claro, mas sabe-se que a perturbação ocorre no nível central ou periférico do sistema nervoso sob condições práticas. As condições de ordenha (amamentação de bezerro estranho, remoção do bezerro durante a ordenha, ordenha de vacas na presença do próprio bezerro, local de ordenha desconhecido) afetam a regulação da ejeção do leite (Tancin and Bruckmaier, 2001).

No caso de vacas com genética zebuína, o êxito na retirada do leite talvez dependa de níveis mais altos de oxitocina para causar uma resposta adequada de ejeção do leite. Pode-se conseguir isso apenas quando se usa o bezerro para estimular a vaca durante a ordenha. Argumenta-se na literatura que a produtividade de um animal é influenciada por seu estado psicológico, que será resultado da interação entre a disposição genética e os estímulos do ambiente (Pollock and Hurnik, 1978).

De 10 a 20 % do leite no úbere no início da ordenha normalmente permanece na glândula mamária como leite residual (Heald, 1985). Em dois estudos, mostrou-se que a ordenha mecânica deixa mais leite residual no úbere do que a ordenha manual e a amamentação (Hamann e Tolle, 1980 e Bar-Peled *et al.*, 1995). Há algumas indicações de que a presença do bezerro influencia alguns mecanismos regulatórios relacionados à secreção e liberação da oxitocina e ejeção do leite durante a ordenha mecânica (Akers e Lefcourt, 1982; de Passilé *et al.*, 1997, Tancin *et*

al., 2001). Um estudo comparativo entre vacas que amamentam ou não seus bezerros durante a ordenha (de Passilé *et al.*, 1997) mostrou que a presença do bezerro aumentava significativamente o volume do leite residual (medido antes do período de amamentação após a ordenha). Os autores sugeriram que a maior quantidade de leite residual pode ser uma consequência dos níveis significativamente mais baixos de oxitocina plasmática encontrados no grupo amamentado, resultado esse que também foi observado por



outro estudo (Tancin *et al.* 2001). Uma possível explicação para esse fato é o efeito do instinto materno da vaca que amamenta, que voluntariamente guarda o leite para as necessidades do bezerro logo após a ordenha (Bar-Peled *et al.*, 1995). Por sua vez, Ugarte (1977) sugere que a presença do bezerro pode condicionar a vaca para um estímulo extra além daquele recebido durante a ordenha normal, resultando em uma maior quantidade de leite residual.

Em vacas com lactação normal, a quantidade de leite residual permanece relativamente constante à medida que a produção de leite aumenta nas primeiras semanas de lactação. Em contraste, as vacas que possuem uma lactação curta têm um aumento gradual na quantidade de leite residual durante toda a sua lactação. Uma pesquisa realizada em um rebanho experimental de vacas holandesas Sahiwal F1 (não foi relatado o uso de bezerros durante a ordenha) constatou que 30 % dos animais tinham uma forte diminuição da produção de leite até níveis insignificantes dentro das 8 primeiras semanas de lactação. Os autores desse estudo sugeriram que os problemas de lactação curta podem ser consequência de uma ejeção deficiente do leite, que causa uma retirada ineficiente do leite. A baixa ejeção do leite pode se dever à insuficiência na liberação da oxitocina, insensibilidade mamária à oxitocina ou disfunção hipofisária (Murugaiyah *et al.*, 2001). Uma estimulação pré-ordenha insuficiente ou inadequada pode ser a causa de insuficiência na liberação da oxitocina. Além disso, o temperamento da vaca pode contribuir para a insuficiência na ejeção do leite, uma vez que se constatou que o estresse inibe a liberação da oxitocina (Bruckmaier e Blum, 1998).

Um experimento delineado para estudar o efeito da amamentação do bezerro na estimulação da ejeção e produção do leite em gado zebuíno concluiu que a amamentação mais o contato físico com o bezerro levou a uma maior produção de leite do que apenas o contato físico com o bezerro. Por sua vez, as vacas que só tinham contato físico com o bezerro também apresentaram maior produção de leite em comparação a vacas que não amamentavam nem tinham contato físico com o bezerro (Orihuela, 1990). Para avaliar o efeito da ausência do bezerro durante a ordenha de vacas mestiças sobre a produção total da lactação, estudou-se a produção de leite de 50 vacas em duas ou três lactações sucessivas. Em contraste com as raças leiteiras européias especializadas, nas quais a produção de leite na segunda lactação geralmente é mais alta do que na primeira, demonstrou-se que as vacas mestiças que participaram desse estudo apresentaram uma redução linear na produção de leite em lactações sucessivas. Além disso, a duração da lactação na lactação subsequente também foi gradualmente encurtada. Os autores sugerem que se pode atribuir isso ao “comportamento especial” das vacas mestiças, que são ordenhadas sem seus bezerros (Alvarez *et al.*, 1980).

No entanto, um estudo envolvendo vacas holandesas x vacas Fulani brancas (meio-sangue, 3/4 e 7/8 de genética holandesa) ordenhadas sem seus bezerros concluiu que os problemas de descida do leite devidos à

ausência do bezerro não foram a causa das lactações curtas (Buvanendran *et al.*, 1981).

Wellnitz *et al.* (1999) verificaram que vacas de raças européias de diferentes níveis de produção (> 45 kg/d e 25-30 kg/d) mas de estágios diferentes de lactação (grau equivalente de preenchimento do úbere) tinham padrões comparáveis de ejeção do leite. Talvez não seja possível extrapolar esses resultados para vacas com genética zebuína porque seu preenchimento de úbere, no mesmo estágio de lactação, pode não ser comparável ao das vacas taurinas.

ESTUDO DE VACAS LEITEIRAS MISTIÇAS BRASILEIRAS

O Brasil possui o segundo maior rebanho leiteiro do mundo e é o sexto maior país produtor de leite. Embora os rebanhos leiteiros da Europa e dos EUA se baseiem quase que inteiramente em genética holandesa, as raças zebuínas como Gir, Guzará e Nelore são componentes importantes da mistura genética no Brasil. A maioria das fazendas leiteiras brasileiras são compostas de vacas mestiças (principalmente holandesas cruzadas com raças zebuínas). Pode-se explicar a predominância de vacas mestiças no Brasil por sua dupla finalidade para corte e leite, bem como sua rusticidade e melhor adaptabilidade a um ambiente tropical em comparação a vacas holandesas puras.

Foi realizada uma pesquisa de opinião com 135 produtores em abril de 2001 na Agrishow, importante exposição agropecuária no Brasil, para obter informações sobre práticas de ordenha, cruzamento e manejo geral e a estrutura decisória utilizada pelos pecuaristas de leite brasileiros. Os resultados dessas entrevistas mostraram que apenas 10 % dos pecuaristas de leite usavam genética holandesa pura em seus rebanhos, e os restantes tinham genética holandesa mestiça com raças tradicionalmente usadas em climas quentes.

Cerca de 3/4 dos produtores que possuíam vacas mestiças em seu rebanho relataram o uso de bezerros para estimulação pré-ordenha. De acordo com esses fazendeiros, a presença de bezerros durante a ordenha é importante, se não essencial, para estimular a descida do leite nas vacas mestiças. Além disso, considera-se que a presença de um bezerro reduz o comportamento agressivo dessas vacas, assegurando assim um manejo mais fácil durante a ordenha. Alguns produtores indicaram que a ordenha de vacas mestiças sem seus bezerros pode resultar em um período de lactação menor, principalmente em vacas ½ H/Z (50 % holandesa e 50 % zebu).

Realizou-se uma pesquisa de campo nos meses de maio, junho e julho de 2001 e 2002 para quantificar as características de ordenha das vacas mestiças típicas dos rebanhos leiteiros brasileiros. Coletaram-se dados de 1419 vacas mestiças (426 ½ H/Z, 545 ¾ H/Z e 448 7/8 H/Z) em 12 fazendas dos estados de Minas Gerais e São Paulo. Cada subcategoria (três tipos de cruzamentos, cada um com e sem bezerro) estava representado por pelo menos 3 fazendas, e cada fazenda tinha no mínimo 2 subcategorias representadas. Utilizaram-se medidores de leite para registrar a produção de leite das vacas individuais a intervalos de um minuto durante uma ordenha matutina e também para obter amostras de leite para análise de SCC (contagem de células somáticas). Realizaram-se análises estatísticas dos dados utilizando-se o Procedimento Mixed do SAS® para examinar o efeito do cruzamento, fazenda, presença de bezerro, número da lactação e estágio da lactação sobre a produção do leite, SCC, vazão máxima de leite e tempo para atingir a vazão máxima (tempo decorrido entre a fixação da ordenhadeira e intervalo de tempo até vazão máxima). Os resultados apresentados neste trabalho são relativos apenas à vazão máxima de leite. Mais detalhes dessa pesquisa, inclusive qualidade do leite e produção de leite, são apresentados por Costa (2003).

A vazão máxima de leite caracteriza o potencial individual de vazão do leite de um animal e tende a ser mais persistente do que a vazão média de leite durante toda a lactação (Bruckmaier *et al.*, 1995). Nesta pesquisa, mediu-se a vazão máxima de leite como o maior volume de leite produzido em intervalos de um

minuto. Uma finalidade da análise da vazão máxima de leite foi investigar a hipótese de que o uso do bezerro durante a ordenha melhora a resposta de descida do leite em algumas vacas. Se esse hipótese estiver correta, esperar-se-ia que a vazão máxima das vacas estimuladas por seus bezerros seria mais alta do que a vazão máxima de leite de vacas ordenhadas sem seus bezerros.

Conforme esperado, as vacas com porcentagem maior de sangue holandês apresentaram uma vazão máxima de leite mais alta bem como maior produção de leite. A vazão máxima de leite das vacas mestiças brasileiras típicas é substancialmente mais baixa do que a das vacas holandesas puras nos EUA e Europa.

O efeito do bezerro (sua presença para estimulação pré-ordenha) sobre a vazão máxima de leite não foi significativa, embora a tendência para vazão máxima de leite fosse ligeiramente mais alta para as vacas ordenhadas sem um bezerro (Figura 1).

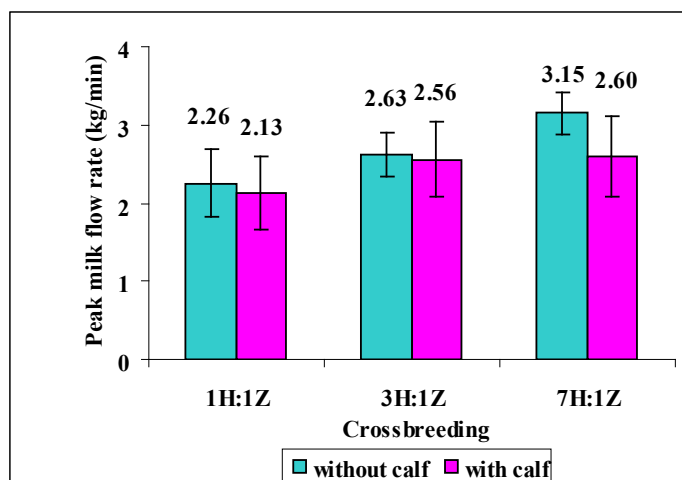


Figura 1. Vazão máxima de leite para diferentes cruzas com e sem bezerro usado para estimulação pré-ordenha (as barras de erros representam um intervalo de confiança de 95 %).

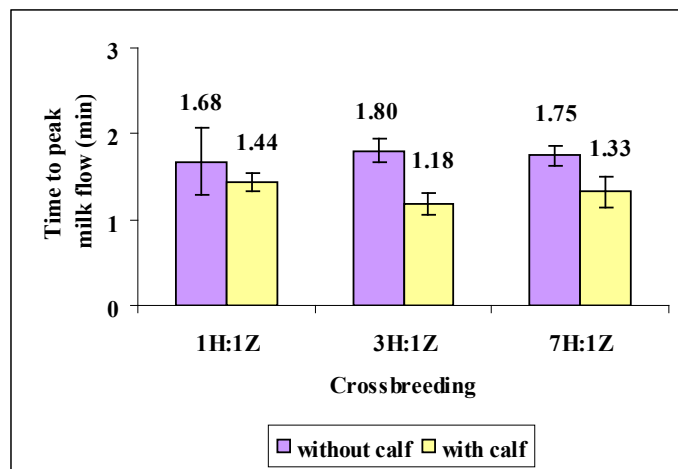


Figure 2. Tempo para alcançar o pico do fluxo de leite em diferentes cruzas com ou sem bezerros, usados para estimulação pré-lactação (barras de erro representam 95% dos intervalos de confiança).

Parece realmente ter havido alguns efeitos interativos entre raça, bezerro e características de lactação. As vacas 7/8 H/Z ordenhadas com o bezerro parecem ter uma vazão máxima de leite mais baixa. Para as vacas $\frac{3}{4}$ H/Z, a presença do bezerro estava associada a uma vazão máxima de leite mais alta, mas apenas no início da lactação. O fato interessante foi que a presença de um bezerro para as vacas $\frac{1}{2}$ H/Z não estava associada a uma vazão máxima de leite mais alta.

Para as vacas 7/8 H/Z, nossos resultados mostram que os bezerros podem estar inibindo ao invés de estimular a descida do leite bem como reduzindo o leite retirado pela ordenhadeira mecânica. Para as vacas $\frac{3}{4}$ H/Z, o benefício do uso dos bezerros é questionável. Embora as médias de vazão máxima de leite para as vacas $\frac{1}{2}$ H/Z ordenhadas com e sem bezerro não tenham sido significativamente diferentes, o uso de bezerros pode ainda ser desejável para manter as vacas calmas, assim facilitando o manejo durante a ordenha. A seleção genética pode ser capaz de reduzir o comportamento agressivo dessas vacas.

A associação entre bezerro e tempo até a vazão máxima de leite foi significativa para as categorias $\frac{3}{4}$ H/Z e 7/8 H/Z, com as vacas com bezerro atingindo vazões máximas mais cedo. Contudo, essa associação pode não estar relacionada à presença do bezerro em si, uma vez que as vacas ordenhadas com bezerro normalmente são estimuladas por um período mais longo antes da colocação da ordenhadeira. Essa mesma tendência apareceu nas vacas $\frac{1}{2}$ H/Z, mas a diferença não foi significativa. Essa falta de significância pode ser uma consequência do pequeno tamanho da amostra de vacas sem bezerros (49), resultando em uma variabilidade maior e, portanto, reduzindo as chances de atingir significância.

As diferenças observadas no tempo para atingir a vazão máxima de leite provavelmente se devem mais a diferenças no tempo “preparação/reação” do que da estimulação. É difícil também determinar quanto leite o bezerro consegue coletar antes da colocação da ordenhadeira. A coleta do leite pelo bezerro antes da colocação da ordenhadeira tenderia a deslocar o período de vazão máxima de leite para antes no período de ordenha mecânica.

Como conclusão, o uso do bezerro para estimulação da descida do leite não foi confirmado nesta pesquisa. Não obstante, seu uso pode ainda ser recomendado para as vacas que tenham um comportamento agressivo e não liberem seu leite sem a presença de seus bezerros (o estresse pode inibir a liberação de oxitocina). São necessários estudos posteriores para determinar a causa exata do “bloqueio” da ejeção do leite em algumas vacas mestiças e outras limitações da duração da lactação e da produtividade.

A eliminação da amamentação do bezerro durante a ordenha simplifica a rotina de ordenha e resulta em economia significativa de mão-de-obra. A seleção genética de temperamento pode já ter reduzido os benefícios do uso de bezerros durante a ordenha e pode continuar a reduzir ou eliminar esses benefícios no futuro.

Finalmente, são necessários estudos adicionais para melhor entender a regulação da descida do leite em vacas mestiças. Isso seria de importância prática para a adequação da rotina de ordenha em um grande número de fazendas em países tropicais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Akers, R.M. Lactation and the mammary gland. Iowa State Press, p 54-56, (2002).
- Akers, R.M. & Lefcourt, A.M. Milking and suckling induced secretion of oxytocin and prolactin in parturient dairy cows. *Horm. Behav.* 16: 87-93, (1982).
- Alvarez, F.J.; Saucedo, G.; Arriaga, A.; and Preston, T.R. Effect on milk production and calf performance of milking cross bred European/Zebu cattle in the absence or presence of the calf, and of rearing their calves artificially. *Trop. Anim. Prod.* 5: 25-37, (1980).
- Ayadi, M.; Caja G.; Such, X.; and Knight, C.H. Use of ultrasonography to estimate cistern size and milk storage at different milking intervals in the udder of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 70: 1-7, (2003).
- Bar-Peled, U.; Maltz, E.; Bruckental, I.; Folman, Y.; Kali, Y.; Gacitua, H. and Lehrer, A.R. Relationship between frequent milking or suckling in early lactation and milk production of high producing dairy cows. *J. Dairy Sci.* 78: 2726-2736, (1995).
- Bruckmaier, R.M. Milk ejection during machine milking in dairy cows. *Livest. Prod. Sci.* 70: 121-124, (2001).
- Bruckmaier, R.M. & Blum, J.L. Oxytocin release and milk removal in ruminants. *J. Dairy Sci.* 81: 939-949, (1998).
- Bruckmaier, R.M. & Blum, J.L. Simultaneous recording of oxytocin release, milk ejection and milk flow during milking of dairy cows with and without prestimulation. *J. Dairy. Res.* 63: 201-208, (1996).
- Bruckmaier, R.M.; Ritter, C.; Schams, D.; Blum, J.W. Machine milking of dairy goats during lactation: udder anatomy, milking characteristics, and blood concentrations of oxytocin and prolactin. *J. Dairy Res.* 61: 457-466, (1994).
- Buvanendran, V.; Olayiwole, M.B.; Piotrowska, K.I.; and Oyejola, B.A. A comparison of milk production traits in Friesian x White Fulani crossbred cattle. *Anim. Prod.* 32: 165-170, (1981).
- Caja, G.; Such, X.; Ruberte, J.; Carretero, A.; and Navarro, M. The use of ultrasonography in the study of mammary gland cisterns during lactation in sheep. In: *Proceedings of the Sixth International Symposium on the Milking of Small Ruminants: Milking and milk production of dairy sheep and goats.* p. 91-93, (1999).
- Costa, D.A., Surveys of milking characteristics and milk quality of Brazilian crossbred dairy cows. Masters Thesis, University of Wisconsin-Madison, (2003).
- Cross, B.A. Comparative physiology of milk removal. In: *Comparative Aspects of Lactation.* Edited by Malcolm Peaker. *Symp. Zool. Soc. Lond.* 41: 193-210, (1977).
- de Passillé, A.M.; Rushen, J. and Marnet, P.G. Effects of nursing a calf on milk ejection and milk yield during milking. *J. Dairy Sci.* 80, Suppl. 1, p. 203, (1997).
- Ellendorff, F. & Poulain, D. A means to assess nursing efficiency in the pig: the study of the milk ejection reflex. *Ann. Rech. Vét.* 15: 271-274, (1984).
- Fuchs, A-R.; Ayromlooi, J.; and Rasmussen, A.B. Oxytocin response to conditioned and nonconditioned stimuli in lactating ewes. *Biol. Reprod.* 37: 301-305, (1987).
- Fuchs, A.R.; Dawood, M.Y.; Sumulong, L. Stener-Jørgensen, F. Release of oxytocin and prolactin by suckling in rabbits throughout lactation. *Endocrinology* 114: 462-489, (1984).
- Gorewit, R.C.; Svennersten, K.; Butler, W.R.; Uvnäs-Moberg, K. Endocrine responses in cows milked by

- hand and machine. *J. Dairy Sci.* 75: 443-448, (1992).
- Hamann, J. & Dodd, F.H. *Milking Routines. Machine milking and lactation*, Edited by A.J. Bramley, F.H. Dodd, G.A. Mein and J.A. Bramley. Insight Books, p. 81-96, (1992).
- Hamann, J. & Tolle, A. Comparison between manual and mechanical stimulation. *Milchwissenschaft* 35: 271-273, (1980).
- Heald, C.W. *Milk Collection. Lactation*, Edited by Bruce L. Larson. Iowa State Press, p. 220-222, (1985).
- Hurley, W.L. *Lactation Biology ANSCI 308 - University of Illinois (lesson: Milk Ejection)*. Web-site: <http://classes.aces.uiuc.edu/AnSci308>, (2002).
- Knight, C.H.; Hirst, D.; and Dewhurst, R.J. Milk accumulation and distribution in the bovine udder during the interval between milkings. *J. Dairy Res.* 61: 167-177, (1994).
- Krohn, C.C. Effects of different suckling systems on milk production, udder health, reproduction, calf growth and some behavioural aspects in high producing dairy cows: a review. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 72: 271-280, (2001).
- Lupoli, B.; Johansson, B.; Uvnäs-Moberg, K.; and Svennersten-Sjaunja, K. Effect of suckling on the release of oxytocin, prolactin, cortisol, gastrin, cholecystokinin, somatostatin and insulin in dairy cows and their calves. *J. Dairy Res.* 68: 175-187, (2001).
- Marnet, P.G. & McKusick, B.C. Regulation of milk ejection and milkability in small ruminants. *Livest. Prod. Sci.* 70: 125-133, (2001).
- Mayer, H.; Bruckmaier, R.; and Schams, D. Lactational changes in oxytocin release, intramammary pressure and milking characteristics in dairy cows. *J. Dairy Res.* 58: 159-169, (1991).
- McKusick, B.C.; Thomas, D.L.; Berger, Y.M.; and Marnet, P.G. Effect of milking intervals on alveolar versus cisternal milk accumulation and milk production and composition in dairy ewes. *J. Dairy Sci.*, 85: 2197-2206, (2002).
- Murugaiyah, M.; Ramakrishnan, P.; Sheikh Omar, A.R.; Knight, C.H.; and Wilde, C.J. Lactation failure in crossbred Sahiwal Friesian cattle. *J. Dairy Res.* 68: 165-174, (2001).
- Negrão, J.A. & Marnet, P.G. Effect of calf suckling on oxytocin, prolactin, growth hormone and milk yield in crossbred Gir X Holstein cows during milking. *Reprod. Nutr. Dev.* 42: 373-380, (2002).
- Nickerson, S.C. *Anatomy and physiology of the udder. Machine milking and lactation*, Edited by A.J. Bramley, F.H. Dodd, G.A. Mein and J.A. Bramley. Insight Books, p. 63-66, (1992).
- Orihuela, A. Effect of calf stimulus on the milk yield of Zebu-type cattle. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 26:187-190, (1990).
- Pollock, W.E. & Hurnik, J.F. Effect of calf calls on rate of milk release of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 61: 1624-1626, (1978).
- Robinson, I.C. & Jones, P.M. Oxytocin and neurophysin in plasma and cerebrospinal fluid during suckling in the guinea pig. *Neuro-endocrinology* 34: 59-63, (1982).
- Samuelsson, B. & Svennersten-Sjaunja, K. Effect of suckling on the release of oxytocin in dairy cows and their calves. *Proceedings of the Symposium on Milk Synthesis, Secretion and Removal in Ruminants. University of Berne, Switzerland*, p.75, (1996).
- Svennersten-Sjaunja, K. The buffalo is important for milk production. *AgriBizChina web-site: <http://www.agribizchina.com>*, (2000).

IMPLEMENTAÇÃO DE PROGRAMAS DE QUALIDADE DO LEITE EM FAZENDAS

Pamela Ruegg e Ana Carolina Rodrigues

Universidade de Wisconsin

Madison, WI

INTRODUÇÃO

A produção de leite de alta qualidade, de vacas leiteiras sadias, é o principal objetivo da maioria dos produtores de leite. Entretanto, a mastite continua sendo um problema importante, uma vez que os tetos das vacas são freqüentemente expostos a um enorme número de patógenos causadores de mastite. Sabe-se que a mastite pode ser controlada através da prevenção de novas infecções e da eliminação das infecções existentes. Foi demonstrado que o plano de 5 pontos (a saber, desinfecção do teto após a ordenha, terapia de vaca seca, tratamento apropriado dos casos clínicos, descarte dos animais cronicamente infectados e manutenção freqüente das ordenhadeiras mecânicas) é eficiente no controle de patógenos contagiosos, mas geralmente é difícil implementar amplamente estas práticas simples (Giger et al., 1994; Payne et al., 1999). Quando a mastite ambiental é preocupante, a implementação de programas efetivos de controle também envolve a capacidade de manter a vaca em ambiente limpo e seco, além da colheita do leite de forma eficiente, sem lesionar o teto. A implementação bem sucedida de programas de controle de mastite geralmente resulta em benefícios adicionais, tais como aumento da produção de leite e maior lucratividade (Payne et al., 1999).

Várias abordagens foram descritas para o controle da mastite (Morin et al., 1993; Peters et al., 1994; Sischo et al., 1997; Sargeant et al., 1998). Geralmente, tais programas se concentram na adoção em maior escala, de práticas cientificamente comprovadas e princípios de manejo capazes de reduzir o nível de exposição aos patógenos causadores da mastite. Em Wisconsin, as fazendas leiteiras podem se inscrever num programa de controle de mastite ("Milk Money"), cujo objetivo é ajudar os produtores a criar um programa direcionado de qualidade de leite, capaz de atender às necessidades individuais da propriedade (Rodrigues et al., 2005, Rodrigues e Ruegg, 2005). Trata-se de um programa voluntário, desenvolvido para estimular a produção de leite de alta qualidade e baseado na formação de um time de conselheiros auto-selecionados. Durante o programa, os produtores se encontram com suas equipes 4 vezes (geralmente 4 encontros mensais sucessivos), para discutir especificamente problemas que afetam a qualidade do leite. Os produtores usam a equipe e o material fornecido pelo programa para priorizar mudanças de manejo que possam ajudá-los a atingir os seus próprios objetivos. Em cada um dos 4 encontros mensais, uma lista simples de ações a serem completadas antes do próximo encontro é elaborada, as pessoas responsáveis pela execução de tais ações são designadas e um método de avaliação do resultado final da ação é selecionado. No início de cada encontro subsequente, a lista de ações é revisada e as pessoas são responsabilizadas pela realização de suas respectivas tarefas. Este processo simples foi incrivelmente bem sucedido em melhorar a qualidade do leite e o objetivo deste artigo é descrever as ações consideradas importantes para a implementação de programas de qualidade do leite.

OBSTÁCULOS À MELHORIA DA QUALIDADE DO LEITE

Pesquisas realizadas por veterinários e outros profissionais da área que trabalham com produtores de leite

As estatísticas das fazendas de Wisconsin que empregam sistema de freestall indicam que o manejo do curral de ordenha geralmente é negligenciado (Rodrigues et al., 2005). Os rebanhos incluídos neste conjunto de dados tinham uma CCS média de 328.000 células por ml, 377 vacas ordenhadas e uma produção média de aproximadamente 10.500 kg por vaca por ano. Neste conjunto de dados, o relato de uso de práticas de ordenha recomendadas era geralmente alto. Dentre as fazendas, 89% relataram que os ordenhadores usavam luvas durante a ordenha, 97% aplicavam imersão do teto após a ordenha, 98% empregavam pré-imersão e 89% relataram que os ordenhadores empregavam o teste de tamis antes de acoplar as ordenhadeiras. Nas fazendas participantes, havia aproximadamente 6 pessoas diferentes ordenhando as vacas a cada mês, com uma variação de 2 a 16 indivíduos trabalhando no curral durante o mês. O treinamento de técnicos de ordenha era relativamente pouco freqüente. Apenas 22% das fazendas relataram manter sessões freqüentes de treinamento de seus ordenhadores, 49% relataram treinar os ordenhadores apenas no ato da contratação e 29% relataram que os ordenhadores nunca eram treinados. É difícil entender como se pode esperar um desempenho adequado dos empregados, uma vez que menos de metade (41%) das fazendas relataram ter uma rotina escrita de ordenha.

Em fazendas leiteiras grandes, muitos currais de ordenha são continuamente usados e os produtores geralmente priorizam o aumento do rendimento do curral. Nossos dados referentes às fazendas de freestall de Wisconsin, indicam que os fatores de maior influência sobre o número de vacas ordenhadas por hora por ordenhador (vaca/hora/ordenhador) são a freqüência de treinamento e a existência de uma rotina escrita de ordenha (Tabela 2; Rodrigues et.al., 2005). O treinamento freqüente dos técnicos de ordenha resultou nas velocidades mais altas de ordenha e nas menores taxas mensais de mastite clínica (Tabela 2). O emprego de uma rotina completa de ordenha (incluindo teste de tamis, pré-imersão e secagem antes do acoplamento da ordenhadeira e a aplicação de imersão do teto após a ordenha) também resultou em desempenho mais rápido do curral. A combinação de uma rotina completa de ordenha com o treinamento freqüente resultou no melhor um rendimento do curral. Quando a rotina completa de ordenha e o treinamento freqüente eram empregados, as vacas eram ordenhadas a uma velocidade de 52 vacas por hora por ordenhador, contrastando com 38 e 35 vacas por hora por ordenhador nos rebanhos que empregavam uma rotina de ordenha incompleta e treinamento freqüente, ou rotina incompleta sem nenhum treinamento, respectivamente. Tais dados sugerem fortemente que o treinamento freqüente dos técnicos de ordenha é um investimento excelente, que resultará na melhora do desempenho na ordenha.

Tabela 2. Influência da Rotina de Ordenha sobre o desempenho em Fazendas de Freestall de Wisconsin (n = 101).

Variável		Vacas por Hora por Ordenhador	Valor P	Taxa Mensal de Mastite Clínica	Valor P
Rotina Escrita de Ordenha	Sim	46,9	<0,001	5,0%	0,25
	Não	35,6		7,1%	
Freqüência de Treinamento	Nunca	33,6	0,006	9,6%	0,04
	Na Contratação	41,6		4,8%	
	Freqüentemente	49,4		5,8%	
Rotina Completa de Ordenha ^a	Sim	40,8	0,15	5,5%	0,01
	Não	35,3		10,3%	
Teste de tamis	Sim	40,9	0,09	5,8%	0,08
	Não	32,9		9,4%	

^a rotina inclui teste de tamis, pré-imersão, secagem antes do acoplamento da ordenhadeira

ADOÇÃO DE PRÁTICAS IDEAIS DE MANEJO

Em se tratando de produção de leite de alta qualidade, não há atalhos ou segredos. A adoção de práticas recomendadas de controle de mastite resultará na melhora da qualidade do leite e o emprego de uma equipe de manejo na fazenda comprovadamente estimula a adoção de muitas dessas práticas (Rodrigues e Ruegg, 2005). Nossos dados demonstram que a adoção de virtualmente todas as práticas ideais de manejo pode ser incrementada quando um plano de qualidade do leite bem definido é desenvolvido e comunicado claramente às pessoas responsáveis por sua implementação (Tabela 3). A adoção bem sucedida destas práticas resultará na melhora da qualidade do leite (Tabela 4).

Tabela 3. Diferenças de práticas de manejo nas fazendas leiteiras de WI que completaram o programa de qualidade do leite (n = 113).

Prática de manejo	Antes do programa	Após o programa	Taxa de adoção ³	P
Analisar o sistema de ordenha durante a ordenha pelo menos anualmente (%)	39.4	61.5	38.1	< 0.001
Teste de tamis (%)	86.5	92.3	50.0	0.030
Pré-imersão (%)	87.5	97.1	84.6	0.004
Ter uma rotina completa de ordenha ¹ (%)	76.9	85.6	54.2	0.030
Secar o úbere usando 1 toalha por vaca (%)	86.0	91.6	46.7	0.030
Sempre usar luva durante a ordenha (%)	70.1	82.2	50.0	0.003
Ter uma rotina escrita de ordenha (%)	25.5	51.9	36.7	< 0.001
Ter programas freqüentes de treinamento dos ordenhadores (%)	14.0	31.1	22.5	< 0.001
Registrar as mastites clínicas (%)	52.6	91.8	84.8	< 0.001
Fazer cultura de todos os casos de mastite clínica (%)	13.3	31.4	29.7	< 0.001
Fazer cultura do tanque de expansão várias vezes por ano (%)	59.2	87.4	76.2	< 0.001
Ter solicitado cultura de Mycoplasma (%)	53.3	70.1	48.0	0.001
Ter um protocolo escrito de tratamento para mastite clínica (%)	16.4	54.8	47.1	< 0.001
Tratar todos os quartos de todas as vacas ao iniciar o período seco (%)	91.5	95.3	44.5	0.100
Usar CMT ² (%)	67.6	80.0	47.1	0.003
Revisar mensalmente os registros individuais de SCC (%)	77.6	90.7	58.3	< 0.001
Planejar o programa de qualidade do leite com o veterinário da fazenda (%)	19.8	84.0	81.2	< 0.001
Discutir questões referentes à qualidade do leite com o representante local do laticínio (%)	42.1	78.0	69.4	< 0.001
Ter encontros freqüentes entre o representante local do laticínio e o veterinário, para discutir a melhora da qualidade do leite (%)	7.6	62.9	61.9	< 0.001

¹ Definida como emprego de rotina de ordenha que incluía teste de tamis, pré-imersão, secagem e pós-imersão.

² California Mastitis Test.

³ Porcentagem de adoção por rebanhos que não realizavam cada prática no encontro 1.

Tabela 4. Resultados mensais de laticínios de WI que completaram o programa de qualidade do leite (n = 113).

Resultado	Antes do Programa	Após o programa	Diferença	P
Rendimento por vaca por dia (kg)	29.8	30.6	0.82	0.223
CCS do tanque de expansão (células/mL)	385,838	307,951	-77,887	< 0.001 a
Contagem padrão em placas (ufc/mL)	14,564	10,433	-4131	0.014 a
Vacas ordenhadas por hora por pessoa (n)	31.6	30.6	-0.95	0.606
Leite descartado por mastite clínica (dias)	6.1	6.1	0.00	0.963
Mastite clínica mensal ¹ (%)	6.8	4.9	-1.9	0.016
Incidência mensal de mastite subclínica ^{2,4} (%)	10.9	9.2	-1.8	0.033
Prevalência mensal de mastite subclínica ^{3,4} (%)	35.8	30.8	-5.0	0.008
Vacas descartadas por mastite por mês ⁵ (%)	1.4	0.8	-0.7	0.023
Total mensal de vacas descartadas ⁶ (%)	4.1	2.5	-1.5	0.004
Perda padrão de produção por vaca ⁷ (\$)	3.88	2.75	-1.12	< 0.001
Prêmio atual por qualidade da CCS do tanque de expansão (\$/45kg)	0.07	0.27	0.20	< 0.001
Perda de prêmio por qualidade do leite por vaca (\$)	9.21	5.97	-3.24	< 0.001
Perda padrão por mastite clínica por vaca ⁸ (\$)	7.71	5.47	-2.24	0.010

^a Analisado como log10.

¹ Número mensal relatado de casos clínicos dividido pelo número de vacas.

² Porcentagem de vacas com SCS (escore de células somáticas) > 4 pela primeira vez na lactação atual

³ Porcentagem de vacas com SCS (escore de células somáticas) > 4 em teste no momento.

⁴ Média calculada para rebanhos com DHI (dairy herd improvement); n para geral = 86; n para sistema de freestall = 49; n para sistema de baias = 37

⁵ Porcentagem de vacas descartadas por mastite no mês anterior.

⁶ Porcentagem total de vacas descartadas no mês anterior.

⁷ Média total de perda de produção de leite devido a vacas com SCS (escore de células somáticas) maior do que o padrão ideal multiplicada pelo preço do leite. Calculado com preço fixo do leite em \$0,24 por kg.

⁸ Soma do custo total das drogas, custo do leite descartado e custo do serviço veterinário devido a mastite clínica por mês. Calculado com preços fixos (custo das drogas \$15,00, preço do leite \$0,24 por kg e custo do serviço veterinário \$50,00).

MOTIVOS DE FALHA DE ALGUNS PROGRAMAS DE QUALIDADE

Em alguns rebanhos, os programas de qualidade do leite falham. Na maioria das vezes, a falha pode ser atribuída a uma falta de comprometimento com as mudanças necessárias. Em nosso estudo, os rebanhos que não atingiram seus objetivos em termos de qualidade do leite relataram a falta de tempo e outros problemas da fazenda como sendo as principais limitações à implementação das alterações sugeridas. Tempo, dinheiro e restrições de instalações já foram previamente reportadas como os responsáveis pela maioria das barreiras à melhoria da qualidade do leite (Weinand e Conlin, 2003). Nos rebanhos envolvidos no Milk Money, fica claro que os produtores envolvidos no programa desejavam melhorias na qualidade do leite, uma vez que a participação era voluntária. Entretanto, a implementação depende da habilidade de adequar as alterações à situação atual da fazenda e de alterar suas prioridades. Ao final do programa Milk Money, dos rebanhos que responderam à pergunta referente à satisfação de objetivos (n = 96), 60 (63%) relataram ter atingido

seus objetivos de melhoria da qualidade do leite. Como possíveis causas da falha em atingir os objetivos propostos foram relatadas a falta de tempo (49%), outros problemas da fazenda (16%), falta de foco (16%), influências sazonais (14%) e escolha inadequada de objetivos (5%).

CONCLUSÃO

Muitas fazendas leiteiras produzem leite de alta qualidade e não há segredos quanto à forma de se conseguir isso. A capacidade de implementar as práticas de manejo recomendadas é um aspecto essencial da produção de leite de qualidade. A implementação depende da capacidade de comunicar claramente o valor de tais práticas e de motivar os empregados da fazenda a aplicá-las de forma consistente. As tarefas administrativas envolvidas no gerenciamento de uma fazenda devem incluir o desenvolvimento de procedimentos escritos de ordenha, bem como a valorização do treinamento contínuo do pessoal de ordenha. O único segredo da produção de leite de alta qualidade é continuamente desenvolver e motivar as pessoas que ordenham as vacas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Giger, R., T. D. Carruthers, C. S. Ribble, and H. G. Townsend. 1994. A survey of veterinarian and producer perceptions of herd health services in the Saskatoon milkshed. *Can. Vet. J.* 35(6):359, 362-356.
- Morin, D. E., G. C. Petersen, H. L. Whitmore, L. L. Hungerford, and R. A. Hinton. 1993. Economic analysis of a mastitis monitoring and control program in four dairy herds. *JAVMA.* 202(4):540-548.
- Payne, M., C. M. Bruhn, B. Reed, A. Scarce, and J. O'Donnell. 1999. On-farm quality assurance programs: a survey of producer and industry leader opinions. *J. Dairy Sci.* 82(10):2224-2230.
- Peters, R. R., E. K. Cassel, M. A. Varner, R. C. Eickelberger, L. R. Vough, J. E. Manspeaker, L. E. Stewart, and J. W. Wysong. 1994. A demonstration project of interdisciplinary dairy herd extension advising funded by industry and users. 1. Implementation and evaluation. *J. Dairy Sci.* 77(8):2438-2449.
- Rodrigues, A.C.O., and P. L. Ruegg. 2004. Opinions of Wisconsin dairy professionals about milk quality. *Food Protection Trends* 24:1-6.
- Rodrigues, A.C.O., D. Z. Caraviello, and P. L. Ruegg. 2005. Management of Wisconsin Dairy herds enrolled in Milk Quality Teams. *J. Dairy Sci.* 88:2660-2651.
- Rodrigues, A.C.O. and P. L. Ruegg, 2005. Actions and outcomes of Wisconsin dairy herds completing milk quality teams. *J Dairy Sci.* 88:2672-2680.
- Sargeant, J., Y. H. Schukken, and K. E. Leslie. 1998. Ontario bulk milk somatic cell count reduction program: progress and outlook. *J. Dairy Sci.* 81(6):1545-1554.
- Sischo, W. M., N. E. Kiernan, C. M. Burns, and L. I. Byler. 1997. Implementing a quality assurance program using a risk assessment tool on dairy operations. *J. Dairy Sci.* 80(4):777-787.
- Weinland D. and B.J. Conlin, 2003. Impacts of dairy diagnostic teams on herd performance. *J. Dairy Sci.* 86(5):1849-1857.

