

Contribuição ao estudo do puerpério de vacas leiteiras através de acompanhamento clínico-reprodutivo e determinação de progesterona pelo radioimunoensaio

A field study of postpartum period of dairy cows by rectal palpation and progesterone profiles in the milk by radioimmunoassay

CORRESPONDÊNCIA PARA:
Luiz Ernandes Kozicki
Departamento de Medicina
Veterinária
Setor de Ciências Agrárias
Universidade Federal do Paraná
Caixa Postal 2959
Rua Jaime Balão, 575 – Bairro
Hugo Longe
80040-340 – Curitiba – PR
e-mail: lkozicki@agrarias.ufpr.br

1 - Departamento de Medicina
Veterinária do Setor de Ciências
Agrárias da UFPR, Curitiba – PR
2 - Centro de Medicina Nuclear
da UFPR, Curitiba – PR

Luiz Ernandes KOZICKI¹; Luis Carlos WOELLNER²; Flávia Kazumi SHIBATA²; Marcelo Alves da SILVA¹

RESUMO

O trabalho foi desenvolvido utilizando-se 18 vacas leiteiras recém-paridas, da bacia leiteira de Curitiba (PR). Os animais eram semanalmente examinados por palpação retal e aspectos de involução uterina e atividade ovariana eram verificados. O início dos exames ocorreu em torno do 7º dia pós-parto (p.p.) e estendeu-se até o 49º. Concomitantemente foram colhidas dos animais amostras de leite da ordenha matinal a cada quatro dias, para posterior determinação de progesterona, iniciando-se no 9º dia p.p. e estendendo-se até a 7ª semana. As dosagens da progesterona (P₄) no leite magro foram realizadas pelo radioimunoensaio (RIA) em fase sólida. Os achados da pesquisa revelaram que a menor concentração de P₄ detectada no leite foi de 0,01 ng/ml e a maior de 3,64 ng/ml, o 1º estro p.p. ocorreu no 28,5º dia e a detecção do 1º corpo lúteo (CL) teve lugar no 34,5º dia, o intervalo entre o estro e a 1ª elevação de P₄ luteal foi em média de 5,5 dias, o intervalo parto/involução uterina deu-se no 24,1º dia, o 1º corpo lúteo p.p. gerou período da dominância de P₄ de apenas 11,5 dias e a concentração média de P₄ do 1º CL p.p. foi de 1,9 ng/ml, o 1º estro p.p. foi silencioso em 61,1% dos casos e o percentual de anestro dos animais durante o período da pesquisa foi de 33,3%.

UNITERMOS: Puerpério; Progesterona; Radioimunoensaio; Vacas.

INTRODUÇÃO

Existem vários aspectos importantes de ordem prática que ocorrem no período do pós-parto. Dentre essas figuras a involução uterina, que deverá completar-se em torno de 20 a 25 dias e o restabelecimento da ciclicidade estral após o parto¹¹. A atividade ovariana pós-parto passou a ser melhor entendida a partir do desenvolvimento das técnicas de determinações hormonais, realçando-se nesse contexto o radioimunoensaio (RIA) por seu elevado grau de sensibilidade e precisão.

A partir daí diversos pesquisadores passaram a investigar o puerpério dos bovinos utilizando somente o RIA ou concomitantemente exames ginecológicos de palpação retal. Assim, na literatura podem-se encontrar relatos referentes ao intervalo parto-involução uterina, situando-se na faixa de 20 a 25 dias¹¹, 22,5 dias¹³, 28 dias¹⁸, 34,8 dias⁸, ao intervalo parto-1ª ovulação ocorrendo no 19,8º dia²², 28,3º dia²⁷, 30,3º dia²⁶, 34º dia⁴, 36,4º dia¹³, 46º dia²⁵, ao percentual de estros silenciosos após o parto variando de 17,8%¹⁶ a 83,2%²¹, ao 1º estro visível observado no 22,9º dia por Mahaputra *et al.*¹⁶, ao 30,6º, 46º, 49,2º, 50,4º dia relatado por Enbergs; Killewald⁵, Sharpe; King²²; Jana; Mishra⁸ e Thompson *et al.*²⁶ respectivamente, ao percentual de aciclia de 12%⁹, 16%¹, 18%²⁰, 28,5%²¹, ao percentual de cistos ovari-

anos de 7,1%²¹, 12%¹³, 18%⁹. Além desses aspectos, foi determinado o comprimento do primeiro ciclo estral após o parto. Para essa característica Eldon² relatou 10,7 dias; Kozicki¹³, 11,9; Medvedev *et al.*¹⁷, 12,4; e Mahaputra *et al.*¹⁶, 18,4 dias.

O objetivo do presente experimento foi o de estudar o decorrer do puerpério de vacas leiteiras, observando-se a atividade ovariana através dos perfis de progesterona no leite mediante o RIA, a partir da 1ª semana pós-parto e concomitantemente acompanhando a involução uterina, mediante exames clínicos semanais de palpação retal.

MATERIAL E MÉTODO

No experimento foram utilizadas 18 vacas leiteiras recém-paridas, sendo 16 da raça Holandesa Preta e Branca e 2 da raça Jersey. Nas propriedades houve efetivo controle leiteiro, reprodutivo e alimentar dos animais. A alimentação era constituída de silagem de milho, feno, forrageiras de verão e de inverno cultivadas em sistema de piquetes para essa finalidade e ofertadas *ad libitum*. Como suplementação, houve o fornecimento de concentrado (17% de proteína) aos animais de acordo com a produção e estágio da lactação. A produção leiteira média dos animais foi de 25 litros/dia e a idade de 61 meses.

Os animais recém-paridos foram palpados semanalmente para verificação dos aspectos da involução uterina e achados ovarianos, segundo Grunert; Berchtold⁶, e posteriormente comparados com os dados laboratoriais obtidos pelo radioimunoensaio. O início das palpações retais ocorreu a partir do 9º dia pós-parto (p.p.) estendendo-se até o 49º.

As amostras de leite foram colhidas na ordenha matinal nos dias: 9, 13, 17, 21, 25, 29, 33, 37, 41, 45 e 49 após o parto, diretamente das tetas craniais, empregando-se frascos plásticos novos com rosca, para 20 ml de leite, adicionando-se uma pastilha de dicromato de potássio em cada amostra como agente conservante. Após a colheita do leite, as amostras eram agitadas para a dissolução do conservante e refrigeradas a 4°C. Uma vez trazidas das fazendas, as amostras foram mantidas a -15°C, até serem analisadas. O conjunto de reagente comercial para determinação da progesterona foi o do laboratório (DPC - Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA, USA) em fase sólida. Valores de progesterona que se situassem³ que 1,0 ng/ml de leite indicaram a presença de função luteal nos ovários.

Como tratamento estatístico foram empregados a média, o desvio padrão e a porcentagem.

RESULTADOS

As observações reprodutivas obtidas estão inseridas na Tab. 1, calculados os valores da média, desvio padrão e porcentagem. Os valores máximos e mínimos da concentração de progesterona foram mencionados para demonstrar a variação de concentração que a progesterona pode apresentar e que é detectada pelo método. A detecção do 1º estro pós-parto foi feita visualizando-se os sinais nos animais ou verificando-se a saída de muco característico por ocasião do exame de palpação retal. A duração da dominância de progesterona luteal foi mensurada quando houve a 1ª elevação do hormônio no puerpério.

DISCUSSÃO

Diversos pesquisadores relatam trabalhos a respeito do acompanhamento clínico do sistema genital feminino de vacas leiteiras no puerpério paralelamente às determinações hormonais de progesterona^{7,9,13}. Os conhecimentos sobre o transcurso do puerpério bovino aprofundaram-se, persistindo contudo pontos discordantes.

De significativa importância aos bovinos leiteiros, observou-se nessa pesquisa o primeiro estro p.p. incidindo no 28,5º dia (Tab. 1), concordando com dados de Vesanen *et al.*²⁷; Enbergs; Killewald⁵ e Slama *et al.*²³, os quais igualmente o detectaram entre a 4ª e a 5ª semana após o parto. Discordantes são contudo os relatos de Jana; Mishra⁸ e Thompson *et al.*²⁶ ao observarem essa característica somente na 7ª semana após o parto.

A presença do primeiro corpo lúteo (CL) p.p. na superfície ovariana, bem como folículos, sinaliza que o lado endócrino reprodutivo do animal está retornando gradativamente aos padrões fisiológicos, muito embora o período de duração da dominância da progesterona nesse tempo seja mais curto que os seguintes^{2,24}. Essa característica foi observada nesse trabalho com a formação do 1º CL na 5ª semana p.p., corroborando achados de Eldon *et al.*⁴; Kozicki¹³ e Lubbadah¹⁵. Melhor performance nesse aspecto foi obtida por Kang *et al.*¹⁰ e Smolders *et al.*²⁴ ao detectarem a formação luteal e elevação da progesterona já na 4ª semana pós-parto. A significativa elevação da progesterona lútea no presente trabalho ocorreu em média no 5,5º dia após o estro (Tab. 1), sendo esse achado confirmado por Karg¹² e Eldon², os quais enfocaram o aumento significativo do hormônio em torno do 5º dia após a ovulação.

Resultados variáveis são observados na literatura a respeito da característica intervalo parto/involução uterina. Esse período de tempo, conforme alguns pesquisadores, pode variar de 20-25 dias¹¹ a 35⁸, uma vez que há vários aspectos que influenciariam essa característica, como o número e o decurso de partos, estado corporal do animal ao parir, dentre outros. Conforme orientação proposta por Grunert; Berchtold⁶, obteve-se na presente pesquisa valor médio de 24,1 dias, enquadrando-se dentro do perfil supracitado.

O radioimunoensaio, sendo um método confiável, sensível e de fácil aplicabilidade, tornou possível o avanço nos conhecimentos dos primeiros ciclos ovarianos após o parto. Pesquisadores são unânimes ao relatar que a duração do 1º período luteal após o parto é mais curta que a do 2º e 3º^{3,14,17,24}. Essa menor duração da dominância progesterônica (de 9,2 a 12,4 dias, respectivamente de acordo com Kozicki; Shibata¹⁴ e Medvedev *et al.*¹⁷, poderia estar respaldada no fato de que os sistemas genital e endócrino reprodutivo do animal acham-se em processo de restabelecimento após o período da gestação e dos eventos peripartais¹¹. Além do fato de ser o 1º período luteal p.p. mais curto que os seguintes, Eldon³ relatou que a concentração de progesterona produzida pelo 1º CL p.p. é menor (2,5 ng/ml) que a do 2º e 3º (3,4 ng/ml), permanecendo contudo levemente superior à média observada nesse trabalho (1,9 ng/ml) (Tab. 1).

Tabela 1

Parâmetros reprodutivos observados em vacas leiteiras, através de exames de palpação retal e determinação de progesterona no leite pelo radioimunoensaio. Curitiba (PR), 1997 (n = 18).

Valores de P4 (ng/ml leite)		1º estro p.p. (dias)	1º CL p.p. (dias)	Intervalo estro/1ª elevação de P4 p.p. (dias)	Intervalo parto/involução uterina (dias)	Duração da dominância da P4 (dias)	Concentração da P4 do 1º CL p.p. (ng/ml)
<	>	(x ± s)	(x ± s)	(x ± s)	(x ± s)	(x ± s)	(x ± s)
0,01	3,64	28,5 ± 9,7	34,5 ± 9,9	5,5 ± 0,6	24,1 ± 8,1	11,5 ± 3,4	1,9 ± 0,7

P4 = progesterona;

pp = pós-parto.

Tabela 2

Alterações reprodutivas patológicas em vacas leiteiras, observadas através de exames de palpação retal e determinação de progesterona no leite pelo radioimunoensaio. Curitiba (PR), 1997 (n = 18).

Anormalidades ocorridas no período	Frequência (%)
Estro silencioso	61,1
Anestro	33,3
Cisto luteínico	11,1
Loquiometra	16,6
Endometrite	27,7
Estro anovulatório	5,5

Algumas anormalidades reprodutivas foram levantadas no decurso da pesquisa, enfatizando o percentual de estro silencioso (61,1%), anestro (33,3%) e endometrite (27,7%) (Tab. 2). Pirchner *et al.*¹⁹ relataram que há elevada frequência de estro silencioso na primeira ovulação. Os percentuais discrepantes são significativos entre os autores, variando de 17,8%¹⁶ a 90,7% de acordo com Kang *et al.*¹⁰. Conforme Grunert; Berchtold⁶, alguns fatores poderiam constituir as

causas dessas fortes diferenças incluindo-se temperatura e umidade elevada, hereditariedade, processos dolorosos, manejo deficiente e excesso de proteínas na alimentação dentre outros. O anestro p.p. deve ser igualmente considerado, levando-se em conta que 11,0% a 31,0%^{1,9,16,21,24,25} dos animais permaneceram em estado de aclicia. Nossos achados de anestro poderiam ser explicados ao se levar em conta que a incidência de afecções como loquiometra (16,6%) e endometrite (27,7%) acarretaram atrasos consideráveis ao retorno fisiológico da atividade ovariana pós-parto conforme já relatara Kozicki¹³.

CONCLUSÕES

Além das considerações realizadas, desse trabalho podem-se levantar as seguintes conclusões:

- o 1º ciclo estral pós-parto apresentou menor duração de tempo quando comparado com os que ocorrem posteriormente;
- a concentração de progesterona do 1º corpo lúteo p.p. foi inferior aos seguintes, tendo como base dados da literatura;
- o 1º estro p.p. apresentou-se silencioso em elevado percentual.

SUMMARY

This study was carried out on 18 calved dairy cows, near the town of Curitiba -PR- Brazil. The animals were submitted weekly to a rectal palpation of the genital tract and the uterine involution and ovarian activity were considered. The rectal palpations began from the 7th day postpartum till the 49th day. At the same time milk samples from the first morning milk were taken on the 9th day till the 7th week. The progesterone (P₄) level determination of the milk was established by radioimmunoassay. The findings of the research showed: the first postpartum oestrus was observed at the 28.5th day and the corpus luteum (CL) was detected on the 34.5th day. The period from oestrus to the first high progesterone level post partum was 5.5 days. The uterine involution period was carried on the 24.1th day. The progesterone dominant period was shorter and had duration of 11.5 days on the first oestrus cycle post partum. The progesterone concentration from the 1st Corpus luteum post partum was low (1.9 ng/ml milk). The anoestrus rate until the 49th day postpartum was 33.3% and the silent heat rate reached 61.1%.

UNITERMS: Puerperium; Progesterone; Radioimmunoassay; Cows.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- CALDERON, O. Study of the reproductive efficiency of dual purpose cattle in Panama through the use of radioimmunoassay techniques. FAO/IAEA Bogotá, 1990. *In: FINAL RESEARCH COORDINATION MEETING*, Bogotá, 1990. **Proceedings**. Bogotá: FAO/IAEA, 1991. p.167-80.
- 2- ELDON, J. Post partum and post-conceptional ovarian activity of dairy cows: evaluation based on progesterone profiles. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.32, n.3, p.377-86, 1991.
- 3- ELDON, J. The postpartum ovarian activity of dairy cows. **Buvisindi**, v.5, n.1, p.3-8, 1991.
- 4- ELDON, J.; OLAFSSON, T.; THORSTEINSSON, T. Post partum reproductive performance of the Iceland dairy cow. **Proceedings**. *In: FINAL RESEARCH CO-ORDINATION MEETING*, Vienna, 1990. p.21-33.
- 5- ENBERGS, H.; KILLEWALD, M. Progesteronbestimmung praxisnaher systematischer Einsatz bei Milchkuhen in der Phase vor der Zuchtbenutzung. **Milchpraxis**, v.30, n.1, p.16-20, 1992.
- 6- GRUNERT, E.; BERCHTOLD, M. **Infertilidad en la vaca**. Montevideo: Hemisferio Sur, 1988. 475p.
- 7- HUSSEIN, F.M.; PACCAMONTI, D.L.; EILTS, B.E.; YOUNIS, M.Y.M. Comparison of ovarian palpation, milk progesterone and plasma progesterone in the cow. **Theriogenology**, v.38, n.3, p.431-9, 1992.
- 8- JANA, D.; MISHRA, R.R. Studies on uterine involution and postpartum estrus in dairy cows. **Indian Journal of Dairy Science**, v.31, n.2, p.145-9, 1978.
- 9- KALIS, D.F.J.; VAN DE WIEL, D.F.M. Relationship examination to milk progesterone profiles. *In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION AND ARTIFICIAL INSEMINATION*, Madrid, 1980. **Proceedings**. V.9. p.125-34
- 10- KANG, B.K.; CHOI, H.S.; CHOI, S.G.; SON, C.H.; KANG, H.K. Progesterone assays as an aid for improving reproductive efficiency in dairy cattle.4. Milk progesterone profiles for monitoring postpartum ovarian activity. **Korean Journal of Veterinary Research**, v.34, n.4, p.881-90, 1994.
- 11- KARG, H. Physiological impact on fertility in cattle, with special emphasis on assessment of the reproductive function by progesterone assay. **Livestock Production Science**, v.8, n.4, p.233-46, 1981.
- 12- KARG, H. Regulation de las funciones sexuales. *In: GRUNERT, E.; BERCHTOLD, M. Infertilidad en la vaca*. Montevideo: Hemisferio Sur, 1988. p.51.
- 13- KOZICKI, L.E. **Über den postpartalen Zyklusverlauf bei Kühen unter verschiedenen Haltungsbedingungen, dargestellt anhand von klinischen Erhebungen und von Progesteronbestimmungen in Milchproben mit Hilfe des Enzymimmuntests und Radioimmuntests**. Giessen, 1982. (Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades) - Fachbereich Veterinarmedizin und Tierzucht der Justus-Liebig-Universität Giessen.

- 14- KOZICKI, L.E.; SHIBATA, F.K. Perfil de progesterona em vacas leiteiras no período do puerpério, determinado pelo radioimunoensaio (RIA). Dados parciais. *In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA*, 24., Goiânia, 1996. **Anais**. p.106. Resumo 215.
- 15- LUBBADEH, W.F. Milk progesterone to monitor reproductive performance in Holstein Friesian cows. **Dirasat. Series B, Pure and Applied Sciences**, v.22, n.4, p.965-71, 1995.
- 16- MAHAPUTRA, L.; HARIADI, M.; HARDJOPRANJOTO, S. Radioimmunoassay of milk progesterone to monitor reproductive performance in smallerholder dairy herds in Indonesia. Vienna, 1990. *In: FINAL RESEARCH CO-ORDINATION MEETING. Proceedings*. Vienna : FAO/IAEA, 1990. p.115-26.
- 17- MEDVEDEV, G.; GOLUBEVA, E.D.; MEDVEDEVA, N.V.; TEININA, M.A. Artificial regulation of reproductive function in cow. **Referativnyi Zhurnal**, v.8, n.1, p.12-6, 1989.
- 18- MOHAMED, A.R.; SIVAKANESAN, R.; RAJAMAHENDRAN, R. Oestrus detection and reproductive performance of cattle in Sri Lanka, Vienna, 1990. *In: FINAL RESEARCH CO-ORDINATION MEETING. Proceedings*. p.73-85.
- 19- PIRCHNER, F.; ZWIAUER, D.; BUTLER, I.V.; CLAUS, R.; KARG, H. Environmental and genetic influences on post-partum milk progesterone profiles of cows. **Zeitschrift für Tierzucht und Züchtungsbiologie**, v.100, n.3, p.304-15, 1983.
- 20- REIMERS, T.J.; SMITH, R.D.; FOOTE, R.H. Milk progesterone testing to determine reproductive status of cows. *In: INTERNATIONAL CONGRESS ON DISEASES OF CATTLE*, 11., Tel-Aviv, 1980. **Proceedings**. p.906-13.
- 21- SCHOPPER, D.; SCHEMER, R.; CLAUS, R. Analyse der Fruchtbarkeitssituation von Milchkühen post partum in Praxisbetrieben anhand von Progesteronprofilen. **Zuchthygiene**, v.24, n.2, p.67-78, 1989.
- 22- SHARPE, P.H.; KING, G.J. Postpartum ovarian function of dairy cows in a tropical environment. **Journal of Dairy Science**, v.64, n.4, p.672-7, 1981.
- 23- SLAMA, H.; ZAHM, B.; CHEM, J.; TAINIURIER, D. Reprise de l'activité ovarienne em période postpartum chez la vache laitière. **Revue de Médecine Vétérinaire**, v.147, n.6, p.453-6, 1996.
- 24- SMOLDERS, A.A.; THESINGH, M.S.H.; VOS, P.L.A.M.; WILLEMSE, A.H. Resumption of the ovarian cycle after calving. **Tijdschrift voor Diergeneeskunde**, v.121, n.21, p.610-4, 1996.
- 25- STUPNICKI, R.; MADEJ, A.; WOYNO, W.; BINIENDA, Z.; BARCIKOWSKI, B. Progesterone changes in postpartum uniparous cows. *In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION AND ARTIFICIAL INSEMINATION*, 9., Madrid, 1980. **Proceedings**. V.III. p.21.
- 26- THOMPSON, F.N.; CUADLE, A.B.; BROOKS, P.M.; SHARLIN, J.S.; SMITH, C.R. Milk progesterone in the postpartum cow. **Abstract American Society of Animal Science**, v.1, p.17, 1981.
- 27- VESANEN, M.; ISOMAA, V.; BOLTON, N.J.; ALANKO, M.; VIHKO, R. Bovine steroid hormone and SHBG concentrations postpartum and during the oestrus cycle. **Acta Scandinavica**, v.31, n.4, p.459-69, 1991.

Recebido para publicação: 10/07/1997

Aprovado para publicação: 19/12/1997