

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**SECREÇÕES UTERINAS EM VACAS LEITEIRAS MESTIÇAS DESTINADAS
AO DESCARTE NA REGIÃO DO TRIÂNGULO MINEIRO**

**RENATA BARBOSA ANDRADE
MÉDICA VETERINÁRIA**

**UBERLÂNDIA-MINAS GERAIS-BRASIL
Abril de 2017**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**SECREÇÕES UTERINAS EM VACAS LEITEIRAS MESTIÇAS DESTINADAS
AO DESCARTE NA REGIÃO DO TRIÂNGULO MINEIRO**

RENATA BARBOSA ANDRADE

Orientador: Prof. Dr. João Paulo Elsen Saut

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária – UFU, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias (Saúde Animal).

UBERLÂNDIA-MINAS GERAIS-BRASIL

Abril de 2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

A553s Andrade, Renata Barbosa, 1985
2017 Secréções uterinas em vacas leiteiras mestiças destinadas ao descarte
na região do Triângulo Mineiro / Renata Barbosa Andrade. - 2017.
45 p. : il.

Orientador: João Paulo Elsen Saut.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.
Inclui bibliografia.

1. Veterinária - Teses. 2. Bovino de leite - Doenças - Teses. 3.
Endometrite - Teses. 4. Histologia animal - Teses. I. Saut, João Paulo
Elsen. II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-
Graduação em Ciências Veterinárias. III. Título.

CDU: 619

Se você pode sonhar com isso você pode fazer isso.

Walt Disney

AGRADECIMENTOS

Agradecer é admitir que houve um momento em que se precisou de alguém. Ninguém e nada cresce sozinho; sempre é preciso um olhar de apoio, uma palavra de incentivo, um gesto de compreensão. Agradeço aos meus pais Wilson e Maria Teresinha, as minhas irmãs Rúbia e Vanessa e ao meu querido sobrinho Miguel que me deram amor, que sorriram para mim quando eu precisava. Ao meu professor orientador João Paulo e as colegas do Laboratório de Saúde em Grandes Animais na UFU (LASGRAN) Amanda, Rafaela, Thaisa e em especial a Paula que me indicaram e auxiliaram nos caminhos para desenvolver o trabalho. Aos meus amigos fiéis que me ajudaram nessa conquista, em especial a Maria Teresa, Juliano, Jairo, Maik e demais que participaram das coletas. E acima de tudo, a Deus que sempre está comigo. A todos vocês dedico essa vitória, com a mais profunda gratidão.

RESUMO

O considerável impacto econômico causado pela ocorrência de doenças uterinas em vacas leiteiras intensifica a realização de pesquisas sobre a prevalência das secreções uterinas e os métodos ideais de diagnóstico. O presente trabalho teve por finalidade determinar a prevalência da endometrite e cervicite em 453 peças do aparelho reprodutor de vacas mestiças leiteiras destinadas ao abate e verificar a concordância entre a presença de secreção nas regiões cervical e uterina e a confirmação na citologia e histologia. Além disso, avaliar a correlação entre endometrite e cervicite. Através da determinação da sensibilidade e especificidade e do índice *Kappa* verificou-se que a concordância entre a presença de secreção (uterina/cervical) e a técnica de citologia (*cytobrush*) endometrial e cervical foi baixa entre os dois métodos diagnósticos, também foi constatado que a histologia consiste em bom método diagnóstico, porém mais invasivo e de maior custo. Em relação à associação da cervicite e endometrite foi observada baixa concordância. Portanto, conclui-se que o diagnóstico das doenças uterinas realizado apenas pela presença das secreções é falho, sendo necessário um exame complementar citológico e se possível associado ao histológico, auxiliando na diminuição dos problemas reprodutivos e aumentando o desempenho reprodutivo das vacas leiteiras.

Palavras-chave: Endometrite, Cervicite, Citologia, Histologia.

ABSTRACT

The considerable economic impact caused by the occurrence of uterine diseases in dairy cows intensifies research on the prevalence of uterine secretions and the ideal methods of diagnosis. The objective of this study was to determine the prevalence of endometritis and cervicitis in 453 pieces of the reproductive apparatus of dairy cows destined to slaughter and to verify the concordance between the presence of secretion in the cervical and uterine regions and the confirmation in cytology and histology. In addition, to evaluate the correlation between endometritis and cervicitis. Through the determination of the sensitivity and specificity and the Kappa index, it was verified that the agreement between the presence of secretion (uterine / cervical) and the endometrial and cervical cytobrush technique was low between the two diagnostic methods, it was also verified that Histology consists of a good diagnostic method, but more invasive and higher cost. Regarding the association of cervicitis and endometritis, low concordance was observed. Therefore, it is concluded that the diagnosis of uterine diseases performed only by the presence of secretions is flawed, and a cytological and, if possible, histological examination is necessary, helping to reduce reproductive problems and increase the reproductive performance of dairy cows.

Key words: Endometritis, Cervicitis, Cytology, Histology.

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS | 10 |
| 1. INTRODUÇÃO | 10 |
| 2. REVISÃO DE LITERATURA | 12 |
| 2.1. Desempenho reprodutivo..... | 12 |
| 2.2. Períparto | 12 |
| 2.3. Função ovariana associada à doença uterina | 14 |
| 2.4. Mecanismo de defesa do útero | 15 |
| 2.5. Principais infecções uterinas | 17 |
| 2.5.1. Metrite | 17 |
| 2.5.2. Endometrite | 18 |
| 2.5.3. Cervicite | 19 |
| 2.6. Cervicite e sua correlação com a endometrite | 19 |
| 2.7. Alterações no útero ocasionadas por traumas (lesões) | 20 |
| REFERÊNCIAS | 21 |
| CAPÍTULO 2 – SECREÇÕES UTERINAS EM VACAS LEITEIRAS MESTIÇAS DESTINADAS AO DESCARTE NA REGIÃO DO TRIÂNGULO MINEIRO | 29 |
| 1. INTRODUÇÃO | 29 |
| 2. MATERIAL E MÉTODOS..... | 30 |
| 2.1. Coleta de material..... | 30 |
| 2.2. Processamento das amostras..... | 31 |
| 2.3. Diagnóstico das alterações do trato reprodutivo..... | 32 |
| 2.4. Análise estatística..... | 32 |
| 3. RESULTADOS | 32 |
| 3.1. Prevalência de secreções uterinas e cervicais..... | 32 |
| 3.2. Análise de concordância entre a avaliação da secreção e exame citológico | 34 |
| 3.3. Avaliação das lesões macroscópicas e histopatológicas..... | 35 |
| 3.4. Correlação entre a avaliação da secreção, lesão, citologia e histologia | 37 |
| 4. DISCUSSÃO | 37 |
| 5. CONCLUSÃO | 40 |
| REFERÊNCIAS | 41 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| FIGURA 1- Útero de vaca: com endometrite clínica - secreção purulenta (A), mucopurulenta (B), cervicite clínica – secreção purulenta (C) e mucopurulenta (D)..... | 33 |
| FIGURA 2 - Esfregaço citológico (40X) de útero (A) e cérvix (B) com presença de polimorfonucleares, círculos vermelhos indicando os neutrófilos..... | 34 |
| FIGURA 3- Histologia do útero com endométrio apresentando infiltrado inflamatório difuso intenso A - 10X (círculos vermelhos), glândulas endometriais degeneradas (círculo preto), hiperemia (seta verde) e B (referente ao círculo vermelho - 40X) com presença de polimorfonucleares..... | 35 |
| FIGURA 4- Histologia da cérvix com endométrio apresentando infiltrado inflamatório difuso intenso A (círculo preto) (10X) e B (círculo vermelho) (40X) com presença com presença de polimorfonucleares | 36 |
| FIGURA 5- Útero de vaca com presença de hematoma A (círculo preto) e histologia com vasos repletos de hemácias B (seta preta). Cérvix com presença de hiperemia C (círculo amarelo) e histologia com hemácias D (círculo azul)..... | 36 |
| FIGURA 6- Prevalência de endometrite e cervicite citológicas e presença de secreções de acordo com a presença ou ausência de alterações macroscópicas | 37 |

LISTA DE ABREVIASÕES

1. PGF_{2 α} Prostaglandina
2. DPP Dias pós-parto
3. BEN Balanço Energético Negativo
4. BHBA β -hidroxibutirato
5. NEFA Ácidos graxos não esterificados
6. IGF-1 Fator de crescimento semelhante a insulina tipo 1
7. LH Hormônio luteinizante
8. Ig Imunoglobulinas
9. E₂ Estrógeno
10. CL Corpo lúteo
11. MAMP's Padrões moleculares microbianos
12. TLR's Toll-like receptors
13. CLR's C-type lectin receptors
14. NLR's Nucleotidebinding oligomerization domain-like
15. RLR's Retinoic acid-inducible gene I-like receptors
16. IEP Intervalo entre partos
17. MG Minas Gerais
18. S.I.M Serviço de Inspeção Municipal
19. GTA Guia de trânsito animal
20. PMN's Polimorfonucleares

CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. INTRODUÇÃO

Devido à globalização, a bovinocultura, considerada uma das explorações de maior importância econômica no Brasil, passou por aprimoramento no tocante ao aumento na produtividade e qualidade do produto disponibilizado (RAMOS et al., 2001). Com o aumento do consumo de leite e seus derivados, houve uma demanda na produtividade dos rebanhos leiteiros que aumentaram consideravelmente. Em contrapartida observou-se redução da eficiência reprodutiva, comprometendo as indústrias de laticínios, visto que a produção de leite está interligada a capacidade de prenhez da vaca (LUCY, 2001; OLTENACU e ALGERS, 2005).

Vacas leiteiras no periparto diminuem a ingestão de alimentos e consequentemente ocorre depressão do sistema imunológico, ficando predispostas ao estabelecimento de doenças puerperais (SORDILLO, 2009) que estão diretamente relacionadas com a redução da fertilidade (LUCY, 2001). Doenças uterinas causam diminuição nas taxas de concepção, aumento no intervalo entre partos e no descarte de vacas por falhas reprodutivas (LEBLANC et al., 2002a). A identificação do animal doente, bem como a intervenção para sua recuperação é essencial na tentativa de minimizar os danos causados pelas doenças puerperais à eficiência produtiva e reprodutiva do rebanho (SMITH e RISCO, 2005).

Devido às alterações nos mecanismos de defesa, que favorecem o estabelecimento de infecções uterinas (MATEUS et al., 2002; SHELDON et al., 2008; SENOSY et al., 2009), vacas com complicações puerperais possuem involução uterina mais lenta do que vacas com puerpério fisiológico. Entretanto estas enfermidades uterinas puerperais não impedem o aparecimento do primeiro estro, porém o corpo lúteo resultante desse estro pode persistir em alguns casos pelo fato do útero infectado não produzir prostaglandina ($\text{PGF}_{2\alpha}$) sendo fator luteolítico natural (LANSIAUX, 1984 apud FERREIRA et al., 2000), perpetuando a condição patológica, provavelmente por manter o útero sob a influência da progesterona, favorecendo a multiplicação de microrganismos ao reduzir a resistência do endométrio à infecção (JACKSON, 1977 apud FERREIRA et al., 2000).

O equilíbrio entre a infecção bacteriana do útero após o parto e a eficácia do sistema imune à resposta inflamatória determinam a incidência de doenças do aparelho reprodutor

(SHELDON e DOBSON, 2004). Diferentes graus de infecção uterina resultam em respostas inflamatórias distintas, que podem ser exacerbadas e/ou persistentes e, em alguns casos, evoluir para óbito (YUNHE et al., 2013).

As doenças uterinas estão associadas à subfertilidade e infertilidade (KOSSAIBATI e ESSLEMONT, 1997; ESSLEMONT e KOSSAIBATI, 2002). Estes efeitos sobre a fertilidade e os custos do tratamento demonstram que esta é uma condição onerosa, desafiando a indústria de laticínios. A alta incidência de doença uterina em bovinos sugere que pode haver falhas na criação de vacas leiteiras desde a fase de bezerras, ou ainda, uma predisposição racial. Além disso, perdas financeiras associadas à infecção uterina são dependentes do custo do tratamento, redução da produção de leite, infertilidade e dias não produtivos que o animal passa a somar para a propriedade. Doenças uterinas provindas de traumas também geram custos e podem causar infertilidade (SHELDON et al., 2008).

Metrite e endometrite estão associadas à diminuição da taxa de prenhez e consequentemente descarte involuntário (BARTLETT et al., 1986; SHELDON e DOBSON, 2004; GILBERT et al., 2005). De acordo com Rutigliano et al. (2008), vacas diagnosticadas com retenção de placenta e metrite pós-parto possuem duas vezes mais chances de desenvolverem endometrite após 30 dias pós-parto (DPP). Já a endometrite subclínica é caracterizada pelo aumento da proporção de polimorfonucleares, especialmente neutrófilos, diagnosticada através da citologia uterina (KAUFMANN et al., 2009).

Os custos com tratamento podem ser elevados e por isso a prevenção é o método mais eficaz para reduzir problemas reprodutivos sendo imprescindíveis para o controle de doenças reprodutivas (SMITH et al., 2005). Para tanto, compreender a interação entre metabolismo no animal e inflamação pode auxiliar na prevenção de doenças reprodutivas através da nutrição, buscando aumentar o consumo de alimentos no período de transição, com o intuito de melhorar a função imune no período de transição (LEBLANC, 2008) e diagnóstico precoce das doenças com tratamentos adequados e direcionados (SMITH e RISCO, 2005; SHELDON e DOBSON, 2004). Além disso, a observação dos parâmetros produtivos e reprodutivos é essencial para o controle de doenças pós-parto (SHELDON e DOBSON, 2004; SMITH e RISCO, 2005).

Pelo fato do desempenho reprodutivo impactar diretamente no sucesso da produção leiteira, otimizar a eficiência reprodutiva contribui para melhorar as unidades de

produção. Além disso, controlar essas doenças é importante para a manutenção da saúde e bem-estar das vacas leiteiras (GILBERT, 2016).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Desempenho reprodutivo

O desempenho reprodutivo de vacas leiteiras após o período voluntário de espera está relacionado com a saúde uterina após o parto (DIJKHUIZEN e STELWAGEN, 1985; FERGUSON e GALLIGAN, 2000). Neste período é preciso que haja supressão bacteriana, restauração do endométrio, retorno ovariano à ciclicidade e involução uterina (NOAKES et al., 2001). Segundo Noakes et al. (2001), o intervalo completo de involução uterina ocorre entre 26 a 52 dias após o parto, as alterações após 20 a 25 dias pós-parto geralmente são quase imperceptíveis.

De acordo com Sheldon et al. (2009), vacas leiteiras podem apresentar contaminação bacteriana no útero até duas a três semanas após o parto. Isto se deve, em parte, à redução da função imune inata, o que prejudica a regulação da inflamação durante o periparto.

Esta modulação da inflamação uterina é fundamental para o processo de involução uterina e reparação do endométrio. No entanto, o crescimento de bactérias patogênicas pode superar as defesas imunes inatas, ou prolongar a inflamação, impactando na fertilidade por favorecer a ocorrência das doenças uterinas (LEBLANC, 2014).

Outros fatores que interferem no desempenho reprodutivo da vaca leiteira são a ordem de parto, o período seco, o balanço energético negativo e o estresse por calor (SANTOLARIA et al., 2012). Além disso, o estado clínico e/ou metabólico dos animais também pode interferir negativamente na eficiência reprodutiva do rebanho, como quadros de cetose e hipocalcemia (LÓPEZ et al., 2006; FOURICHON et al., 2000).

2.2. Periparto

A função imune prejudicada está associada à diminuição de calorias do periparto, período que o crescimento do feto se contrapõe a ingestão de matéria seca, que diminui em cerca de 20% não atendendo às demandas metabólicas iniciais da lactação (INGVARTSEN, 2006; GOFF et al., 1997). Com isto, a vaca entra no quadro de balanço energético negativo (BEN) resultando em deficiências nutricionais transitórias, seja por

desbalanço mineral (cálcio, fósforo, zinco, magnésio, cobre e iodo) ou de vitaminas A e D (GALIMBERTI et al., 1977). Alterações bruscas nas concentrações de progesterona e estrógeno ao final da gestação, associados ao aumento de cortisol no momento do parto e o BEN também prejudicam a função imune das vacas (INGVARTSEN, 2006; GOFF et al., 1997). Em ruminantes é comum usar β -hidroxibutirato (BHBA) e ácidos graxos não esterificados (NEFA) como indicadores do metabolismo energético (KIDA, 2003) por aumentarem proporcionalmente à mobilização de reservas lipídicas (GONZÁLEZ, 2000).

A captação de NEFA pelo figado aumenta em condições de intensa mobilização de gordura e o órgão pode acumular triglicerídeos no seu interior. Os NEFA são convertidos a corpos cetônicos, em momentos de intensa lipólise, e usados como fonte de energia (DRACKLEY, 2001).

Predominantemente os corpos cetônicos apresentam-se na forma de BHBA (WATHES, 2007) e o acúmulo desses compostos no organismo acima do considerado normal caracteriza o quadro de cetose. Em altas concentrações, o BHBA pode estar relacionado à deficiência energética e imunossupressão, o que favorece o surgimento de doenças no pós-parto (DRACKLEY, 1999; GOFF e HORST, 1996; GRUMMER, 1995).

O aumento das concentrações de BHBA e NEFA em vacas são indicadores de balanço energético negativo e o aumento das concentrações destes metabólitos está associado à baixa eficiência reprodutiva (OSPINAS 2010; WALSH 2007).

Segundo Sartori e Guardieiro (2010), vacas em BEN apresentam altas concentrações sanguíneas de NEFA, BHBA e ureia, enquanto as taxas de glicose, insulina e fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1) estão baixas, pois são destinados a síntese láctea. Tais alterações estão comumente associadas a problemas reprodutivos devido ao comprometimento da função ovariana e da fertilidade.

Os NEFA tem ação sobre o hipotálamo e hipófise, atuando como mensageiros metabólicos, afetando a secreção de gonadotrofinas (CANFIELD e BUTLER, 1990).

Segundo Marr et al. (2002), BHBA resulta da neoglicogênese em vacas em BEN e tem a capacidade de inibir a produção folicular de estradiol e a ovulação e, assim como os NEFA, atuam no hipotálamo reduzindo a frequência dos pulsos de LH e nos ovários, diminuem a sensibilidade ao IGF-1 e insulina.

Além das alterações metabólicas, as vacas desenvolvem resistência à insulina. A insulina restaura a responsividade do hormônio do crescimento e aumenta a secreção folicular de estradiol, o que contribui juntamente com o BEN para a determinação da

intensidade e duração da infecção (BUTLER et al., 2004). Este conjunto de fatores atuam na patogênese de desordens uterinas pós-parto, incluindo retenção de placenta, metrite, endometrite e distúrbios ovarianos como anestro e cistos foliculares (GILBERT, 2016).

De acordo com Leblanc (2014), a contaminação bacteriana que ocorre no momento do parto é responsável por desencadear o processo inflamatório no útero. Além disso, o autor afirma existir uma interrelação entre o *status* energético e função imune. Neste sentido, a resposta imunológica primária à infecção uterina é realizada através dos leucócitos polimorfonucleares principalmente os neutrófilos. Além destes, os macrófagos são importantes para a detecção de padrões moleculares associados ao patógeno e doença reprodutiva pós-parto, iniciando uma resposta inflamatória rápida, eficaz e limitada.

2.3. Função ovariana associada à doença uterina

A função endócrina anormal das células uterinas pode afetar não apenas a capacidade do útero em manter um embrião, mas também a função ovariana (SHELDON et al., 2008).

Para LeBlanc et al. (2002 b, a), Heuwieser et al. (2000) e Sheldon e Noakes (1998), indução de luteólise e estro é um dos tratamentos mais eficazes para a infecção uterina. A fase estrogênica promove vasodilatação, com maior aporte sanguíneo e consequentemente aumento na concentração de imunoglobulinas, além de contratilidade uterina. Em fase progesterônica, há menor resistência às infecções devido à diminuição da contratilidade uterina e da atividade leucocitária, em função do influxo sanguíneo reduzido e pela imunossupressão durante a gestação (NASCIMENTO e SANTOS, 1997).

Os esteróides ovarianos modulam a resposta das células uterinas contra patógenos uterinos assim como os fatores dietéticos e o BEN que são importantes para a função neutrofílica e resposta imune (HERATH et al., 2006).

Durante o BEN há um aumento na concentração de NEFA circulantes, bem como redução glicemia, insulina e IGF-1. Estas alterações metabólicas reduzem os pulsos de hormônio luteinizante (LH), necessários para estimular o desenvolvimento de folículos ovarianos, reduzindo também a resposta ovariana às gonadotrofinas. A diminuição de esteroides nos ovários, estrógeno nos folículos e progesterona após a ovulação, promovem atraso na involução uterina e o restabelecimento reprodutivo (BUTLER, 2008).

2.4. Mecanismos de defesa do útero

Durante a resposta inflamatória, devido ao maior aporte sanguíneo e aumento do metabolismo celular (SORDILLO et al., 2009) ocorre a liberação de citocinas, quimiocinas, peptídeos antimicrobianos, proteínas de fase aguda, prostaglandinas, entre outras substâncias imunomodulatórias (SHELDON e DOBSON, 2004).

A imunidade inata é fundamental na identificação dos microrganismos invasores e controle da contaminação uterina em vacas, atuando por meio de respostas fisiológicas fagocitárias e inflamatórias, iniciando a proteção quando o hospedeiro é exposto pela primeira vez a um agente infeccioso (SORDILLO et al., 2009). Este processo inclui as barreiras fisiológicas da pele e mucosas, os peptídeos antimicrobianos, o sistema complemento e as células hematopoiéticas que localizam e eliminam os patógenos, como monócitos, macrófagos, neutrófilos, eosinófilos e células *Natural Killer* (TURNER et al., 2012; TAKEUCHI e AKIRA, 2010).

A defesa do hospedeiro contra determinadas substâncias e microrganismos potencialmente patogênicos também está associada às células do epitélio e do estroma de que constituem barreiras passivas contra a infecção. Ademais as células epiteliais e estromais são reconhecidas pelas estratégias de defesa mediadas pela imunidade inata e ativação da imunidade adquirida (TURNER et al., 2012; TAKEUCHI e AKIRA, 2010).

Em caso de falha na imunidade inata, a resposta imunológica adquirida é ativada (JANEWAY e MEDZHITOV, 2002), podendo ser do tipo humorai, quando efetuada pelos linfócitos B, e/ou celular quando realizada pelos linfócitos T. A memória imunológica confere proteção ao hospedeiro quando o mesmo antígeno volta a lhe causar injúria (SORDILLO et al., 2009; WERLING e JUNGI, 2003). As imunidades inata e adquirida devem interagir de forma coordenada e equilibrada, garantindo a defesa do hospedeiro. A supressão do patógeno deve ser realizada por meio de respostas imunológicas reguladas para evitar prejuízos aos tecidos do hospedeiro (SORDILLO et al., 2009).

Outro importante mecanismo de defesa após o parto é a contratilidade do miométrio, que promove a expulsão do conteúdo uterino. Vacas com puerpério fisiológico apresentam rápida involução do útero e da cérvix, com consequente eliminação da contaminação bacteriana por meio de descargas uterinas em função das contrações uterinas (AZAWI, 2008). Este mecanismo associado à produção de muco pelas glândulas endometriais, especialmente durante o estro, caracterizam importantes respostas

fisiológicas contra a contaminação bacteriana (AZAWI, 2008; SHELDON e DOBSON, 2004). Considera-se que a resposta mediada por neutrófilos seja a mais importante das respostas leucocitárias (AZAWI, 2008; HAMMON et al., 2006; SHELDON e DOBSON, 2004; LEWIS, 1997; HUSSAIN e DANIEL, 1992).

Logo após o parto, as carúnculas proporcionam, por quimiotaxia, a migração das células de defesa da circulação sanguínea para a superfície do endométrio (HUSSAIN e DANIEL, 1992; MARQUES JÚNIOR, 1993). Os neutrófilos são as células de defesa recrutadas previamente da circulação sanguínea para o ambiente uterino no intuito de combater os patógenos. Posteriormente, macrófagos também auxiliam na remoção destes patógenos (SHELDON e DOBSON, 2004).

A defesa humoral também pode ser verificada através da dosagem de imunoglobulinas (Ig) nas secreções uterina e vaginal. Watson et al. (1990) e Dhaliwal et al. (2001) infectaram vacas experimentalmente, através da infusão intrauterina de *Archacobacterium pyogenes*, e verificaram aumento dos títulos de IgM, IgG e IgA após o estabelecimento de endometrites, sem alteração dos títulos na circulação sanguínea, indicando que há produção de imunoglobulinas no útero e na vagina. A IgA, encontrada principalmente no muco vaginal, é a principal imunoglobulina que atua na proteção contra os agentes patogênicos, enquanto a IgG, tem como função proteger esse órgão contra os agentes patogênicos e suas toxinas (WATSON et al., 1990).

Os hormônios também atuam na defesa uterina, os principais envolvidos no mecanismo de defesa hormonal são a prostaglandina (PGF_{2α}) e o estrógeno (E₂). A progesterona é considerada imunossupressora, visto que inibe os mecanismos de defesa do útero, podendo atrapalhar o processo de involução e predispor o útero a infecções (DHALIWAL et al., 2001; SEALS et al., 2002; LEWIS, 2003 e 2004).

O estrógeno acelera a defesa imunológica do útero ao aumentar a vascularização do endométrio, assim como a contratilidade do miométrio e favorecer a produção de muco, auxiliando na limpeza uterina (SHELDON et al., 2003; AZAWI, 2008).

A prostaglandina é produzida principalmente pelo endométrio após o parto e é responsável por promover a lise do corpo lúteo (CL), e a síntese de leucotrienos B4, por se tratar de uma molécula pró-inflamatória que estimula a produção de citocinas. Os leucotrienos, por sua vez, são quimiotáticos, isto é, atraem neutrófilos, estimulam a fagocitose e a função dos linfócitos na superfície do endométrio (FERNANDES e FIGUEIREDO, 2007; LEWIS, 2004, 2003 e 1997).

A concentração de prostaglandina na circulação é maior nos primeiros sete dias após o parto, o que coincide com a maior velocidade da involução uterina. Baixas concentrações ocorrem em torno de 15 dias após o parto, quando ocorre o aumento da concentração de progesterona circulante (KOZICKI, 1998).

Os receptores de padrões moleculares microbianos, denominados “padrões moleculares microbianos” ou MAMPs, são componentes estruturais conservados durante o processo de evolução que também constituem importante fator de mecanismo de defesa do endométrio (AUSUBEL, 2005).

Estes imunoestimuladores na superfície dos patógenos possibilitam o seu reconhecimento por receptores característicos do hospedeiro, presentes na circulação sanguínea, como componentes do sistema complemento, ou ligados à superfície de células hospedeiras. Esses receptores podem desencadear a fagocitose do patógeno e estimular a expressão gênica da célula hospedeira, promovendo a indução de respostas imunes inatas (BEUTLER, 2004).

Quatro classes de receptores de padrões moleculares microbianos já foram identificadas: os TLRs (*Toll-Like Receptors*) e CLRs (*C-type Lectin Receptors*), que são proteínas transmembranares, os NLRs (*Nucleotidebinding Oligomerization Domain-Like Receptors*) e RLRs (*Retinoic acid-inducible gene I-Like Receptors*), que são proteínas citoplasmáticas. As células epiteliais e estromais do endométrio de bovinos expressam a maioria desses receptores. A interação entre os MAMPs e seus respectivos receptores promove a ativação da cascata de sinalização celular e elaboração da resposta imunológica, verificando-se transcrição de imunomediadores, ativação da resposta inflamatória e fagocitose dos microrganismos (SCHAEFER et al., 2004; AKIRA, 2003).

2.5. Principais infecções uterinas

2.5.1. Metrite

Doença clínica que afeta o bem-estar das vacas e reduz a produção leiteira. Envolve todas as camadas da parede uterina podendo ocorrer hemorragia, edema, infiltração leucocitária e degeneração tecidual (GIULIODORI et al., 2013; DUBUC et al., 2011; OVERTON e FETROW, 2008). A metrite é classificada em leve (útero aumentado de volume, associado à descarga uterina amarronzada purulenta, podendo apresentar odor fétido, sem a presença de sinais sistêmicos); moderada (quando além dos sinais citados anteriormente há hipertermia, queda na produção leiteira e apatia) e grave (presença de

toxemia, inapetência e depressão) (SHELDON et al., 2009; WILLIAMS et al., 2005).

As principais bactérias responsáveis por causar metrite são: *Escherichia coli*, *Trueperella pyogenes*, e os anaeróbios gram-negativos *Prevotella melaninogenica* (BICALHO et al., 2012; MACHADO et al., 2012; SANTOS et al., 2012).

2.5.2. Endometrite

Processo inflamatório que impacta negativamente na eficiência reprodutiva dos rebanhos, por não propiciar ambiente uterino adequado para a gestação, o que leva à ocorrência de repetição de cíos com consequente aumento no intervalo entre partos (IEP) e dias não produtivos do animal. (NASCIMENTO e SANTOS, 2003). Com uma prevalência geral de endometrite em cerca 26% entre 40 a 60 DPP, podendo variar de 5% até 50% (CHEONG et al., 2011; DUBUC et al, 2010a).

Histologicamente, a endometrite é definida como inflamação das células do endométrio uterino, com ruptura ou não da camada epitelial (BONDURANT, 1999). O diagnóstico histopatológico permite visualização de todas às camadas do útero e classificação da inflamação em aguda ou crônica (CHAPWANYA, 2010; BONNETT, 1991), entretanto, sua realização a campo é dificultada pelo fato de exigir uma biópsia uterina, o que poderia agravar o estado do animal, podendo levá-lo à septicemia, o que torna um método pouco utilizado.

A endometrite clínica está associada à infecção uterina (WILLIAMS et al., 2005), caracterizada pela presença de secreção uterina purulenta detectável na vagina entre 21 e 26 DPP ou mucopurulento detectável na vagina após 26 DPP (SHELDON et al., 2009). O escore de endometrite de acordo com o aspecto da secreção a partir de 21 DPP pode ser utilizado como prognóstico para o tratamento e evolução da doença (SHELDON e NOAKES, 1998).

Gautam et al. (2010) classificaram a endometrite clínica em grau 1 pela presença de secreção cervicovaginal com estriações de pus; grau 2, secreção mucopurulenta; grau 3, secreção purulenta; e grau 4, secreção mucopurulenta ou purulenta, com presença de conteúdo uterino.

Dentre os principais agentes infecciosos causadores da endometrite clínica, destacam-se: *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Escherichia coli*, *Proteus spp.* e *Actinomyces pyogenes*, produzindo infecções isoladas ou mistas, assim como *Clostridium*

spp, *Micrococcus*, *Pseudomonas spp.*, *Enterobacter spp.* e *Bacillus spp.* (ANDRADE, 2005; CARLTON, 1998).

A endometrite subclínica ou citológica é uma doença crônica caracterizada pela presença de polimorfonucleares (principalmente neutrófilos) ao exame citológico, na ausência de sinais clínicos de inflamação e exsudato purulento (GILBERT, 2004). Ocorre frequentemente em vacas leiteiras e está associada a prejuízos econômicos e baixo desempenho reprodutivo, com aumento do intervalo entre partos, baixa taxa de concepção e repetição de cios (HAMMON et al., 2006; LEBLANC et al., 2002a), com aumento do intervalo entre partos, baixa taxa de concepção e repetição de cios (SHELDON et al., 2008; DUBUC et al., 2010a; BONNEVILLE-HÉBERT et al., 2011).

Como não pode ser detectada por simples inspeção visual, a citologia é a técnica preferida para o diagnóstico, principalmente por ser simples, de baixo custo e menos invasiva comparado a histologia (GILBERT, 2005; KASIMANICKAM, 2004 e 2005).

2.5.3. Cervicite

A cérvix representa a barreira física entre a vagina e o útero (WEHREND et al., 2003). A cervicite afeta 15% a 40% das vacas leiteiras e gera perdas econômicas substanciais por afetar o desempenho reprodutivo dos animais (DEGUILLAUME et al., 2012). É definida clinicamente pela presença de edema cervical à vaginoscopia, associado à congestão da mucosa, aumento e endurecimento do colo e presença de flocos de pus na vagina (GRUNERT et al., 2005). Histologicamente é definida pela presença de infiltrado inflamatório na mucosa cervical (SANTOS et al., 2011). À citologia, a presença de polimorfonucleares superior a 5% já evidencia prejuízos na taxa de concepção (DEGUILLAUME et al., 2012). Para Gilbert (2016) a cervicite é a principal causa de exsudato vaginal em bovinos, na ausência de inflamação endometrial.

2.6. Cervicite e sua correlação com a endometrite

Deguillaume et al. (2012), através da citologia descobriram que a cervicite existe independentemente da endometrite, a prevalência de endometrite isolada foi de 13%, cervicite 11% e 32% das vacas tinham ambas as condições. Tanto a cervicite como a endometrite contribuíram para reduzir a taxa de prenhez, e as vacas acometidas pelas duas doenças tiveram mais problemas reprodutivos do que aquelas com apenas uma.

Dubuc et al. (2010b) constataram que a endometrite apresenta efeito na reprodução e que tinham fatores de risco distintos da cervicite. A endometrite está associada ao balanço energético negativo, enquanto a cervicite, na maioria dos casos, ocorre em consequência de complicações obstétricas. Além disso, os autores afirmam que ambas as condições são mais frequentes em vacas que apresentaram metrite puerperal aguda.

Segundo Deguillaume et al. (2012), aproximadamente metade das vacas com endometrite clínica também apresentam cervicite, e 50% a 75% das vacas com endometrite subclínica têm cervicite. Segundo Leblanc (2014) o tratamento da cervicite não foi estudado diretamente. Suspeita-se que o benefício observado do tratamento da endometrite clínica inclui-se benefícios para algumas vacas com cervicite, porém o tratamento para endometrite subclínica não representa benefícios para a cervicite.

2.7. Alterações no útero ocasionadas por traumas (lesões)

O risco de uma vaca não emprenhar após período de serviço ideal pode ser atribuído a infecções uterinas ou traumas. Traumas e falhas na atividade ovariana podem causar infertilidade em vacas (SHELDON et al., 2008). Traumas, associado à lesão do endométrio, possivelmente causa a liberação de compostos denominados auto-anticorpos (imunoglobulinas) presentes no plasma sanguíneo da fêmea, que, em contato com os espermatozóides ou embriões não os reconhecem como células próprias do organismo impactando diretamente na eficiência reprodutiva dos animais (RAIMUNDO, 2014).

Os traumas também estão relacionados a infecção puerperal do útero com a falha nos mecanismos de imunidade uterina e elevada contaminação bacteriana no útero, juntamente com a distocia, retenção das membranas fetais e higiene deficiente (MATEUS et al., 2002).

Segundo Sheldon et al. (2009), os traumas e infecção bacteriana têm maior importância na endometrite clínica, enquanto a resposta imune é mais importante na endometrite citológica. Segundo Palma (2001), a endometrite subclínica é causada geralmente por algum trauma mecânico favorecendo a entrada de bactérias no lúmen uterino.

REFERÊNCIAS

- AKIRA, S. Mammalian Toll-like receptors. **Current Opinion in Immunology**, v. 15, p. 5-11, 2003.
- ANDRADE, J. R. A.; SILVA, N.; SILVEIRA, W.; TEIXEIRA, M. C. C. Estudo epidemiológico de problemas reprodutivos em rebanhos bovinos na bacia leiteira de Goiânia. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 57, n. 06, 2005.
- AUSUBEL, F. M. Are innate immune signaling pathways in plants and animals conserved? **Nature Immunology**, v. 6, p. 973-979, 2005.
- AZAWI O. I. Postpartum uterine infection in cattle. **Animal Reproduction Science**, v.105, p.187-208, 2008.
- BARTLETT, P. C., J. H. KIRK, M. A. WILKE, J. B. KANEENE, E. C. MATHER. Metritis complex in Michigan Holstein-Friesian cattle: Incidence, descriptive epidemiology and estimated economic impact. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 4, p.235–248, 1986.
- BEUTLER B. Innate immunity: an overview. **Molecular Immunology**, v.40, p.845-859, 2004.
- BICALHO M. L.; MACHADO V. S.; OIKONOMOU G.; GILBERT, R. O.; BICALHO R. C. Association between virulence factors of Escherichia coli, Fusobacterium necrophorum, and Arcanobacterium pyogenes and uterine diseases of dairy cows. **Veterinary Microbiology**; v. 157 (1–2), p.125–31, 2012.
- BONDURANT, R. Inflammation in the bovine female reproductive tract. **Journal of Animal Science**, v. 77, p. 101–110, 1999.
- BONNEVILLE-HÉBERT, A.; BOUCHARD, E.; TREMBLAY, D. D.; LEFEBVRE, R. Effect of reproductive disorders and parity on repeat breeder status and culling of dairy cows in Quebec. **The Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 75, n. 2, p. 147-151, 2011.
- BONNETT B. N.; MILLER R. B.; ETHERINGTON W. G.; MARTIN S. W.; JOHNSON W. H. Endometrial biopsy in Holstein-Friesian dairy cows. I. Technique, histological criteria and results. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 55, p.155, 1991.
- BUTLER S. T.; PELTON S. H.; BUTLER W. R. Insulin increases 17 beta-estradiol production by the dominant follicle of the first postpartum follicle wave in dairy cows. **Reproduction**. v. 127(5), p.537–45, 2004.
- BUTLER, W. R. Efeito do balanço energético negativo na fertilidade de vacas leiteiras. In: Curso de Novos Enfoques na Reprodução e Produção de Bovinos. **Anais...** Uberlândia: p.26-36, 2008.

CANFIELD, R. W.; BUTLER, W. R. Energy balance and pulsatile luteinizing hormone in early postpartum dairy cows. **Domestic Animal Endocrinology**, v.7, p. 323-330, 1990.

CARLTON, W. W.; MCGAVIN; tradução, BARROS, C. S. L. **Patologia Veterinária** Especial de Thomson. 2^a ed.; Porto Alegre – RS; Ed. ArtMed, p. 547 – 552, 1998.

CHAPWANYA A.; MEADE K. G.; NARCIANDI F.; STANLEY P.; MEE J. F.; DOHERTY M; CALLANAN J. J.; O'FARRELLY C. Endometrial biopsy: a valuable clinical and research tool in bovine reproduction. **Theriogenology**, v. 73, p. 988–94, 2010.

CHEONG, S. H.; NYDAM, D. V.; GALVÃO K. N.; CROSIER, B. M.; GILBERT R. O. Cow-level and herd-level risk factors for subclinical endometritis in lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 94(2), p.762–770, 2011.

DEGUILLAUME L.; GEFFRE A.; DESQUILBET L.; DIZIEN A.; THOUMIRE S.; VORNIERE C.; CONSTANT, F.; FOURNIER, R.; CHASTANTMAILLARD, S. Effect of endocervical inflammation on days to conception in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 95, p.1776–1783, 2012.

DHALIWAL, G. S.; MURRAY R. D.; WOLDEHIWET Z. Some aspects of immunology of the bovine uterus related to treatments for endometritis. **Animal Reproduction Science**, v.67, p.135-152, 2001.

DIJKHUIZEN, A. A.; STELWAGEN, J. R. Economic aspects of reproductive failure in dairy cattle. I. Financial loss at the farm level. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 3, p. 251-263, 1985.

DRACKLEY, J. K. Biology of Dairy Cows During the Transition Period: the Final Frontier? **Journal of Dairy Science**, v.82, p.2259-2273. 1999.

DRACKLEY, J. K.; OVERTON, T. R.; DOUGLAS N. G. Adaptations of glucose and long chain fatty acid metabolism in live of dairy cows during the periparturient period. **Journal of Dairy Science**, v. 84, p.100-112. 2001.

DUBUC J., DUFFIELD T. F.; LESLIE K. E., WALTON, J. S.; LEBLANC, S. J. Definitions and diagnosis of postpartum endometritis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 93(11), p.5225–5233, 2010a.

DUBUC J., DUFFIELD T.F.; LESLIE K.E., WALTON, J. S.; LEBLANC, S. J. Risk factors for postpartum uterine diseases in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 93(12), p.5764–5771, 2010 b.

DUBUC, J.; DUFFIELD, T. F.; LESLIE, K. E.; WALTON J. S.; LEBLANC S. J. Randomized clinical trial of antibiotic and prostaglandin treatments for uterine health and reproductive performance in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 94, p.1325–1338, 2011.

ESSLEMONT, D.; KOSSAIBATI, M. A. The Cost of Poor Fertility and Disease in UK Dairy Herds. Intervet UK Ltd., City, p. 146, 2002.

FERGUSON, J. D. D. T.; GALLIGAN. Assessment of reproductive efficiency in dairy herds. **Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian**, v. 22, p. 150-158, 2000.

FERNANDES C. A. C.; FIGUEIREDO A. C. S. Avanços na utilização de prostaglandinas na reprodução de bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 31, p. 406-414, 2007.

FERREIRA, A. M.; SÁ, W. F.; VIANA, J. H. M.; FERNANDES, C. A. C; FREITAS, C. Corpo lúteo persistente associado a infecções uterinas em rebanhos leiteiros da Zona da Mata-MG. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v.7, n.1, p. 25-28, 2000.

FOURICHON C, SEEVERS H, MALHER X. Effect of disease on reproduction in the dairy cow: a meta-analysis. **Theriogenology**; v. 53, p.1729–59, 2000.

GALIMBERTI; BERTONI, G.; CAPPA, V. La determinazione del profilo metabólico quale mezzo per evidenziare le cause alimentari di l'ipofertilitá bovina. **Zootecnia e Nutrizione Animale**, v.3, p. 237-245, 1997.

GAUTAM, G.; NAKAO, T.; KOIKE, K.; LONG, S. T.; YUSUF, M.; RANASINGHE, R. M.; HAYASHI, A. Spontaneous recovery or persistence of postpartum endometritis and risk factors for its persistence in Holstein cows. **Theriogenology**, v. 73, p. 168-179, 2010.

GILBERT, R. O. Uterine Disease in the Postpartum Period. **15th International Congress on Animal Reproduction**. Brazilian College of Animal Reproduction, Porto Seguro, Brazil, p.66–73, 2004.

GILBERT, R. O. S. T.; SHIN, C. L.; GUARD, H. N.; ERB, M. FRAJBLAT. Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. **Theriogenology**, v. 64, p.1879–1888, 2005.

GILBERT, R. O. Management of Reproductive Disease in Dairy Cows. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 32, p. 387–410, 2016.

GIULIODORI, M. J.; MAGNASCO, R. P.; BECU-VILLALOBOS, D.; LACAU-MENGIDO, I. M.; RISCO, C. A.; DE LA SOTA, R. L. Metritis in dairy cows: risk factors and reproductive performance. **Journal of Dairy Science**, v. 96, p. 3621–3631, 2013.

GOFF, J. P.; HORST, R. L. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. **Journal of Dairy Science**, v.80, p. 1260–8, 1997.

GONZÁLEZ, F. H. D. Uso do perfil metabólico para determinar o status nutricional em gado de corte. In: Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais. Porto Alegre: Brasil. UFRGS, p.63-74, 2000.

- GRUMMER, R. R. Impact of changes organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. **Journal of Dairy Science**, v.73, p.2820-2833. 1995.
- GRUNERT, E.; BIRGEL, E. H.; VALE W. G. **Patologia e clínica da reprodução dos animais mamíferos domésticos**, São Paulo, ed. Varela, p. 170-175, 2005.
- HAMMON, D. S.; EVJEN, I. M.; DHIMAN, T. R.; GOFF, J. P.; WALTERS, J. L. Neutrophil function and energy status in Holstein cows with uterine health disorders. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 113, p. 21-29, 2006.
- HERATH, S.; FISCHER, D.P.; WERLING, D.; WILLIAMS, E.J.; LILLY, S.T.; DOBSON, H.; BRYANT, C.E.; SHELDON, I.M. Expression and function of Toll-like receptor 4 in the endometrial cells of the uterus. **Endocrinology**, v. 147, p. 562–570, 2006.
- HEUWIESER, W.; TENHAGEN, B. A.; TISCHER, M.; LUHR, J.; BLUM, H. Effect of three programs for the treatment of endometritis on the reproductive performance of a dairy herd. **Vet Rec**, v. 146, p. 338–341, 2000.
- HUSSAIN, A. M.; DANIEL, R. C. W. Phagocytosis fluid and blood neutrophils and hematological changes in postpartum cows following normal and abnormal parturition. **Theriogenology**, v. 37, p. 1253-1267, 1992.
- INGVARTSEN K. L. Feeding-and management-related diseases in the transition cow - Physiological adaptations around calving and strategies to reduce feeding-related diseases. **Animal Feed Science and Technology**, v.126, p.175–213, 2006.
- JANEWAY, C. A.; MEDZHITOY, R. Innate immune recognition. **Annual Review of Immunology**, v. 20, p. 197-216, 2002.
- KAUFMANN T. B.; DRILLICH M.; TENHAGEN B. A.; FORDERUNG D.; HEUWIESER W. Prevalence of bovine subclinical endometritis 4 h after insemination and its effects on first service conception rate. **Theriogenology**, v. 71, p. 385-391, 2009.
- KASIMANICKAM R.; DUFFIELD T.; FOSTER R.; GARTLEY C.; LESLIE K.; WALTON J., et al. Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. **Theriogenology**, v. 62, p.9–23, 2004.
- KASIMANICKAM, R.; DUFFIELD, T. F.; FOSTER, R. A.; GARTLEY, C. J.; LESLIE, K. E.; WALTON, J. S.; JOHNSON, W. H. A comparison of the cytobrush and uterine lavage techniques to evaluate endometrial cytology in clinically normal postpartum dairy cows. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 46.; p.255, 2005.
- KIDA, K. Relationship of metabolic profiles to milk production and feeding in dairy cows. **Journal of Veterinary and Medicine Science**, v. 65, n. 6, p. 671-677, 2003.
- KOSSAIBATI, M. A.; ESSLEMONT, R. J. The costs of production diseases in dairy herds in England. **The Veterinary Journal**, v. 154, p. 41–51, 1997.

KOZICKI, L. E. Aspectos fisiológicos e patológicos do puerpério em bovinos. **Archives of Veterinary Science**, v.3, p.9-19, 1998.

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

LEBLANC, S. J.; DUFFIELD, T. F.; LESLIE, K. E.; BATEMAN, K. G.; KEEFE, G. P.; WALTON, J. S.; JOHNSON, W. H. The effect of treatment of clinical endometritis on reproductive performance in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p. 2237–2249, 2002b.

LEBLANC, S. J. Postpartum uterine disease and dairy herd reproductive performance – A review. **The Veterinary Journal**; v.176, p.102-114, 2008.

LEBLANC, S. J. Reproductive tract inflammatory disease in postpartum dairy cows. **Animal**, 8 (suppl. 1), p. 54–63, 2014.

LEWIS, G. S. Uterine health and disorders. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 984-994, 1997.

LEWIS, G. S. Steroidal regulation of uterine resistance to bacterial infection in livestock. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v.1, p. 1-8, 2003.

LEWIS, G. S. Steroidal regulation of uterine immune defenses. **Animal Reproduction Science**, v. 82-83, p. 281-294, 2004.

LÓPEZ-GATIUS, F.; GARCÍA-ISPIERTO, I.; SANTOLARIA, P.; YÁNIZ, J.; NOGAREDA, C.; LÓPEZ- BÉJAR, M. Screening for high fertility in high-producing dairy cows. **Theriogenology**, v. 65, p.1678–9, 2006.

LUCY, M. C. Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? **Journal of Dairy Science**, v. 84, p. 1277-1293, 2001.

MACHADO, V. S.; OIKONOMOU, G.; BICALHO, M. L.; KNAUER, W.A.; GILBERT, R.; BICALHO, R. C. Investigation of postpartum dairy cows' uterine microbial diversity using metagenomic pyrosequencing of the 16S rRNA gene. **Veterinary Microbiology**, v. 159 (3–4), p. 460–9, 2012.

MARQUES J. A. P. Fisiologia do puerpério na vaca. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, p. 58-69, 1993.

MATEUS, L.; COSTA, L. L.; BERNARDO, F.; SILVA, J. R. Influence of puerperal uterine infection on uterine involution and postpartum ovarian activity in dairy cows. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 37, p. 31-35, 2002.

- MARR, A. L.; PIEPENBRINK, M. S.; OVERTON, T. R.; LUCY, M. C.; BUTLER, W. R. The somatotrophic axis and lipid metabolism in transition dairy cows in relation to timing of first postpartum ovulation. **Journal Dairy Science**, v.85, suppl.1, p.66, 2002.
- NASCIMENTO, E. F.; SANTOS, R. L. Patologias do útero. **Patologia da reprodução dos animais domésticos**. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, Cap.5, p.43-52, 1997.
- NASCIMENTO, E.F.; SANTOS, R.L. **Patologia da reprodução dos animais domésticos**. 2 edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.57 – 58, 2003.
- NOAKES, D. E., T. J.; PARKINSON, G. C. W. ENGLAND. **Arthur's Veterinary Obstetrics**. 8th ed., W. B. Saunders, Philadelphia, p. 189-202, 2001.
- OLTENACU, P. A.; ALGERS, B. Selection for increased production and the welfare of dairy cows : are new breeding goals needed? **Ambio.**, v. 34, p. 311-315, 2005.
- OSPINAS, P. A.; NYDAM, D. V.; STOKOL, T.; OVERTON, T. R.; Associations of elevated nonesterified fatty acids and β -hydroxybutyrate concentrations with early lactation reproductive performance and milk production in transition dairy cattle in the northeastern United States. **Journal Dairy Science**, v. 93, p. 1596-1603, 2010.
- OVERTON, M.; FETROW, J. Economics of postpartum uterine health. **Proceedings of the Dairy Cattle Reproduction**, Council 7–8 November, Omaha, United States, p. 39–44, 2008. <http://www.agweb.com/assets/import/files/d10047%20overtton%20report.pdf>. Acesso em : 20 de fevereiro de 2017.
- PALMA, G. Biotecnología de la reproducción. Mar del Plata: **Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria**. 2001.
- RAIMUNDO, I. S. O efeito de alguns fatores na eficiência da inseminação artificial em tempo fixo em bovinos de carne. **Dissertação** (mestrado integrado em medicina veterinária), Universidade de Lisboa. Faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa, p.82, 2014.
- RAMOS, L. S.; L. A. F. DA SILVA, M. L. G. MEIRINHOS, R. S. JULIANO, L. F. PRADO, P. H. J. DA CUNHA, R. R. MORAES, M. C. S. FIORAVANTI. Avaliação de parâmetros reprodutivos em fêmeas bovinas de aptidão leiteira portadoras de pododermatite necrosante. **ARS Veterinaria**, v.17, n.2, p. 98-106, 2001.
- RUTIGLIANO, H. M.; LIMA, F. S.; CERRI, R. L. A.; GRECO, L. F.; VILELA, J. M.; MAGALHAES, V.; SILVESTRE, F. T.; THATCHER, W. W.; SANTOS, J. E. P.. Effects of method of presynchronization and source of selenium on uterine health and reproduction in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 91, p.3323–3336, 2008.
- SANTOLARIA, P.; LÓPEZ-GATIUS, F.; SÁNCHEZ-NADAL, J. A.; YÁNIZ, J. Relationships between body weight and milk yield during the early postpartum period and bull and technician and the reproductive performance of high producing dairy cows. **Journal of Reproduction and Development**, v. 58, p.366–70, 2012.

SANTOS, R. L.; NASCIMENTO, E. F.; EDWARDS, J. F. Sistema reprodutivo feminino. In: Roca (1^a ed), **Patologia Veterinária**. São Paulo, p. 797-854, 2011.

SANTOS T. M.; BICALHO R. C. Diversity and succession of bacterial communities in the uterine fluid of postpartum metritic, endometritic and healthy dairy cows. **PLoS One**, v. 7(12) p. 53- 48, 2012.

SARTORI, R.; GUARDIEIRO, M. M. Fatores nutricionais associados à reprodução da fêmea bovina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.422-432, 2010.

SCHAEFER, T. M.; SOUZA, K.; FAHEY, J. V. et al. Toll-like receptor (TLR) expression and TLR-mediated cytokine/chemokine production by human uterine epithelial cells. **Immunology**, v. 112, p. 428-436, 2004.

SMITH, B. I.; RISCO, C. A. Management of periparturient disorders in dairy cattle. **Vet. Clin. Food. Anim.**, v. 21, p. 503-521, 2005.

SEALS R.C, MATAMOROS I., LEWIS G.S. Relationship between postpartum changes in 13, 14-dihydro-15-keto-PGF2 concentrations in Holstein cows and their susceptibility to endometritis. **Journal of Animal Science**, v.80, p.1068-1073, 2002.

SENO SY, W. S.; UCHIZA, M.; TAMEOKA, N. et al. Association between evaluation of the reproductive tract by various diagnostic tests and restoration of ovarian cyclicity in high-producing dairy cows. **Theriogenology**, v. 72, p. 1153-1162, 2009.

SHELDON, I.M., NOAKES, D.E. Comparison of three treatments for bovine endometritis. **Veterinary Record**, v. 142, p. 575-579, 1998.

SHELDON, I. M.; NOAKES, D. E.; RYCROFT, A. N. et al. The effect of intrauterine administration of estradiol on postpartum uterine involution in cattle. **Theriogenology**, v. 59, p. 1357-1371, 2003.

SHELDON, I. M.; DOBSON, H. Postpartum uterine health. **Animal Reproduction Scienc**, v. 82, p. 295-306, 2004.

SHELDON, I. M.; WILLIAMS, E. J.; MILLER, A. N.; NASH, D. M.; HERATH, S. Uterine diseases in cattle after parturition. **The Veterinary Journal**, v. 176, p. 115-121, 2008.

SHELDON I.M.; CRONIN J.; GOETZE L.; DONOFRIO G.; SCHUBERTH H.J. Defining postpartum uterine disease and the mechanisms of infection and immunity in the female reproductive tract in cattle. **Biology of Reproduction**, v. 81, p. 1025–1032, 2009.

SORDILLO, L. M.; CONTRERAS, G. A.;AITKEN, S. L. Metabolic factors affecting the inflammatory response of periparturient dairy cows. **Animal Health Research Reviews**, v. 10, p. 53-63, 2009.

TAKEUCHI, O.; AKIRA, S. Pattern Recognition Receptors and Inflammation. **Cell**, v. 140, p. 805-820, 2010.

TURNER, M. L.; HEALEY, G. D.; SHELDON, I. M. Immunity and inflammation in the uterus. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 47 (Suppl. 4), p. 402-409, 2012.

WATHES, D. C; FENWICK, M.; CHENG, Z.; BOURNE, N.; LLEWELLYN, S.; MORRIS, D. G.; KENNY, D.; MURPHY, J.; FITZPATRICK, R. Influence of negative energy balance on cyclicity and fertility in the high producing dairy cow. **Theriogenology**, v.68, p.232-241, 2007.

WALSH R. B.; WALTON J. S.; KELTON D. F.,; LEBLANC S. J.; LESLIE K. E.; DUFFIELD T. F. The effect of subclinical ketosis in early lactation on reproductive performance of postpartum dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 90, p. 2788-2796, 2007.

WATSON E. D., DIEHL N. K., EVANS J.F. Antibody response in the bovine genital tract to intrauterine infusion of *A. pyogenes*. **Research in Veterinary Science**, v.48, p.70-75, 1990.

WEHREND A.; TRASCH K.; FAILING K.; BOSTEDT H. The regional differences of the pH-value in the vagina, cervix, and uterus of cows during interestrus. **Dtsch Tierarztl Wochenschr** v. 110, p.65–8, 2003. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12666501>. Acesso em: 20 de fevereiro de 2017.

WERLING, D.; JUNGI, T. W. Toll-like receptors linking innate and adaptive immune response. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 91, p. 1-12, 2003.

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

YUNHE, F.; BO L.; XIAOSHENG, F. et al. Lipopolysaccharide increases Toll-like receptor 4 and downstream Toll-like receptor signaling molecules expression in bovine endometrial epithelial cells. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 151, p. 20-27, 2013.

CAPÍTULO 2 – SECREÇÕES UTERINAS EM VACAS LEITEIRAS MESTIÇAS DESTINADAS AO DESCARTE NA REGIÃO DO TRIÂNGULO MINEIRO

1. INTRODUÇÃO

A produção leiteira lucrativa está associada a uma administração eficiente do rebanho leiteiro e o desempenho reprodutivo insatisfatório é um importante entrave produtivo (GRÖHN; RAJALA-SCHULTZ, 2000). Apesar de toda evolução que ocorreu no campo da reprodução animal, os problemas reprodutivos continuam trazendo prejuízos aos sistemas de produção de leite (KOZIKI, 1991; BEKANA et al., 1996).

Alterações ocorridas no periparto das vacas leiteiras, como a diminuição da ingestão de alimentos e o aumento súbito na demanda energética devido ao início de lactação, afetam o estado nutricional resultando em balanço energético negativo (BEN) (BUTLER, 2000). Esse quadro retarda a primeira ovulação pela inibição dos pulsos de LH, baixa concentração de glicose, IGF-1 e insulina que restringem a produção de estrógeno pelo folículo (BUTLER, 2000). As associações desses eventos alteram o sistema imunológico aumentando o risco de desenvolvimento das doenças metabólicas como acidose, lipidose hepática e doenças reprodutivas (ROCHE, 2006) com o estabelecimento de doenças uterinas (SORDILLO et al., 2009).

Doenças uterinas são responsáveis por grandes perdas econômicas devido à queda na produção de leite, às menores taxas de concepção, aumento no intervalo entre partos e descarte involuntário por falhas reprodutivas (SHELDON et al., 2009; LEBLANC et al., 2002a; HUSZENICZA et al., 1999).

Os danos ao endométrio e a falha na atividade ovariana são as causas de infertilidade na ocorrência de doenças uterinas (SHELDON et al., 2008). O ambiente uterino inadequado pode prolongada a fase lútea ocorrendo falha na ovulação devido à supressão da liberação da prostaglandina pelo endométrio e seu transporte para o ovário. Desta forma, os animais emprenham tarde apontando baixo desempenho reprodutivo (SHRESTHA et al., 2004).

A metrite consiste em processo inflamatório que envolve todas as camadas do útero (BONDURANT, 1999). Já a endometrite clínica é caracterizada pela presença de secreção vaginal purulenta detectada entre 21 e 26 dias pós-parto (DPP) ou mucopurulenta após 26 DPP (SHELDON et al., 2009; SHELDON et al., 2006;

LEBLANC et al., 2002a). A endometrite subclínica por sua vez, consiste em processo inflamatório na ausência de sinais de endometrite clínica, diagnosticada pela porcentagem de polimorfonucleares $\geq 5\%$ (GILBERT, 2004; KASIMANICKAM et al., 2004, 2005; DEGUILLAUME et al., 2012). E a cervicite definida clinicamente pela presença de edema cervical, associado à congestão da mucosa, aumento e endurecimento do colo e presença de flocos de pus na vagina (GRUNERT et al., 2005). Histologicamente, as doenças uterinas são definidas como presença de infiltrados inflamatórios no endométrio (BONDURANT, 1999).

Os neutrófilos constituem o componente mais importante da defesa uterina frente as doenças (BONDURANT, 1999; HUSSAIN, 1989). Elevadas concentrações de progesterona suprimem a contratilidade do miométrio, secreção das glândulas uterinas, produção de muco cervical e atividade fagocitária dos neutrófilos (BONDURANT, 1999; HUSSAIN, 1989; FRANK et al., 1983), permitindo a instalação de infecção uterina (LEBLANC, 2008). A PGF2 α também possui ação pró-inflamatória que pode melhorar a função dos neutrófilos (LEWIS, 2004). O estrógeno também influencia na função imune uterina (FRANK et al., 1983; BONDURANT, 1999), pois nesta fase há aumento do fluxo sanguíneo para o útero, assim como a produção de muco uterino (SHELDON et al., 2003; AZAWI, 2008) e atividade das células polimorfonucleares (HAWK et al., 1960).

Acompanhar a involução uterina no puerpério é medida fundamental para a identificação de infecções uterinas, visando intervir de maneira pontual e acertada, com o intuito de melhorar a eficiência reprodutiva do rebanho (SMITH e RISCO, 2005; MARQUES, 1993).

Objetivou-se verificar em vacas leiteiras mestiças abatidas, a prevalência de cervicite e endometrite citológicas por meio da técnica de *cytobrush*, e pelo fato da descarga vaginal purulenta ser uma característica utilizada a campo como método diagnóstico para cervicite e endometrite clínica, verificar a concordância entre a presença de secreção nas regiões cervical e uterina e a confirmação do quadro na citologia e histologia. Além disso, observar a associação entre cervicite e endometrite.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Coleta de material

Foram coletadas 453 peças do aparelho reprodutor feminino de vacas leiteiras

mestiças destinadas ao abate, provenientes de fazendas localizadas em seis municípios da região do Triângulo Mineiro, Minas Gerais (MG). O período de coleta das amostras foi de outubro de 2015 a maio de 2016. As peças foram obtidas de um frigorífico inspecionado pelo Serviço de Inspeção Municipal (S.I.M.) da cidade de Uberlândia - MG, sendo que a origem dos animais foi constatada através da Guia de Trânsito Animal (GTA). Adotaram-se como critérios de inclusão que as vacas fossem adultas, multíparas, com mais de 60 dias pós-parto e involução uterina macroscópica, independente da fase do ciclo estral.

Os úteros foram coletados na linha de abate, acondicionados em sacos plásticos individuais e encaminhados refrigerados ao Laboratório de Saúde em Grandes Animais para processamento em no máximo de duas horas. Por se tratar de peças do aparelho reprodutor feminino de vacas abatidas, o estudo não sofreu avaliação do Comitê de ética na utilização de animais.

2.2. Processamento das amostras

Foram coletadas amostras citológicas da cérvix e corpo uterino. Os úteros foram lavados externamente com álcool 70% para proceder a técnica de *cytobrush* cervical e uterina, adaptada de Kaufmann et al. (2009), com escova cervical descartável (labor import®) para confecção de esfregaços em lâminas para microscopia, corados pelo Kit Panótico rápido®.

A escova cervical foi inserida até a porção média da cérvix, rotacionada por três vezes, retirada suavemente e o esfregaço confeccionado em lâmina para microscopia. Posteriormente, uma incisão transversal com lâmina de bisturi (nº 21) na porção média do corpo uterino foi realizada onde a escova cervical foi inserida e também rotacionada por três vezes, retirada suavemente, para obtenção das amostras de citologia uterina através do esfregaço em lâmina microscópica.

A leitura das lâminas foi feita em microscópio óptico em aumento de 400X a partir da contagem de 100 células por dois observadores independentes. Os tipos celulares identificados foram células epiteliais (descamação), neutrófilos, linfócitos e macrófagos.

Ao observar lesões macroscópicas e/ou secreção purulenta ou mucopurulenta nas regiões cervical e/ou uterina, um fragmento de 1cm² contendo a interface das regiões alterada/normal era colhido e armazenado em frascos estéreis contendo formaldeído 10% para posterior análise histopatológica (TOLOSA et al., 2005). O infiltrado inflamatório

encontrado foi classificado em discreto, moderado e intenso (GONZÁLES et al. 1985).

2.3. Diagnóstico das alterações do trato reprodutivo

O diagnóstico da endometrite e cervicite clínicas se baseou na presença de secreção purulenta e/ou mucopurulenta em útero e cérvix. Classificou-se a contagem de polimorfonucleares (PMNs) $\geq 5\%$ como cervicite citológica (DEGUILLAUME et al. 2012) e endometrite citológica (AHMADI et al. 2006; DEGUILLAUME et al. 2012; GILBERT et al., 2005) desde que os animais não apresentassem secreção nestas regiões.

Útero e cérvix foram observados macroscopicamente com o intuito de avaliar as alterações com maior incidência.

2.4. Análise estatística

Os resultados obtidos foram transcritos em planilhas de Excel e a partir de então se procedeu à análise estatística descritiva dos dados. A análise de concordância entre os diagnósticos baseados na presença de secreção cervical e uterina e as técnicas de citologia e histologia foi realizada pelo teste *Kappa* (LANDIS e KOCH, 1977) a 95% de significância.

3. RESULTADOS

3.1. Prevalência de secreções uterinas e cervicais

Na avaliação das 453 peças dos tratos reprodutivos, considerando apenas a presença de secreção no lúmen da cérvix e útero, observou-se que 10,8% dos animais (49/453) apresentaram secreção purulenta ou mucopurulenta. Sendo 36,7% (18/49) apenas no útero, 30,6% (15/49) apenas em cérvix e 32,6% (16/49) nas duas regiões. As prevalências de endometrite e cervicite (figura 1) observadas nas amostras do trato reprodutivo através do exame macroscópico e citológico, de acordo com a fase do ciclo estral estão relacionadas na tabela 1.

Tabela 1. Prevalência das afecções do trato reprodutivo observadas em vacas leiteiras mestiças abatidas na região de Uberlândia-MG.

| | Doenças uterinas | Fase do ciclo estral* | | | |
|------------|-------------------------|-----------------------|-----------|-----------|------------|
| | | % (n) | anestro | folicular | |
| | | | % (n) | % (n) | |
| Clínica | Endometrite | 7,5 (34/453) | 2,9% (1) | 8,8% (3) | 88,2% (30) |
| | Cervicite | 6,8 (31/453) | 6,45% (2) | 9,7% (3) | 83,9% (26) |
| | Cercivite e endometrite | 3,5 (16/453) | 6,3% (1) | 18,8% (3) | 75% (12) |
| Citológica | Endometrite | 5,5 (23/419) | 4,3% (1) | 4,3% (1) | 91,3% (21) |
| | Cervicite | 5,5 (23/422) | 0 | 8,7% (2) | 91,3% (21) |
| | Cervicite e endometrite | 0,5 (2/404) | 0 | 0 | 100% (2) |

Nota: *Realizado conforme Peter et al. (2009) e Ireland et al. (1980): anestro (ausência de crescimento folicular e corpo lúteo); fase folicular (estrogênica); fase luteínica (compreende as fases inicial, média e final do corpo lúteo).

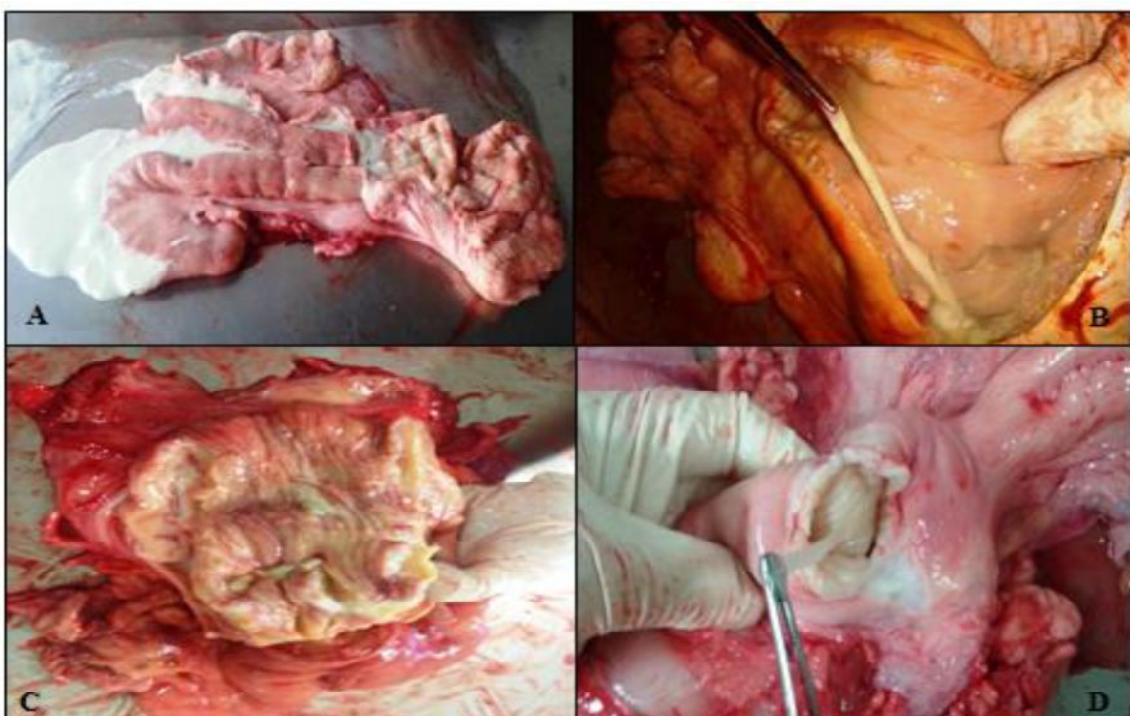


Figura 1- Útero de vaca: com endometrite clínica - secreção purulenta (A), mucopurulenta (B), cervicite clínica – secreção purulenta (C) e mucopurulenta (D).

3.2. Análise de concordância entre a avaliação da secreção e exame citológico

A presença de secreção (uterina/cervical) e a técnica de citologia (*cytobrush*), endometrial e cervical (figura 2) apresentaram baixa concordância entre os dois métodos diagnóstico, evidenciada pelo baixo índice *Kappa* acompanhado de baixa sensibilidade e alta especificidade (tabela 2).

Tabela 2: Análise de concordância diagnóstica entre a presença de secreção e a técnica de *cytobrush*.

| | | PMN's $\geq 5\%$ no útero | | PMN's $\geq 5\%$ na cérvix | |
|----------|-----|---------------------------|-----|----------------------------|-----|
| | | Sim | Não | Sim | Não |
| Secreção | Sim | 4 | 30 | 2 | 29 |
| | Não | 23 | 396 | 23 | 399 |

| | | |
|--------------------------|-------|-------|
| Índice <i>kappa</i> | 0,069 | 0,11 |
| Sensibilidade | 14,8% | 6,4% |
| Especificidade | 92,9% | 94,5% |
| valor preditivo positivo | 11,8% | 8% |
| valor preditivo negativo | 94,5% | 93,2% |

Nota: Classificação de Kappa segundo Landis e Koch (1977): 0,00 - Péssima; 0,01 - 0,20 - Ruim; 0,21 - 0,40 - Razoável; 0,41 - 0,60 - Boa; 0,61 - 0,80 - Muito boa e 0,81 - 1,00 - Excelente. PMN's (leucócitos polimorfonucleares).

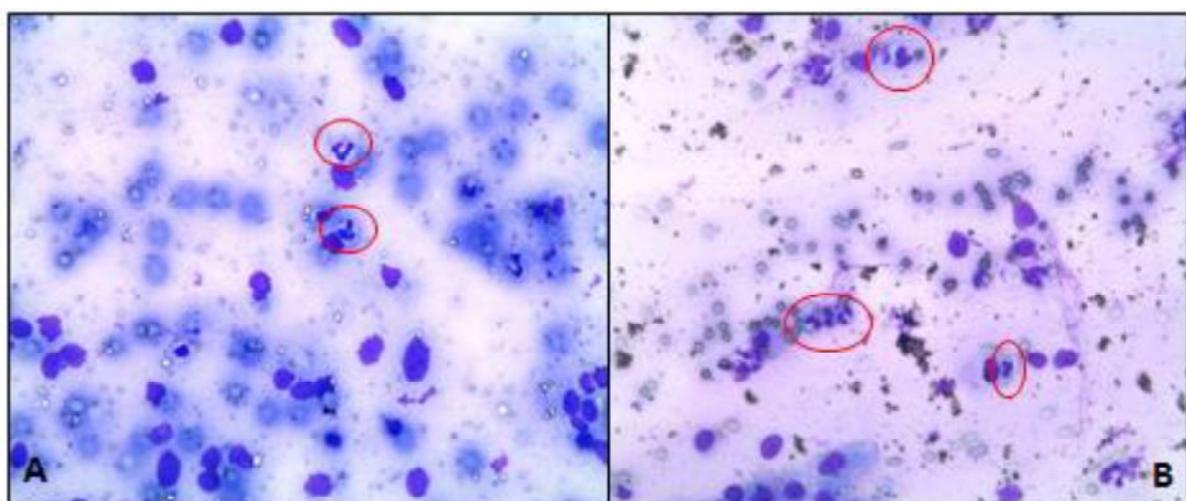


Figura 2- Esfregaço citológico (40X) de útero (A) e cérvix (B) com presença de polimorfonucleares, círculos vermelhos indicando os neutrófilos.

3.3. Avaliação das lesões macroscópicas e histopatológicas

As lesões macroscópicas encontradas na cérvix e no útero foram acúmulo de sangue (sugestivo de hematoma), congestão sanguínea (sugestivo de hiperemia), tecido com aspecto gelatinoso (sugestivo de degeneração tecidual), petéquias, pontos enegrecidos dispersos pela mucosa, crepitação, tecido friável (ranger ao corte), (figura 5).

Dos 34 animais com endometrite clínica (com secreção uterina), 76,5% (26/34) apresentaram lesão inflamatória multifocal e/ou difusa. Identificaram-se 41,22% (14/34) dos úteros com infiltrado inflamatório discreto, 29,4% (10/34) moderado e 5,9% (2/34) intenso (figura 3). Dentre os animais sem endometrite clínica (sem secreção uterina), 19,1% (80/419) apresentaram lesões macroscópicas nesta região, além da histologia mostrar inflamação endometrial leve em 1,7% (7/419) e moderada em 0,2% (1/419).

Na avaliação histopatológica da cérvix, dentre os 31 animais com cervicite clínica (com secreção cervical), 38,7% (12/31) apresentaram lesão inflamatória, das quais 32,3% (10/31) se tratavam de infiltrado inflamatório discreto, 3,2% (1/31) moderado e 3,2% (1/31) intenso (figura 4). Entretanto, dentre os animais sem secreção cervical, 2,8% (12/422) apresentaram lesões macroscópicas, porém, nenhum destes animais apresentou lesão histopatológica microscópica.

Na avaliação das 453 amostras verificou-se a prevalência de 22,51% (102/453) de lesões macroscópicas em cérvix e útero. Destas, 87,25% (89/102) apresentavam lesões macroscópicas em útero e 12,74% (13/102) em cérvix.

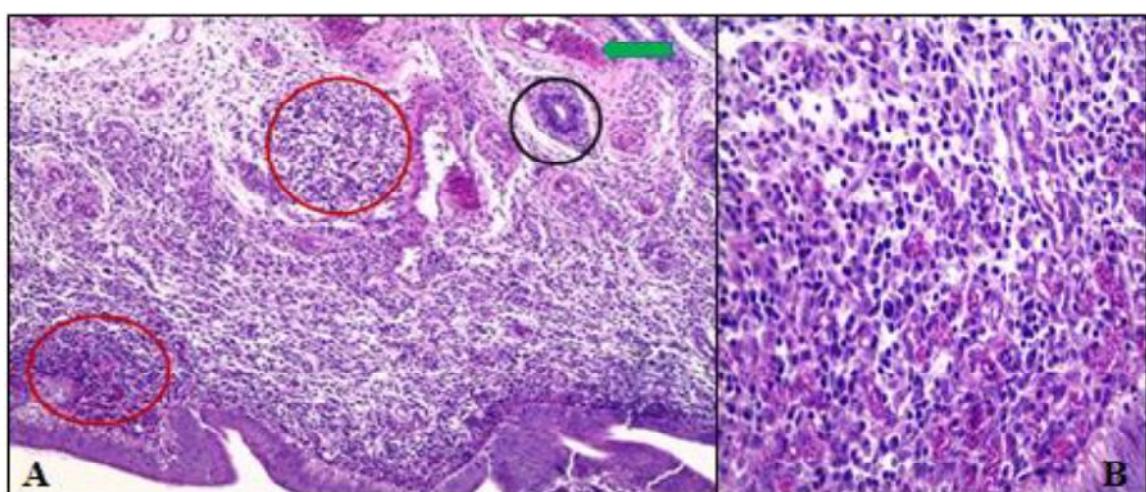


Figura 3- Histologia do útero com endométrio apresentando infiltrado inflamatório difuso intenso A - 10X (círculos vermelhos), glândulas endometriais degeneradas (círculo preto), hiperemia (seta verde) e B (referente ao círculo vermelho - 40X) com presença de polimorfonucleares.

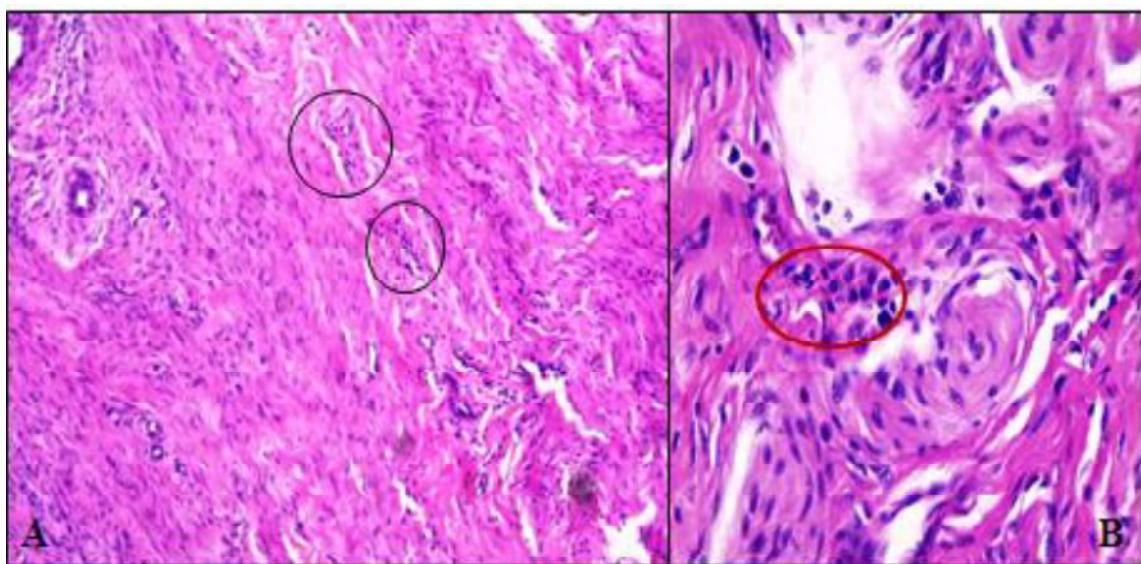


Figura 4- Histologia da cérvix com endométrio apresentando infiltrado inflamatório difuso intenso A (círculo preto) (10X) e B (círculo vermelho) (40X) com presença com presença de polimorfonucleares.



Figura 5- Útero de vaca com presença de hematoma A (círculo preto) e histologia com vasos repletos de hemácias B (seta preta). Cérvix com presença de hiperemia C (círculo amarelo) e histologia com hemácias D (círculo azul).

3.4. Correlação entre a avaliação da secreção, lesão, citologia e histologia

Os dados referentes à ocorrência de secreções, citologia e histopatologia a partir da observação de lesões macroscópicas em útero e cérvix estão relacionados na figura 6.

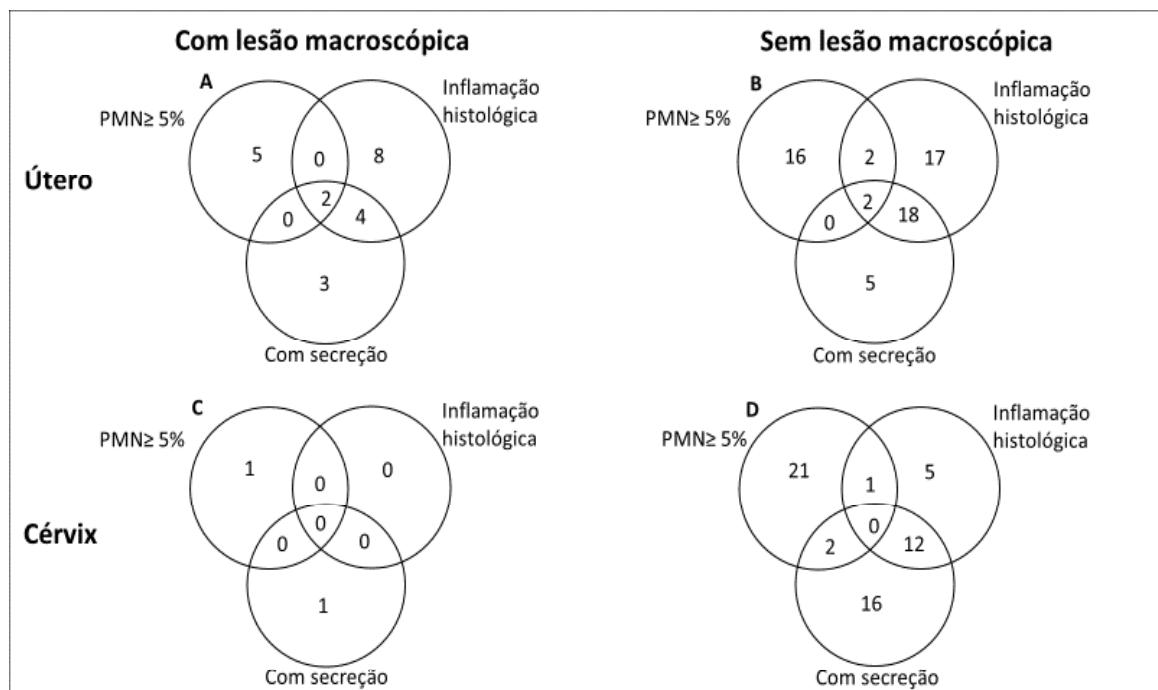


Figura 6- Prevalência de endometrite e cervicite citológicas e presença de secreções de acordo com a presença ou ausência de alterações macroscópicas.

4. DISCUSSÃO

O presente trabalho avaliou os métodos diagnósticos citológico e histológico por se tratarem de ferramentas importantes no auxílio ao diagnóstico das doenças do aparelho reprodutor de fêmeas bovinas, o que também foi descrito por Junior (2010). O mesmo autor ainda ressalta que a inspeção direta dos órgãos genitais femininos externos, apesar de ser um método clássico semiológico para avaliar secreções externas vaginais, é pouco sensível, o que também foi observado neste estudo.

Sheldon et al. (2006) ressaltam a dificuldade de se estimar a sensibilidade e especificidade para um teste diagnóstico para endometrite. Uma alternativa é utilizar o desempenho reprodutivo como referência, porém esse método não é preciso podendo ocorrer falhas, uma vez que muitos são os fatores que alteram a fertilidade de um animal em determinado período (LEBLANC et. al., 2002a).

Gilbert et al. (1998) e Kasimanickam et al. (2004) defenderam, assim como Cordeiro et al. (1989) que a citologia endometrial é um método prático, mais acessível e eficiente

para a avaliação dos processos infecciosos uterinos, ressaltando que os neutrófilos são a principal linha de defesa do endométrio. Zerbe et al. (2002) confirmam ser os neutrófilos as primeiras e principais células fagocitárias recrutadas da circulação periférica para o lúmen uterino perante um processo infeccioso local. Esses dados corroboram com o observado neste trabalho, pois o método citológico utilizado para o diagnóstico das doenças uterinas apresentou-se mais eficiente e com predominância de neutrófilos na avaliação microscópica.

Neste trabalho foi observada baixa concordância entre os diagnósticos clínicos e citológicos. Dados semelhantes foram descritos por Dubuc et. al. (2010a) que investigaram a porcentagem de animais que apresentavam endometrite clínica e endometrite citológica e encontraram apenas de 36% a 38% de concordância, provaram a fragilidade de um diagnóstico de endometrite baseado na manifestação de secreção genital que pode estar ligado a outras entidades mórbidas como cistite, vaginites e cervicites, firmaram neste estudo o conceito de que o diagnóstico de inflamação endometrial depende da avaliação citológica, o que também foi verificado por Barlund et al. (2008), concordando ser a citologia o método mais indicado para o diagnóstico de endometrite subclínica. Os resultados expostos neste estudo indicam que a citologia endometrial auxilia na identificação dos animais com endometrite subclínica, o que para Kasimanickam et al. (2004) ajuda a beneficiar o tratamento precoce.

No entanto, para Pascottini et al. (2016), a citologia endometrial se limita a colheita de células epiteliais segregadas no lúmen uterino, a camada epitelial do endométrio, e os componentes celulares superficial do estrato; e eventuais células PMN presentes nesses locais, confirmando ser a citologia uma amostragem superficial do endométrio uterino.

Segundo o mesmo autor, em comparação com a histopatologia a citologia tem uma menor sensibilidade ao diagnóstico de reações inflamatórias do endométrio em vacas leiteiras. Desta forma o presente estudo avaliou a histopatologia uterina e cervical, que permite o exame do epitélio endometrial e o estrato completo.

Neste estudo pode-se observar que a técnica de histologia oferece um bom valor preditivo quanto ao diagnóstico de doenças reprodutivas, dado igualmente encontrado por Bonnett et. al. (1993). A análise uterina por histologia permite a observação da morfologia endometrial que quando interpretada corretamente pode ser correlacionada com infertilidade bovina (RODRIGUEZ et. al., 1991). Porém o método de diagnóstico histológico trata-se de uma técnica dispendiosa para o processamento e análise da

amostra (GRUNET et. al., 2005).

Quando o útero é infectado, células inflamatórias invadem o endométrio, nesta situação perante a histologia pode-se observar necrose local, hiperemia, congestão, com elevação no número de células no tecido, linfócitos, macrófagos e neutrófilos, com presença de glândulas uterinas apresentando dilatação cística ou atrofia e com fibrose periglandular, quadro relacionado com efeito deletério no desempenho reprodutivo (SAGARTZ et. al., 1971; GONZALES et. al., 1985; CORDEIRO et. al. 1989; BONNETT et. al., 1991, OHTANI, OKUDA, 1995; SAR et. al., 1996; LEWIS, 1997; KASK et. al. 1998; GALINDO et. al., 2004). Dentre as observações histológicas acima citadas, no presente estudo pode-se observar em útero e cérvix a presença de hiperemia, congestão, aumento do número de linfócitos, macrófagos e neutrófilos, com presença de glândulas uterinas apresentando degeneração.

Desta forma neste estudo fica claro que a associação de métodos de diagnóstico de infecções uterinas como a citologia e histologia, pode diminuir a ocorrência de resultados falso-positivos, como nos casos de endometrite clínica avaliada a campo, o que também foi descrito por Westermann et al. (2010).

Embora, muitos métodos sejam utilizados para o diagnóstico de endometrite e cervicite, poucos podem ser úteis na prática, especialmente na endometrite subclínica. A endometrite subclínica pode ser diagnosticada com precisão quer citologicamente por escova endometrial ou histologicamente (BLANCHARD et al., 1981, JAVED e KHAN, 1991, KASIMANICKAM et al., 2005, LEWIS, 1997 apud ORAL, et al., 2009).

A baixa correlação verificada neste estudo entre a presença de secreção e os métodos confirmatórios de citologia e histologia possibilita um diagnóstico “não preciso” a campo, permitindo que animais com função reprodutiva normal sejam tratados em detrimento daqueles não diagnosticados adequadamente. Isto se deve ao fato de que o diagnóstico das doenças reprodutivas pautado na palpação retal e observação da secreção vaginal é inespecífico (ORAL et al., 2009).

Portanto, a inspeção e avaliação vaginal dos métodos de descarga vaginal são úteis para o diagnóstico de endometrite clínica, mas não para endometrite subclínica, sendo que a ausência de secreção uterina não é verdadeiramente indicativa de ausência de inflamação uterina (KASIMANICKAM et al., 2004). Da mesma forma, neste estudo, 23 amostras foram avaliadas com ausência de secreção em útero e cérvix, mas com PMN acima de 5% caracterizando a endometrite e cervicite subclínica.

A ocorrência de animais sem secreção em cérvix e útero, mas com sinais de inflamação no exame citológico aqui encontrada foi relevante, isso se deve, segundo Sheldon et al. (2009), à persistência da inflamação endometrial mesmo depois que o agente bacteriano já tenha sido eliminado do útero.

Em relação à associação da cervicite e endometrite, no presente estudo foi encontrado 3,5% para as doenças clínica e para as doenças citológica apenas 0,5% o que representa pouca relação de concordância. Para Deguillaume et al. (2012) a presença ou ausência de cervicite não é indicativa da presença ou ausência de endometrite. Ressaltam que a inflamação endocervical afeta a concepção e que a avaliação geral do trato genital apresenta maior benefício ao desempenho reprodutivo do que apenas a inflamação endometrial. Os resultados deste estudo também se assemelham ao encontrado por Hartmann et al. (2016) que sugerem que a cervicite ocorre independentemente da endometrite.

Avaliando as lesões macroscópicas em comparação com os achados citológicos e histológicos, neste estudo foi verificado que as amostras que apresentaram lesões macroscópicas nem sempre estavam associadas ao diagnóstico citológico ou histológico positivo. Neste trabalho também foi observado que a presença de endometrite e cervicite perante os quadros de lesões macroscópicas é menor quando comparado a ausência de lesões. Para Palma (2001), a endometrite citológica é causada geralmente por algum trauma mecânico favorecendo a entrada de bactérias no lúmen uterino. Sheldon et al. (2009) sugerem que os traumas e infecção podem influenciar a endometrite clínica. Para Leblanc (2008), estas hipóteses requerem uma investigação mais aprofundada.

5. CONCLUSÃO

O estudo permitiu concluir baixa concordância entre a presença de secreção nas regiões cervical e uterina e a avaliação pela citologia, tornando o diagnóstico pouco eficaz, quando embasado apenas na presença de secreção. A confirmação do quadro das doenças uterinas pela histologia oferece maior confiança quanto ao diagnóstico definitivo. Além disso, foi observada pouca associação entre a cervicite e endometrite, e a presença de lesão relacionada aos diagnósticos. Portanto é necessário melhor entendimento das infecções uterinas para a utilização dos métodos de diagnóstico.

REFERÊNCIAS

- AHMADI M. R.; NAZIFI S.; GHAISARI H. R. Comparison of hormonal changes of estrous cycle with cytology of cervical mucosa and hematological parameters in dairy heifers. **Comparative Clinical Pathology**, v.15, p. 94-97, 2006.
- AZAWI O. I. Postpartum uterine infection in cattle. **Animal Reproduction Science**, v.105, p.187-208, 2008.
- BARLUND, C.S.; CARRUTHERS, T. D.; WALDNER, C. L.; PALMER, C. W. A comparison of diagnostic techniques for postpartum endometritis in dairy cattle. **Theriogenology**, v.69, p.714-723, 2008.
- BEKANA, M., JONSSON, P., KINDAHL, H. Intrauterine bacterial findings and hormonal profiles in post- partum cows with normal puerperium. **Acta Veterinaria Scandinavia**, v.37, p.251-63, 1996.
- BONDURANT, R. Inflammation in the bovine female reproductive tract. **Journal of Animal Science**, v. 77, p. 101–110, 1999.
- BONNETT B. N.; MILLER R. B.; ETHERINGTON W. G.; MARTIN S. W.; JOHNSON W. H. Endometrial biopsy in Holstein-Friesian dairy cows. I. Technique, histological criteria and results. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 55, p.155, 1991.
- BONNETT, B. N.; MARTIN, S. W.; MEEK, A. H. Associations of clinical findings, bacteriological and histological results of endometrial biopsy with reproductive performance of postpartum dairy cows. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 15, p. 205-210. 1993.
- BUTLER S. T. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy catle. **Animal Reproduction Science**, v. 60, p.449-57, 2000.
- CORDEIRO, J. L. F.; ALBUQUERQUE, A. J. D.; NEVES, J. P.; BADKE, M. R. T.; FAN, L. C. R.; SILVA, J. H. S. Citologia cérvico-uterina para o diagnóstico de catarros genitais na vaca. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.13, n. 1, p. 53-68, 1989.
- DEGUILLOUAME L.; GEFFRE A.; DESQUILBET L.; DIZIEN A.; THOUMIRE S.; VORNIERE C.; CONSTANT, F.; FOURNIER, R.; CHASTANTMAILLARD, S. Effect of endocervical inflammation on days to conception in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 95, p.1776–1783, 2012.
- DUBUC J., DUFFIELD T. F.; LESLIE K. E., WALTON, J. S.; LEBLANC, S. J. Definitions and diagnosis of postpartum endometritis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 93(11), p.5225–5233, 2010a.
- FRANK, T.; ANDERSON, K. L.; SMITH, A. R.; WHITMORE, H. L.; GUSTAFSSON, B. K. Phagocytosis in the uterus: a review. **Theriogenology**, v.20, p.103–110, 1983.

GALINDO, A. S. D.; GAMBARINI, M. L.; OLIVEIRA FILHO, B. D.; GALINDO, J. R. A. S. D.; KUNZ, T. L. Avaliação do endométrio de vacas leiteiras repetidoras de estro. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 28, n.3, p. 132-136, 2004.

GILBERT R. O.; SHUN, S. T.; GUARD, C. L.; ERB, H. N. Incidence of endometritis and effects on reproductive performance of dairy cows. **Theriogenology**, v. 49, p. 251, 1998.

GILBERT, R. O. Uterine Disease in the Postpartum Period. **15th International Congress on Animal Reproduction**. Brazilian College of Animal Reproduction, Porto Seguro, Brazil, p.66–73, 2004.

GILBERT, R. O. S. T.; SHIN, C. L.; GUARD, H. N.; ERB, M. FRAJBLAT. Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. **Theriogenology**, v. 64, p.1879–1888, 2005.

GONZALES, H. E.; CROWELL, W. A.; CAUDLE, A. B.; TOMPSON, F. N. Mofometric studies of the bovine uterus: microscopic lesions and retrospective history. **American Journal of Veterinary Research**, p. 88-95, 1985.

GRÖHN, Y. T.; RAJALA-SCHULTZ, P. J. Epidemiology of reproductive performance in dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v. 60-61, p. 605-614, 2000.

GRUNERT, E.; BIRGEL, E. H.; VALE W. G. **Patologia e clínica da reprodução dos animais mamíferos domésticos**, São Paulo, ed. Varela, p. 170-175, 2005.

HAWK, H. W.; TURNER, G. D.; SYKES, J. The effect of ovarian hormones on the uterine defense mechanism during the early stages of induced infection. **American Journal of Veterinary Research**, v. 21, p. 644–656, 1960.

HARTMANN, D.; ROHKOHL, J.; MERBACH, S.; HEILKENBRINKER, T.; KLINDWORTH, H. P.; SCHOON, H. A.; HOEDEMAKER, M. Prevalence of cervicitis in dairy cows and its effect on reproduction. **Theriogenology**, v. 85, p.247–253, 2016.

HUSSAIN, A. M. Bovine uterine defense mechanisms: a review. **Journal of Veterinary Medicine Series B**, v.36, p. 641–651, 1989.

HUSZENICZA, G.Y.; FODOR, M.; GACS, M.; KULCSAR, M.; DOHMHEN, M. J. W.; VAMOS, M.; PORKOLAB, L.; KEGL, T.; BARTYRIK, J.; LOHUIS, J. A. C. M.; JANOSI S.; SZITA, G. Uterine bacteriology, resumption of cyclic ovarian activity and fertility in postpartum cows kept in large-scale dairy herds. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 34, p. 237–45, 1999.

IRELAND J. J.; MURPHEE R. L.; COULSON P. B. Accuracy of predicting stages of bovine estrous cycle by gross appearance of the corpus luteum. **Journal of Dairy Science**, v. 63, p. 155-160, 1980.

JUNIOR, E. B. S. M. Estudo comparativo entre vaginoscopia, a ultrassonografia e histologia para o diagnóstico da endometrite em vacas da raça Holandesa. **Dissertação**,

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Clínica Médica, São Paulo, 2010.

KAUFMANN T. B.; DRILLICH M.; TENHAGEN B. A.; FORDERUNG D.; HEUWIESER W. Prevalence of bovine subclinical endometritis 4 h after insemination and its effects on first service conception rate. **Theriogenology**, v. 71, p. 385-391, 2009.

KASK, K.; KINDAHL, H.; GUSTAFSSON, H. Bacteriological and histological investigation of the postpartum bovine uterus in two Estonian dairy herds. **Acta veterinaria Scandinavica**, v. 39, p. 423-432, 1998.

KASIMANICKAM R.; DUFFIELD T.; FOSTER R.; GARTLEY C.; LESLIE K.; WALTON J., et al. Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. **Theriogenology**, v. 62, p. 9-23, 2004.

KASIMANICKAM, R.; DUFFIELD, T. F.; FOSTER, R. A.; GARTLEY, C. J.; LESLIE, K. E.; WALTON, J. S.; JOHNSON, W. H. A comparison of the cytobrush and uterine lavage techniques to evaluate endometrial cytology in clinically normal postpartum dairy cows. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 46.; p.255, 2005.

KOZICKI, L. E. Puerpério: porque é tão importante. **Gado Holandês**, v.57, p.15-19, 1991.

LANDIS, J. R.; KOCK, G. G. The measurement of observer agreement for categorical data. **Biometrics**, v. 33, n.1, p. 159-174, 1977.

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

LEBLANC, S. J. Postpartum uterine disease and dairy herd reproductive performance – A review. **The Veterinary Journal**; v.176, p.102-114, 2008.

LEWIS, G. S. Uterine health and disorders. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 984-994, 1997.

LEWIS, G. S. Steroidal regulation of uterine immune defenses. **Animal Reproduction Science**, v. 82-83, p. 281-294, 2004.

MARQUES J. A. P. Fisiologia do puerpério na vaca. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, p. 58-69, 1993.

OHTANI, S.; OKUDA, K. Histological observation of the endometrium in repeat breeder cows. **Journal of Veterinary medicine Science**, v. 57, n. 2, p. 283-286, 1995.

ORAL, H.; SOZMEN, M.; SERI, G.; KAYA, S. Comparison of the Cytobrush Technique, Vaginoscopy and Transrectal Ultrasonography Methods for the Diagnosis of Postpartum Endometritis in Cows. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v.8, p. 1252 – 1225, 2009.

PALMA, G. Biotecnología de la reproducción. Mar del Plata: **Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria**. 2001.

PASCOTTINI, O. B.; HOSTENS, M.; DINI, P.; VANDEPITTE, J.; DUCATELLE, R.; OPSOMER, G. Comparison between cytology and histopathology to evaluate subclinical endometritis in dairy cows. **Theriogenology**, v. 86, p. 1550 –1556, 2016.

PETER A. T.; LEVINE H.; DROST M.; BERGFELT D. R. Compilation of classical and contemporary terminology used to describe morphological aspects of ovarian dynamics in cattle. **Theriogenology**, v.71-9, p. 1343-1357, 2009.

ROCHE J. F. The effect of nutritional management of the dairy cow on reproductive efficiency. **Animal Reproduction Science**, v.96, p.282-96, 2006.

RODRIGUEZ, I. G.; GONZALES, H. E.; GALLEGOS, M. I. M. Correlation de la morfología endometrial com aislamientos bacteriológicos em vacas infertiles de la sabana de Bogota. **Revista ICA**, v. 26, p. 275-286, 1991.

SAGARTZ, J. W.; HANDERBROOK, H. J. A clinical, bacteriologic, and histologic survey of infertile cows. **Journal of veterinary medical association**, v. 158, n. 5, p. 619 – 622, 1971.

SAR, G. C.; MOHANTY, S. K.; RAY, S. K. H.; MOHANTY, D. N. Endometrial biopsy in infertile cows. **Indian Journal of Animal Sciences**, v. 66, n. 11, p. 1100 -1105, 1996.

SMITH, B. I.; RISCO, C. A. Management of periparturient disorders in dairy cattle. **Vet. Clin. Food. Anim.**, v. 21, p. 503-521, 2005.

SHELDON, I. M.; NOAKES, D. E.; RYCROFT, A. N. et al. The effect of intrauterine administration of estradiol on postpartum uterine involution in cattle. **Theriogenology**, v. 59, p. 1357-1371, 2003.

SHELDON, I. M.; LEWIS, G. S.; LEBLANC, S.; GILBERT, R. O. Defining postpartum uterine disease in cattle. **Theriogenology**, v.65, p.1516–1530, 2006.

SHELDON, I. M.; WILLIAMS, E. J.; MILLER, A. N.; NASH, D. M.; HERATH, S. Uterine diseases in cattle after parturition. **The Veterinary Journal**, v. 176, p. 115-121, 2008.

SHELDON I.M.; CRONIN J.; GOETZE L.; DONOFRIO G.; SCHUBERTH H.J. Defining postpartum uterine disease and the mechanisms of infection and immunity in the female reproductive tract in cattle. **Biology of Reproduction**, v. 81, p. 1025–1032, 2009.

SHRESTHA, H. K.; NAKAO, T.; SUZUKI, T.; HIGAKI, T.; AKITA, M. Effects of abnormal ovarian cycles during pre-service period postpartum on subsequent reproductive performance of highproducing Holstein cows. **Theriogenology**, v.61, p. 1559-1571, 2004.

SORDILLO, L. M.; CONTRERAS, G. A.;AITKEN, S. L. Metabolic factors affecting the inflammatory response of periparturient dairy cows. **Animal Health Research Reviews**, v. 10, p. 53-63, 2009.

TOLOSA, E. M. C.; RODRIGUES, C. J.; FREITAS, N. A. G. Manual de técnicas para histologia normal e patológica. **Manole**, 1^a edição, p. 341, 2005.

WESTERMANN, S.; DRILLICH, M.; KAUFMANN, T. B.; MADOZ, L. V.; HEUWIESER, W. A clinical approach to determine false positive findings of clinical endometritis by vaginoscopy by the use of bacteriology and cytology in dairy cows. **Theriogenology**, v.74, p.1248-1255, 2010.

ZERBE, H.; SCHNEIDER, N.; LIEBOLD, W.; WENSING, T.; KRUIP, T. A.; SCHUBERT, H.J. Altered functional and imunophenotypcal properties of neutrophilic granulocytes in postpartum cows associated with fatty liver. **Theriogenology**, v.54, p. 7771-7786, 2002.