



**UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA**

**Faculdade de Medicina Veterinária**

**CONTRIBUIÇÃO PARA O ESTUDO DAS ENDOMETRITES EM VACAS DE  
LEITE E O SEU DIAGNÓSTICO POR VAGINOSCOPIA**

**JOÃO ANDRÉ JANTARADA DOMINGOS**

**CONSTITUIÇÃO DO JÚRI**

**Doutor José Robalo da Silva**

**Doutor Luís Filipe Lopes da Costa**

**Doutor Armando Agostinho Panhanha Serrão**

**Dr. Dário Alexandre Nunes de Sá Guerreiro**

**ORIENTADOR**

**Dr. Dário Alexandre Nunes de Sá Guerreiro**

**CO-ORIENTADOR**

**Doutor Armando Agostinho Panhanha Serrão**

**2009**

**LISBOA**





**UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA**

**Faculdade de Medicina Veterinária**

**CONTRIBUIÇÃO PARA O ESTUDO DAS ENDOMETRITES EM VACAS DE  
LEITE E O SEU DIAGNÓSTICO POR VAGINOSCOPIA**

**JOÃO ANDRÉ JANTARADA DOMINGOS**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**CONSTITUIÇÃO DO JÚRI**

**Doutor José Robalo da Silva**

**Doutor Luís Filipe Lopes da Costa**

**Doutor Armando Agostinho Panhanha Serrão**

**Dr. Dário Alexandre Nunes de Sá Guerreiro**

**ORIENTADOR**

**Dr. Dário Alexandre Nunes de Sá Guerreiro**

**CO-ORIENTADOR**

**Doutor Armando Agostinho Panhanha Serrão**

**2009**

**LISBOA**

## **Agradecimentos**

Ao Dr. Dário Guerreiro, pelo ensino, amizade e diversão.

Aos meus pais que me têm trazido ao colo há já muitos anos.

À Joana por me dar tudo o que temos.

Aos colegas veterinários pelos últimos 6 anos de aprendizagem, não necessariamente de veterinária, e pela folia. Vocês sabem quem são!

Às professoras Luísa Mateus e Isabel Neto pelo apoio prestado

Aos outros bons professores da Faculdade de Medicina Veterinária que me ensinaram esta magnífica profissão.



## **Endometrite em Vacas de leite e o seu Diagnóstico por Vaginoscopia**

### **RESUMO**

A fertilidade das vacas de uma exploração leiteira é de extrema importância para a sua viabilidade económica. As infeções uterinas podem causar graves prejuízos na fertilidade dos animais e, como tal, devem ser encaradas como algo que é necessário diagnosticar e tratar.

As endometrites clínicas manifestam-se normalmente após os 21 dias, através de corrimentos purulentos, mas a falta de sinais mais exuberantes faz com que sejam de difícil detecção se não forem empregues os meios de diagnóstico ideais. A sobreposição deste período com a involução uterina faz com que seja necessária muita atenção para não confundir o que é fisiológico com o que é patológico. A palpação rectal é o método de diagnóstico de endometrites mais utilizado mas a vaginoscopia é mais sensível e específica.

Utilizando dados obtidos durante e após o estágio curricular através de palpação rectal e vaginoscopia, foi possível observar, numa amostra de 56 animais, que a percentagem de animais com endometrite foi de 17,9%, valor que está em concordância com a literatura. A percentagem de animais com endometrite diminui com o avançar do período pós-parto. Constatou-se também que a vaginoscopia é um método aplicável nas condições portuguesas. É necessário compreender melhor porque se estabelecem estas infeções e quais as melhores estratégias para as controlar ou diminuir a sua incidência.

**Palavras-chave:** Bovinos leiteiros, Endometrite, Vaginoscopia, Infecção Uterina.



# **Endometritis in dairy cows and it's diagnosis with vaginoscopy**

## **ABSTRACT**

The fertility of dairy herds is of utmost importance to their economic health. Uterine infections impair fertility and must be diagnosed and treated.

Clinical endometritis usually develops after 21 days in milk and results in purulent uterine discharges. The lack of other major signs makes it difficult to diagnose unless the appropriate diagnostic tools are employed. Uterine involution is usually not over before the start of the examination period so one must be aware of it's influence on the diagnosis. Rectal palpation is the most used technique for the diagnosis of clinical endometritis but lacks specificity and sensibility, when compared to vaginoscopy. Compared with rectal palpation, vaginoscopy is a much better predictor of fertility impairment.

Using data collected during and after the practice through rectal palpation and vaginoscopy, it was possible to determine that within a 56 animal sample, 17,9% of cows had clinical endometritis. This data is similar to what is described in the literature. Some cases of endometritis resolve spontaneously and the percentage of animals with endometritis declines over the post-partum period. With this study, it was also perceived that vaginoscopy is applicable under specific Portuguese conditions.

A better understanding of the factors involved in its pathogenesis and the best treatment strategies are the main areas of interest for the near future.

**Key words:** Dairy cattle, Endometritis, Vaginoscopy, Uterine infections



# Índice

1. Introdução.....	1
1.1. Nota introdutória .....	1
1.1.1. Descrição das actividades.....	1
1.2. Objectivos.....	5
2. Revisão Bibliográfica .....	6
2.1. Involução uterina e mudanças normais no pós-parto .....	6
2.2. Imunidade e inflamação.....	7
2.3. Dinâmica endócrina.....	11
2.4. Actividade ovárica.....	13
2.5. Efeito do Balanço energético negativo.....	16
2.6. Contaminação bacteriana.....	17
2.7. Infecção uterina pós-parto .....	20
2.7.1. Retenção Placentária.....	20
2.7.2. Metrite .....	21
2.7.3. Endometrite Clínica.....	22
2.7.3.1. Definição.....	22
2.7.3.2. Prevalência.....	24
2.7.3.3. Diagnóstico .....	25
2.7.3.3.1. Palpação rectal .....	26
2.7.3.3.2. Vaginoscopia .....	26
2.7.3.3.3. Ecografia.....	28
2.7.3.3.4. Citologia endometrial e cultura bacteriológica.....	29
2.7.3.3.5. Biópsia .....	29
2.7.3.4. Impacto da endometrite .....	30
2.7.3.5. Tratamento da endometrite .....	32
2.7.3.5.1. Terapêutica intra-uterina.....	33
2.7.3.5.2. Terapêutica sistémica com antibióticos .....	35
2.7.3.5.3. Terapia hormonal.....	35
2.7.3.5.3.1. Estrogénios.....	35
2.7.3.5.3.2. PGF <sub>2α</sub> .....	36
2.7.3.5.4. Novas abordagens .....	37
2.7.4. Endometrite subclínica .....	38
2.7.5. Piómetra.....	39
3. Materiais e Metodos .....	40

3.1. Animais .....	40
3.2. Exame Clínico.....	40
3.3. Tratamento dos dados .....	41
3.4. Definição de Endometrite .....	41
4. Resultados .....	42
5. Discussão .....	45
6. Conclusão.....	50
Bibliografia .....	51
Anexo1- Formulário para o exame clínico dos animais .....	58

## Lista de Tabelas

Tabela 1- Animal assistido .....	3
Tabela 2 - Casuística acompanhada durante o estágio .....	4
Tabela 3- Animais com culturas negativas no pós-parto.....	17
Tabela 4 - Microrganismos identificados em infecções uterinas e o seu poder patogénico.....	18
Tabela 5 - Relações entre bactérias e corrimentos uterinos.....	20
Tabela 6 - Prevalências de endometrite e o critério de diagnóstico utilizado .....	24
Tabela 7 - Animais com endometrite por exploração.....	42
Tabela 8 - N° de animais com endometrite consoante o período pós-parto .....	43
Tabela 9 - Actividade ovárica consoante período pós-parto .....	44

## Lista de Gráficos

Gráfico 1 - Tipo de consulta prestada (n=143).....	3
Gráfico 2 - Distribuição de exames ao longo dos dias pós-parto .....	43
Gráfico 3 - Resultados da vaginoscopia .....	44

## Lista de Abreviaturas

ADS- Associação de Defesa Sanitária

IA - Inseminação Artificial

PGF<sub>2α</sub> - Prostaglandina F<sub>2α</sub>

PGE<sub>2</sub> - Prostaglandina E<sub>2</sub>

PMN`s - Polimorfo-nuclear neutrófilos

TLR - Receptores *Toll like*

IG - Imunoglobulinas

TNF<sub>α</sub> - Factor de necrose tumoral

FSH - Hormona Folículo estimulante

LH - Hormona Luteotrópica

ILG-1 - Factor de crescimento com acção semelhante à insulina

BEN - Balanço Energético Negativo

IU - Intra-uterina

IM - Intra-muscular

RP - Retenção Placentária



# **1. Introdução**

## **1.1. Nota introdutória**

O Mestrado Integrado em Medicina Veterinária (MIMV) da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa culmina com um estágio curricular. O meu estágio consistiu no acompanhamento do Dr. Dário Guerreiro, médico Veterinário, na área de Clínica de espécies pecuárias, maioritariamente da espécie bovina. O estágio realizado tinha como base a zona da Moita do Ribatejo mas estendia-se para o Ribatejo e para a península de Setúbal. Teve a duração de cerca de 4 meses (do dia 1 de Outubro a 6 de Fevereiro) e a estimativa do número de horas é de cerca de 800. Segue-se uma descrição resumida das actividades realizadas bem como o meu envolvimento nas mesmas e um relatório da casuística acompanhada.

### **1.1.1. Descrição das actividades**

O meu estágio compreendeu várias vertentes do clínico buiátrico: a assistência a explorações na área da reprodução, actividades de saneamento efectuadas pela brigada de bovinos da Associação de Defesa Sanitária da Península de Setúbal (ADS), e clínica de ambulatório. Existiram ainda outras actividades como a desparasitação /vacinação de grandes e pequenos ruminantes e vacinação de pequenos animais.

Particpei no acompanhamento reprodutivo de seis explorações leiteiras e outra de carne. As visitas eram normalmente quinzenais (em 2 das explorações era prestada assistência também por outro Veterinário de modo alternado) e consistiam no diagnóstico e confirmação de gestação, por palpação rectal, e exame reprodutivo pós parto, por palpação rectal e vaginoscopia. Estes exames permitem uma resposta em tempo real sobre a presença ou ausência de gestação, o estado de involução uterina e a presença de corrimentos uterinos indicadores de infecção, bem como a eventual necessidade de recorrer a tratamentos ou a protocolos de sincronização de estro.

Das 6 explorações acompanhadas apenas uma se destinava à produção de carne. Trata-se de uma exploração de grandes dimensões (mais de 1000 vacas adultas) divididas em lotes. O maneio reprodutivo concentrava os partos de cada lote com épocas de cobrição. O diagnóstico de gestação era efectuado pelo menos 35 dias após retirar o touro do contacto com as vacas.

As vacas com diagnóstico negativo eram mudadas de lote, refugadas ou tratadas com protocolos hormonais de sincronização de estro.

As explorações leiteiras eram de dimensão média (de 50 a 180 vacas em ordenha) e, à excepção de uma, praticavam todas inseminação artificial. Cada 2 semanas as vacas com mais de 35 dias pós-inseminação, ou com esse intervalo de tempo no caso de monta natural, eram palpadas e diagnosticada a presença ou não de gestação. A confirmação do diagnóstico era efectuada aos 90 - 120 dias. Confirmações extra eram efectuadas em animais problema.

Eu realizava as palpações rectais após o Dr. Dário Guerreiro, salvo em casos pontuais.

Diagnósticos de gestação em vacas de carne de outras explorações também foram efectuados a pedido dos proprietários.

## ADS

De acordo com as disposições em vigor efectuou-se a tuberculinização dos animais adultos para posterior verificação da reacção, e a colheita de sangue para pesquisa de Brucelose, Leucose Bovina e Peripneumonia Contagiosa Bovina. Eu realizava a colheita de sangue em parceria com um auxiliar do ADS.

Durante o meu estágio curricular foram saneados bovinos de leite, de carne e de raça brava, num total de 3150 animais. Eram posteriormente verificadas as reacções à tuberculinização.

## Clínica de ruminantes.

Esta foi a grande parte do meu estágio, não só por entusiasmo próprio, pois considero que é uma área estimulante, mas também por ocupar a maior parte do tempo. Segue-se uma pequena análise da casuística acompanhada.

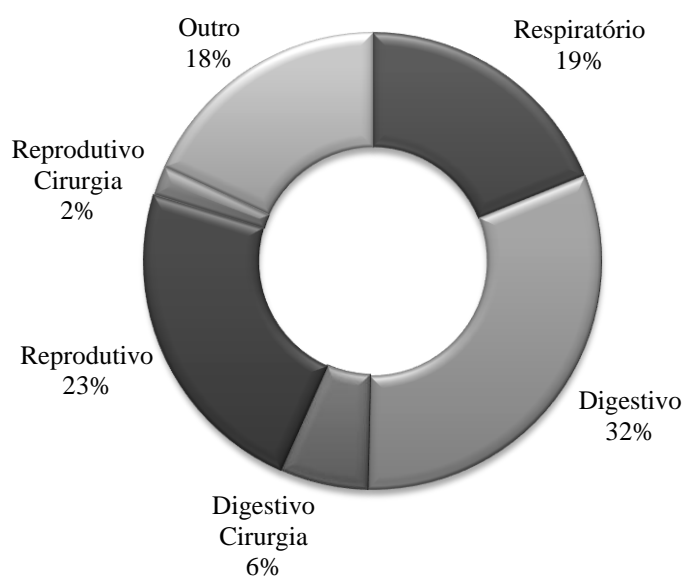
Foi prestada assistência, mediante chamada telefónica, a onze explorações a título mais regular, quer pela sua dimensão quer pela quantidade de chamadas. Estas explorações totalizaram 79 chamadas, enquanto as outras 64 assistências foram a animais de outros proprietários. Apesar de centrada na clínica de ruminantes, era prestada assistência esporádica a outros animais (tabela 1)

**Tabela 1- Animal assistido**

Animal assistido	Número de animais	Porcentagem do total
Touro	8	5,6%
Vitelo leite	4	2,8%
Vaca leite	44	30,8%
Vitela/novilha	3	2,1%
reposição		
Vaca carne	20	14,0%
Vitelo carne	24	16,8%
Novilho	14	9,8%
Ovelha	8	5,6%
Cabra	3	2,1%
Cordeiro	4	2,8%
Gato	2	1,4%
Cão	3	2,1%
Cavalo	6	4,2%
Total	143	100%

Em relação ao sistema envolvido, a casuística foi distribuída majoritariamente por patologias do foro respiratório, digestivo e reprodutivo, como ilustrado no Gráfico 1 e Tabela 2. Em alguns casos eram vários os animais a sofrer do mesmo problema, porém apenas era contabilizada uma chamada.

**Gráfico 1 - Tipo de consulta prestada (n=143)**



**Tabela 2 - Casuística acompanhada durante o estágio**

Situação	Frequência absoluta
Caquémia	1
Clostridiose	6
Cólica	6
DAD	3
DAE	4
Diarreia Neonatal	18
Diarreia	3
Disenteria de inverno	1
Distócia severa	6
Distócia moderada	5
Ectima contagioso	1
Fasciolose	2
Febre da carraça	1
Fígado gordo	4
Fígado gordo e hipocalcémia	1
Hipocalcémia	3
Infecção intestinal	1
Insuficiência hepática	1
Intoxicação por taninos	1
Mamite	4
Metrite	5
Paratuberculose	1
Peritonite aguda	1
Pneumonia	25
Poliartrite	1
Prolapso rectal	1
Prolapso uterino	5
Prolapso vaginal	1
Queratoconjuntivite	1
Retenção de secundinas	9
Timpanismo gasoso	1
Torção de ceco	1
Torção intestinal	1
Torção uterina	3
Tosse canil	2
<b>TOTAL</b>	<b>130</b>

De um total de 143 consultas acompanhadas e registadas, assisti a 14 cirurgias, sendo que 10 foram cirurgias ao aparelho digestivo, para resolução de deslocamentos do abomaso à esquerda e à direita e torções intestinais, todas em vacas de leite. O acesso era efectuado pelo lado direito e normalmente era possível, depois de devidamente desinfectado, examinar os conteúdos do abdómen antes e depois da resolução da torção ou deslocamento. As restantes 4 cirurgias foram cesarianas, uma delas numa vaca de carne.

## **1.2. Objectivos**

À medida que as necessidades da população e a competitividade entre mercados aumentam, a produtividade dos sistemas animais tem também necessidade de ser melhorada para continuar a perseguir critérios económicos de viabilidade e alimentar uma população em crescimento. Além disto a fertilidade em bovinos de leite tem vindo a diminuir ao longo dos últimos anos relacionada com o aumento da produção leiteira (Lucy, 2001).

Existem vários índices que visam avaliar a fertilidade numa exploração. O intervalo entre partos e o intervalo parto-concepção são bastante úteis como índices gerais e diferem entre si apenas pela inclusão do tempo médio de gestação no intervalo entre partos. Outros índices há, como a taxa de gestação ao primeiro serviço, a taxa de gestação global, o nº de serviços por gestação, o intervalo parto-1º serviço, etc. ... Estes índices estão directa ou indirectamente ligados entre si e permitem-nos avaliar a fertilidade de uma exploração. É de fácil compreensão que a presença de infecção uterina no período pós-parto causa um aumento do intervalo parto-concepção (LeBlanc et al., 2002a) e é a causa de importantes perdas na indústria leiteira.

Os objectivos desta tese de mestrado são:

- Realizar um estudo descritivo sucinto sobre a presença de endometrites nas vacarias que foram visitadas durante o estágio curricular, verificando a proporção de animais com endometrite e pesquisar factores que poderão estar relacionados com esse mesmo diagnóstico.
- Verificar a possibilidade de executar rotineiramente o exame vaginoscópico e valorizá-lo como meio de diagnóstico.

## 2. Revisão Bibliográfica

### 2.1. Involução uterina e mudanças normais no pós-parto

Após o parto, o aparelho reprodutivo necessita de voltar ao seu estado normal não grávido, capaz de estabelecer outra gestação. Este processo ocorre a nível macro, microscópico e a nível funcional. É necessário para que se estabeleça nova gestação e envolve a involução uterina propriamente dita, a regeneração do endométrio, eliminação da contaminação bacteriana e o reinício da actividade cíclica ovárica normal (Sheldon, Williams, Miller, Nash, & Herath, 2008b). Neste processo o útero regressa ao seu tamanho normal e restaura as suas capacidades funcionais.

Ocorre diminuição do tamanho, necrose e desprendimento das carúnculas e regeneração do endométrio. Aos 12 dias pós-parto as carúnculas uterinas já foram eliminadas, o que contribui, em conjunto com a diminuição das outras áreas do útero, para a diminuição do peso do mesmo, de 13kg imediatamente após o parto, para 1kg passado 3 semanas (Sheldon et al., 2008b).

As fibras musculares longitudinais e circulares presentes no miométrio têm uma acção sinérgica na expulsão da lóquia, o corrimento uterino composto por restos de membranas e líquidos fetais, tecidos maternos, sangue e muco (Hafez & Hafez, 2004). Durante este processo, a lóquia muda de um líquido vermelho-acastanhado para um material amarelo-esbranquiçado e viscoso (Sheldon, Lewis, LeBlanc, & Gilbert, 2006). A eliminação da lóquia continua nas duas semanas pós-parto, ou até às quatro, caso se observe um atraso na involução uterina (Drost, Thomas, Seguin, & Troedsson, 2002). Tudo isto torna o processo muito dinâmico e é necessário ter tal facto em conta na avaliação dos órgãos reprodutores.

Numa involução uterina normal, aos 15 dias pós-parto deve ser palpável todo o útero e aos 14/18 dias já não se deve sentir fluido (Drost et al., 2002). A involução do cérvix é mais lenta que a do corpo e cornos uterinos, provavelmente devido ao seu elevado conteúdo em colagéneo. Em animais saudáveis, o diâmetro dos cornos uterinos atinge os 3-4 cm aos 25-30 dias enquanto que o cérvix deve ter um diâmetro menor que 5 cm aos 40 dias (Mortimer, Farin, & Stevens, 1997). A regeneração epitelial está completa aos 25 dias pós-parto mas as camadas mais profundas do útero só regeneram totalmente às 6-8 semanas pós-parto (Sheldon et al., 2008b; Sheldon et al., 2006). É portanto um processo moroso e complexo.

A involução uterina é fundamental na eliminação da contaminação bacteriana que ocorre após o parto. Ela é estimulada pela secreção endometrial de prostaglandina  $F_{2\alpha}$  ( $PGF_{2\alpha}$ ), entre

outras moléculas. Em vários estudos em que se mediram as concentrações plasmáticas de 13,14-dihydro-15-keto-PGF<sub>2α</sub> (PGFM), um metabolito da PGF<sub>2α</sub>, usado na sua quantificação por ser mais estável e ter uma semi-vida mais prolongada, apurou-se que há um aumento ante-parto fisiológico de PGF<sub>2α</sub>, atingindo um máximo no pós-parto imediato, e que dura entre 7 a 23 dias (Lindell, Kindahl, Jansson, & Edqvist, 1982). No entanto tem uma elevada variabilidade entre animais (Madej, Kindahl, Woyno, Edqvist, & Stupnicki, 1984). Quanto mais tempo ficar elevada a concentração de PGFM, mais rápida é a involução uterina, isto em vacas saudáveis (Madej et al., 1984; Lindell et al., 1982). Porém, em animais com infecção uterina as concentrações de PGFM estão elevadas em relação a animais saudáveis (Del Vecchio, Matsas, Fortin, Sponenberg, & Lewis, 1994) e a involução uterina está atrasada (Lindell et al., 1982). Este aparente paradoxo faz com que alguns autores sejam da opinião de que nestes animais, ao contrário do que se passa em animais saudáveis, existe uma correlação positiva entre a amplitude e duração da libertação de PGF<sub>2α</sub> e a duração da involução uterina (Kindahl, Odensvik, Aiumlamai, & Fredriksson, 1992) Isto faz com que animais com infecção uterina e, por conseguinte, altos níveis de PGF<sub>2α</sub> tenham uma involução uterina atrasada.

Os níveis de PGFM estavam aumentados em animais com endometrite grave em relação a animais com endometrite ligeira (Mateus, Costa, Diniz, & Ziecik, 2003), sugerindo que o grau de endometrite influencia a secreção de PGF<sub>2α</sub>; porém com padrões possivelmente diferentes do que acontece em animais normais. Este estudo revela uma relação entre a gravidade da endometrite e o aumento da secreção de PGF<sub>2α</sub>.

## **2.2. Imunidade e inflamação**

O sistema reprodutivo comunica com o exterior através da vagina e vulva. Na altura do parto as barreiras físicas são ultrapassadas e ocorre contaminação bacteriana do tracto reprodutivo em mais de 90 % das vacas (Sheldon, Noakes, Rycroft, Pfeiffer, & Dobson, 2002b; Sheldon et al., 2006); As respostas a estes estímulos bacterianos podem ser do tipo inato ou adquirido. Os mecanismos de defesa inatos, ou inespecíficos, são compostos pelas barreiras anatómicas e fisiológicas como a vulva e o músculo esfíncter vulvar, o cérvix, de natureza colagénica com três anéis sucessivos, um tampão de muco cervical que impede a contaminação bacteriana e

fibras musculares longitudinais e circulares que promovem a expulsão do material que esteja no útero, e uma resposta celular contra bactérias.

As primeiras células a combater o crescimento bacteriano são os neutrófilos, recrutados da corrente sanguínea. Mais tarde a importância dos macrófagos aumenta mas, no entanto, a fagocitose por parte dos polimorfo-nuclear neutrófilos (PMN) é a primeira e mais importante linha de defesa inespecífica frente à contaminação bacteriana (Sheldon & Dobson, 2004).

Para que o organismo reconheça a infecção, existem células específicas no endométrio que possuem receptores Toll like (TLR) com capacidade de reconhecer antígenos bacterianos. A activação destes receptores despoleta uma cascata sinalizadora que mobiliza as células imunes e estimula o fígado a produzir proteínas de fase aguda (Sheldon & Dobson, 2004). Além disto, no pré-parto há uma leucocitose (Kim, Yang, & Na, 2005; Mateus, Costa, Bernardo, & Silva, 2002b) que é causada pelo aumento no pré-parto imediato do cortisol (Singh, Murray, Mshelia, & Woldehiwet, 2008; Silva, Gaivão, Leitão, Amaro, Costa, & Mateus, 2008). Em todo o caso, estes aumentos estão dentro dos limites fisiológicos.

Imediatamente após o parto os neutrófilos e macrófagos são mobilizados para o útero e glândula mamária, o que explica a leucopénia transitória que existe por volta de uma semana pós-parto, seguida por vezes de um desvio à esquerda dos neutrófilos (Detilleux, Kehrlí, Stabel, Freeman, & Kelley, 1995).

Os neutrófilos são a primeira linha de defesa e as mais importantes células fagocitárias a serem recrutadas para o lúmen uterino. Infiltram-se em tecido e cavidades e fagocitam e matam microrganismos por diversos mecanismos (Bondurant, 1999), contribuindo para a formação de pus. O número médio de bactérias fagocitadas e neutrófilos activos no fluido uterino apresenta um pico ao 5º dia e baixa até ao 20º dia pós-parto (Hussain & Daniel, 1992). Nos neutrófilos retirados do sangue, a capacidade fagocitária dos PMN começa a aumentar logo antes do parto (Dosogne et al., 1999), e pode chegar a aumentar 20%. No entanto, o metabolismo oxidativo destes neutrófilos está significativamente diminuído (Detilleux et al., 1995). Estes autores suspeitam que se possa dever ao desvio à esquerda dos neutrófilos pois os neutrófilos não segmentados não têm tanta capacidade oxidativa.

Em animais que apresentaram sinais de endometrite e a resolveram espontaneamente, a capacidade oxidativa começa a aumentar uma semana após o parto mas só alcança valores semelhantes ao préparto após 4-5 semanas, fazendo com que os indicadores da actividade oxidativa sejam mais elevados quando se confirma a resolução da endometrite do que quando se diagnostica (Mateus, Costa, Carvalho, Serra, & Silva, 2002a).

Em animais com endometrite, seguidos a partir do pré-parto, os perfis leucocitários diferiam do grupo controlo saudável: tinham, desde antes do parto, maior número de leucócitos e menor capacidade fagocitária. Isto aponta para que uma das principais causas das infecções uterinas seja uma disfunção do sistema imune do animal e não a presença de bactérias susceptíveis de causar doença (Kim et al., 2005).

O balanço entre o aumento da capacidade fagocitária e o decréscimo na capacidade oxidativa parece ser importante para o desenvolvimento da endometrite.

Detilleux e colegas (1995) detectaram um aumento da glicoproteína associada à gestação (bPGA) que precede a diminuição da capacidade oxidativa dos neutrófilos o que sugere que esta proteína poderá ter um papel imunossupressor, necessário para evitar respostas exageradas a antigénios do feto, mas que pode ajudar a suprimir de maneira nefasta as defesas uterinas no pós-parto. Mesmo com estas condicionantes no período pós-parto, a imunidade inata é a primeira e principal linha de defesa no tracto reprodutivo às infecções (Bondurant, 1999).

À parte da resposta imune inata, existe também a resposta imune adquirida, dentro da qual podemos encontrar a imunidade humoral e a imunidade mediada por células.

A imunidade humoral, na forma de imunoglobulinas (Ig), actua no útero e, à excepção das IgE, todos os outros grupos de imunoglobulinas já foram encontradas nas secreções uterinas dos bovinos (Bondurant, 1999). As Ig A, G, M, actuam lisando as bactérias, opsonizando-as para que sejam fagocitadas, impedindo os seus mecanismos de adesão ou activando o complemento, embora as suas funções e locais de produção não tenham sido ainda muito estudadas (Singh et al., 2008). Detectou-se que, na altura do parto, a capacidade de produção de IgM, por parte dos linfócitos, é menor que no período precedente. No soro, as concentrações de IgM e de IgG<sub>1</sub> também diminuem à medida que o parto se aproxima. Isto acontece devido à menor produção de IgM pelos linfócitos e à elevada secreção das IgG<sub>1</sub> no colostro (Detilleux et al., 1995).

A actividade dos linfócitos apresenta o seu valor mais baixo uma semana após o parto mas volta a aumentar (Detilleux et al., 1995). As mudanças existentes não parecem ser provocadas por alterações nas subpopulações de linfócitos (Harp, Kehrl, Hurley, Wilson, & Boone, 1991), mas mais recentemente outros autores encontraram uma diferenças significativas entre as populações de linfócitos de animais que desenvolveram doenças como metrite e mamite em relação a animais saudáveis (Ohtsuka et al., 2002).

Os antigénios bacterianos capturados por células apresentadoras de antigénio, estimulam os linfócitos T helper a produzir interleucina 2, que por sua vez estimulam os linfócitos B a

diferenciar-se no endométrio e a produzir anticorpos específicos que ajudam a combater a infecção (Singh et al. , 2008). Bondurant (1999) descreve a presença de agregados linfoides no estrato esponjoso e nota que, ao terem folículos primários e secundários, é provável que haja locais de indução da resposta imune local. Será então necessário que o antigénio seja apresentado sob o epitélio, para o que devem contribuir as células apresentadoras de antigénio presentes no epitélio uterino: células epiteliais, do estroma e macrófagos (Bondurant, 1999).

Há um grupo de moléculas que modulam a resposta imunitária, chamadas citocinas. São exemplo delas o interferão  $\alpha$ , o factor de necrose tumoral (TNF $\alpha$ ) e as interleucinas. O TNF $\alpha$  está elevado a partir de 1 semana pós-parto em animais que desenvolvem endometrite (Kim et al., 2005). As interleucinas (IL1, IL2, IL6, IL8) agem em conjunto para activar e estimular a diferenciação de várias linhas celulares, aumentam a concentração plasmática de Cálcio, o que ajuda nas contracções do miométrio, estimulam a produção de PGF $_{2\alpha}$  e induzem um aumento do número de receptores da oxitocina no miométrio. (revisto por Singh et al., 2008).

Há outro conjunto de proteínas plasmáticas que também intervêm na resposta imune: o sistema complemento. Estas proteínas existem nas secreções uterinas devido a mecanismos pouco compreendidos (Bondurant, 1999). Por exemplo, após a ovulação ocorrem frequentemente pequenas hemorragias no endométrio que libertam estas e outras moléculas para o lúmen uterino (Bondurant, 1999) e é provável que as hemorragias que ocorrem no parto e durante a involução uterina contribuam para a sua presença. Existe ainda a extravasão capilar de certos componentes plasmáticos devido à elevada quantidade de substâncias que aumentam a permeabilidade vascular (Kuether, Audigé, Kube, & Welle, 1998) o que é bastante provável que aconteça no caso de infecção e inflamação uterina, através de produtos bacterianos e mediadores inflamatórios como é o exemplo dos produtos resultantes da desgranulação de mastócitos existentes no endométrio (Bondurant, 1999).

A via clássica do complemento visa complexos antigénio-anticorpo, enquanto a via alternativa visa antigénio de superfície. A activação destas vias resulta na formação de C3-convertase e de um complexo de ataque que provoca a lise da célula (Singh et al., 2008). Podem ainda actuar opsonizando microrganismos aumentando assim a fagocitose por parte dos neutrófilos. Outras moléculas do sistema complemento têm uma grande actividade quimiotáctica.

### 2.3. Dinâmica endócrina

Todo este sistema imune é influenciado pelos esteróides endógenos (estrogénios e progesterona). É geralmente aceite que o útero é mais susceptível à infecção durante o diestro quando está sob influência da progesterona, do que durante o estro (Sheldon et al., 2004). Além disto, os estrogénios têm sido utilizados para o tratamento da infecção bacteriana (Sheldon & Noakes, 1998). No entanto, estudos recentes mostram que a infusão intra-uterina de estrogénios aquando da altura esperada da selecção de um folículo dominante (entre os dias 7 e 10) não teve efeito na contaminação microbiana do útero nem na involução uterina (Sheldon, Noakes, Rycroft, & Dobson, 2003; Sheldon et al., 2004). Estes autores suspeitam que sejam os efeitos combinados do estro (e não só as concentrações elevadas de estrogénio) que sejam responsáveis pela resistência à infecção neste período.

O útero gestante está sob os efeitos da progesterona durante a quase totalidade da gestação. Apenas nos últimos dias, devido à secreção da placenta, há um aumento dos níveis de estrogénio, atingindo o seu nível máximo 1 a 3 dias antes do parto (Knickerbocker, Drost, & Thatcher, 1986). Na vaca cíclica, o útero também passa mais tempo sob a influência de progesterona (14 a 15 dias de um ciclo de 21), e passa apenas 1 dia (imediatamente antes do estro) sob o efeito dos estrogénios e sem influência da progesterona (Stevenson, 1997). Sob o ponto de vista evolutivo, é importante notar que estas mudanças endócrinas e o aumento das concentrações de estrogénios em particular, coincidem com as alturas em que é mais provável a contaminação bacteriana – o parto, pós-parto e a cobrição/inseminação.

O estradiol tem efeitos opostos aos da progesterona. O estrogénio tem como principais efeitos o estímulo da epitelialização, vascularização do endométrio, aumento da produção de muco cervical e secreções do oviduto, aumento da contractilidade uterina, iniciação da receptividade sexual e vários efeitos no sistema imune. A progesterona estimula a diferenciação das glândulas do endométrio, aumenta as suas secreções mas reduz a quantidade de muco cervical, actua contra a contractilidade uterina e tem efeitos antagónicos aos do estrogénio no que toca ao sistema imune (Bondurant, 1999).

A progesterona parece ter um grande efeito imunossupressor. A infecção não é detectada em muitos casos até que surja o primeiro corpo lúteo e este comece a produzir progesterona (Lewis, 1997). Em vacas de carne, o útero está mais susceptível à infecção experimental por *Escherichia coli* e *Arcanobacterium pyogenes* quando as concentrações de progesterona estão aumentadas (Del Vecchio, Matsas, Inzana, Sponenberg, & Lewis, 1992). Estudos *in vitro* mostram que a proliferação de linfócitos colhidos em ovelhas ovariectomizadas antes de ser detectado um corpo lúteo productor de progesterona era maior do que em animais não

ovariectomizados (Lewis, 2003). A progesterona tem também o efeito de reduzir as concentrações de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  e leucotrieno  $\text{B}_4$ , eicosanoides que aumentam a imunidade do útero (Vagnoni, Abbruzzese, Christiansen, & Holyoak, 2001) enquanto que aumenta a concentração de  $\text{PGE}_2$ , o que torna o útero mais susceptível à infecção (Singh et al., 2008). Além dos efeitos dos estrogénios serem menos conhecidos e definidos que os da progesterona, esta última afecta claramente o sistema imune. É por isso considerada a principal hormona esteroide que afecta o sistema imune, aumentando a susceptibilidade uterina a bactérias patogénicas (Lewis, 2004).

Outros responsáveis pela modulação da resposta imunitária uterina são os eicosanoides, nomeadamente  $\text{PGF}_{2\alpha}$ ,  $\text{PGE}_2$  e os leucotrienos. Os eicosanoides são uma família de moléculas sintetizadas a partir do ácido araquidónico através das ciclooxigenases (COX-1e 2) e lipoxigenases. Sintetizados a partir dos fosfolípidos da membrana celular, são produzidos pela maioria das células dos mamíferos e são moléculas com um grande espectro de acção. Os mecanismos de acção são variados mas geralmente consistem na alteração das concentrações de AMP cíclico ou do cálcio intracelular.

A  $\text{PGF}_{2\alpha}$  causa vasoconstrição e broncoconstrição, entre outros efeitos, e é metabolizada no pulmão. Favorece a resolução das infecções uterinas e é também um agente luteolítico, causando a lise do corpo lúteo com mais de 5 dias, através da activação da proteína quinase C e morte celular devido a elevadas concentrações de cálcio livre dentro das células (Adams, 1995). Em animais normais, no período imediatamente antes do parto, a sua concentração aumenta de forma não pulsátil. Após o parto, a involução uterina é responsável por níveis elevados de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  em animais saudáveis, mas em animais com infecção uterina as suas concentrações estão ainda mais elevadas e durante mais tempo (Mateus et al., 2003). Contraditoriamente, num estudo que classificava os animais como alto ou baixo nível de contaminação bacteriana aos 7 dias pós-parto, Williams e colegas (2007) não detectaram diferença significativa entre os níveis de PGFM dos 2 grupos.

Outra prostaglandina envolvida no processo reprodutivo é a  $\text{PGE}_2$  que causa vasodilatação e broncodilatação e facilita a infiltração leucocitária e a formação de edemas devido à vasodilatação (Adams, 1995). A  $\text{PGE}_2$  é também muito importante na modulação da resposta imunitária e tem efeitos imunossuppressores e miorelaxantes, o que, contrariamente à  $\text{PGF}_{2\alpha}$ , favorece a infecção uterina. A concentração de  $\text{PGE}_2$  no fluido uterino estava aumentada nos animais com infecções mais graves, inclusive antes do diagnóstico, o que sugere o envolvimento da  $\text{PGE}_2$  no desenvolvimento de infecção e reforça o papel da imunossupressão na patogenia da endometrite (Mateus et al., 2003). Possivelmente os diferentes padrões de

síntese de prostaglandinas terão um grande efeito na modulação da resposta imune e na involução uterina (Mateus et al., 2002b). O leucotrieno B<sub>4</sub> é uma molécula com alta actividade quimiotáctica e que está aumentada no útero inflamado (Bondurant, 1999) e tem capacidade de atrair neutrófilos para o lúmen uterino após a sua inoculação intra-uterina durante o estro.

## **2.4. Actividade ovárica**

O restabelecimento da actividade ovárica é outro evento fundamental para que a vaca possa ficar de novo gestante. A presença de infecção uterina influencia a actividade ovárica (Williams et al., 2007; Sheldon et al., 2002b; Peter, Vos, & Ambrose, 2009) .

Peters & Lammings (1986) especularam que no animal saudável, as principais mudanças endócrinas que levam à primeira ovulação são as seguintes: no pós-parto imediato, a secreção de GnRH faz-se de forma pouco frequente e em baixas quantidades; de 10 a 14 dias após o parto, a secreção de FSH faz com que se inicie uma onda de desenvolvimento folicular. Há então um aumento gradual da sensibilidade à GnRH o que vai causar um aumento da frequência de libertação pulsátil de LH com os seus efeitos ováricos. O crescimento folicular estimulado pela LH resulta no aumento de estradiol e inibina. É restaurado o mecanismo de feedback positivo que, em resposta a este aumento de estradiol, leva ao pico pré ovulatório de gonadotropinas e por conseguinte a ovulação.

A altura da primeira ovulação pós-parto varia com os autores. Os valores presentes na literatura vão desde as 2 às 4 semanas pós-parto (Mateus et al., 2002b; Peters & Lamming, 1986), perto do dia 17 ( $\pm 1,1$ ) (Williams, et al., 2007) ou do dia 17 ao dia 27 (Stevenson, 1997). Para Sheldon et al.(2002b) foi em média ao 15,7º dia ( $\pm 0,7$ ) que os animais onde o primeiro folículo dominante ovulou (em certos animais estes folículos podem sofrer atresia). De notar que o facto do folículo ter ovulado não foi influenciado pela contaminação bacteriana existente aos 7 dias pós-parto. Há ainda relatos de fases luteais curtas em animais normais ou com endometrite ligeira durante o pós-parto (Mateus et al., 2002b). Em suma, em animais com um puerpério normal, o reinício da actividade ovárica deve ocorrer até às 6 semanas pós-parto (Peter et al., 2009).

Em animais com infecção uterina os dados são mais díspares devido ao diferente critério de diagnóstico usado. Em relação às hormonas gonadotrópicas, as concentrações de hormona

folículo-estimulante (FSH) parecem não ser alteradas pelo grau de contaminação bacteriana (Williams, et al., 2007; Sheldon et al., 2002b). Williams e colegas (2007) supõem que o que poderá estar por trás de uma menor actividade ovárica seja a falta de sensibilidade do ovário à FSH e não a menor síntese desta.

Sabe-se no entanto que os folículos de animais com infecções mais graves são em média mais pequenos e as concentrações plasmáticas de estradiol são menores (Williams, et al., 2007; Sheldon et al., 2002b).

Em relação à hormona luteotrópica (LH), Sheldon e colegas (2002b) descobriram que a percentagem de folículos que ovulavam não era influenciada pelos níveis de contaminação bacteriana. Porém, os corpos lúteos que se formam são de menores dimensões e segregam menos progesterona nos animais com maior índice de crescimento bacteriano (Williams, et al., 2007). O estudo referido não segue os animais para determinar quais curaram espontaneamente. De todas as formas, o facto dos seus corpos lúteos segregarem menos progesterona pode ser positivo na auto-resolução destes casos visto a progesterona ter um certo efeito imunossupressor.

Outros autores chegaram à conclusão de que os folículos de animais com infecção uterinas mais graves são menores e produzem menos estrogénio. (Peter & Bosu, 1988). Sheldon e colegas (2002b) monitorizaram 70 animais, e classificaram-nos segundo a contaminação bacteriana aos dias 7, 14, 21, 28 em elevado ou baixo nível de infecção. Independentemente do nível de contaminação microbiana, todos os animais tiveram uma onda de desenvolvimento folicular até aos 14 dias pós parto precedida de um pico na concentração de FSH no dia 7 pós-parto. O tempo médio decorrido entre parto e a detecção do 1º folículo dominante foram 9,2 dias ( $\pm 0,3$ ) e não foi influenciado pelo nível de infecção ao dia 7. No entanto, os folículos dominantes de animais com elevado crescimento bacteriano são em média mais pequenos e produzem menos estrogénio. Houve também alguns folículos que regrediram e, nesses animais, a concentração de estradiol entre os dias 12 e 15 foi significativamente mais baixa do que em animais cujos folículos ovularam ou persistiram. Há então um certo número de animais cujos folículos dominantes não ovulam. De facto, para Peter et al. (2009), a duração do anestro pós-parto é determinada maioritariamente pelo destino do folículo, sendo que a inexistência de ondas de crescimento folicular é de importância reduzida pois ocorrem independentemente da contaminação microbiana. O facto de um folículo dominante não ovular pode ser causado pela falta de factores de crescimento tais como o factor de crescimento com actividade semelhante à insulina (ILG-1), a falta de

secreção pulsátil de LH ou ainda a menor expressão dos receptores de LH por parte do folículo (Peter et al., 2009).

Parecem existir efeitos localizados da infecção uterina nos ovários pois em animais com elevado nível de contaminação bacteriana, mais de 90% tiveram a sua primeira onda folicular no ovário contralateral à gestação prévia enquanto que em animais com uma carga microbiana menor, apenas 70% das ondas foliculares foram no ovário contralateral à gestação. No entanto, folículos de ovários contra e ipsilaterais em relação à gestação prévia têm a mesma capacidade funcional (Sheldon et al., 2002b). Estes autores descobriram ainda que um animal com elevado nível de contaminação bacteriana no dia 21 pós-parto tem 6 vezes menor probabilidade de ter um 1º folículo dominante no ovário ipsilateral à gestação prévia comparando com os animais com baixo nível de contaminação. O efeito localizado da infecção no ovário não é devido à diferente flora microbiana dos dois cornos uterinos pois, como demonstrou Williams e colegas (2007), existem as mesmas bactérias, com densidades de crescimento semelhantes no corno contra e ipsilateral à gestação. Outra hipótese para explicar este efeito localizado é que devido ao maior tamanho do corno uterino previamente grávido, a irrigação sanguínea é maior, o que vai causar uma maior absorção de mediadores inflamatórios (Sheldon et al., 2002b).

As endotoxinas bacterianas resultantes de infecções por Gram negativos são capazes de alterar a sensibilidade da hipófise anterior à GnRH e assim inibir a libertação pulsátil de LH, provavelmente através de mecanismos inflamatórios (Harris, et al., 2000; Williams, Harris, Battaglia, Viguié, & Karsch, 2001). A infusão intravenosa ou intracerebral de endotoxina ou interleucina 1 cessa a fase folicular em várias espécies inibindo a libertação de GnRH, possivelmente em sinergia com outros mediadores inflamatórios (revisito por Sheldon et al. 2002b). Deste modo as endotoxinas podem ter um papel importante no anestro prolongado que se verifica em alguns animais no pós-parto. Os animais com endometrites graves têm uma maior concentração de endotoxina no fluido uterino comparativamente a animais com endometrites ligeiras (Mateus et al., 2003). Os mesmos autores encontraram quatro casos de anestro pós-parto em nove vacas com endometrite e com concentrações detectáveis de endotoxina plasmática. Sabe-se que a endotoxina é metabolizada, pelo menos em parte, pelo fígado e após a administração endovenosa de endotoxina, a *clearance* foi de 30 minutos para vacas saudáveis sendo que vacas com lipidose hepática não conseguiram metabolizar a endotoxina (Andersen, Jarlov, Hesselholt, & Baek, 1996). A presença de estados metabólicos debilitantes, que são frequentes no pós-parto, pode assim exacerbar os efeitos da endotoxina.

Devido a este e outros factores ,como dificuldades na determinação laboratorial, recolha do material, espécies bacterianas, etc... a determinação das concentrações de endotoxina é um processo complicado.

Outro factor que poderá ser responsável por este atraso na actividade ovárica poderá ser a resposta inflamatória (Peter et al., 2009). De facto, os elevados níveis de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  causados pela infecção uterina durante as 3 primeiras semanas pós parto, pelo facto de não terem o mesmo padrão pulsátil da secreção fisiológica, poderão prolongar o anestro pós-parto (Peter et al., 2009).

Em estudos mais antigos (Peter & Bosu, 1987), há evidências da presença de ciclos éstricos curtos em animais infectados. No entanto as concentrações plasmáticas de LH não foram diferentes das detectadas em animais com ciclos normais pelo que a falta de estímulo luteotrópico não parece ser um factor determinante. Poderá estar relacionado com o facto de haver animais normais que apresentam ciclos éstricos curtos (Mateus et al. 2002b) e que possivelmente foram incluídos na análise ou, como especularam Peter & Bosu (1987), com o aumento da secreção de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  e o seu efeito luteolítico. Esta última explicação deixa as dúvidas mencionadas anteriormente por responder, porque os padrões de libertação de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  devido à inflamação são diferentes dos padrões de secreção fisiológicos por não serem pulsáteis.

## **2.5. Efeito do Balanço energético negativo**

O balanço energético negativo (BEN) que ocorre no pós-parto é causado pela insuficiente ingestão de energia em relação às necessidades de manutenção e produção do animal. Este facto faz com que os animais com um balanço energético negativo prejudiquem a função reprodutora e utilizem menos recursos nesse sentido. O BEN é também responsável por uma diminuição da concentração de glucose, insulina e ILG-1, o que diminui a quantidade de estrogénio produzido pelos folículos dominantes (Peter et al., 2009).

Além dos efeitos directos no sistema reprodutivo, existem também efeitos indirectos causados por estados metabólicos imunologicamente debilitantes.

## 2.6. Contaminação bacteriana

Antes do parto não existe contaminação uterina. Durante e após o parto pode ocorrer contaminação bacteriana devido à quebra das barreiras fisiológicas que impedem o acesso das bactérias ao lúmen uterino. Estas bactérias são provenientes do ambiente, da pele ou das fezes (Földi, et al., 2006). Mais de 90% dos animais são contaminados durante o pós-parto (Sheldon & Dobson, 2004; Sheldon et al., 2002b) (Tabela 3) mas tal não quer dizer que desenvolvam doença uterina pois o sistema imune consegue normalmente debelar a infecção. Portanto contaminação bacteriana não é sinónimo de infecção e a percentagem de animais com presença de bactérias no útero vai diminuindo à medida que se avança no pós-parto (Sheldon et al., 2002b; Williams, et al., 2005).

Num estudo efectuado em duas explorações com padrões de higiene distintos, não foram encontradas diferenças qualitativas ou quantitativas na contaminação bacteriana pós-parto pelo que os seus autores desvalorizam a higiene envolvente como causa de infecção uterina (Noakes, Wallace, & Smith, 1991). Não obstante, o bom senso deve imperar e certamente a melhoria das condições de higiene, por inúmeras razões, deve ser um objectivo de todas as explorações.

**Tabela 3- Animais com culturas negativas no pós-parto**

Dias pós-parto	21-28	7	14	21	28
Animais com cultura negativa	11,3%	7,14%	5,7%	12,85%	18,51%
Autor	Williams et al., 2005	Sheldon et al., 2002			

A contaminação bacteriana é proveniente do ambiente que rodeia a vaca após o parto, da pele e das fezes da própria vaca e das camas. Assim, a *E. coli* é o principal contaminante nos primeiros dias pós parto enquanto que o *A. pyogenes* é a bactéria mais importante no pós-parto mais tardio, associada a animais com endometrite (Williams, et al., 2007).

Há, no entanto, muitas outras espécies bacterianas envolvidas na contaminação uterina. Há uma certa controvérsia sobre a capacidade de certos organismos poderem causar doença, no entanto encontram-se indicadas na Tabela 4 divididas por classes de patogenicidade.

O crescimento de bactérias patogénicas e de bactérias potencialmente patogénicas está positivamente relacionado com a presença de corrimento uterino purulento (quando as

bactérias são consideradas em conjunto) (Williams, et al., 2005) e também aumenta o número de inseminações por gestação e a taxa de refugo (Studer & Morrow, 1979), entre outros efeitos.

**Tabela 4 - Microrganismos identificados em infecções uterinas e o seu poder patogénico**

Bactérias Patogénicas	Bactérias Potencialmente Patogénicas	Bactérias Oportunistas
<i>A. pyogenes</i>	<i>Bacillus licheniformis</i>	<i>Clostridium perfringens</i>
<i>P. melaninogenicus</i> ou spp	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>E. coli</i>	<i>Mannhiemia haemolytica</i>	<i>Micrococcus</i> spp
<i>F. necrophorum</i>	<i>Pasteurella multocida</i>	<i>Providencia stuartii</i> e <i>relfgeri</i>
<i>F. nucleatum</i>	<i>Peptostreptococcus</i> spp	<i>Proteus</i> spp
<i>Proteus</i> spp	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus</i> spp, <i>coagulase negativos</i>
	<i>Streptococcus</i> não hemolítico	<i>Streptococcus alfa hemolíticos</i>
		<i>Streptococcus acidominimus</i>
	<i>Acinetobacter</i> spp	<i>Aspergillus</i> spp
	<i>Haemmophilus somnus</i>	<i>Clostridium butiricum</i>
	<i>Streptococcus uberis</i>	<i>Corynebacterium</i> spp
		<i>Enterobacter aerogenes</i>
		<i>Propionobacterium granulosa</i>

Adaptado de Williams et al. (2005), Sheldon & Dobson (2004) e Bondurant (1999)

Segundo Williams e colegas (2005) o *A. pyogenes* é o principal agente patogénico relacionado com infecções uterinas. O seu crescimento está relacionado com a presença de corrimento purulento e fétido; aumento dos intervalos parto-primeira inseminação e parto-concepção e aumento das concentrações plasmáticas de proteínas de fase aguda, indicadoras da resposta inflamatória (como é o caso da  $\alpha_1$ -ácido glicoproteína). No mesmo estudo, considerando as bactérias individualmente, o autor não encontrou relação entre os parâmetros reprodutivos referidos acima e qualquer outra bactéria. Embora *A. pyogenes* seja mundialmente aceite como a bactéria mais patogénica para o tracto genital bovino, raramente é isolado sozinho (Dohmen, Lohuis, Huszenicza, Nagy, & Gacs, 1995; Sheldon et al., 2002b; Williams, et al., 2005; Williams, et al., 2007).

De facto, Dohmen et al.(1995) encontraram uma relação entre a presença de anaeróbios Gram negativos, principalmente *Bacteroides* spp e *Fusobacterium necrophorum* e a presença de *A. pyogenes*, pois nas amostras em que este último estava presente, comparando com as que não

estava, a percentagem de isolamentos de passava de 89% para 54% no caso de *Bacteroides spp*, e de 70% para 45% no caso do *F. necrophorum*. Este autor não especificou que espécie de *Bacteroides* estava mais associada à presença de *A. pyogenes* mas as bactérias do género *Bacteroides* não parecem ser capazes de causar endometrites clínicas devido à elevada prevalência destas bactérias em animais curados (45% contra 22% e 13% de *A. pyogenes* e *F. necrophorum*, respectivamente) (Dohmen et al., 1995). Williams e colegas (2005) não encontraram relação entre as características do corrimento uterino e a presença de *E.coli* e *Prevotella melaninogenicus*, bactéria do género *Bacteroides*. Parece então que os organismos do género *Bacteroides* não são, por si só, capazes de causar doença, mas a associação de bactérias gram negativas anaeróbias com *A. pyogenes* parece ser a forma mais normal de contaminação e parece existir um efeito sinérgico (Ruder et al., 1981). Segundo estes autores, nos animais infectados com *F. necrophorum* e *A. pyogenes*, tanto os sinais clínicos como o efeito nos parâmetros reprodutivos e na expressão do cio são mais evidentes.

Noventa e cinco por cento das vacas infectadas com *A. pyogenes* apresentavam também bactérias anaeróbias (Dohmen et al., 1995). A hipótese mais aceite é de que os organismos tenham uma acção sinérgica, sendo que *F. necrophorum* é responsável pela invasão tecidual e produção de uma leucotoxina que inibe a fagocitose e que o *A. pyogenes*, produz catalase e um factor de crescimento necessário para a proliferação de *F. necrophorum* (Ruder et al., 1981).

No que diz respeito a associações entre o carácter do corrimento uterino com a presença de bactérias, há várias conclusões (ver Tabela 5).

Por outro lado, a presença de *E. coli* e *Streptococcus spp* está negativamente relacionada com a de *A. pyogenes* (Dohmen et al., 1995) e, no caso de *Streptococcus spp*, também com a ausência de corrimento uterino purulento. A associação entre a presença de *A. pyogenes* e maus desempenhos reprodutivos também é encontrada na literatura (Bonnett, Martin, & Meek, 1993; Williams, et al., 2005).

Apesar da folículogénese ser influenciada pela contaminação bacteriana do útero, a importância do agente particular não foi significativa num estudo realizado por Sheldon et al. (2002). Tal facto, sugerem os autores, indica que a resposta inflamatória associada a diferentes níveis de contaminação bacteriana é mais importante do que a espécie de bactéria em si. Estas têm importância ao terem diferentes capacidades de estimular a resposta inflamatória.

Bonnet & Martin (1995), construíram um modelo baseado nos dados do desempenho reprodutivo e de biópsias e culturas bacteriológicas. Constataram que os efeitos da presença

de *A. pyogenes* eram mediados pela inflamação e coexistia com a existência de poucos focos linfocitários no estrato esponjoso. Porém, não chegaram a nenhuma conclusão sobre se animais com poucos focos linfocitários têm maior prevalência de infecção ou se, pelo contrário, esse é um dos efeitos da infecção.

**Tabela 5 - Relações entre bactérias e corrimentos uterinos**

Bactérias	Relação positiva (+) com corrimento uterino	Relação negativa (-) com corrimento uterino ou ausência de correlação
<i>E. coli</i>	Williams et al., (2005) – relação positiva com a presença de corrimento fétido	Williams et al., (2005) não encontrou relação com a quantidade de pus
<i>A. pyogenes</i>	Corrimento purulento e fétido - Williams et al., (2005); corrimento purulento - Dohmen et al., (1995)	
<i>Proteus</i>	Corrimento purulento – Williams et al., (2005)	
<i>F. necrophorum</i>	Corrimento purulento – Williams et al., (2005)	
<i>P. melaninogenicus</i>		Williams et al., (2005), não encontrou relação alguma
<i>Bacteroides spp.</i>	Corrimento purulento – Dohmen et al., (1995)	
<i>Streptococcus spp.</i>		Relacionado com ausência de corrimento uterino – Dohmen et al., (1995)

## 2.7. Infecção uterina pós-parto

### 2.7.1. Retenção Placentária

A retenção placentária (RP) é definida como a persistência da placenta após 12 ou 24 horas, conforme os autores (LeBlanc, 2008). Esta diferença não é muito importante, pois 95% das vacas que resolvem a situação às 24 horas, já o tinham feito às 12 horas pós-parto (Van Werven et al., 1992). Gémeos, distócia, nados mortos, parto induzido, aborto, hipocalcémia,

idade avançada, cetose e BEN são os factores de risco mais associados com a RP (LeBlanc, 2008).

Na origem desta disfunção parece estar uma deficiência na colagenólise nos cotilédones, que assim continuam presos às carúnculas (Eiler, 1997). Os animais com RP têm uma motilidade uterina normal ou aumentada, pelo que este não parece um factor importante na patogenia da RP. Considera-se que menos de 1% do total de retenções placentárias seja provocado por atonia uterina sem comprometimento do mecanismo de desprendimento dos cotilédones (Grunert, 1986). A consanguinidade pode contribuir para o deficiente sistema imunitário (LeBlanc, 2008). A RP, por sua vez, aumenta o risco da ocorrência de cetose, deslocamentos do abomaso, metrites e mastites (Eiler, 1997).

Quanto ao impacto da RP, este é muito variável pois depende da evolução da doença. Esta pode evoluir para metrite puerperal, endometrite ou cura. O impacto da condição advém daí e não por si mesma (LeBlanc, 2008).

O tratamento da RP é bastante controverso. Apesar da remoção manual da placenta ser um método utilizado há muito tempo, não há evidência de que seja benéfico e pode mesmo ser prejudicial (Eiler, 1997). A abordagem mais aconselhada parece ser o tratamento selectivo dos casos que evoluem para metrite ou endometrite. Porém esta opção pressupõe que a detecção das patologias seja bem feita (LeBlanc, 2008). Outros tratamentos são a administração parenteral de antibiótico: Ceftiofur ou Oxitetraciclina (também pode ser intra-uterina), aplicação de collagenases, etc. (Eiler, 1997) As taxas de sucesso destes tratamentos são bastante variáveis.

### **2.7.2. Metrite**

De acordo com Bondurant (1999), a metrite é uma inflamação que envolve todas as camadas do útero (mucosa endometrial, submucosa, muscular e serosa). Sheldon et al. (2006) propõem a seguinte definição de metrite: útero com tamanho anormalmente grande e corrimento uterino vermelho-acastanhado, associada com sinais sistémicos de doença (diminuição na produção de leite, apatia ou outros sinais de toxémia) e febre  $>39,5^{\circ}\text{C}$ . É comum acontecer nos primeiros 7 dias pós-parto (LeBlanc, 2008) e os animais afectados comem menos 3-6 kg de matéria seca do que animais normais nas 2-3 semanas que precedem a metrite (Huzzey, Vieira, Weary, & von Keyserlingk, 2007). A inflamação pode até estender-se às serosas de outras vísceras abdominais (Bondurant, 1999).

As metrites podem ser classificadas em 3 graus (Sheldon, 2008a) de acordo com a sua gravidade: Grau 1 – não há sinais sistémicos, apenas o útero se encontra aumentado e há corrimento purulento, até 21 dias após o parto; Grau 2 ou metrite puerperal – útero aumentado de tamanho, corrimento purulento e fétido, associada a sinais sistémicos (diminuição de produção de leite, inapetência, apatia, temperatura > 39,5°C) e por ser uma situação dolorosa os animais podem ter o dorso arqueado; Grau 3 ou metrite toxémica – animais com os sinais da metrite puerperal e com sinais de toxémia (inapetência, extremidades frias, depressão, colapso). Este último grau tem um prognóstico muito desfavorável.

O maior factor de risco é a retenção placentária (LeBlanc, 2008).

Não há duvida que, para evitar a morte em casos mais severos e por questões de bem estar animal, estes animais necessitam de tratamento sistémico (LeBlanc, 2008). O clássico tratamento intra-uterino (IU) com oxitetraciclina não parece trazer vantagens quando realizado juntamente com a terapêutica sistémica (LeBlanc, 2008). O mesmo parece acontecer com o flunixin meglumina (Drillich, Voigt, Forderung, & Heuwieser, 2007). Os antibióticos de eleição são o ceftiofur (1-2 mg/Kg IM q 24h) e a penicilina procaína (21000 UI/Kg q 12-24h) por 3-5 dias (Drost et al., 2002). A percentagem de cura é variável.

Existem várias maneiras de lidar com o problema a nível de rebanho que visam chegar a um protocolo clinicamente eficaz e economicamente rentável. LeBlanc (2008) descreve o que julga ser uma abordagem racional e eficaz: tratar com os antibióticos anteriormente descritos todos os animais que nos primeiros 10 dias pós-parto apresentem pelo menos dois destes sintomas: temperatura > 39,5°C, retenção placentária, apatia ou inapetência e corrimento uterino fétido). Outra medida que ajudaria no diagnóstico seria avaliar a quantidade de matéria seca ingerida pelos animais para que os que apresentassem um valor baixo fossem examinados mais ao pormenor, mas isto é difícil de avaliar em condições de campo.

## **2.7.3. Endometrite Clínica**

### **2.7.3.1. Definição**

Endometrite é a inflamação do útero que não se estende para além do *stratum spongiosum*, sem sinais sistémicos e que está associada a uma infecção crónica no pós-parto com bactérias patogénicas, geralmente *A. pyogenes* e/ou anaeróbios Gram negativos. (Bondurant, 1999; Lewis, 1997). Histologicamente há uma certa solução de continuidade do epitélio, vários níveis de infiltração por células inflamatórias, edema e congestão vascular das camadas

superficiais do endométrio (Bondurant, 1999). A endometrite clínica é caracterizada pela presença de pus, após os 21 dias pós-parto, muitas vezes associada a involução uterina atrasada (Sheldon & Dobson, 2004).

Como já foi mencionado, no início do puerpério, a quase totalidade dos animais apresenta contaminação por bactérias mas a maioria resolve a infecção desenvolvendo apenas uma endometrite ligeira e auto-limitante (Földi, et al., 2006). Num estudo que analisou úteros recolhidos em matadouro, foram encontradas várias formas de endometrite (Ahmadi, Tafti, Nazifi, & Ghaisari, 2005). A endometrite aguda apresentava congestão, edema, infiltração da mucosa e glândulas por parte de neutrófilos e necrose e degeneração do endométrio. A endometrite subaguda apresentava agregados linfóides, focais e/ou difusos, macrófagos e células plasmáticas; enquanto que a endometrite crónica tinha infiltração por PMN's associados a fibrose periglandular e dilatação quística das glândulas endometriais. Nas formas crónicas de endometrite, o tecido fibroso pode substituir o endométrio funcional, resultando em fibrose periglandular, degeneração quística e/ou atrofia das glândulas uterinas (Lewis, 1997)

O desafio da definição de endometrite consiste em identificar apenas os animais que têm um infecção uterina capaz de lhes causar uma redução da fertilidade, sem prejuízo da definição anatomopatológica da doença.

Num estudo retrospectivo efectuado por LeBlanc e colegas (2002a), em 1865 animais, os autores relacionaram os vários aspectos do exame clínico, por palpação rectal e vaginoscopia, com o desempenho reprodutivo. Os autores constataram que os achados clínicos que se traduziam num maior intervalo parto-concepção foram a presença de corrimento purulento ou fétido, ou diâmetro cervical maior que 7,5cm entre os 20 e os 33 dias pós-parto, ou corrimento mucopurulento após os 26 dias pós-parto. A presença de corrimento purulento ou mucopurulento num pós-parto mais tardio indica também uma endometrite, como é óbvio. Num artigo elaborado por vários especialistas mundiais (Sheldon et al., 2006) a endometrite clínica é definida como a presença de corrimento purulento detectável na vagina 21 dias ou mais pós-parto, ou mucopurulento após os 26 dias. Apesar de certos autores defenderam que a endometrite possa existir mais cedo (Földi et al., 2006 - a partir dos 14 dias) e de que a presença de endometrite dos 15 aos 20 dias ter sido relacionada com uma taxa de gestação reduzida (Gautam, Nakao, Yusuf, & Koike, 2008), a definição clínica baseada no desempenho reprodutivo futuro impõe que não se diagnostiquem animais com endometrite tão precocemente. Sheldon e colegas (2006) advertem que diagnosticar endometrites em animais com menos de 21 dias pode incluir uma grande percentagem de animais que ainda estarão a

resolver a infecção e que se vão curar espontaneamente, para além de que o aspecto da lóquia varia mais neste período. É portanto geralmente aceite que apenas se pode diagnosticar uma endometrite com a devida especificidade a partir dos 21 dias pós-parto.

### 2.7.3.2. Prevalência

**Tabela 6 - Prevalências de endometrite e o critério de diagnóstico utilizado**

Autor	Definição utilizada	Prevalência	Comentários
LeBlanc et al., 2002	Corrimento purulento ou fétida, ou diâmetro cervical > 7,5cm entre os 20 e 33 dias pós-parto; e corrimento mucopurulento após 26 dias pós-parto	16,9% (5 a 26% entre explorações)	n = 1865
Williams et al., 2005	Corrimento mucopurulento (método manual)	21d pp - 31% 28d pp - 17%	(nenhum tratamento efectuado aos 21 dias)
Barlund, Carruthers, Waldner, & Palmer, 2008	Citologia por cytobrush (>8% PMN's)	11,1% (0 a 23,5 % entre explorações)	28 a 41 dias pp
Hendricks, Bartolome, Melendez, Risco, & Archbald, 2006	Exame visual do corrimento e confirmação por palpação rectal e tentativa de expulsão dos conteúdos vaginais	22 dias- 65 e 62% 58 dias- 28,3 e 35,1%	Grupo tratado com PGF <sub>2α</sub> nos dias 7 e 14 e grupo não tratado, respectivamente.
Drillich, Raab, Wittke, & Heuwieser, 2005	Palpação rectal com massagem vaginal	37,3%	21 a 27 dias pp
Mejía & Lacau-Mengido, 2005	Palpação rectal	18 a 22%	30 a 50 dias pp
Drillich, Kaufman, Raab, Lenz, & Heuwieser, 2004	varios	10,9% 42,5% 58,5%	Vaginoscopia Cytobrush Ecografia Entre os dias 21 e 27.
Kasimanickam, Cornwell, & Nebel, 2006	Diâmetro cervical >7,5cm, corrimento purulento ou mucopurulento exterior ou vagina anterior(eco.).	18,1%	32-38 dias pp
Gautam et al., 2008	Vaginoscopia, com análise da performance reprodutiva susequente.	25,9%	15-60 dias pp
McDougall et al., 2007	Metricheck (corrimento com flocos de pus ou mais purulento)	21,2%	35 dias antes do começo do período reprodutivo n=2795

A prevalência de endometrite varia de exploração para exploração e o principal problema na comparação de dados reside no facto dos critérios de diagnóstico serem diferentes e algumas vezes não serem bem especificados. A Tabela 6 mostra alguns resultados bem como o critério utilizado.

Devido às discrepâncias entre critérios de diagnóstico, as várias prevalências não são totalmente comparáveis entre si.

### **2.7.3.3. Diagnóstico**

“No campo, o diagnóstico de endometrite tem de ser efectuado em tempo real e tem de fornecer elementos sobre o prognóstico e tratamento a efectuar” (Sheldon et al. 2006, tradução livre)

A infecção uterina, e em concreto as endometrites, são entidades difíceis de diagnosticar. Se é certo que o endométrio pode estar inflamado, é também certo que toda a involução uterina acarreta um certo grau de inflamação, e que este processo dinâmico se sobrepõe ao exame reprodutivo pós-parto normal e que portanto o diagnóstico tem de ter tal facto em conta. Os meios de diagnóstico empregues antes do final da involução uterina têm de ser avaliados à luz de critérios económicos e frente à possibilidade de os relacionar com parâmetros reprodutivos da exploração e sistema utilizados (Barlund et al., 2008), devido ao risco de sobrediagnosticar endometrites e diagnosticar animais que não vão ser influenciados no seu desempenho reprodutivo.

Em geral, os métodos de diagnóstico avaliam-se recorrendo a um “gold standard”, um teste que se reconheça ser o mais próximo possível do real. Porém, neste caso, não existe um “gold standard” definido (Sheldon et al., 2006) e a avaliação dos meios de diagnóstico utiliza, normalmente, para tal efeito parâmetros reprodutivos que tenham em conta o carácter eminentemente económico e rentável do controlo reprodutivo na vaca de leite. Um dos mais utilizados é a ausência de gestação aos 150 dias (LeBlanc et al., 2002a; Barlund et al., 2008). No entanto, é reconhecido que todos os testes terão pouca sensibilidade quando comparados com a ausência de gestação aos 150 dias porque há inúmeros factores que impedem ou contribuem para a ausência de gestação, além das endometrites (Barlund et al., 2008; LeBlanc, et al., 2002a). A sensibilidade pode ser aumentada ao combinar vários meios de diagnóstico.

### **2.7.3.3.1. Palpação rectal**

A palpação rectal é o método mais comumente utilizado no exame reprodutivo no pós-parto (LeBlanc, et al., 2002a; Drillich et al., 2004) mas surpreendentemente é subjectivo e não está provado que tenha relação com o desempenho reprodutivo (Lewis, 1997). É pouco sensível e específico no diagnóstico de endometrites (Youngquist & Shore, 1997) ainda que possa ser útil noutros aspectos do exame reprodutivo pós-parto.

LeBlanc et al. (2002a) definiram um critério clínico baseado na inspecção visual da zona do períneo e palpação rectal fazendo a análise dos parâmetros reprodutivos de 1865 animais. Concluíram que a presença de corrimento purulento na vulva, períneo ou cauda, diâmetro cervical maior que 7,5cm e a presença de um corno uterino com diâmetro superior a 8cm, tem uma sensibilidade de 17% e uma especificidade de 88%, comparando com a ausência de gestação aos 150 dias. Este critério não apresentou resultados demasiado discordantes com o modelo completo que incluía também vaginoscopia. No mesmo estudo, à medida se avança no pós-parto, este conjunto de critérios vai perdendo sensibilidade. Noutro exemplo, em 157 animais com endometrite diagnosticada por palpação rectal dos 20 aos 40 dias pós-parto, apenas 22% tinham culturas bacterianas positivas, enquanto que 59% dos animais diagnosticados através de vaginoscopia tinham culturas positivas (Mortimer et al., 1997)

Através da palpação rectal podemos ter outras indicações valiosas em relação à vaca com endometrite. A presença de estruturas ováricas, no ovário ipsilateral à gestação prévia, evidencia um bom prognóstico (Bonnett & Martin, 1995).

### **2.7.3.3.2. Vaginoscopia**

Como referido acima, a presença de corrimentos purulentos na zona do períneo, cauda e vulva pode ser utilizada para diagnosticar endometrites. Porém, apenas 43 % das vacas com endometrite os exibiam externamente (Dohmen et al., 1995) e para LeBlanc e colegas (2002a) apenas 22% das vacas com corrimentos purulentos foram diagnosticadas com base na inspecção do períneo. Isto sugere que este critério deixa muitos casos por diagnosticar. No entanto, o facto do corrimento ser detectado no exterior, em vez de através de vaginoscopia, não tem impacto na taxa de gestação (LeBlanc et al., 2002a).

A presença de pus na vagina está relacionada com a presença de bactérias patogénicas no útero (Dohmen et al., 1995; LeBlanc et al., 2002a; Williams, et al., 2005; Studer & Morrow,

1979). Num estudo realizado por Dohmen e colegas (1995), 101 vacas com endometrite, diagnosticada a partir dos 14 dias com recurso a vaginoscopia, eram classificadas em 4 níveis de acordo com a quantidade de pus no corrimento uterino (1 - muco com pequenas quantidades de pus ou muco esbranquiçado, 2 - mucopurulento, ou seja 50% de pus, 3- purulento, ou seja mais que 50% de pus e 4 - hemorrágico ou com odor fétido). Os agentes bacterianos *A. pyogenes*, *Bacteroides spp* e *F. necrophorum*, considerados como principais agentes patogénicos no útero, foram encontrados mais frequentemente em animais com corrimentos mais graves. Por outro lado, o isolamento de *Streptococcus spp* estava relacionado negativamente com o conteúdo purulento do corrimento.

A presença de corrimento purulento está também relacionada com o aumento dos dias abertos (LeBlanc et al., 2002a; Studer & Morrow, 1979).

A vaginoscopia consiste na visualização da vagina, até ao óstio externo do cérvix, com o auxílio de um espéculo de metal ou vaginoscópio (tanto de acrílico como descartável, de cartão) e uma fonte de luz. O procedimento é bastante simples, e necessita apenas que se tomem as devidas medidas de higienização da vulva e do aparelho: a vulva é lavada cuidadosamente e limpa com papel e, com ajuda de uma segunda pessoa que segura a cauda do animal, o vaginoscópio previamente desinfetado e lubrificado é inserido na vulva, com um ângulo de aproximadamente 45° até à zona da sínfise púbica, a partir da qual se prossegue horizontalmente até ao óstio externo do cérvix. Aqui, com a ajuda de uma fonte de luz que pode estar acoplada ao vaginoscópio ou ser uma simples lanterna de bolso, examinam-se os conteúdos da vagina, as suas paredes e o cérvix (Mortimer et al., 1997).

A vaginoscopia é um meio de diagnóstico muito útil, que no entanto não diagnostica endometrites subclínicas. O nível de concordância com a citologia é moderado ( $\kappa= 0,52$ ) e a sensibilidade e especificidade em relação à ausência de gestação aos 150 dias é de 7,1% e 87,4% (Barlund et al., 2008), ou de 21% e 89% (LeBlanc et al., 2002a) respectivamente.

Em relação à técnica de cytobrush tem uma sensibilidade e uma especificidade de 12,3% e 90,2%, respectivamente (Drillich et al., 2004).

É também possível fazer este exame manualmente, com a ajuda de uma luva de palpação limpa e lubrificada. As paredes da vagina são palpadas até alcançar o cérvix e o muco é retirado e examinado (Williams, et al., 2005). Um estudo provou que esta técnica, se executada com os devidos cuidados de higienização, não causa contaminação bacteriana. (Sheldon, Noakes, Rycroft, & Dobson, 2002a)

Há ainda um novo aparelho designado de *metrheck* que consiste numa vara de metal de 50 cm com uma hemisfera de borracha numa das pontas e que se insere na vagina e quando

retirado, o material purulento (se existente) pode ser visualizado aderente á hemisfera de borracha. São poucos os artigos disponíveis na literatura sobre este aparelho que parece ter uma sensibilidade ligeiramente mais alta que a vaginoscopia e uma especificidade ligeiramente inferior (McDougall, Macaulay, & Compton, 2007). No entanto este estudo não utilizou como *gold standard* parâmetros reprodutivos, comparando antes os dois testes entre si, com o que tiveram um nível de concordância ( $\kappa$ ) de 0,45. São necessários mais estudos sobre este aparelho.

### **2.7.3.3.3. Ecografia**

O custo dos aparelhos ecográficos tem limitado o seu uso no campo, porém, pode ser uma ferramenta útil em vários aspectos da reprodução (Mortimer et al., 1997). Na detecção de endometrites, vários aspectos da ecografia transrectal podem ser úteis. O volume de fluido intra-uterino está positivamente e significativamente relacionado com a densidade de crescimento bacteriano de anaeróbios e aeróbios (Mateus et al., 2002b) e com o aumento do tempo necessário à gestação (Kasimanickam, et al., 2004) e por isso a determinação quantitativa ou até qualitativa de fluido no útero tem valor diagnóstico e permite diagnosticar endometrites a partir das 3 semanas pós-parto (Mateus et al., 2002b). As medidas do lúmen uterino nos locais onde existe acumulação de fluído bem como a espessura do endométrio podem ter valor diagnóstico, sendo necessário e fundamental determinar os limiares a partir dos quais há relação com fertilidade reduzida.

Num estudo efectuado por Barlund e colegas (2008) várias técnicas ecográficas de diagnóstico de endometrite foram comparadas entre si e em relação a ausência de gestação aos 150 dias. As medidas de diâmetro uterino (nas zonas com maior acumulação de fluido, se forem detectadas) e a espessura do endométrio conseguiram ter maior sensibilidade que a citologia mas menor especificidade. Porém, este é um exame mais subjectivo que os demais pois envolve medições ecográficas de diâmetros uterinos ou outros sistemas de classificação, e portanto acarreta uma maior variação entre executantes (Barlund et al., 2008).

A correlação entre a ecografia e a citologia por cytobrush é baixa (Drillich et al., 2004).

As vantagens de cada um destes testes irá depender dos custos envolvidos por cada falso negativo ou falso positivo. No entanto a especificidade destes testes, quando utilizados sozinhos, não é satisfatória (Barlund et al., 2008)

#### **2.7.3.3.4. Citologia endometrial e cultura bacteriológica**

As densidades de neutrófilos na mucosa e no fluido uterino de animais normais é significativamente mais baixa do que em animais com endometrite e portanto os métodos citológicos são úteis para o diagnóstico da endometrite clínica mas também da subclínica (Ahmadi et al., 2005).

A recolha de material para citologia pode ser efectuada por lavagem uterina, aspiração e *cytobrush*. O fundamental é resguardar os instrumentos para evitar contaminação excessiva pois é necessário passar pela vulva, vagina e cérvix. Resumidamente, a vulva deve ser lavada e limpa com papel, desinfectada convenientemente e, com manipulação do cérvix por via rectal, guiar o instrumento até ao útero. É possível até adaptar material de inseminação para efectuar aspiração, guardá-la num invólucro de plástico e esterilizá-lo com gás. Ao passar o cérvix deve-se rasgar o plástico evitando a contaminação anterior. Por fim, recolher o material com a ajuda de uma seringa adaptada à pipeta e manipulação rectal do útero (Stevenson, 1997).

Na técnica de lavagem, depois de inserir um tubo através do cérvix, com os devidos cuidados de assépsia, são introduzidos no útero 20 ml de fluido salino estéril e, após massagem rectal do útero, e utilizando o mesmo tubo, a amostra é recolhida. Após centrifugação o sobrenadante é retirado e podemos observar o sedimento numa lâmina (Barlund et al., 2008).

O procedimento mais específico é no entanto a recolha por *cytobrush*, um escovilhão adaptado para grandes animais, enquanto que o mais sensível é a lavagem, quando comparados com a ausência de gestação aos 150 dias pós-parto. No mesmo estudo, o limiar para o diagnóstico de endometrites foi de 8% PMN's entre os dias 28 e 41 e o nível de concordância entre os dois resultados foi aceitável, porém a técnica de lavagem deformou mais as células (Barlund et al., 2008).

Outra aplicação destes métodos são a colheita de amostras para cultura bacteriológica.

Não são métodos de uso no campo por serem relativamente caros, morosos e não apresentarem resultados em tempo real.

#### **2.7.3.3.5. Biópsia**

A biópsia permite avaliar histopatológica e bacteriologicamente as amostras. O isolamento de bactérias está também relacionado com a presença de inflamação (Studer & Morrow, 1979).

Para efectuar uma biópsia, um instrumento revestido por uma bainha vaginal, é inserido no útero, mais uma vez com ajuda da outra mão por via rectal. O instrumento e a parede uterina são manipulados em conjunto com a finalidade de obter uma amostra de endométrio. As pinças “alligator” não são tão fáceis de utilizar em vacas como em éguas devido ao menor lúmen cervical (Stevenson, 1997). De resto, a biópsia é mais utilizada em equinos (Gilbert et al., 2005) devido ao custo, morosidade e efeito negativo que tem na fertilidade futura do animal (Ahmadi et al., 2005).

Não é uma técnica de rotina e serve apenas para investigação e procedimentos especiais, mas é uma técnica bastante sensível e específica na detecção de endometrites, e está bastante relacionada com comprometimento da fertilidade. Bonnett et al. (1993) determinaram uma especificidade de 77% e sensibilidade de 92% quando comparados com a presença de gestação até aos 119 dias como diagnóstico negativo e a ausência de gestação até aos 175 dias como diagnóstico positivo.

A interpretação da biópsia deverá ter em conta a fase do ciclo éstrico em que o animal se encontra pois podem ser observados alguns neutrófilos em animais saudáveis no período peri-éstrico. Em geral, a presença de neutrófilos durante a fase lútea é considerada patológica (Studer & Morrow, 1979).

#### **2.7.3.4. Impacto da endometrite**

“A doença uterina clínica e subclínica estão associadas com subfertilidade e infertilidade” (Sheldon et al., 2008a, *tradução livre*)

Devido ao facto da endometrite não causar repercussões sistémicas, os efeitos mensuráveis da endometrite são indirectos e mediados através de impactos na reprodução (LeBlanc et al., 2002a):

- Custos de tratamento e trabalho extra, veterinário ou não
- Exames reprodutivos
- Inseminações extra
- Hormonas para o maneio reprodutivo
- Ajudas na detecção de cio
- Menos crias por ano
- Custo inerente à vaca não passar tanto tempo da sua vida na 1ª fase da lactação,

que é mais rentável. Estas interacções com a curva de lactação irão ser influenciadas pela sua

forma. Um aumento do intervalo entre-partos de 13 para 18 meses pode causar perdas na ordem dos 5 a 18% (Seegers, 2006).

- Aumento da taxa de refugo destes animais devido a falhas reprodutivas (1,7 vezes maior probabilidade quando comparadas com animais saudáveis).

Mas, e de acordo com LeBlanc et al. (2002a) mais importante é a diminuição no desempenho reprodutivo, que se reflecte em:

- Aumento do intervalo parto - 1<sup>a</sup> inseminação em cerca de 3 dias
- Diminuição da taxa de concepção ao 1<sup>o</sup> serviço (de 37,9% em animais saudáveis, para 29,8%)
- Aumento dos dias abertos (de 119 dias em animais saudáveis para 151 dias em animais com endometrite)

Para Williams e colegas (2005), o número de inseminações por gestação não varia significativamente em relação às características do corrimento uterino. No entanto, tanto o intervalo parto-1<sup>a</sup> inseminação como o intervalo parto-gestação são mais prolongados, chegando estes autores às mesmas conclusões que LeBlanc e colegas (2002a). Além disto, o prolongamento destes dois intervalos estava relacionado com a presença de *A. pyogenes* (Williams, et al., 2005). Noutro estudo semelhante, a média de dias abertos a mais em animais com endometrite foi de 24 dias (Barlund et al., 2008), sendo que o risco relativo de gestação diminui em todos os estudos: 0,7 (Barlund et al., 2008), 0,4 a 0,6 (Kasimanickam, et al., 2004), 0,64 a 0,84 (LeBlanc et al., 2002a).

Em 2005, Gilbert e colegas efectuaram um estudo onde identificavam, através de citologias obtidas por lavagem uterina, animais com endometrites subclínicas entre os dias 40 e 60 pós-parto. Estes animais apresentavam piores resultados reprodutivos, semelhantes aos apresentados noutros estudos sobre endometrites clínicas.

A concomitante aplicação de programas de sincronização de estro como o “presynch” ou o “ovsynch”, ao consistirem em aplicações de PGF<sub>2α</sub> que favorecem os mecanismos de imunidade uterina, mascaram os efeitos da endometrite. Num estudo que avaliava a taxa de concepção à primeira inseminação, a presença de endometrites clínicas e subclínicas no exame inicial (antes de serem iniciados os protocolos) não tiveram influência na fertilidade (Kasimanickam et al., 2006), mas como foi dito a existência dos protocolos em si pode explicar o sucedido.

Em termos económicos o custo inerente à presença de corrimento vulvar é de cerca de 950€ (ao câmbio de £ para € de 2009-05-19) por cada 100 animais por ano (Kossaibati &

Esslemont, 1997). Para estes autores o corrimento vulvar é acompanhado de uma redução da produção de leite.

Será que o esforço necessário para o exame individual de cada animal compensa economicamente as vantagens obtidas com o tratamento? É uma questão que depende de cada caso e sistema de produção e vai ser influenciada pelo nível base de desempenho reprodutivo da exploração, a prevalência de endometrites, a eficácia do tratamento e o custo dos exames e dos tratamentos.

### **2.7.3.5. Tratamento da endometrite**

Poucos assuntos em clínica de bovinos são mais controversos do que o correcto tratamento de infecções uterinas, nomeadamente as endometrites. Talvez devido à falta de consenso nos critérios de diagnóstico ou a falta de estudos com controlos positivos não tratados, por exemplo, ou devido a pouco poder estatístico (Youngquist & Shore, 1997).

O princípio geral do tratamento das endometrites é reduzir a carga microbiana e estimular os mecanismos de reparação e defesa uterinos para debelar a infecção e reverter o efeito da inflamação que causa a diminuição de fertilidade (LeBlanc, 2008). Os benefícios dos tratamentos são potenciados pela presença de actividade cíclica aquando do tratamento (LeBlanc et al., 2002b).

Uma das questões mais pertinentes é se de facto se devem tratar as endometrites. É aceite que não há benefício em fazê-lo antes das 3, ou até mesmo 4 semanas pós-parto (LeBlanc et al., 2002b) e que após essa data, podemos, através do tratamento, ter o dobro dos animais curados relativamente à cura espontânea (Sheldon, 2007).

Um factor importante quando se pensa em endometrites clínicas e a sua cura, é que a taxa de cura clínica, determinada pelos meios de diagnóstico, não estava significativamente relacionada com a taxa de gestação. Por sua vez, a cura clínica não está intimamente ligada à aplicação de tratamento, como constatou LeBlanc et al. (2002b) enquanto que a aplicação de tratamento, particularmente cefapirina IU melhorava a taxa de gestação. Em suma, é importante testar os tratamentos face ao desempenho reprodutivo e não frente a curas clínicas pois certos efeitos subclínicos da endometrite poderão não ser tidos em conta.

As endometrites vão ficando menos graves com o passar do tempo e a taxa de cura ao primeiro tratamento aumenta com o avançar do pós-parto. O isolamento de *A. pyogenes* diminui as taxas de cura que normalmente se situam à volta do 64% (Feldman, Emming, &

Hoedemaker, 2004; Sheldon & Noakes, 1998). Segundo LeBlanc et al. (2002 a,b), os animais diagnosticados com endometrites clínicas antes dos 26 dias pós-parto não têm efeitos tão marcados na fertilidade nem os tratamentos aplicados nesta altura são tão eficazes, o que confirma a crença de que além de serem menos graves, muitas curam espontaneamente antes das 4 semanas.

### **2.7.3.5.1. Terapêutica intra-uterina**

Ao longo dos anos uma variedade muito grande de anti-sépticos e antibióticos foram utilizados na tentativa de tratar infecções uterinas (Youngquist & Shore, 1997)

É geralmente aceite que os anti-sépticos são prejudiciais à fertilidade através da irritação da mucosa uterina. No entanto poderão ter lugar na terapia das endometrites quando colocados no útero no dia 4 ou 5 após o estro pois a sua acção irritante induz novo estro em 4 a 7 dias após o tratamento (e o endométrio já está recuperado nessa altura) (Hemeida, Gustafsson, & Whitmore, 1986). Porém, à luz das alternativas que existem, não é um método muito utilizado.

O ambiente intra-uterino é anaeróbio e portanto os antibióticos têm de ser eficazes em ambientes privados de oxigénio (Youngquist & Shore, 1997)

Os organismos normalmente responsáveis pelas infecções uterinas são sensíveis à penicilina. Porém os outros contaminantes presentes nas primeiras semanas pós-parto, produzem penicilinasas, o que faz com que a penicilina só possa ser utilizada com mais garantias após os 30 dias pós-parto pois nessa altura, a maior parte dos microorganismos contaminantes já foi eliminada (Youngquist & Shore, 1997). A infusão de penicilina 24 horas após a inseminação artificial não teve efeitos benéficos na taxa de gestação e portanto, naquelas condições não teve valor terapêutico (Shams-Esfandabadi, Ghasemsadeh-Nava, & Shirazi, 2002). A penicilina não parece ser muito utilizada.

A oxitetraciclina é utilizada mais frequentemente (Youngquist & Shore, 1997) mas tem valores de CIM<sub>50</sub> bastante superiores aos das cefalosporinas frente a *E.coli*, *A. pyogenes* e anaeróbios (Sheldon & Noakes, 1998). O seu uso indiscriminado no passado levou ao aparecimento de resistências. A formulação mais utilizada são os óvulos intra-uterinos que só podem ser administrados logo a seguir ao parto pois é necessário que o cérvix esteja aberto. Foi tão eficaz como PGF<sub>2α</sub> e como o estradiol e, em casos de endometrite ligeira, superou os outros tratamentos (Sheldon & Noakes, 1998), pelo que é uma alternativa viável.

O antibiótico ideal será aquele que seja eficaz contra os organismos patogénicos uterinos, não comprometa a imunidade uterina e a fertilidade futura, e que não tenha intervalo de segurança para o leite, principalmente. As cefalosporinas satisfazem estes requisitos e substituíram a oxitetraciclina como antibióticos intra-uterinos. Além disto têm uma concentração mínima inibitória bastante baixa frente aos organismos mais prevalentes e patogénicos nas endometrites (Sheldon & Noakes, 1998)

Galvão et al. (2009) aplicaram infusões intra-uterinas de ceftiofur em animais que recebiam  $PGF_{2\alpha}$  para sincronização de cios para avaliar os efeitos na fertilidade. Estes autores concluíram que a infusão de ceftiofur não influenciou a prevalência de endometrite subclínica mas diminuiu a prevalência de culturas bacteriológicas positivas em vacas com endometrite clínica e o intervalo parto-concepção não foi alterado. Porém, até à data, não existem preparações comerciais de ceftiofur para infusão intra-uterina e mais estudos seriam necessários.

Em Portugal existem duas cefalosporinas para uso IU: a cefquinoma e a cefapirina. A cefalosporina mais utilizada é a Cefapirina. É uma cefalosporina de 1ª geração, com grande actividade contra bactérias Gram-positivas. Contra *A. pyogenes* tem um  $CIM_{50}$  de 0,5  $\mu\text{g/ml}$  (os microorganismos com  $CIM_{50} \leq 8 \mu\text{g/ml}$  são susceptíveis à cefapirina) e o desenvolvimento de resistências por parte de Gram-positivos é raro (Giguère, Prescott, Baggot, Walker, & Dowling, 2006).

Dohmen e colegas (1995) conseguiram uma taxa de cura com cefapirina (determinada através da ausência de corrimento purulento) de 73,3% e outros 16,8% dos animais apresentaram melhoras.

Este fármaco melhora o desempenho reprodutivo, especialmente em animais com factores predisponentes, como retenção placentária, nados mortos e em animais com corrimentos uterinos purulentos (McDougall, 2003). Este autor afirma que utilizando o antibiótico apenas em animais com factores predisponentes, e não após exames a todos os animais, este é economicamente vantajoso. Porém, este autor trabalha com épocas de cobrição pelo que será mais difícil estabelecer uma rotina de diagnóstico com tamanha sazonalidade.

Em animais com endometrite subclínica, a administração de 0,5g de cefapirina entre os dias 27 e 33 pós-parto resultou numa maior taxa de gestação que os controlos sem tratamento (Kasimanickam, et al., 2005). Notoriamente, num estudo efectuado por LeBlanc et al. (2002b), os efeitos benéficos do tratamento com cefapirina IU na taxa de gestação só começaram a ser notados 100 dias pós-parto. Pode ser possível que este tratamento leve ao aparecimento de uma menor taxa de animais com infecções subclínicas.

Outro antibiótico disponível é a rifaximina. É um derivado sintético da rifamicina, com acção bactericida, e que actua, à semelhança dos compostos relacionados, inibindo a RNA polimerase DNA dependente e por conseguinte a síntese proteica. Não cruza barreiras orgânicas pelo que não é absorvido, não havendo o risco de deixar resíduos na carne ou leite. O CIM<sub>50</sub> para *A. pyogenes* é de 0,0488 µg/ml (Fatro). A rifaximina como antibiótico intra-uterino existe numa formulação espumosa que, segundo os seus fabricantes é um dos trunfos do medicamento.

A literatura que existe sobre este fármaco é sobretudo sobre o seu uso em humanos em patologias como a encefalopatia hepática e SIBO (*small intestine bacterial overgrowth*) (Bon) devido à sua incapacidade para cruzar barreiras orgânicas. São necessários mais estudos sobre a sua utilização em bovinos para o tratamento de endometrites.

### **2.7.3.5.2. Terapêutica sistémica com antibióticos**

A utilização de terapêutica sistémica no tratamento de endometrites é questionável, sobretudo se for o único meio terapêutico. Isto acontece porque apenas temos inflamação e infecção do endométrio pelo que é difícil que os antibióticos atinjam concentrações satisfatórias nesse local. As doses são de 1 a 2 mg/kg *sid* IM para o ceftiofur e de 20mg/kg *quad* IM ou subcutâneo no caso da oxitetraciclina LA. De qualquer modo, os antibióticos de uso sistémico mais apropriados para infecções uterinas são as cefalosporinas.

### **2.7.3.5.3. Terapia hormonal**

#### **2.7.3.5.3.1. Estrogénios**

É geralmente reconhecido que o útero é resistente à infecção no período de estro, quando está sob a influência dos estrogénios. Seria então de esperar que fossem uma importante arma contra as endometrites. No entanto, o seu uso não é permitido na UE e estudos mostram que a infusão intra-uterina de estrogénios não diminui a quantidade de bactérias no útero e, para organismos como *P. melaninogenicus* e *F. necrophorum* até aumentaram a carga bacteriana (Sheldon et al., 2004). Além disto, também não aceleraram a involução uterina (Sheldon et al., 2003).

Esta aparente contradição poderá estar relacionada com a necessidade dos demais efeitos do estro, como aumento da produção de muco ou da motilidade uterina, ou ainda a baixa concentração de progesterona, para que os efeitos positivos do estro se façam sentir (Sheldon et al., 2004). Estes são dos poucos estudos que focam os efeitos dos estrogénios na carga bacteriana, ao passo que a maioria estuda os seus efeitos no sistema imune.

A injeção intramuscular (IM) de benzoato de estradiol conseguiu taxas de cura semelhantes à da PGF<sub>2α</sub> e da oxitetraciclina. No entanto, o intervalo tratamento-concepção foi superior aos dos outros tratamentos (Sheldon & Noakes, 1998).

#### **2.7.3.5.3.2. PGF<sub>2α</sub>**

Como foi acima referido, o útero é mais sensível à infecção durante a fase lútea, de alta concentração de progesterona. Assim, parece lógico que quando existe um corpo lúteo, seja um tratamento de escolha provocar a sua lise. Além disto a PGF<sub>2α</sub> pode ter efeitos úterotónicos que favoreçam a resolução da infecção.

A taxa de cura é de 68% (Drillich et al., 2005; Sheldon & Noakes, 1998). O sucesso do tratamento é superior quando existem níveis elevados de progesterona (Sheldon & Noakes, 1998) pois existe lise do corpo lúteo. Ainda assim, as prostaglandinas F<sub>2α</sub> podem estimular a mobilidade do útero em animais sem um corpo lúteo sensível à PGF<sub>2α</sub> (Kasimanickam, et al., 2005). Com efeito, vacas tratadas com prostaglandinas no dia 26 pós-parto tiveram menor quantidade de corrimento vaginal, cornos uterinos de menor diâmetro, menos inflamação, fibrose e menor probabilidade de isolamento de *A. pyogenes* no dia 40 pós-parto. No entanto estes efeitos não tiveram relação com os níveis de progesterona no leite (Bonnett, Etherington, Martin, & Johnson, 1990). Outros autores não encontraram essa relação, e, segundo os mesmos, a administração de PGF<sub>2α</sub> a animais que não tenham um corpo lúteo palpável antes dos 26 dias pós-parto pode até reduzir as taxas de gestação (LeBlanc et al., 2002b). Estes autores são da opinião que a administração de PGF<sub>2α</sub> só deve ser recomendada quando há um corpo lúteo palpável.

Em termos de benefícios no que toca a diminuir os dias abertos, a PGF<sub>2α</sub> encurta mais 18,1 dias que os estrogénios (Sheldon & Noakes, 1998).

Comparando 3 apresentações comerciais de prostaglandinas e análogos sintéticos, todas foram eficazes em reduzir o intervalo parto-concepção com resultados semelhantes (Etherington, Kelton, & Adams, 1994).

Além disto, as prostaglandinas  $F_{2\alpha}$  e análogos sintéticos têm a vantagem de deixarem poucos resíduos pelo que é pouco provável que prejudiquem a qualidade dos alimentos (Sheldon, 2007).

Há, no entanto, outros autores que não encontraram benefícios na utilização de  $PGF_{2\alpha}$  (Hendricks et al., 2006; Mejía & Lacau-Mengido, 2005). Talvez as particularidades destes estudos expliquem estes resultados: Hendricks e colegas (2006) realizaram o seu estudo num rebanho que praticava um período de espera voluntário de 100 dias pelo que os possíveis benefícios da aplicação de  $PGF_{2\alpha}$  não seriam tão facilmente detectáveis; Mejía & Lacau-Mengido (2005) além de fazerem o diagnóstico por palpação rectal, esperaram até à confirmação da resolução da endometrite para inseminarem os animais, pelo que os eventuais benefícios da aplicação de  $PGF_{2\alpha}$  poderão ter sido anulados.

Em conclusão, o tratamento actualmente recomendado é a administração de  $PGF_{2\alpha}$  quando existir um corpo lúteo funcional e a administração de antibiótico intra-uterino aos animais em anestro ou sem estruturas compatíveis com um corpo lúteo, sempre após os 21 dias pós-parto. (LeBlanc, 2008)

#### **2.7.3.5.4. Novas abordagens**

Devido à crescente preocupação pública sobre o uso de antibióticos e hormonas em animais destinados ao consumo humano, novas estratégias são necessárias para abordar o problema das infecções uterinas. Drillich et al. (2005) avaliaram o tratamento com enzimas proteolíticas, como a quimiotripsina, a tripsina e a papaína, também utilizadas no tratamento de mamites. Em comparação com o tratamento com  $PGF_{2\alpha}$ , o tratamento com enzimas proteolíticas não é superior e, em relação a parâmetros como a taxa de cura em animais com endometrites mais graves ou a proporção de animais gestantes aos 250 dias pós parto, obteve piores resultados. Porém, este estudo não tinha um grupo controlo com animais com endometrite sem tratamento, facto que resulta, a maior parte das vezes, da preocupação dos proprietários em deixar animais com endometrite sem tratamento. Esta decisão dos produtores, ainda que compreensível, dificulta a correcta avaliação e comparação de diferentes protocolos pois desconhece-se quantos animais doentes iriam curar espontaneamente. Assim, o tratamento da endometrite com enzimas proteolíticas não é tão eficaz como a  $PGF_{2\alpha}$ .

Um dos factores que podem ser responsáveis por uma depressão da imunidade uterina é a carência de micronutrientes como a vitamina E e o selénio (Sheldon, 2007). Ao contrário das vitaminas hidro-solúveis, o rúmen não tem a capacidade de produzir vitaminas lipo-solúveis, como a vitamina E (Bourne, Wathes, Lawrence, McGowan, & Laven, 2008). No entanto, a suplementação parenteral dos animais com vitamina E e selénio não reduziu a prevalência de infecções pós-parto nem melhorou os parâmetros reprodutivos. Os mesmos autores (Bourne et al., 2008) concluíram, por outro lado, que muitos animais podem não receber a quantidade de vitamina E necessária e que as concentrações desta no alimento não reflectem a sua concentração sanguínea e especulam que a quantidade suplementada poderá não ter sido a suficiente para verificar um efeito estatístico.

#### **2.7.4. Endometrite subclínica**

A endometrite subclínica consiste numa inflamação crónica, com infiltração do endométrio por leucócitos, maioritariamente neutrófilos, e que apenas pode ser diagnosticada por exames citológicos pois não existe corrimento purulento (Földi, et al., 2006; Sheldon et al., 2006). A endometrite subclínica manifesta-se a partir dos 21 dias segundo Sheldon e colegas (2006); mas outros autores advogam que só a partir da altura em que o endométrio está histologicamente normal, se pode estabelecer um diagnóstico de endometrite subclínica, logo a partir das 8 semanas (Földi, et al., 2006). Sheldon e colegas (2006) definiram os critérios para o diagnóstico da endometrite subclínica. Segundo estes autores, têm endometrites subclínicas os animais que não apresentem corrimentos uterinos e apresentem >18 % de neutrófilos em citologias uterinas realizadas entre os dias 21 a 33 pós-parto, ou >10% neutrófilos dos 34 aos 47 dias pós-parto. Também tem valor diagnóstico a presença de fluido no lúmen uterino, detectado por ultrasonografia, a partir dos 21 dias pós-parto (Sheldon, 2008a). Dada a subtilidade desta afecção, a palpação rectal não tem qualquer valor diagnóstico (Sheldon et al., 2006).

Gilbert e colegas (2005) analisaram 22 vacas que não tiveram partos distócicos nem doença pós-parto. Através de citologias endometriais às 2, 4, 6 e 8 semanas, encontraram evidência de inflamação de 100, 89, 58 e 41%, respectivamente. É claro que nas primeiras semanas após o parto esta inflamação ocorre em todos os animais e não tem significado patológico. O limiar utilizado para o diagnóstico foi de 5% de neutrófilos, aos 40-60 dias pós-parto. Estes dados confirmam o carácter dinâmico da inflamação uterina pós-parto, o diferente ritmo a que vários

animais resolvem a situação e a possibilidade de obter resultados com muitos falsos positivos se tentarmos diagnosticar endometrites subclínicas muito precocemente.

Apesar deste carácter subtil, a endometrite subclínica causa infertilidade, aumenta o intervalo entre partos e a probabilidade de um animal com esta inflamação estar gestante é de cerca de 41 a 51% da probabilidade de um animal são (Kasimanickam, et al., 2004). A média de dias abertos em animais com endometrite diagnosticada por citologia entre os dias 40 -60 pós-parto foi de 206 dias contra 118 dias em animais saudáveis (Gilbert, Shin, Guard, Erb, & Frajblat, 2005). No mesmo estudo, as vacas com endometrite subclínica ficavam gestantes a um ritmo mais lento que os animais saudáveis, e aos 300 dias, apenas 63% das vacas com endometrite subclínica estavam gestantes, contrastando com 89% das vacas saudáveis.

### **2.7.5. Piómetra**

Piómetra é definida como acumulação de exsudado purulento dentro do útero (Hafez & Hafez, 2004), na presença de um corpo lúteo persistente e um cérvix fechado (Sheldon et al., 2006). Segundo estes autores, pode acontecer que o cérvix, ainda que funcionalmente fechado, deixe passar alguma quantidade de pus. A hipótese mais aceite é de que a piómetra se estabelece quando há presença de grande quantidade de bactérias no útero quando se forma o primeiro corpo lúteo. Se houver a presença simultânea de bactérias e elevada concentração de progesterona, e por conseguinte um cérvix fechado e os efeitos imunossupressores da progesterona, é provável que ocorra uma piómetra (Hafez & Hafez, 2004). Este facto leva estes autores a desaconselharem a administração de GnRH no início do pós-parto pois o reinício precoce da ciclicidade predispõe à piómetra.

O diagnóstico de piómetra pode ser feito por palpação rectal na presença de um útero distendido, de um corpo lúteo e história de anestro (Sheldon et al., 2006). Ao exame ecográfico, a piómetra apresenta-se como uma acumulação de fluído com ecogenicidade mista no lúmen uterino, distensão do útero e a presença de um corpo lúteo no ovário. (Sheldon et al., 2006). Um diagnóstico diferencial de piómetra é a gestação precoce. Porém, nesta última, o fluido não se desloca de um corno para o outro, há sinal de membrana e a parede uterina não está tão espessada e edemaciada (Sheldon et al., 2006).

## **3. Materiais e Metodos**

### **3.1. Animais**

O estudo foi efectuado em 56 animais provenientes de 5 vacarias da região da Moita e 1 da região de Alcobaça. Os dados foram recolhidos desde 17 de Dezembro de 2008 até 5 de Maio de 2009. O número de animais por exploração variou entre os 60 e os 400 animais. Metade das explorações utilizavam lojetes. Só uma das explorações utiliza monta natural. Nas explorações onde se pratica inseminação artificial (IA) esta é efectuada por um inseminador profissional após detecção de cio pelo proprietário ou trabalhador.

Em cada visita, os animais com mais de 21 dias pós-parto foram examinados por palpação rectal e vaginoscopia. Os dados possíveis de obter relativos à história reprodutiva do animal eram registados.

### **3.2. Exame Clínico**

Como parte do manejo reprodutivo das explorações, em relação ao exame reprodutivo pós-parto, as vacas com mais de 21 dias pós-parto eram examinadas, e as informações registadas num formulário (Anexo 1). Consoante o número de dias pós-parto, os animais eram distribuídos por 4 períodos: dos 21 aos 28 dias, dos 29 aos 36 dias, dos 37 aos 44 dias e dos 45 dias em diante. Era registada a temperatura rectal e após verificar se existiam corrimentos uterinos ou muco na zona da vulva, períneo e cauda, efectuava-se a palpação rectal. Vários parâmetros eram registados:

- diâmetro cervical (menos de 5cm, entre 5cm e 7,5cm e mais de 7,5cm; para tal a ficha de exame possui uma escala em centímetros),
- a posição do útero (pélvico, pélvico-abdominal, abdominal),
- simetria dos cornos uterinos,
- diâmetro do corno aumentado,
- conteúdo e
- presença de estruturas ováricas.

Após a palpação efectuava-se a limpeza da vulva e períneo com papel higiénico e desinfectava-se com clorohexidina. Um vaginoscópio de plexiglas, previamente limpo e desinfectado com clorohexidina, era introduzido na vagina até ao nível do *os externo* do cérvix. Com a ajuda de uma lanterna de bolso, eram registados os seguintes parâmetros:

- abertura do cérvix (de 0 para fechado a 5- abertura de 3 dedos),
- a cor da mucosa,
- a presença de corrimento uterino e a sua constituição. Os corrimentos foram classificados em: muco, muco com pequenas quantidades de pus (<50%), mucopurulenta (50% de muco e 50% de pus), purulenta (mais de 50% de pus) com e sem odor.

### **3.3. Tratamento dos dados**

O tratamento dos dados foi efectuado no programa SPSS e consistiu numa análise descritiva dos dados através de análises de frequências e tabelas de contingência. Foram pesquisadas associações entre as variáveis pelos testes qui-quadrado e teste exacto de Fischer.

### **3.4. Definição de Endometrite**

Os critérios utilizados para o diagnóstico de endometrite foram retirados de um estudo efectuado por LeBlanc e colegas (2002a) onde os investigadores compararam a performance reprodutiva dos animais com os exames efectuados. Os factores que foram encontrados são aqueles que têm relação com taxas de gestação reduzida:

- Diâmetro cervical > 7,5cm
- Corrimento uterino purulento
- Corrimento muco-purulento após os 26 dias

Estes critérios são relativos ao exame de animais dos 20 aos 33 dias mas este trabalho contou com exames a partir dos 21 dias e sem limite de dias definido. Foi escolhido este critério pois está provado que está relacionado com fertilidade diminuída. Porém, tal não significa que outros critérios não fossem válidos.

## 4. Resultados

Neste trabalho, foram examinados 56 animais e foi diagnosticada endometrite clínica em 10 animais (17,9%, n=56), segundo os critérios descritos por LeBlanc e colegas (2002a). Entre explorações, a percentagem de animais com endometrite variou entre os 9,1% e 28,6% (Tabela 7) mas o número de animais por exploração é muito reduzido para analisar estatisticamente os dados.

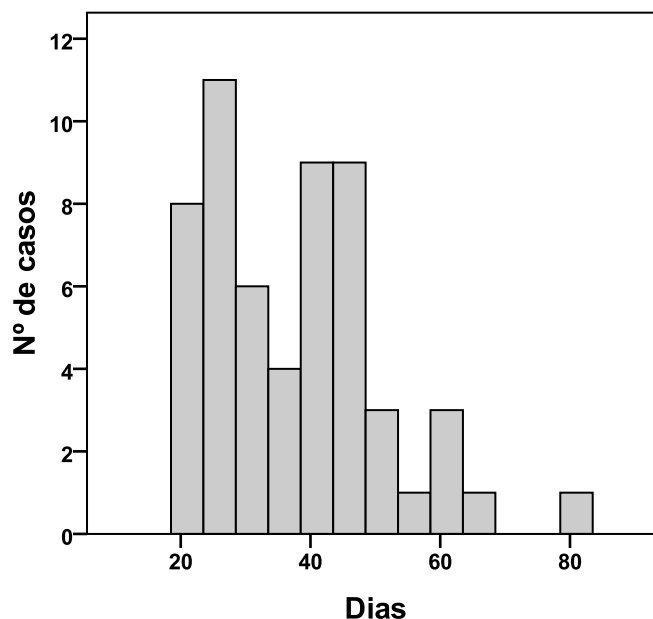
**Tabela 7 - Animais com endometrite por exploração**

Exploração		Endometrite		
		Não	Sim	Total
1	Nº de animais	6	2	8
	% de animais na exploração	75,0%	25,0%	100,0%
2	Nº de animais	7	1	8
	% de animais na exploração	87,5%	12,5%	100,0%
3	Nº de animais	11	2	13
	% de animais na exploração	84,6%	15,4%	100,0%
4	Nº de animais	5	2	7
	% de animais na exploração	71,4%	28,6%	100,0%
5	Nº de animais	10	1	11
	% de animais na exploração	90,9%	9,1%	100,0%
6	Nº de animais	7	2	9
	% de animais na exploração	77,8%	22,2%	100,0%
Total	Nº de animais	46	10	56
	% de animais total	82,1%	17,9%	100,0%

Os exames ginecológicos foram efectuados entre os 21 e os 79 dias com uma média e desvio padrão de  $37,7 \pm 12,9$  dias (Gráfico 2).

A percentagem de animais com endometrite por período pós-parto foi de 27,8%, 14,3%, 7,7% e 16,7% do primeiro ao último período, respectivamente (Tabela 8).

**Gráfico 2 - Distribuição de exames ao longo dos dias pós-parto**

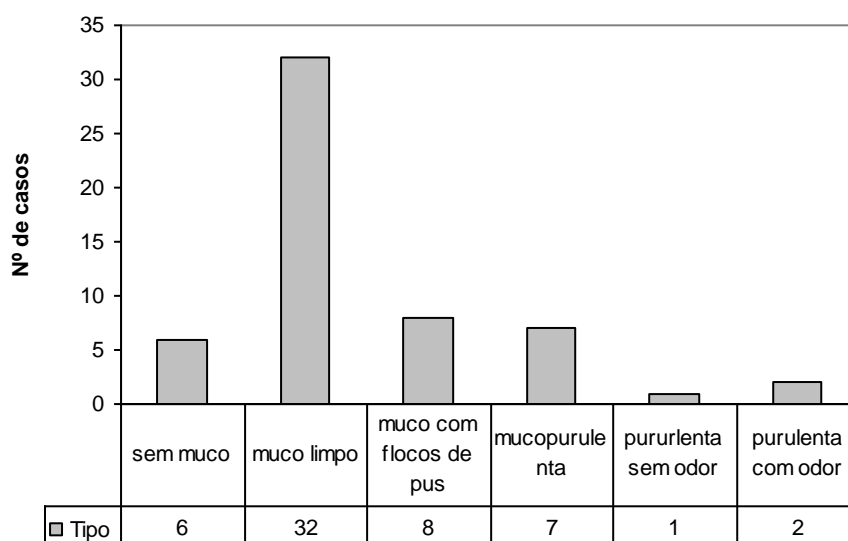


**Tabela 8 - Nº de animais com endometrite consoante o período pós-parto**

			Endometrite		
			Não	Sim	Total
Período	21-28 dias	Nº de animais	13	5	18
		% de animais neste período	72,2%	27,8%	100,0%
	29-36 dias	Nº de animais	6	1	7
		% de animais neste período	85,7%	14,3%	100,0%
	37-44 dias	Nº de animais	12	1	13
		% de animais neste período	92,3%	7,7%	100,0%
	45 dias- final	Nº de animais	15	3	18
		% de animais neste período	83,3%	16,7%	100,0%
Total		Nº de animais	46	10	56
		% de animais	82,1%	17,9%	100,0%

Quanto aos resultados obtidos durante a vaginoscopia (Gráfico 3), 32,1% dos animais apresentaram algum tipo de corrimento purulento. Mais concretamente, 67,9% dos animais não apresentaram ou este era mucoso e límpido, 14,3% apresentaram corrimento com pequenas quantidades de pus, 12,5% apresentaram corrimentos mucopurulentos e 3,6% e 1,8% apresentaram corrimentos purulentos com e sem odor, respectivamente.

**Gráfico 3 - Resultados da vaginoscopia**



Corrimento localizado na vulva, cauda ou períneo foi observado em 14,3% (n=8/56) dos animais. No grupo de animais com endometrite, foram 30% (n=3/10) os animais que apresentaram corrimentos exteriores.

Apenas três animais apresentaram um diâmetro cervical superior a 7,5cm e dois desses animais tinham parido há 25 dias ou menos.

No total, 60,7% dos animais (n=34/56) tinham um folículo ou um corpo lúteo palpável (Tabela 9).

**Tabela 9 - Actividade ovárica consoante período pós-parto**

		Actividade ovárica		
		Não	Sim	Total
Período	21-28 dias	9	9	18
	29-36 dias	5	2	7
	37-44 dias	2	11	13
	45 dias-final	6	12	18
Total		22	34	56

Do 1º ao 4º período de avaliação, a percentagem de animais que apresentou estruturas compatíveis com a actividade ovárica foi de 50%; 28,5%; 84,6% e 66,6%, respectivamente.

## 5. Discussão

Este trabalho foi desenvolvido no âmbito do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, durante o período de estágio curricular, de 1 de Outubro a 31 de Março. Foi efectuado em animais provenientes de explorações às quais foi prestada assistência durante o estágio. Sendo assim, o número de animais possível de examinar foi limitado (n=56) e a perda de poder estatístico foi inevitável. É portanto um estudo descritivo da percentagem de animais com endometrite durante o período de estudo e as extrapolações para a população deverão ser efectuadas com muito cuidado.

Com vista a reduzir o erro inter-observador, a palpação rectal foi sempre efectuada pelo mesmo clínico e o exame vaginoscópico pelo clínico e pelo autor. A caracterização do corrimento vaginal mereceu a concordância dos dois observadores em todos os casos.

A percentagem de animais com endometrite dos 21 aos 79 dias foi de 17,9% e está de acordo com a literatura (LeBlanc et al., 2002a) num estudo efectuado em 1865 animais e onde se observou uma prevalência de 16,9% em animais examinados entre os 20 e os 33 dias (Tabela 6) e de onde foram extraídos os critérios de diagnóstico aqui aplicados. Porém, se neste trabalho apenas tivermos em conta os animais com 21 a 33 dias pós-parto, verificamos que são 24 % os animais com endometrite pelo que continua a ser um valor semelhante.

A ideia subjectiva do veterinário assistente em relação à percentagem de animais com endometrite nas mesmas explorações, usando apenas a palpação rectal como meio de diagnóstico, foi de 10% (Dário Guerreiro, comunicação pessoal, junho de 2009). Ainda que não científica, e devido a não haver estudos em todas as situações, são muitas vezes estas opiniões que contam para o clínico de campo. Os 17,9% de animais com endometrite neste trabalho são significativamente diferentes de 10% ( $p=0,05$ ) e tal diferença poderá ser devida ao emprego da vaginoscopia. Mais uma vez, o valor de 10%, ainda que não seja arbitrário, reflecte apenas uma ideia subjectiva e não científica.

A involução uterina está completa aos 25-30 dias e a involução cervical um pouco mais tarde (Sheldon et al., 2006). O presente estudo sobrepõe-se à involução uterina normal e portanto é esperado que as condições uterinas sejam dinâmicas ao longo do período em estudo e como tal, os dados foram separados em 4 grupos, consoante o período pós parto em que foram obtidos (1-21 a 28 dias, 2-29 a 36 dias, 3-37 a 44 dias, 4- 45 até ao final).

A percentagem de animais com endometrite varia conforme o período em estudo (McDougall et al., 2007; LeBlanc et al., 2002a) e diminui com o aumento dos dias pós-parto (Sheldon et al., 2002b; Williams, et al., 2005).No presente trabalho, diminui ao longo dos 3 primeiros

períodos de estudo (Tabela 8) o que aponta para a importância da resolução espontânea da infecção uterina.

O último período, constituído por animais examinados com mais do que 44 dias após o parto, tinha proporcionalmente mais animais com endometrite do que os 2 períodos antes, o que não é explicado pela resolução espontânea. Uma explicação possível é de que neste grupo hajam animais problema, que por alguma razão não tinham sido examinados antes, e que o proprietário incluiu no exame tendo esses animais aumentado a taxa de diagnósticos positivos.

O diâmetro cervical deverá ser inferior a 5cm até aos 40 dias pós-parto (Mortimer et al., 1997). Neste trabalho 26 animais tinham mais de 40 dias pós-parto aquando do exame. Desses 26 animais, apenas 7 apresentaram um diâmetro cervical maior que 5cm e um deles apresentava corrimento purulento. Os 3 animais que foram diagnosticados devido a apresentarem um diâmetro cervical maior que 7,5 cm, foram examinados com 23 e 25 dias pós-parto. Os dois animais que foram examinados aos 23 dias pós-parto apresentavam muco limpo ou com flocos de pus. É possível que a involução uterina esteja atrasada mas não haja ainda uma resposta purulenta exuberante. Independentemente disto, estes animais, segundo LeBlanc e colegas (2002a) apresentam intervalos parto-concepção mais longos. Ainda segundo o mesmo autor, apesar de ser inegável a relação entre diâmetros cervicais maiores que 7,5cm e diminuição de fertilidade, o limiar óptimo deverá situar-se entre os 6 e os 7,5cm. Neste trabalho, 32,1% dos animais apresentaram um corrimento com alguma quantidade de pus. Este dado é semelhante ao resultado obtido por LeBlanc e colegas (2002a) onde 30,1% dos animais tinha pus no seu corrimento uterino.

Durante o período estudado, uma percentagem dos animais tinha um corrimento vaginal constituído por muco limpo com pequenas quantidades de pus, neste trabalho designado por “muco com flocos de pus”, não porque o pus se apresenta em flocos *per se*, mas porque a quantidade de pus em relação ao muco é de facto pequena. Foram cerca de 14% (8 animais) que exibiram este tipo de corrimento. A percentagem de exames vaginoscópicos com este resultado variou conforme os autores, desde 6,7% (Gautam et al., 2008) a 27,7% (Williams et al., 2005). No entanto, este tipo de corrimento não está relacionado com fertilidade diminuída (Gautam et al., 2008; LeBlanc et al., 2002a).

Os principais agentes patogénicos uterinos, nomeadamente *A.pyogenes* e anaeróbios Gram negativos, estão relacionados com corrimentos purulentos. Porém, os perfis bacteriológicos associados com a presença de muco limpo ou muco com pequenas quantidades de pus não diferiram significativamente entre si (Williams et al., 2005) o que corrobora a afirmação de

que corrimentos com pequenas quantidades de pus poderão ser consequência de uma resposta imune bem sucedida (LeBlanc et al., 2002a) e que, esses animais que não devem ser tratados. No presente estudo, devido a um período de exames mais largo que os estudos supra-citados, foram detectados alguns animais com mais de 36 dias que ainda tinham este tipo de corrimento. Seriam necessários mais estudos, especialmente analisando um período pós-parto maior, para determinar se corrimentos com pequenas quantidades de pus são, ou não, causados por processos que prejudicam a fertilidade futura, quando detectados após as 4-5 semanas pós-parto.

A presença de corrimento na vulva, períneo e cauda, pode ser influenciada pela ocorrência de cio na altura do exame. O aumento da produção de muco vaginal e cervical, bem como o aumento das contracções do miométrio favorecem a expulsão dos conteúdos uterinos mas também a resolução da endometrite (LeBlanc et al., 2002a). Num estudo efectuado por estes autores, 17,4% dos diagnósticos de endometrite foram feitos pela observação de corrimentos purulentos externos. Para Dohmen e colegas (1995) 43% dos animais com endometrite tiveram corrimentos purulentos visíveis externamente. No presente trabalho 3 dos 10 animais com endometrite apresentaram corrimento externo. Na totalidade dos animais, 17,9% dos animais apresentaram corrimento na vulva, períneo ou cauda. A observação de corrimentos purulentos na vulva, períneo ou cauda, embora permita diagnosticar alguns animais com endometrite, não é sensível o suficiente para ser o único critério utilizado.

A infecção uterina altera a folículo-génese, diminui a síntese de estradiol por parte do folículo dominante, sendo os corpos lúteos de animais com infecção uterina menores do que em animais saudáveis (Williams et al., 2007). Neste trabalho, 34 animais (n=56) tinham estruturas ováricas palpáveis compatíveis com a actividade ovárica normal. Não houve diferenças estatísticas no número de animais com actividade ovárica entre o grupo de animais com endometrite e os saudáveis. Em vários estudos de maior dimensão (LeBlanc et al., 2002a; Williams et al., 2007) os animais com endometrite têm menor probabilidade de ter estruturas ováricas palpáveis. Além disto, a presença de estruturas ováricas palpáveis em animais com endometrite está associada a um aumento da taxa de gestação (Bonnett et al., 1993; LeBlanc et al., 2002a)

A obtenção da história não foi um processo simples. Muitas vezes revelou-se uma tarefa bastante frustrante pois não havia muitos dados registados e, devido a terem passado já muitos dias, era difícil os proprietários lembrarem-se.

Os animais com retenção placentária, problemas no pós-parto imediato, ou com partos difíceis têm uma prevalência maior de endometrite (McDougall et al., 2007; LeBlanc et al., 2002a).

Estes factores de risco tornam a persistência da infecção pós-parto mais provável mas, na presença de outros dados como a palpação rectal, vaginoscopia ou outros exames, perdem qualquer valor diagnóstico ou de selecção para tratamento (LeBlanc et al., 2002a).

As ocorrências relativas à história do animal, tais como: parto assistido, metrite, retenção placentária, hipocalcémia e mamite foram condensadas na categoria problemas pós-parto devido ao pequeno número de ocorrências. De qualquer maneira os dados não evidenciaram associação estatística entre variáveis (teste exacto de Fischer,  $p=0,361$ ), provavelmente devido ao pequeno número de ocorrências e da amostra, com consequente perda de poder estatístico.

Quanto ao efeito do número de lactações na ocorrência de endometrite, os resultados encontrados na literatura não são unânimes. Alguns autores reportaram uma associação positiva entre o número de lactações e a prevalência de endometrite (Gautam et al., 2008; LeBlanc et al., 2002a) enquanto que para outros (McDougall et al., 2007; Dohmen et al., 1995; Gilbert et al., 2005) não encontraram relações significativas entre o número de lactações e uma maior prevalência de endometrites.

Neste estudo não foi possível estabelecer qualquer relação entre o número de lactações e a presença de endometrites pois este dado não foi possível de determinar em mais de metade dos casos. Tal facto deveu-se maioritariamente à inexistência de registos actualizados e compra de animais sem os dados completos dos mesmos.

Em relação à percentagem de animais com endometrite em cada exploração, devido ao pequeno número de animais examinados, não foi possível tirar qualquer relação desses dados. Na literatura, a prevalência de endometrites varia significativamente entre explorações (McDougall et al, 2007; LeBlanc et al., 2002a; Gautam et al., 2008). No planeamento deste trabalho, pensou-se estudar a influência de alguns factores como a presença de maternidade e a sua higiene, medicação pós parto sistemática, tipo de chão e cama, mas tal ideia não foi desenvolvida devido ao pequeno número de animais em cada exploração. No entanto, Noakes et al. (1991) não conseguiu relacionar a higiene de duas explorações com a presença de endometrite, pois a contaminação bacteriana dos animais foi semelhante entre as duas explorações, apesar de terem uma diferença marcada na prevalência de endometrites e nos padrões de higiene. As explorações estudadas neste trabalho tinham padrões de higiene distintos não se encontrando, apesar de tudo, situações de muito má higiene.

A vaginoscopia não é utilizada comumente para o diagnóstico de endometrite (Youngquist & Shore, 1997) No entanto, o exame dos conteúdos da vagina tem elevado valor diagnóstico (Sheldon et al., 2006). Se basearmos o diagnóstico de endometrite na vaginoscopia,

teoricamente, haverá poucos falsos positivos. Porém, quando comparado com a ausência de gestação aos 150 dias, a sensibilidade será relativamente baixa pois haverá bastantes animais não gestantes aos 150 dias pós-parto devido a outros factores que não infecção uterina. Em comparação com a palpação rectal, os resultados da vaginoscopia estão mais fortemente associados com a presença de infecções bacterianas (Dohmen et al., 1995). A vaginoscopia é o método aplicável em condições de campo ideal para o diagnóstico da endometrite clínica, mas deixará os casos de endometrite subclínica por diagnosticar (Barlund et al., 2008). A técnica é bastante simples e rápida como de resto foi constatado neste estudo.

O exame raramente durou mais que 30 segundos por animal, sendo no entanto necessária uma pessoa que segurasse a cauda.

O empenho e curiosidade por parte da generalidade dos produtores, que muitas vezes queriam visualizar o cérvix e a vagina, tornou a aplicação da vaginoscopia ao exame reprodutivo pós-parto um processo relativamente simples e a duração extra do exame não foi obstáculo para nenhum dos produtores. Os elementos necessários são papel, desinfectante e um vaginoscópio correctamente desinfectado. É mais fácil utilizar este meio de diagnóstico se o exame for realizado sempre no mesmo local. No entanto, transportando o material necessário num balde e fazendo as viagens necessárias para a correcta limpeza do vaginoscópio, estes obstáculos são facilmente ultrapassados.

## 6. Conclusão

O presente trabalho incidiu sobre a endometrite clínica e o seu diagnóstico através da vaginoscopia. Com o decréscimo de fertilidade que assistimos há já alguns anos, todos os esforços para melhorar a fertilidade da vaca leiteira são benéficos.

A revisão bibliográfica permitiu concluir que as endometrites clínicas têm um grande impacto na indústria leiteira que pode ser monitorizado através de índices como o intervalo parto-concepção, parto-1º serviço e taxa de gestação.

O pequeno estudo descritivo permitiu concluir que, utilizando a palpação rectal e a vaginoscopia como meios de diagnóstico, identificaram-se 17,9% de animais com endometrite.

A vaginoscopia é um método aplicável em situações de campo e mais concretamente sob as condições portuguesas. É bastante superior à palpação rectal na detecção de endometrites e os seus resultados relacionam-se mais com a ausência de gestação aos 150 dias. No entanto, a palpação rectal continua a ser a técnica mais utilizada para o diagnóstico de endometrites clínicas. As mais-valias obtidas com a aplicação da vaginoscopia compensam as suas desvantagens e este é sem dúvida um método recomendado.

Este trabalho ficaria bastante mais completo se tivesse havido oportunidade de comparar a vaginoscopia com outras técnicas como a citologia, ecografia ou biópsia uterina. A monitorização da gestação seguinte teria sido também uma mais-valia importante.

No futuro, e face à crescente concorrência entre produtores, tanto a nível Nacional bem como Europeu, seriam úteis mais estudos sobre este assunto, nomeadamente sobre estratégias de tratamento mais eficazes e sobre a hereditariade de traços como a resistência à infecção uterina, pelo menos.

## Bibliografia

- Adams, H. R. (1995). *Veterinary pharmacology and therapeutics* (7 ed.). Ames, Iowa: Iowa State university press.
- Ahmadi, M. R., Tafti, K. A., Nazifi, S., & Ghaisari, H. R. (2005). The comparative evaluation of uterine mucosa cytology with endometrial histopathology in cows. *Comp Clin Path* , 90-94.
- Andersen, P., Jarlov, N., Hesselholt, M., & Baek, L. (1996). Studies on in vivo endotoxin plasma disappearance times in cattle. *Zentralbl Veterinarmed , A 43*, 93-101.
- Barlund, C., Carruthers, T., Waldner, C., & Palmer, C. (2008). A comparison of diagnostic techniques for postpartum endometritis en dairy cattle. *Theriogenology* , 69, 714-723.
- B-on. (s.d.). Biblioteca online do conhecimento. Acedido em Maio 27, 2009, disponível em: <http://www.b-on.pt>
- Bondurant, R. (1999). Inflammation in the bovine female reproductive tract. *Journal of Animal Science* , 77 (Suppl. 2), 101-110.
- Bonnett, B. N. & Martin, S. W. (1995). Path analysis of peripartum and postpartum events, rectal palpation findings, endometrial biopsy results and reproductive performance in Holstein-Friesian dairy cows. *Preventive Veterinary Medicine* , 21, 279-288.
- Bonnett, B. N., Etherington, W. G., Martin, S. W. & Johnson, W. H. (1990). The effect of prostaglandin administration to Holstein-Friesian cows at day 26 postpartum on clinical findings and histological and bacteriological results of endometrial biopsies at day 40.
- Bonnett, B. N., Martin, S. W. & Meek, A. H. (1993). Associations of clinical findings, bacteriological and histological results of endometrial biopsy with reproductive performance of postpartum dairy cows[abstract]. *Veterinary Preventive Medicine* , 205-220.
- Bourne, N., Wathes, D. C., Lawrence, K. E., McGowan, M. & Laven, R. A. (2008). The effect of parenteral supplementation of vitamin E with selenium on the health and productivity of dairy cattle in the UK. *The Veterinary Journal* , 177, 381-387.
- Del Vecchio, R. P., Matsas, D. J., Fortin, S., Sponenberg, D. P. & Lewis, G. S. (1994). Spontaneous uterine infections are associated with elevated prostaglandin F<sub>2α</sub> metabolite concentrations in postpartum dairy cows[abstract]. *Theriogenology* , 413-421.
- Del Vecchio, R. P., Matsas, D. J., Inzana, T. J., Sponenberg, D. P. & Lewis, G. S. (1992). Effect of intrauterine bacterial infusions and subsequent endometritis on prostaglandin F<sub>2α</sub> metabolite concentrations in postpartum beef cows. *Journal Animal Science* , 3158-3162.
- Detilleux, J., Kehrli, M. J., Stabel, J., Freeman, A. & Kelley, D. (1995). Study of immunological dysfunction in periparturient Holstein cattle selected for high and average milk production. *Veterinary Immunology and Immunopathology* , 44, 251-267.

- Dohmen, M., Lohuis, J., Huszenicza, G., Nagy, P. & Gacs, M. (1995). The relationship between bacteriological and clinical findings in cows with subacute/chronic endometritis. *Theriogenology*, *43*, 1379-1388.
- Dosogne, H., Burvenich, C., Freeman, A., Kehrl, M., Detilleux, J., Sulon, J., Beckers, JF & Hoeben, D (1999). Pregnancy-associated glycoprotein and decreased polymorphonuclear leukocyte function in early post-partum cows. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, *67*, 47-54.
- Drillich, M., Kaufman, T., Raab, D., Lenz, M. & Heuwieser, W. (2004). Comparison of new techniques for the diagnosis of chronic endometritis in dairy cattle [abstract]. *23rd World Buiatrics Congress*. Quebec.
- Drillich, M., Raab, D., Wittke, M. & Heuwieser, W. (2005). Treatment of chronic endometritis en dairy cows with an intrauterine application of enzymes A field trial. *Theriogenology*, *63*, 1811-1823.
- Drillich, M., Voigt, D., Forderung, D. & Heuwieser, W. (2007). Treatment of Acute Puerperal Metritis with Flunixin Meglumine in addition to antibiotic treatment. *Journal of Dairy Science*, *3758-3763*.
- Drost, M., Thomas, P. G., Seguin, B. & Troedsson, M. H. (2002). Female reproductive disorders. In B. P. Smith, *Large Animal Internal Medicine* (pp. 1292-1332). St. Louis: Mosby.
- Eiler, H. (1997). Retained Placenta. In R. S. Youngquist, *Current Therapy in Large Animal Theriogenology* (pp. 340-348). Philadelphia: W.B. Saunders CO.
- Etherington, W. G., Kelton, D. F. & Adams, J. E. (1994). Reproductive performance of dairy cows following treatment with fenpostalene, dinoprost, or cloprostenol between 24 and 31 days postpartum: a fiel trial.
- Fatro. (s.d.). *FATRO International - TECH INFO - Fatroximin Foam*. Obtido em 22 de Maio de 2009, de FATRO International: [http://www.fatro.it/fatro\\_gb/News/Techinfo/ti\\_fatrox.asp](http://www.fatro.it/fatro_gb/News/Techinfo/ti_fatrox.asp)
- Feldman, M., Emming, S. T. & Hoedemaker, M. (2004). Factors influencing the effect of treatment of chronic bovine endometritis[abstract]. *23rd World Buiatrics Congress*, (p. 432). Quebec.
- Földi, J., Kulcsár, M., Pécsi, A., Huyghe, B., de Sá, C., Lohuis, J., Cox, P & Huszenicza, G (2006). Bacterial complications of postpartum uterine involution in cattle. *Animal Reproduction Science*, *96*, 265-281.
- Galvão, K. N., Greco, L. F., Vilela, J. M., Sá Filho, M. F. & Santos, J. E. (2009). Effect of intrauterine infusion of ceftiofur on uterine health and fertility in dairy cows [abstract][versão eletrónica]. *Journal of Dairy Science*, *92* (4), 1532-1542.
- Gautam, G., Nakao, T., Yusuf, M. & Koike, K. (2008). Prevalence of endometritis during the postpartum period and its impact on subsequent reproductive performance in two japanese dairy herds [fonte eletrónica]. *Animal Reproduction Science*, doi:10.1016/j.anireprosci.2009.02.001.

- Giguère, S., Prescott, J. F., Baggot, J. D., Walker, R. D. & Dowling, P. M. (2006). *Antimicrobial Therapy en Veterinary Medicine*. Victoria: Blackwell Pub.Prof.
- Gilbert, R., Shin, S., Guard, C., Erb, H. & Frajblat, M. (2005). Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology* , 64, 1879-1888.
- Grunert, E. (1986). Etiology and pathogenesis of retained bovien placenta. In D. A. Morrow, *Current Therapy in Theriogenology 2* (pp. 237-242). Philadelphia: W.B. Saunders Co.
- Hafez, E., & Hafez, B. (2004). *Reprodução Animal* (7 ed.). SP: Manole.
- Harp, J., Kehrli, M., Hurley, D., Wilson, R. & Boone, T. (1991). Numbers and percent of T lymphocytes in bovine peripheral blood during the periparturient period. *Veterinary immunology and Immunopathology* , 28, 29-35.
- Harris, T. G., Battaglia, D. F., Brown, M. E., Brown, M. B., Carlson, N. E., Vigiúé, C., Williams, C. & Karsch, F. (2000). Prostaglandins mediate the endotoxin-induced suppression of pulsatile gonadotropin-releasing hormone and luteinizing hormone secretion in the ewe. *Endocrinology* , 1050-1058.
- Hemeida, N. A., Gustafsson, B. K. & Whitmore, H. L. (1986). Therapy of uterine infections: Alternatives to antibiotics. In D. A. Morrow, *Current Therapy in Theriogenology* (pp. 45-47). Philadelphia: W.B. Saunders Co.
- Hendricks, K. E., Bartolome, J. A., Melendez, P., Risco, C. & Archbald, L. F. (2006). Effect of repeated administration of PGF2 in the early post partum period on the prevalence of clinical endometritis and probability of pregnancy at first insemination in lactating dairy cows. *Theriogenology* , 65, 1454-1464.
- Hussain, A. & Daniel, R. (1992). Phagocytosis by uterine fluid and blood neutrophils and hematological changes in postpartum cows following normal and abnormal parturition. *Theriogenology* , 37, 1253-1267.
- Huzzey, J., Vieira, D., Weary, D. & von Keyserlingk, M. (2007). Prepartum behaviour and dry matter intake identify dairy cows at risk for metritis. *Journal of Dairy Science* , 90, 3220-3233.
- Kasimanickam, R., Cornwell, J. M. & Nebel, R. L. (2006). Effect of presence of clinical and subclinical endometritis at the initiation of presynch.ovsynch program on the first service pregnancy in dairy cows. *Animal Reproduction Science* , 214-223.
- Kasimanickam, R., Duffield, T. F., Foster, R. A., Gartley, C. J., Leslie, K. E., Walton, J. S. & Johnson, W. (2004). Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. *Theriogenology* , 9-23.
- Kasimanickam, R., Duffield, T. F., Foster, R. A., Gartley, C. J., Leslie, K. E., Walton, J. S. & Johnson, W. (2005). The effect of a single administration of cephalosporin or cloprostenol on the reproductive performance of dairy cows with subclinical endometritis. *Theriogenology* , 63, 818-830.
- Kim, I.-H., Yang, M.-P. & Na, K.-J. (2005). Immune responses during the peripartum period un dairy cows with postpartum endometritis. *Journal of reproduction and development* , 51, 757-764.

- Kindahl, H., Odensvik, K., Aiumlamai, S. & Fredriksson, G. (1992). Útero-ovarian relationships during the bovine postpartum period[abstract]. *Animal Reproduction Science* , 28, 363-369.
- Knickerbocker, J. J., Drost, M. & Thatcher, W. W. (1986). Endocrine patterns during the initiation of puberty, the estrous cycle, pregnancy and parturition in cattle. In D. A. Morrow, *Current Therapy in Theriogenology* (pp. 117-125). Philadelphia: W.B. Saunders Co.
- Kossaibati, M. A. & Esslemont, R. j. (1997). The cost of production diseases in dairy herds in England. *The Veterinary Journal* , 41-51.
- Kuether, K., Audigé, L., Kube, P. & Welle, M. (1998). Bovine mast cells: distribution, density, heterogeneity and influence of fixation techniques. *Cell Tissue Research* , 111-119.
- LeBlanc, S. J. (2008). Postpartum uterine disease and dairy herd reproductive performance: A review. *The Veterinary Journal* , 176, 102-114.
- LeBlanc, S. J., Duffield, T. F., Leslie, K. E., Bateman, K. G., Keefe, G. P., Walton, J. S., et al. (2002b). The effect of treatment of clinical endometritis on reproductive performance in dairy cows. *Journal of Dairy Science* , 2237-2249.
- LeBlanc, S., Duffield, T., Leslie, K., Bateman, K., Keefe, G., Walton, J. & Johnson, W. (2002a). Defining and Diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows. *Journal of Dairy Science* , 85, 2223-2236.
- Lewis, G. S. (2004). Steroidal regulation of uterine immune defenses. *Animal Reproduction Science* , 82-83, 281-294.
- Lewis, G. S. (1997). Uterine health and disorders. *Journal of Dairy Science* , 80, 984-994.
- Lindell, J. O., Kindahl, H., Jansson, L. & Edqvist, L. E. (1982). Post-partum release of Prostaglandin F<sub>2</sub> and uterine involution in the cow. *Theriogenology* , 17, 237-245.
- Lucy, M. C. (2001). Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? *Journal of Dairy Science* , 1277-1293.
- Madej, A., Kindahl, H., Woyno, W., Edqvist, L. E. & Stupnicki, R. (1984). Blood levels of 15-keto-13, 14-dihydroprostaglandin F<sub>2α</sub> during the postpartum period in primiparous cows. *Theriogenology* , 21 (2), 279-287.
- Mateus, L., Costa, L. L., Bernardo, F. & Silva, J. R. (2002b). Influence of puerperal uterine infection on uterine involution and postpartum ovarian activity in dairy cows. *Reproduction of Domestic Animals* , 31-35.
- Mateus, L., Costa, L. L., Carvalho, H., Serra, P. & Silva, J. R. (2002a). Blood and intrauterine profile and function in dairy cows that spontaneously recovered from postpartum endometritis. *Reproduction of Domestic Animals* , 37, 176-180.
- Mateus, L., Costa, L. L., Diniz, P. & Ziecik, A. (2003). Relationship between endotoxin and prostaglandin (PGE<sub>2</sub> and PGFM) concentrations and ovarian function in dairy cows. *Animal Reproduction Science* , 76, 143-154.

- McDougall, S. (2003). Effect of intrauterine treatment with cephalosporin of dairy cows following peripartum disease on the subsequent reproductive performance [abstract]. *11*, pp. 271-283.
- McDougall, S., Macaulay, R. & Compton, C. (2007). Association between endometritis diagnosis using a novel intravaginal device and reproductive performance in dairy cattle. *Animal Reproduction Science* , *99*, 9-23.
- Mejía, M. E. & Lacau-Mengido, I. M. (2005). Endometritis treatment with PGF<sub>2α</sub> analog does not improve reproductive performance in a large dairy herd in Argentina. *Theriogenology* , *63*, 1266-1276.
- Mortimer, R. G., Farin, P. W. & Stevens, R. D. (1997). Reproductive examination of the Non-pregnant cow. In R. S. Youngquist, *Current Therapy in Large Animal Theriogenology* (pp. 268-275). Philadelphia: W.B. Saunders Co.
- Noakes, D., Wallace, L. & Smith, G. (1991). Bacterial flora of the uterus of cows after calving on two hygienically contrasting farms. *Veterinary Record* , *128*, 440-442.
- Ohtsuka, H., Fukuda, S., Satoh, Y., F, H., Itoh, N., Yoshino, T.; Koiwa & Kawamura, S. (2002). Changes of peripheral leucocytes after calving in cows[abstract]. in *22nd World Buiatrics Congress proceedings*. Hannover.
- Peter, A. T. & Bosu, W. T. (1988). Relationship of uterine infections and folliculogenesis in dairy cows during early puerperium [abstract]. *Theriogenology* , *30*, 1045-1051.
- Peter, A. & Bosu, W. (1987). Effects of intrauterine infection on the function of the corpora lutea formed after first postpartum ovulations in dairy cows [abstract]. *Theriogenology* , *27* (4), 593-609.
- Peter, A., Vos, P. & Ambrose, D. (2009). Postpartum anestrus in dairy cattle. *Theriogenology* , doi:10.1016/j.theriogenology.2008.11.012.
- Peters, A. R. & Lamming, G. E. (1986). Regulation of ovarian function in the post partum cow: an endocrine model [abstract]. *The Veterinary record* , *118* (9), 236-239.
- Ruder, C., Sasser, R., Williams, R., Ely, J., Bull, R. & Butler, J. (1981). Uterine infections in the postpartum cow II. Possible synergistic effect of *Fusobacterium Necrophorum* and *Arcanobacterium Pyogenes*. *Theriogenology* , *15*, 573-580.
- Seegers, H. (2006). Economics of the reproductive performance of dairy herds. *Proceedings of the World Buiatrics Congress*. Nice.
- Shams-Esfandabadi, N., Ghasemsadeh-Nava, H. & Shirazi, A. (2002). The efficacy of post insemination intrauterine antibiotic treatment on conception rate in dairy cattle affected by endometritis[abstract]. in *XXII World Buiatrics Congress proceedings*. Hannover.
- Sheldon, I. M. (Julho de 2007). Endometritis in cattle: pathogenesis, consequences for fertility, diagnosis and therapeutic recommendations. *Reproduction Management Bulletin Intervet* , *2* (1) .
- Sheldon, I. M. (2008a). The definition of metritis. In *21 Recommendations against metritis* (pp. 8-16). Paris: Pfizer.

- Sheldon, I. M. & Dobson, H. (2004). Postpartum uterine health in cattle. *Animal Reproduction Science* , 82-83, 295-306.
- Sheldon, I. M. & Noakes, D. E. (1998). Comparison of three treatments for bovine endometritis [abstract]. *Veterinary Record* , 142 (21), 575-579.
- Sheldon, I. M., Noakes, D. E., Rycroft, A. N. & Dobson, H. (2004). Effect of intrauterine administration of oestradiol on postpartum uterine bacterial infection in cattle. *Animal Reproduction Science* , 81, 13-23.
- Sheldon, I. M., Noakes, D. E., Rycroft, A. N. & Dobson, H. (2002a). Effect of postpartum manual examination of the vagina on bacterial contamination in cows. *The Veterinary Record* , 531-534.
- Sheldon, I. M., Noakes, D. E., Rycroft, A. N. & Dobson, H. (2003). the effect of intrauterine administration of estradiol on postpartum uterine involution in cattle. *Theriogenology* , 1357-1371.
- Sheldon, I., Lewis, G., LeBlanc, S. & Gilbert, R. (2006). Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology* , 65, 1516-1530.
- Sheldon, I., Noakes, D., Rycroft, A., Pfeiffer, D. & Dobson, H. (2002b). Influence of uterine bacterial contamination after parturition on ovarian dominant follicle selection and follicle growth and function in cattle. *Reproduction* , 123, 837-845.
- Sheldon, I., Williams, E., Miller, A., Nash, D. & Herath, S. (2008b). Uterine diseases in cattle after parturition. *The Veterinary Journal* , 176, 115-121.
- Silva, E., Gaivão, M., Leitão, S., Amaro, A., Costa, L. L. & Mateus, L. (2008). Blood Cox-2 and PGES gene transcription during the peripartum period of dairy cows with normal puerperium or with uterine infection. *Domestic Animal Endocrinology* , 35, 314-323.
- Singh, J., Murray, R. D., Mshelia, G. & Woldehiwet, Z. (2008). The immune status of the bovine uterus during the peripartum period. *The Veterinary journal* , 175, 301-309.
- Stevenson, J. S. (1997). Clinical reproductive physiology of the cow. In R. S. Youngquist, *Current Therapy in Large Animal Theriogenology* (pp. 257-267). Philadelphia: W.B. Saunders Co.
- Studer, E. & Morrow, D. A. (1979). Postpartum evaluation of bovine reproductive Potential: Comparison of findings from genital tract examination per rectum, uterine culture and endometrial biopsy. *Javma* , 489-494.
- Vagnoni, K. E., Abbruzzese, S. B., Christiansen, N. D. & Holyoak, G. R. (2001). The influence of the phase of the estrous cycle on sheep endometrial tissue response . *Journal of Animal Science* , 463-469.
- Van Werven, T., Shcukken, Y. H., Lloyd, J., Brand, A., Heeringa, H. T. & Shea, M. (1992). The effects of duration of retained placenta on reproduction, milk production, postpartum disease and culling rate. *Theriogenology* , 37, 1191-1203.
- Williams, C. Y., Harris, T. G., Battaglia, D. F., Vigiúé, C. & Karsch, F. J. (2001). Endotoxin inhibits pituitary responsiveness to gonadotropin-releasing hormone. *Endocrinology* , 1915-1922.

- Williams, E., Fischer, D., Noakes, D., England, G., Rycroft, A., Dobson, H. & Sheldon, I.M. (2007). The relationship between uterine pathogen growth density and ovarian function in the postpartum dairy cow. *Theriogenology*, 68, 549-559.
- Williams, E., Fischer, D., Pfeiffer, D., England, G., Noakes, D., Dobson, H. & Sheldon, I. (2005). Clinical evaluation of postpartum vaginal mucus reflects uterine bacterial infection and the immune response in cattle. *Theriogenology*, 63, 102-117.
- Youngquist, R. S. & Shore, M. D. (1997). Postpartum uterine infections. In R. S. Youngquist, *Current Therapy in Large Animal Theriogenology* (pp. 335-340). Philadelphia: W.B. Saunders Co.

# Anexo1- Formulário para o exame clínico dos animais

Ficha de exame clínico Pós-parto

Identificação do animal

Nº SNIRB -	Casa -
------------	--------

Condições da exploração

Maternidade – S/N	Medicação pós parto – S/N	Chão -
Cama -		

História

Data parto - __/__/__	Data Exame - __/__/__	dias - __
Nº lactações –	problemas partos anteriores –	
Parto assistido – S/N	por/meio -	Metrite – S/N
Retenção – S/N	Hipocalcémia –S/N	Mamite - S /N
Vitelo – vivo/morto/fraco		
Outras condições -	Tratamentos recentes-	

Exame

Condição corporal – 1 . 2 . 3 . 4 . 5	Temperatura - ____°C	
Muco exterior – S/N		
<b>Palpação:</b>		
Diâmetro cervical – -5cm / +5cm / + 7,5cm	Posição útero -	
Simetria – S/N	Diâmetro -	Conteúdo -
Estruturas ováricas -		
<b>Vaginoscopia:</b>		
Forma cérvix -	Abertura – 0. 1. 2. 3. 4. 5	Cor da mucosa-