

## ENDOMETRITE SUBCLÍNICA EM VACAS LEITEIRAS – REVISÃO DE LITERATURA

Davi Almeida Rezende Moraes<sup>1\*</sup> e Patrícia Alves Dutra<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Discente no Curso de Medicina Veterinária – Centro Universitário de Bom Despacho - Una – Bom Despacho/MG – Brasil – \*Contato: [daviarmvet@yahoo.com](mailto:daviarmvet@yahoo.com)

<sup>2</sup>Docente do Curso de Medicina Veterinária Centro Universitário de Belo Horizonte - UniBH – Belo Horizonte/MG – Brasil

### INTRODUÇÃO

A endometrite subclínica (E.S) é caracterizada pela inflamação do endométrio e ausência de sinais clínicos evidentes<sup>18,20</sup>. A endometrite impacta negativamente o desempenho econômico na pecuária leiteira, trazendo prejuízos para a produção e reprodução, tais como: custo com tratamento, baixa fertilidade do rebanho, aumento de inseminações por concepção, e consequentemente maior intervalo de partos, além de descarte precoce por falhas reprodutivas<sup>18,20</sup>. Além disso, alguns estudos demonstraram que a endometrite subclínica tem impacto negativo na qualidade e sobrevivência do embrião<sup>20</sup>. Há um consenso que a inflamação do endométrio provavelmente, está associada à recuperação dos tecidos uterinos após metrite e endometrite clínica, trauma ou outra doença não microbiana, porém os pesquisadores apontam novas contextualizações para tal inflamação, como por exemplo estímulo permanente ao endométrio por padrões moleculares associados a patógenos (PAMP)<sup>4,18</sup>. O diagnóstico da E.S depende da análise de citologia endometrial, realizado através de uma avaliação de células endometriais, contendo ou não uma proporção definida de neutrófilos em momentos específicos pós-parto, variando entre 5% até 18%<sup>18,20</sup>. A proporção de animais acometidos pode variar de 11% a mais de 40%, sendo totalmente dependente do momento em que o exame é feito, do seu limiar de polimorfonúcleados (PMN) e de fatores específicos do rebanho como: raça, produção leiteira e forma de manejo<sup>20</sup>.

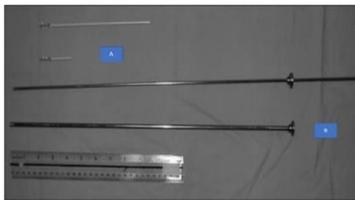
O objetivo desta revisão é discutir os principais conceitos de colheita de material endometrial para diagnóstico, etiologia, agentes etiológicos, patogênese e tratamento de E.S.

### METODOLOGIA

O trabalho foi elaborado por meio de revisão de literatura técnico-científica, envolvendo pesquisa de artigos científicos online das revistas: *Theriogenology* e *Anim Reprod Sci*. Por meio de busca nos sites: Google Acadêmico, *Scientific Eletronic Library Online* (SciELO) e PUBMED.

### RESUMO DE TEMA

Diagnosticar E.S á campo é um desafio. Atualmente a técnica Cytobrush é citada como padrão ouro para o diagnóstico de E.S<sup>12</sup>. Essa técnica foi desenvolvida, para detecção de câncer de colo do útero em mulheres, e foi modificada para o uso da ginecologia bovina<sup>10</sup>. Para obter uma amostra para Cytobrush, parafusa-se uma escova ginecológica estéril de 3 cm na ponta de haste sólida de aço inoxidável de 65 cm, e colocados em um tubo de aço inoxidável de 50 cm de comprimento e 5 mm de diâmetro para passagem pela cervix (Fig. 1)<sup>10</sup>.



**Figura 1:** Instrumentos para técnica de Cytobrush, imagens A e B mostrando respectivamente escova estéril e cateter metálico.

Fonte: (KASIMANICKAM, R. et al. 2005)

Protegida pelo cateter, a haste é introduzida no aparelho reprodutor feminino (Fig. 2 A). No lúmen uterino, a escova é empurrada e tracionada suavemente ao longo do endométrio. As amostras podem ser colhidas do corpo uterino ou nos cornos uterinos. Após a retirada do instrumento do aparelho reprodutor, a escova é rotacionado em uma lâmina de microscópio, fixado e corado (Fig. 1 B)<sup>10,12</sup>. A coloração de células endometriais pode ser feita com Wright-Giemsa ou Papanicolaou<sup>20</sup>. Após coloração os esfregaços são avaliados por meio de microscopia de luz<sup>20</sup>.

O procedimento da técnica Cytobrush é minimamente invasiva e não apresenta impacto negativo em taxas de concepção subsequentes ao exame, mesmo que as amostras sejam coletadas poucas horas após a inseminação<sup>12</sup>.



**Figura 2:** Citologia endometrial, realizada por técnica de Cytobrush.

Setas 1 e 2 mostrando respectivamente escova ginecológica estéril e corno uterino (A). Amostra de citologia endometrial corada com Wright-Giemsa (B).

Fonte: (Bogado Pascottini et al. 2016)

A técnica supracitada é aceita para o diagnóstico de E.S, entretanto, o diagnóstico de E.S ainda é controverso na literatura<sup>20</sup>. E o grande precursor para tal discussão é a variação na proporção PMN no ambiente uterino durante o pós-parto<sup>17,20</sup>. Discussão que abrange 3 variáveis, 1º Limite de PMN, onde a variância começa em 5% até 18%, 2º intervalo de dias pós-parto (DPP) que vai se coletar as amostras endometriais para estudo, oscilando entre 21º e 60º de DPP, e por fim 3º que é a incidência de casos confirmados de E.S, mostrando uma divergência de 11% até 60% em estudos, sendo importante salientar que alguns estudos não se faz separação de endometrite clínica com E.S, fator que provavelmente aumenta a disparidade entre estudos<sup>10,11,16,17,18,20</sup>.

É consenso entre os pesquisadores usar um mínimo de dias para o começo das avaliações para PMN, que é de no mínimo 21 dias pós-parto em diante, uma vez que nas três primeiras semanas pós-parto a proporção de PMN sofre mudanças em função cúbica, ou seja, uma diminuição no pós-parto precoce, seguida por um aumento e, finalmente uma segunda diminuição, por volta de 18 dias após o parto<sup>15,17</sup>. Além disso, após o período de involução uterina, a migração de PMN pode alterar fisiologicamente em resposta ao perfil hormonal do ciclo estral<sup>18,20</sup>.

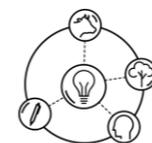
Pesquisadores avaliaram um grupo de vacas com a técnica de Cytobrush, 4 horas após a inseminação artificial (IA). Foi realizado divisões da seguinte maneira, 1º grupo (zero) com 0% de PMN (n=115), 2º (médio) >0 até 15% de PMN (n=59), e por fim, 3º (alto) grupo com >15% de PMN (n=27). Surpreendentemente a taxa de concepção ao primeiro serviço foi significativamente maior no grupo Médio do que nos grupos Zero e Alto (57,6% vs. 39,1% e 29,6%)<sup>12</sup>. Dessa forma, concretizando a hipótese de que um influxo de PMN, de forma controlada deve ser considerado fisiológico e benéfico para a concepção<sup>20</sup>.

A prevalência de E.S depende do momento do exame no pós-parto, o limiar aplicado para PMN e fatores específicos do rebanho. Estudos comprovam uma fertilidade comprometida em vacas afetadas, assim reduzindo taxas de concepções, aumentando o número de dias em aberto e consequentemente trazendo prejuízos a atividade<sup>12,16,20</sup>.

A etiologia da patologia, em geral está associada aos fatores de risco da endometrite clínica, retenção dos anexos fetais e metrite<sup>18,20</sup>. Porém novos estudos têm mostrado novas elucidações para tal etiologia, correlacionando desequilíbrios metabólicos, particularmente um balanço energético negativo (BEN) severo, que interfere na resposta imunológica adequada<sup>20</sup>.

Estudos clínicos comprovam que a concentração sanguínea circulante de ácidos graxos não esterificados (NEFA) e ácido beta-hidroxibutírico (BHBA), estão correlacionados aos animais com um BEN severo com E.S<sup>19</sup>.

# IX Colóquio Técnico Científico de Saúde Única, Ciências Agrárias e Meio Ambiente



Além disso, vacas diagnosticadas com hipocalcemia subclínica (5,5 a 8 mg/dl) foram mais propensas a ter E.S<sup>16</sup>. Fator que pode ser explicado pela relação entre BEN severo, hipocalcemia e função de neutrófilos prejudicada, resultando em uma maior suscetibilidade para doenças uterinas<sup>14,16</sup>.

Foi demonstrado que as infecções precoces com *Streptococcus Y-Hemolítico* e *T. Pyogenes* aumentaram o risco de E.S após 24º dias do pós-parto, enquanto uma infecção por *E. Coli* e *Estafilococos Coagulase-Negativa* não afetaram a prevalência de E.S<sup>17</sup>. Os patógenos comuns são raramente detectados em vacas com E.S, e os efeitos da doença dependem não só do tipo bacteriano como, também a carga bacteriana, a virulência bacteriana e estado imunológico da vaca<sup>9</sup>.

A nível molecular, animais com E.S apresentam aumento de expressão de RNAm endometrial de mediadores pró-inflamatórios, como citocinas peptídeos antimicrobianos, proteínas de fase aguda e prostaglandinas (PG)<sup>9,10</sup>. As citocinas que são tipicamente reguladas positivamente em vacas com E.S incluem RNAm de IL1A, IL1B, IL6, IL10 e TNFy<sup>3,6,7,9</sup>. A expressão de RNAm de quimiocina 362, observada para CXCL5 e IL8, (Fatores mediadores da resposta imune inata inicial) que podem ser explicados por efeitos quimioatrativos, que mediam o influxo de PMN para o endométrio<sup>20</sup>. Exemplificando E.S com uma resposta imune inata diferente em comparação com animais saudáveis e com fatores que contribuem para o enfraquecimento de mecanismos de resistência, podendo correlacionar com inflamação uterina persistente<sup>3,9</sup>

Estudos confirmam uma relação entre animais positivos para E.S e uma expressão desregulada de PG<sup>7,8</sup>. Foi demonstrado uma menor expressão de RNAm da Prostaglandina E sintase citosólica (CPGES) em vacas com E.S, sendo uma possível explicação para taxas de concepção mais baixas em animais acometidos com tal patologia, pois PGE2 é importante para manutenção da gestação inicial, pois apresenta efeito luteotrófico, além de exercer imunomodulação que ajuda a prevenir a rejeição do conceito<sup>13</sup>.

É sugerido que a E.S é causada pelo estímulo permanente de PAMP de infecções bacteriológicas persistentes<sup>2,4</sup>. O mecanismo subjacente é a estimulação duradoura dos receptores Toll-Like pelo PAMP bacteriano, que por sua vez medeiam a expressão de fatores pró-inflamatório ao endométrio<sup>4</sup>.

Estudos clínicos descrevendo tratamento de E.S ainda são raros. Mas um em 2005<sup>11</sup>, publicaram um estudo, em que 228 vacas leiteiras foram diagnosticadas com E.S e divididas em 3 grupos com tratamentos experimentais, sendo: 1º: tratamento a base de análogo de Prostaglandina F2α (0,5mg), 2º: infusão uterina com cefapirina benzatina (500mg) e 3º: controle. Os dois primeiros grupos apresentaram taxa de concepção maior comparado com as não tratadas. Onde encontraram respectivamente taxa de concepção no primeiro serviço de 34% em ambos grupos tratados e 24% no grupo controle, não encontrando diferenças significativas entre o 1º e 2º grupos<sup>11</sup>. O que corrobora com um segundo estudo<sup>5</sup>, pois encontraram efeitos benéficos da infusão uterina de cefapirina benzatina em casos de animais diagnosticados com E.S, onde os animais foram submetidos a IA após o tratamento e foi obtida taxas de concepção: Sem tratamento: 15,8%; tratamento: 25,1%<sup>5</sup>.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

As técnicas de diagnóstico para endometrite subclínica, são essenciais para confirmação de E.S, porém são pouco disseminadas em realidade brasileira, fato que se reflete na subdiagnóstico da doença. Na rotina a campo é necessária uma especialização de mão de obra com objetivo de controlar melhor a patologia e consequentemente melhorar os índices de saúde reprodutiva em rebanhos nacionais.

O tratamento da endometrite subclínica ainda é controverso, devido ao fato de ser uma patologia extremamente subdiagnosticada no Brasil. Dessa forma, se faz necessário mais estudos buscando melhores resultados para os tratamentos, explorando novas técnicas ou seguindo a metodologia de tratamentos em sua forma subclínica e clínica.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BOGADO PASCOTTINI, O., M. Et al. Comparison between cytology and histopathology to evaluate subclinical endometritis in dairy cows. *Theriogenology*, 2016. 86:1550–1556
2. BRODZKI, P. Et al. Determination of selected parameters for non-specific and specific immunity in cows with subclinical endometritis. *Anim Reprod Sci* 2014;148: 109-14.
3. BRODZKI, P. Et al. Inflammatory cytokines and acute-phase proteins concentrations in the peripheral blood and uterus of cows that developed endometritis during early postpartum. *Theriogenology* 2015;84: 11-8.
4. CRONIN, J.G. Et al. Toll-like receptor 4 and MYD88-dependent signaling mechanisms of the innate immune system are essential for the response to lipopolysaccharide by epithelial and stromal cells of the bovine 885 endometrium. *Biol Reprod* 2012;86: 51.
5. DENIS-ROBICHAU, J; DUBUC J. Randomized clinical trial of intrauterine cephalosporin infusion in dairy cows for the treatment of purulent vaginal discharge and cytological endometritis. *J Dairy Sci* 2015;98: 6856- 64
6. FISCHER, C. Et al. Selected proinflammatory factor transcripts in bovine endometrial epithelial cells are regulated during the oestrous cycle and elevated in case of subclinical or clinical endometritis. *Reprod Fert Develop* 2010;22: 818-29.
7. GABLER, C. Et al. Endometrial expression of selected transcripts involved in prostaglandin synthesis in cows with endometritis. *Theriogenology* 2009;71: 993-1004
8. GABLER, C. Et al. Time-dependent mRNA expression of selected pro-inflammatory factors in the endometrium of primiparous cows postpartum. *Reprod Biol Endocrin* 2010;8: 152
9. HERATH, S. Et al. Expression of genes associated with immunity in the endometrium of cattle with disparate postpartum uterine disease and fertility. *Reprod Biol Endocrin* 2009;7: 1-13
10. KASIMANICKAM, R. Et al. A comparison of the cytobrush and uterine lavage techniques to evaluate endometrial cytology in clinically normal postpartum dairy cows. *Canadian Vet J* 658 2005;46: 255-9.
11. KASIMANICKAM, R. Et al. The effect of a single administration of cephalosporin or cloprostenol on the reproductive performance of dairy cows with subclinical endometritis. *Theriogenology* 2005;63: 818-30.
12. KAUFMANN, T.B. Et al. Prevalence of bovine subclinical endometritis 4h after insemination and its effects on first service conception rate. *Theriogenology* 2009;71: 385-91.
13. PARENT, J. Et al. Expression of microsomal prostaglandin E synthase in bovine endometrium: Coexpression with cyclooxygenase type 2 and regulation by interferon- $\tau$ . *Endocrinology* 2002;143: 2936-43.
14. PRIEST, N.V. Et al. The responsiveness of subclinical endometritis to a nonsteroidal antiinflammatory drug in pasture-grazed dairy cows. *J Dairy Sci* 2013;96: 4323-32
15. PRUNNER, I. Et al. Dynamics of bacteriologic and cytologic changes in the uterus of postpartum dairy cows. *Theriogenology* 2014;82: 1316-22.
16. RIBEIRO, E.S. Et al. Prevalence of periparturient diseases and effects on fertility of seasonally calving grazing dairy cows supplemented with concentrates. *J Dairy Sci* 2013;96: 5682-97. 733 734
17. SENS, A.; HEUWIESER, W.; Presence of *Escherichia coli*, *Trueperella pyogenes*, alpha hemolytic streptococci, and coagulase-negative staphylococci and prevalence of subclinical endometritis. *J Dairy Sci* 2013;96: 6347-54. 16
18. SHELDON, IAIN. The Metritis Complex in Cattle. 10.1016/B978-0-7020 7233-8.00023- 9. (2019).
19. YASUI, T. Et al. Associations of 757 cytological endometritis with energy metabolism and inflammation during the 758 periparturient period and early lactation in dairy cows. *J Dairy Sci* 2014;97: 2763-70.
20. WAGENER, K. Et al. A review of the ongoing discussion about definition, diagnosis and pathomechanism of subclinical endometritis in dairy cows, *Theriogenology* (2017).