

# Métodos de diagnóstico da resposta inflamatória uterina em vacas

*Diagnosis methods to uterine inflammatory response in cows*

Helder Esteves Thomé<sup>[a]</sup>, Bruna Marcele Martins de Oliveira<sup>[a]</sup>, Rubens Paes de Arruda<sup>[b]</sup>, Carina de Fátima Guimarães<sup>[c]</sup>, Ana Carolina Sussai Thomé<sup>[d]</sup>, Júlio Cesar de Carvalho Balieiro<sup>[e]</sup>, Claudia Barbosa Fernandes<sup>[f]</sup>, Eneiva Carla Carvalho Celeghini<sup>[f]</sup>

<sup>[a]</sup> Médicos-veterinários, doutorandos da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ-USP), São Paulo, SP - Brasil, e-mails: heethome@yahoo.com.br, brumoliveira@hotmail.com

<sup>[b]</sup> Médico-veterinário, doutor em Medicina Veterinária Patologia Experimental e Comparativa pela Universidade de São Paulo (USP), professor titular da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ-USP), São Paulo, SP - Brasil, e-mail: arrudarp@usp.br

<sup>[c]</sup> Médica-veterinária, mestranda da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ-USP), São Paulo, SP - Brasil, e-mail: carina-guimaraes@ig.com.br

<sup>[d]</sup> Graduanda do curso de Medicina Veterinária da Fundação de Ensino Octávio Bastos (FEOB), aluna de Iniciação Científica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ-USP), São Paulo, SP - Brasil, e-mail: carolinasthome@hotmail.com

<sup>[e]</sup> Zootecnista, professor doutor da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA), Pirassununga, SP - Brasil, e-mail: balieiro@usp.br

<sup>[f]</sup> Médicas-veterinárias, professoras doutoras da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ-USP), São Paulo, SP - Brasil, e-mails: fernandescb@usp.br, celeghin@usp.br

## Resumo

Os métodos de diagnósticos para a reação inflamatória uterina em bovinos ainda são frequentemente discutidos. O diagnóstico da endometrite por palpação retal e observação de descarga vaginal é provavelmente a base para o tratamento da maioria das vacas no campo. A vaginoscopia é um método adicional à palpação retal para investigar infecções uterinas. O grande desafio que poderia trazer benefícios aos tratamentos e ao desempenho reprodutivo é a detecção de vacas que apresentam endometrite subclínica ou clínica sem manifestações ou descargas anormais. As amostras citológicas podem ser obtidas por biópsia uterina, por *swabs* de algodão, escova ginecológica ou por lavagem uterina. Técnicas que produzam células bem preservadas e representativas de uma grande superfície do útero, sem causar danos ao trato reprodutivo, são requeridas para um consistente e confiável resultado de citologia. Técnicas não invasivas, como a ultrassonografia, para a avaliação do ambiente uterino podem contribuir. Utilizando o modo-B é possível identificar presença de conteúdo líquido no lúmen uterino; por sua vez, o modo Doppler colorido pode ser utilizado para estudar a perfusão vascular do útero com comprometimento endometrial.

**Palavras-chave:** Biópsia uterina. *Swab*. Escova ginecológica. Lavagem uterina. Ultrassonografia doppler.



## Abstract

*Diagnostic methods for uterine inflammatory reaction in cattle are still discussed. The diagnosis for endometritis by rectal palpation and observation of vaginal discharge is probably the basis for the treatment of most cows in the field. The vaginoscopy is another method to investigate uterine infections used additionally to the rectal palpation. A great challenge that could bring benefits to the treatment and reproductive performance of cows is the detection subclinical or clinical endometritis that do not show clinical manifestations or abnormal discharges. Cytological samples can be obtained by uterine biopsy using cotton swabs, cytobrush or uterine washing. Techniques that produce well-preserved cells and are representative of a large uterine surface without causing damage to the reproductive tract are required for a consistent and reliable cytology. Noninvasive techniques, such as ultrasonography, can contribute to evaluate the uterine environment. It is possible to identify the presence of liquid content in the uterine lumen using the B-mode; moreover, the color Doppler mode can be used to study the endometrial vascular perfusion of uterus with endometrial disorders.*

**Keywords:** Uterine biopsy. Swab. Cytobrush. Uterine washing. Doppler ultrasound.

## Introdução

Os processos inflamatórios uterinos são os principais causadores de redução da fertilidade em bovinos e seu diagnóstico precoce contribui para minimizar seus efeitos. O diagnóstico da endometrite pode ser realizado no exame clínico por observação da presença de descarga vaginal, palpação retal e vaginoscopia, os quais norteiam a maioria dos tratamentos das vacas no campo (GILBERT et al., 2005). Por outro lado, nem sempre é possível diagnosticar, por essas avaliações, respostas inflamatórias menos intensas – algumas vezes denominadas *subclínica* –, mas que interferem na fertilidade. Para um diagnóstico consistente e confiável, são requeridos exames mais específicos, como a citologia e a histologia endometriais.

As técnicas para obtenção das amostras citológicas, tais como *swabs* e lavagem uterina (KASIMANICKAM et al., 2005a; THOMÉ et al., 2011), bem como as biopsias para amostras histológicas, apresentam característica invasiva, que pode mascarar a real resposta inflamatória. Com os avanços tecnológicos e a introdução da ultrassonografia em tempo real, é possível avaliar mudanças que ocorrem no trato reprodutivo de fêmeas por uma técnica não invasiva (BOLLWEIN et al., 2000; OLIVEIRA et al., 2011) utilizada para observar conteúdo uterino no modo-B e o aumento da vascularização uterina em modo color Doppler, revolucionando o conhecimento da biologia reprodutiva (MEDAN; EL-ATY, 2010).

O objetivo desta revisão é abordar os meios de diagnóstico para a avaliação da resposta inflamatória uterina em bovinos, destacando-se suas implicações práticas.

## Revisão de literatura

O diagnóstico da endometrite por palpação retal e observação esporádica de descarga vaginal é provavelmente a base para o tratamento da maioria das vacas no campo. Observações repetidas confirmaram que esse é um método sensível de diagnóstico. Em um estudo em que foram examinadas 157 vacas com suspeita de endometrite, com base somente na palpação retal, 22% apresentaram-se positivas (GILBERT et al., 2005).

A vaginoscopia é um método mais preciso para investigar infecções uterinas do que a palpação retal, por ser mais sensível e específica na detecção de descargas uterinas anormais. No entanto, a vaginoscopia muitas vezes não é eficiente para identificar vacas que estão verdadeiramente sob o risco de baixo desempenho reprodutivo. A vaginoscopia, por vezes, não identifica também casos em que a ausência de descarga não é verdadeiramente indicativa da ausência de inflamação uterina, uma vez que esta pode ser influenciada pela gravidade da infecção, pela contração do miométrio, pelos mecanismos de limpeza do útero, pela conformação perineal, pelo escore de condição

corporal, por alterações posturais e até mesmo por exercícios (KASIMANICKAM et al., 2004). O grande desafio aos tratamentos e ao desempenho reprodutivo é a detecção de vacas que apresentam endometrite subclínica ou clínica sem manifestações ou descargas anormais.

O exame citológico do trato reprodutivo é utilizado para avaliar possíveis lesões (GILBERT et al., 1998; HAMMON et al., 2001). Células endometriais e inflamatórias podem ser coletadas por um *swab* de algodão ou escova ginecológica, por lavagem uterina (GILBERT et al., 2005; KASIMANICKAM et al., 2005a; MATEUS et al., 2002; THOMÉ et al., 2011) e por biópsia uterina (KASIMANICKAM et al., 2005a).

Técnicas que recuperem células bem conservadas, representativas de uma grande área da superfície uterina sem provocar danos no trato reprodutivo são necessárias para resultados consistentes e confiáveis (KASIMANICKAM et al., 2005a). A técnica de lavado uterino obtém amostras de células de uma maior área de superfície do útero e fornece elevada representatividade do conteúdo luminal, opostamente ao *swab* ou biópsia uterina (GILBERT et al., 1998; HAMMON et al., 2001); no entanto, essa técnica pode causar irritação ao endométrio (BROOK, 1993).

Kasimanickam et al. (2005a) coletaram amostras citológicas endometriais de vacas, primeiramente através da técnica de *swab* com escova ginecológica, e, em seguida, pela técnica de lavagem uterina. A razão para a realização da técnica de escova ginecológica foi para evitar a irritação ao endométrio causada pelo fluido a partir da técnica de lavagem citadas por Ball et al. (1988) e Brook (1993). Porém, pode-se argumentar que a técnica de escova ginecológica também pode causar irritação ao endométrio, mas o tempo necessário para obter amostras por essa técnica é mais rápido em comparação com a técnica de lavagem. O volume de fluido deixado no útero após a obtenção de amostras pela técnica de lavagem pode afetar o grau de irritação e, assim, influenciar o resultado da amostragem pela escova ginecológica, se esta for obtida depois (KASIMANICKAM et al., 2005a).

Após a realização das técnicas de lavagem uterina e *swab* com escova ginecológica após a inseminação artificial em vacas, Celeghini et al. (2011) observaram que estas interferiram de forma semelhante na hemodinâmica uterina.

O exame citológico por lavagem uterina com baixos volumes de solução salina para recuperar neutrófilos foi recentemente estudado em bovinos leiteiros como método para definir endometrite subclínica (GILBERT et al., 1998) e clínica (HAMMON et al., 2001). Kasimanickam et al. (2005a) relatam que, de todas as tentativas de lavado uterino, 17% (12/70) não permitiram a recuperação de qualquer fluido. A porcentagem média de células polimorfonucleares (PMN) não foi influenciada pelo volume de líquido recuperado. No geral, a porcentagem diminuiu no decorrer do puerpério, permitindo melhor recuperação em comparação com o puerpério precoce. Os autores enfatizam ainda que a não recuperação de fluidos e o possível trauma no útero indicam que a técnica de lavagem é inconsistente e possivelmente prejudicial.

Kasimanickam et al. (2005a) indicaram que a técnica de escova ginecológica poderia ser usada com sucesso e confiabilidade para se obter amostras endometriais, resultando numa porcentagem média de células PMN significativamente maior do que a técnica de lavagem nas quatro semanas iniciais do puerpério (20 a 33 dias). Porém, nas fases posteriores (33 a 47 dias), a técnica de lavagem e a técnica de escova ginecológica foram similares nos resultados ao se capturar amostras. Dessa forma, a porcentagem média de PMN está negativamente associada ao decorrer dos dias de pós-parto. A presença de eritrócitos na amostra tende a ser maior na técnica de lavagem em comparação com a escova ginecológica, possivelmente pelos traumas decorrentes da manipulação do útero e da haste de infusão durante a tentativa de recuperar o fluido.

Os estudos citológicos demonstram que o número de células recuperadas é crítico, uma vez que, para definir a inflamação, depende-se do limiar utilizado para o percentual de células inflamatórias (KASIMANICKAM et al., 2005a). Hammon et al. (2001) utilizaram um valor limiar de 25% de PMN na amostra citológica com 28 dias pós-parto, Kasimanickam et al. (2005b) utilizaram 18% de PMN com 20-33 dias pós-parto e Gilbert et al. (2005) e Barlund et al. (2008) utilizaram o limiar entre 5 e 8% de PMN. Williams et al. (1988) classificaram de acordo com a porcentagem de células PMN presente no lavado: em grau zero ou normal,

quando se tem menos que 5% de neutrófilos na amostra; grau 1 ou inflamação leve, quando se tem de 5 a 25% de neutrófilos; grau 2 ou inflamação moderada, quando se tem de 25 a 75% de neutrófilos; e grau 3 ou inflamação grave, quando se tem mais que 75% de neutrófilos.

Ellenberger et al. (2006) descreveram que em 82% dos úteros com endometrite examinados todo o endométrio estava afetado, sugerindo que a técnica de escova ginecológica seja adequada para identificar a inflamação do endométrio na maioria dos casos. De forma contraditória, Kasimanickam et al. (2005a) reportam que a técnica de escova ginecológica produz amostras *in situ*, que podem representar a natureza inflamatória do endométrio em um local, com menor distorção das células, diferentemente da técnica de lavagem uterina, que proporciona amostra diluída de conteúdos luminais, representando maior superfície uterina em análise e com maior abrangência celular (THOMÉ et al., 2011). Essa alteração de células pode ser explicada pelo procedimento da lavagem uterina, que tem duração de aproximadamente duas horas a partir da obtenção da amostra até a preparação da lâmina. Kasimanickam et al. (2005a) concluíram ainda que os resultados das amostras obtidas por escova ginecológica foram superiores, indicando que é mais consistente e confiável para a obtenção de amostras de citologia do endométrio de vacas leiteiras no pós-parto do que a lavagem uterina.

Gilbert et al. (2005) afirmam que a citologia endometrial é uma técnica para o diagnóstico de endometrite válida, mesmo sendo possível que alguns fatores interfiram em diagnóstico falso-negativo ou falso-positivo. Esses autores obtiveram amostras satisfatórias para fins de diagnóstico de todas as vacas do estudo (141 vacas com 40-60 dias pós-parto), havendo uma prevalência de endometrite subclínica em 53% dessas vacas. Relatam ainda que, vacas com diagnóstico citológico positivo à endometrite subclínica tiveram uma diminuição na proporção total de vacas prenhes (69%) em comparação com vacas negativas (90%) e a taxa de concepção no primeiro serviço foi menor (11%) quando comparadas com as vacas negativas (36%).

Mateus et al. (2002) relatam que o volume de líquido intrauterino identificado por meio da

ultrassonografia está correlacionado com o crescimento bacteriano em *swab* uterino, e que a infecção prejudicou consideravelmente a involução uterina.

Três modos diferentes de trabalho são vistos na ultrassonografia: o modo-B, o modo color Doppler e o modo espectral. O modo-B fornece dados sobre a presença de líquido intrauterino. O modo color Doppler permite avaliar a presença, direção e qualidade do fluxo sanguíneo de forma mais rápida que qualquer outra técnica não invasiva; nesse caso, quanto maior o escore, maior a vascularização do órgão em questão, ou seja, o escore de vascularização é diretamente proporcional ao fluxo sanguíneo do órgão avaliado (BOLLWEIN et al., 2000; SILVA et al., 2005). O modo espectral fornece valores exatos de índices relacionados com a vascularização, tais como pico sistólico, final diastólico, relação entre sístole e diástole, índice de resistência (RI), taxa de velocidade máxima do fluxo sanguíneo e batimentos cardíacos por minuto. Silva et al. (2005) e Ferreira et al. (2010) relatam que os valores do índice de resistência (RI) e índice de pulsatilidade (PI) podem ser utilizados para a avaliação do trato reprodutivo, pois não são influenciados por angulação da probe em relação ao vaso, e afirmam que, quanto menores os valores de RI e PI, maior será o fluxo sanguíneo do vaso em questão, ou seja, RI e PI são inversamente proporcionais ao fluxo sanguíneo do tecido avaliado.

Herzog e Bollwein (2007) observaram que em vacas com puerpério alterado, o volume de fluxo sanguíneo uterino começou a diminuir quatro dias pós-parto e a resistência do fluxo sanguíneo uterino começou a aumentar após oito dias. Essas mudanças foram menos pronunciadas em vacas com puerpério normal, relacionando as alterações a processo inflamatório, fundamentados na afirmação de Slama et al. (1994), de que altas concentrações de prostaglandinas causam vasodilatação em vacas com endometrite pós-parto.

## Conclusão

A citologia endometrial é meio de diagnóstico mais direto de se avaliar a resposta inflamatória uterina, porém sua invasividade pode restringir a sua utilização; por outro lado, estudos validam

a utilização da ultrassonografia Doppler colorida como uma técnica não invasiva e vantajosa para avaliar a perfusão do aparelho reprodutor de vacas, fornecendo informações adicionais sobre os processos fisiológicos e patológicos do útero e conduzindo a novos métodos de diagnóstico e terapias das desordens reprodutivas. Contudo, o diagnóstico preciso das respostas inflamatórias uterinas deve ser baseado nas associações dos métodos, incluindo a palpação retal, a vaginoscopia, a citologia endometrial e a ultrassonografia.

## Referências

- BALL, B. A. et al. Use of a low-volume uterine flush for microbiologic and cytologic examination of the mare's endometrium. **Theriogenology**, v. 29, n. 6, p. 1269-1283, 1988.
- BARLUND, C. S. et al. A comparison of diagnostic techniques for postpartum endometritis in dairy cattle. **Theriogenology**, v. 69, n. 6, p. 714-723, 2008. doi:10.1016/j.theriogenology.2007.12.005.
- BOLLWEIN, H. et al. Transrectal doppler sonography of uterine blood flow in cows during the estrous cycle. **Theriogenology**, v. 57, n. 8, p. 2053-2061, 2000. doi:10.1016/S0093-691X(02)00706-9.
- BROOK, D. Uterine cytology. In: MCKINNON, A. O.; VOSS, J. L. (Ed.). **Equine Reproduction**. 2. ed. London: Lea & Febiger, 1993. p. 246-254.
- CELEGHINI, E. C. C. et al. Hemodinâmica uterina de vacas submetidas à colheita de material endometrial para a avaliação citológica. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 19., 2011, Recife. **Anais...** Recife, 2011. p. 73.
- ELLENBERGER, C. et al. Subklinische Fertilitätsstörungen beim Rind - Welchen Beitrag kann die Pathologie leisten? **Subklinische Fruchtbarkeitsstörungen beim Rind**, p. 28-36, 2006.
- FERREIRA, J. C. et al. Uterine vascular perfusion and spectral- Doppler measurements during the early gestation in mares: news concepts of evaluation. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON EQUINE REPRODUCTION, 10., 2010, Lexington, KY, USA. **Proceedings...** Lexington: Elsevier, 2010. p. 281-283. v. 1.
- GILBERT, R. O. et al. Incidence of endometritis and effects on reproductive performance of dairy cows. **Theriogenology**, v. 49, n. 1, p. 251, 1998. doi:10.1016/S0093-691X(98)90604-5.
- GILBERT, R. O. et al. Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. **Theriogenology**, v. 64, n. 9, p. 1879-1888, 2005. doi:10.1016/j.theriogenology.2005.04.022.
- HAMMON, D. S. et al. Effects of endometritis at the beginning of the breeding period on reproductive performance in dairy cows. In: ANNUAL CONFERENCE AMERICAN ASSOCIATION OF BOVINE PRACTICE, 34., 2001, Vancouver. **Proceedings...** Vancouver, 2001. p. 142-143.
- HERZOG, K.; BOLLWEIN, H. Applications of doppler ultrasonography in cattle reproduction. **Reproduction in Domestic Animal**, v. 42, supl. 2, p. 51-58, 2007.
- KASIMANICKAM, R. et al. Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. **Theriogenology**, v. 62, n. 1-2, p. 9-23, 2004. doi:10.1016/j.theriogenology.2003.03.001.
- KASIMANICKAM, R. et al. A comparison of the cytobrush and uterine lavage techniques to evaluate endometrial cytology in clinically normal postpartum dairy cows. **Canadian Veterinary Journal**, v. 46, n. 3, p. 255-259, 2005a. PMID:15884649.
- KASIMANICKAM, R. et al. The effect of a single administration of cephalixin or cloprostenol on the reproductive performance of dairy cows with subclinical endometritis. **Theriogenology**, v. 63, n. 3, p. 818-30, 2005b. doi:10.1016/j.theriogenology.2004.05.002.
- MATEUS, L. et al. Blood and intrauterine leukocyte profile and function in dairy cows that spontaneously recovered from postpartum endometritis. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 37, n. 3, p. 176-80, 2002. doi:10.1046/j.1439-0531.2002.00351.x.
- MEDAN, M. S.; EL-ATY, A. M. A. Advances in ultrasonography and its applications in domestic ruminants and other farm animals reproduction. **Journal of Advanced Research**, v. 1, n. 2, p. 123-128, 2010. doi:10.1016/j.jare.2010.03.003.
- OLIVEIRA, B. M. M. et al. Efeitos da inseminação artificial sobre a vascularização uterina em bovinos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 19., 2001, Recife. **Anais...** Recife, 2001. p. 72.



SILVA, L. A. et al. Changes in vascular perfusion of the endometrium in association with changes in location of the embryonic vesicle in mares. **Biology of Reproduction**, v. 72, n. 3, p. 755-761, 2005. <http://dx.doi.org/10.1095/biolreprod.104.036384>

SLAMA, H.; VAILLANCOURT, D.; GOFF, A. K. Control of in vitro prostaglandin F2 alpha and E2 synthesis by caruncular and allantochorionic tissues from cows that calved normally and those with retained fetal membranes. **Domestic Animal Endocrinology**, n. 11, n. 2, p. 175-185, 1994.

THOMÉ, H. E. et al. Comparação de técnicas para avaliar citologia endometrial em bovinos após inseminação artificial. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 19., 2001, Recife. **Anais...** Recife, 2001. p. 123.

WILLIAMS, B. L. et al. Relationships between days post partum, observed estrus and uterine microflora in commercial dairy cows. **Theriogenology**, v. 30, n. 3, p. 555-561, 1988. doi:10.1016/0093-691X(88)90205-1.

Recebido: 15/08/2012

*Received:* 08/15/2012

Aprovado: 11/12/2012

*Approved:* 12/11/2012