

Avaliação da prevalência de endometrite citológica no pós-parto de vacas leiteiras alojadas em sistemas Compost barn (resultados preliminares)

Milena Carvalho Coelho⁽¹⁾, Marcilene Daniel Damasceno⁽²⁾, Andrea Micke Moreno⁽³⁾, Elaine Dorneles⁽⁴⁾, Alessandro de Sá Guimarães⁽⁵⁾ e Bruno Campos de Carvalho⁽⁵⁾

⁽¹⁾Graduanda em Medicina Veterinária – UFJF, Juiz de Fora, MG. Bolsista da Fapemig e-mail: milenacarvalhocoelho111@outlook.com, ⁽²⁾ Mestranda, Faculdade de Medicina Veterinária - UFLA, Lavras, MG, ⁽³⁾Professora, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - FMVZ – USP – São Paulo, SP, ⁽⁴⁾Professora, Faculdade de Medicina Veterinária - UFLA, Lavras, MG, ⁽⁵⁾Pesquisador, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG

Resumo- A doença uterina é importante causa de perdas reprodutiva e produtiva em vacas de leite. O diagnóstico e definição de casos são variados, mas a citologia endometrial é método confiável e sensível para a detecção de inflamações no endométrio de vacas no puerpério. O crescimento da adoção de sistemas Compost barn torna necessário caracterizar a saúde animal nesses sistemas, especialmente a prevalência de doenças uterinas. Objetivou-se avaliar a prevalência de endometrite citológica no pós-parto de vacas alojadas em sistemas Compost barn. Foram coletadas amostras endometriais pela técnica de Cytobrush em 117 vacas de um (01) a 45 dias pós-parto, em sete (07) fazendas, no Estado de MG e GO. As amostras foram coradas em laboratório pelo método de panóptico rápido e a contagem foi realizada em microscopia de imersão (1000X). Foram contadas pelo menos 200 células e calculada a porcentagem de neutrófilos polimorfonucleares e consideradas como positivas para endometrite citológica aquelas amostras com mais de 6% de neutrófilos. Dados de raça, ordem de parto e período pós-parto foram considerados e a prevalência de endometrite citológica calculada considerando o número de lâminas positivas em função do número total de lâminas com leitura. Os dados foram submetidos a análise de dispersão de frequência pelo teste exato de Fisher ($P < 0,05$), considerando os efeitos de raça, ordem de parto e período pós-parto, utilizando o programa estatístico SAS, v.9.2. Das 117 lâminas, cinco (05) foram descartadas por baixa contagem ou ausência de células. A prevalência de endometrite citológica foi de 19,64% (22/112). Não foram observados efeitos de raça, ordem de parto ou de período pós-parto na prevalência de endometrite citologia. A continuidade do presente estudo, com aumento do número de animais avaliados contribuirá para a associação entre contagem de neutrófilos na citologia endometrial e a ocorrência de infecções uterinas em vacas leiteiras alojadas em sistemas *Compost barn*.

Termos para indexação: citologia, gado de leite, metrite, período de transição, reprodução, saúde animal, útero.

Prevalence of cytological endometritis in the postpartum period of dairy cows in Compost barn systems (preliminary results)

Abstract- Uterine disease is an important cause of reproductive and productive losses in dairy cows. The diagnosis and case definition are variable but endometrial cytology is a reliable and sensitive method to detect uterine inflammation in the puerperium. The widespread of compost barn systems in Brazil makes necessary the characterization of animal health,

especially uterine disease. This study aimed to evaluate cytologic endometritis prevalence in dairy cows housed in compost bedded-pack systems. Uterine samples were collected by Cytobrush technique in 117 cows from one to 45 postpartum days from seven Dairy farms in Minas Gerais and Goiás states. The samples were stained in laboratory by panoptic method and evaluated by microscopy (100x magnification) and 200 cells counted. The polymorphonuclear neutrophil (PMN) percentage was calculated. Samples with more than 6% of PMN were considered positive to cytologic endometritis. Breed, parity and postpartum period data were considered and the cytological endometritis prevalence was calculated. The dispersion frequency was analyzed by Fisher exact test ($P < 0.05$) using SAS v. 9.2. Five out of 117 slides were discarded by lack of staining or cell absence. The cytologic endometritis prevalence was 19.64% (22/112). There were no effects of breed, parity or postpartum period on cytological endometritis. The continuity of the present study with a larger sample, will help to elucidate the association between PMN Count in endometrial cytology and uterine infection in cows housed in compost bedded-pack barn systems.

Index terms: animal health, cytology, dairy cattle, metritis, reproduction, transition period, uterus.

Introdução

As doenças uterinas representam um dos principais distúrbios de saúde no período pós-parto de vacas leiteiras. Caracterizam-se não apenas pela inflamação do endométrio, no caso de endometrites, mas também da lâmina basal e miométrio no caso de metrites, acompanhada de infecção causada por bactérias patogênicas ou oportunistas. Na metrite ocorre exsudato aquoso sanguinolento ou mucopurulento, podendo ser acompanhada de sinais sistêmicos como febre e perda de apetite (Sheldon et al., 2006). Entretanto, a classificação das doenças uterinas quando realizada no período pós-parto com base em sinais clínicos ainda é complexa e pouco adotada na prática. Assim, mais recentemente, essas inflamações têm sido classificadas de forma sumária como: i) metrite, quando ocorre descarga vaginal purulenta de odor fétido e acúmulo de exsudato no útero, geralmente até 14 dias pós-parto; ii) descarga vaginal purulenta, a partir de 14 dias pós-parto e sem acúmulo de exsudato no útero; e iii) endometrite citológica, quando há confirmação da inflamação do endométrio pelo aumento do número de leucócitos polimorfonucleares, avaliada por citologia endometrial (Wagener et al., 2017).

A análise citológica permite uma avaliação direta das células epiteliais e dos leucócitos presentes no revestimento uterino, tornando-a uma ferramenta precisa para o diagnóstico de endometrite (Gilbert; Santos, 2016). É uma técnica minimamente invasiva que pode ser realizada de forma rápida e simples. Um dos métodos mais utilizados é o Cytobrush, que é uma escova citológica adaptada a um mandril de inseminação artificial. Após a coleta do material uterino, a escova é utilizada para fazer um esfregaço em uma lâmina de vidro, que após coloração, é avaliada sob microscopia. Apesar de não haver consenso na literatura, de forma geral, considera-se a ocorrência de endometrite quando há a presença de mais de 5% de neutrófilos polimorfonucleares (Denis-Robichaud; Dubuc, 2015). Tanto a ocorrência de metrite, quanto de descarga vaginal purulenta e endometrite citológica estão relacionadas com redução da fertilidade da vaca. Vacas com infecções uterinas apresentam menor taxa de concepção e impacto na sobrevivência do embrião (Wagener et al., 2017).

O Compost barn é um sistema de produção que vem crescendo no Brasil desde sua implementação há pouco mais de uma década. Tal sistema tornou-se popular pelo menor custo de implantação e pela facilidade de manejo quando comparado a outros sistemas de confinamento. Entretanto, ainda são poucos os estudos que tenham caracterizado a saúde animal nesses sistemas, especialmente no período de transição, quando ocorre a maioria dos casos de doenças uterinas.

Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar a ocorrência de endometrite citológica por meio de citologia endometrial no período pós-parto de vacas alojadas em sistemas Compost barn. Os resultados que a seguir são expostos vão ao encontro dos Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS) contidos na Agenda 2030, proposta pela Organização das Nações Unidas, da qual o Brasil é signatário, contribuindo para o alcance dos seguintes objetivos específicos: ODS 1 - Erradicação da pobreza: Acabar com a pobreza em todas as suas formas, em todos os lugares; ODS 2 - Erradicação da fome: acabar com a fome, alcançar a segurança alimentar e melhoria da nutrição e promover a agricultura sustentável; ODS 8 - Empregos dignos e crescimento econômico: promover o crescimento econômico sustentado, inclusivo e sustentável, emprego pleno e produtivo, e trabalho decente para todos.

Material e métodos

As atividades experimentais foram aprovadas pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Embrapa Gado de Leite (protocolo 8308220322). Foram avaliadas 07 (sete) fazendas, 05 (cinco) no Estado de Minas Gerais e uma (01) no Estado de Goiás. Todas as fazendas possuíam sistema Compost barn para o alojamento das vacas no pós-parto. Foram selecionadas vacas entre um e 45 dias pós-parto, sem histórico de tratamento com antibiótico nos últimos 10 dias. Foram amostradas todas as vacas disponíveis em cada fazenda, com um máximo de 20 vacas coletadas por fazenda. Dados de data do parto, dias em lactação, ordem de parto e raça também foram coletados.

As vacas foram contidas em brete ou corredor de manejo e, após higienização perineal, foram coletadas amostras uterinas utilizando aplicador de sêmen de aço inoxidável adaptado a uma escova citológica (Kolplast, Brasil) envolto em uma bainha de inseminação (WTA, Brasil) e protegido por camisa sanitária (WTA, Brasil). Após a coleta, a escova citológica foi rolada sobre lâmina de vidro e seco ao ar. No laboratório, as lâminas foram coradas pelo método do panóptico rápido, composto por três soluções, a primeira de triarilmetano a 0,1%, a segunda de xantenos a 0,1% e a terceira de tiazinas a 0,1%. As lâminas foram submersas por 5 segundos em cada solução na ordem listada e posteriormente lavadas com água destilada. Após secagem, a leitura foi realizada com auxílio de microscópio (Leica, Alemanha), sob imersão em óleo (1000x). Foram contadas pelo menos 200 células, com a identificação de células epiteliais, neutrófilos (polimorfonucleares) e outros tipos celulares (linfócitos e macrófagos). Lâminas que não apresentaram células epiteliais ou não coraram foram descartadas. Foi realizado cálculo da porcentagem de neutrófilos no total celular (neutrófilos, células epiteliais e outros) e consideradas como positivas para endometrite citológicas aquelas amostras com mais de 6% de neutrófilos. As informações zootécnicas de raça, ordem de parto (primípara ou múltipara) e período pós-parto (1 a 14 dias, 15 a 28 dias e mais que 28 dias em lactação) foram tabuladas e as ocorrências de endometrite citológica calculadas considerando o número de lâminas positivas em função do número total de lâminas com leitura.

Os dados experimentais foram submetidos a análise de dispersão de frequência pelo teste exato de Fisher ($P < 0,05$), considerando os efeitos de raça, ordem de parto e período pós-parto, utilizando o programa estatístico SAS, v.9.2.

Resultados e discussão

Foram coletadas e coradas lâminas de 117 animais, sendo 17 da fazenda A, 19 da fazenda B, 20 da fazenda C, 20 da fazenda D, 15 da fazenda E, 09 (nove) da fazenda F e 17 da fazenda G. Foram descartadas 5 lâminas por ausência de células ou de coloração, sendo um (01) animal da fazenda A, três (03) animais da fazenda D e um (01) animal da fazenda F. Observou-se prevalência de 19,64% (22/112) de endometrite citológica, que ocorreu de forma variável entre as fazendas, conforme demonstrado na Figura 1.

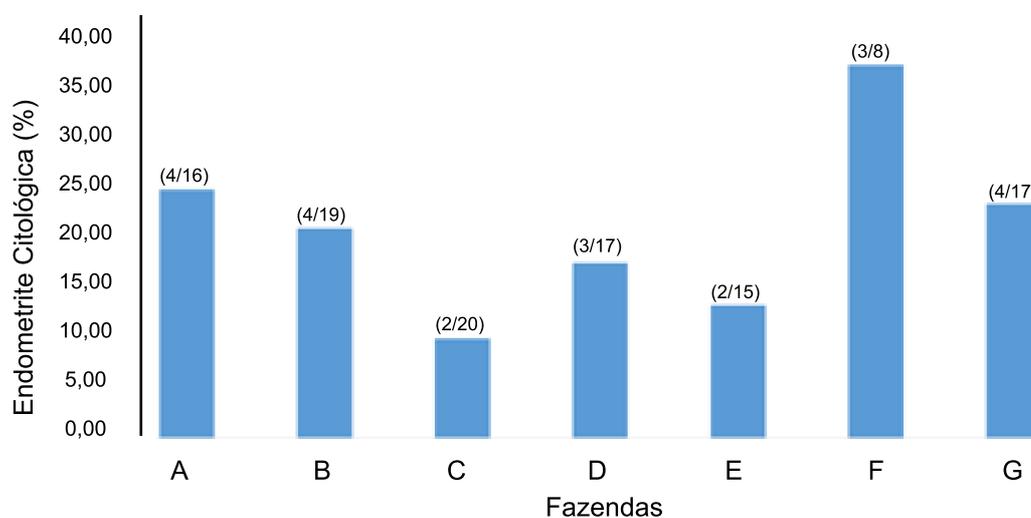


Figura 1. Prevalência de endometrite citológica no pós-parto de vacas alojadas em 07 (sete) fazendas com sistemas Compost barn nos Estados de Minas Gerais e Goiás.

As fazendas C e G possuíam animais da raça Girolando, enquanto que as demais fazendas (A, B, D, E e F) possuíam animais da raça Holandesa. Ao avaliar-se o efeito de raça sobre a prevalência de endometrite citológica na amostra estudada, não se observou efeito ($P > 0,05$) para esta característica (Figura 2).

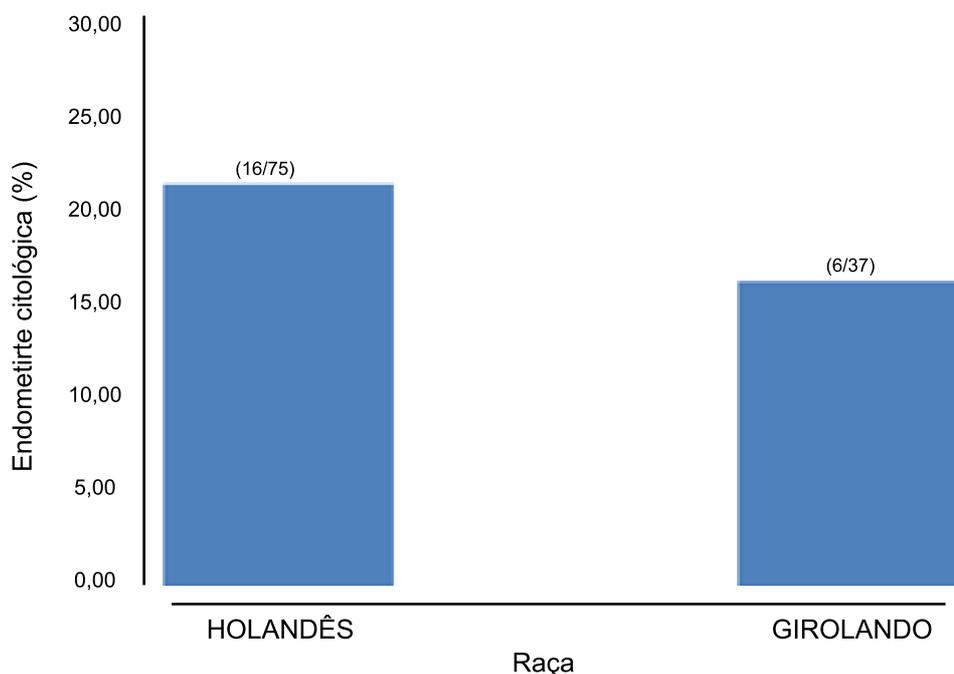


Figura 2. Prevalência da endometrite citológica em função da raça das vacas amostradas de um a 45 dias pós-parto.

Da mesma forma, não se observou ($P>0,05$) efeito da ordem de parto sobre a prevalência de endometrite citológica. Vacas primíparas apresentaram uma ocorrência de 22,22% (6/27), semelhante ($P>0,05$) aos 17,14% (12/70) observados para as múltíparas. Já com relação ao período pós-parto, não se observou ($P>0,05$) efeito dos dias pós-parto sobre a ocorrência de endometrite citológica. De 01 a 14 dias pós-parto a ocorrência foi 23,33% (7/30), de 15 a 28 dias pós-parto foi 24,49% (12/49) e acima de 28 dias pós-parto foi de 9,09% (3/33) (Figura 3).

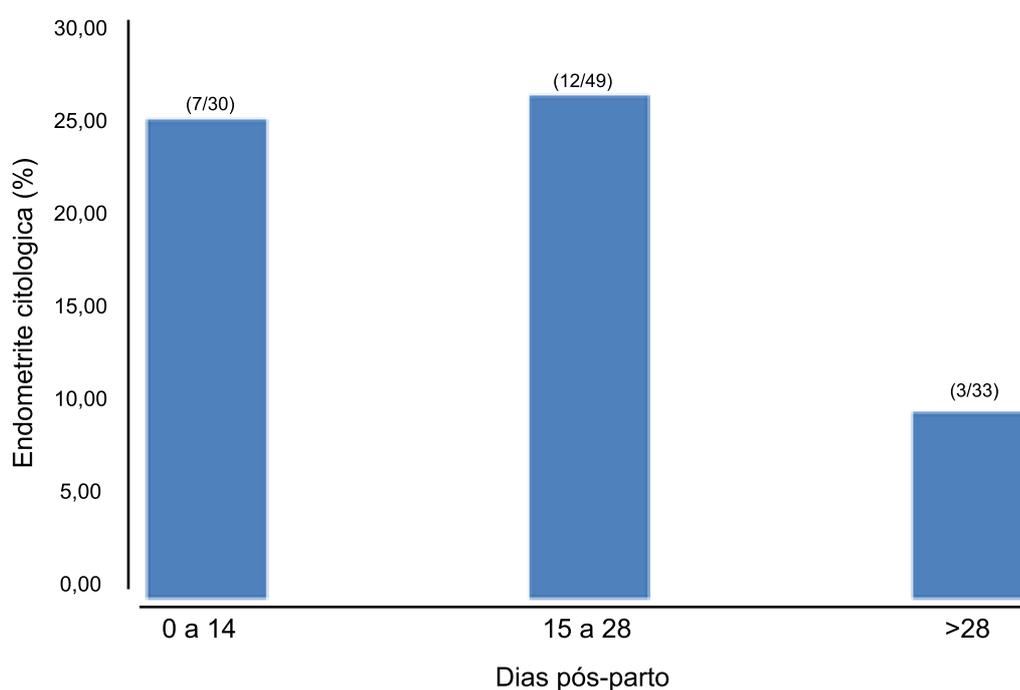


Figura 3. Prevalência de endometrite citológica em vacas alojadas em sistemas Compost barn em relação ao período pós-parto.

O uso da citologia endometrial como técnica na rotina diagnóstica veterinária ainda tem sido debatido. Não existe um consenso sobre o período ideal para a realização da técnica ou o percentual limite de neutrófilos polimorfonucleares em que seria considerada a endometrite citológica, com valores de referência variando entre 5 e 18% (Wagener et al., 2017). No presente estudo, considerou-se um limiar de 6% de polimorfonucleares para a confirmação da endometrite citológica. Entretanto, já foi demonstrado que a ocorrência de maiores porcentagens de neutrófilos nos primeiros 20 dias após o parto pode não estar associada, necessariamente, a um quadro de infecção uterina. Maiores contagens no pós-parto inicial podem estar associadas a inflamação fisiológica do endométrio associada ao processo normal de involução uterina (Gilbert; Santos, 2016).

Os dados preliminares gerados no presente estudo demonstram a variação do contagem de neutrófilos polimorfonucleares em diferentes períodos pós-parto. A continuidade deste estudo, com uma base maior de dados e a associação com outros resultados do projeto, como o cultivo microbiológico (Damasceno et al., 2023), permitirá a associar essa variação com a ocorrência de infecção uterina, com potencial de contribuir para o estabelecimento dos valores limite de neutrófilos polimorfonucleares em diferentes períodos pós-parto.

Conclusões

A citologia endometrial demonstrou-se técnica eficaz para avaliação da inflamação uterina no pós-parto de vacas alojadas em sistemas Compost barn. Os resultados preliminares apresentados demonstram a variabilidade da porcentagem de neutrófilos em diferentes períodos pós-parto e o aumento da base de dados será importante para associar a sua porcentagem com a ocorrência de infecções uterinas.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig). Parte do projeto “Saúde no período de transição de vacas leiteiras alojadas em sistemas Compost Barn, APQ-00665-22 liderado por Alessandro de Sá Guimarães e às fazendas que colaboraram com a realização do presente estudo.

Referências

- DAMASCENO, M. D.; DORNELES, E. M. S.; GONÇALVES, M. S. Caracterização microbiológica uterina de vacas leiteiras alojadas em sistemas compost barn. In: ENCONTRO NACIONAL DA REDE DE PESQUISA E INOVAÇÃO EM SANIDADE DA PECUÁRIA LEITEIRA - INOVALEITE, 1., 2023, Lavras. **Doenças da reprodução de bovinos**: anais. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2023.
- DENIS-ROBICHAUD, J.; DUBUC, J. Determination of optimal diagnostic criteria for purulent vaginal discharge and cytological endometritis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 10, p. 6848-6855, 2015. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2014-9120>.
- GILBERT, R. O.; SANTOS, N. R. Dynamics of postpartum endometrial cytology and bacteriology and their relationship to fertility in dairy cows. **Theriogenology**, v. 85, n. 8, p. 1367-1374, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.10.045>.
- SHELDON, I. M.; LEWIS, G. S.; LEBLANC, S.; GILBERT, R. O. Defining postpartum uterine disease in cattle. **Theriogenology**, v. 65, n. 8, p. 1516-1530, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.08.021>.
- WAGENER, K.; GABLER, C.; DRILLICH, M. A review of the ongoing discussion about definition, diagnosis and pathomechanism of subclinical endometritis in dairy cows. **Theriogenology**, v. 94, p. 21-30, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.02.005>.