BRUNO LEONARDO MENDONÇA RIBEIRO

**Avaliação do útero bovino com endometrite utilizando a técnica de
ultrassonografia Doppler**

São Paulo

2016

BRUNO LEONARDO MENDONÇA RIBEIRO

**Avaliação do útero bovino com endometrite utilizando a técnica de
ultrassonografia Doppler**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Departamento:

Clínica Médica

Área de concentração:

Clínica Veterinária

Orientador:

Profa. Dra. Lilian Gregory

São Paulo

2016

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.3369
FMVZ

Ribeiro, Bruno Leonardo Mendonça
Avaliação do útero bovino com endometrite utilizando a técnica de ultrassonografia Doppler / Bruno Leonardo Mendonça Ribeiro. -- 2016.
72 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Clínica Médica, São Paulo, 2016.

Programa de Pós-Graduação: Clínica Veterinária.

Área de concentração: Clínica Veterinária.

Orientador: Profa. Dra. Lilian Gregory.

1. Diagnóstico. 2. Vascularização. 3. Útero. 4. Vacas. 5. Puerpério. I. Título.

FICHA CATALOGRAFICA

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Avaliação do útero bovino com endometrite através da técnica de ultrassonografia Doppler.", protocolado sob o CEUA nº 5135030214, sob a responsabilidade de **Lilian Gregory e equipe; Bruno Leonardo Mendonça Ribeiro** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovado** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMZV) na reunião de 27/08/2014.

We certify that the proposal "título em inglês", utilizing 60 Bovines (60 females), protocol number CEUA 5135030214, under the responsibility of **Lilian Gregory and team; Bruno Leonardo Mendonça Ribeiro** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the University of São Paulo (CEUA/FMZV) in the meeting of 08/27/2014.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de **03/2014** a **03/2016**

Área: **Clínica Médica Veterinária**

Procedência: **Animais provenientes de estabelecimentos comerciais**

Espécie: **Bovinos**

sexo: **Fêmeas**

idade: **a**

N: **60**

Linhagem: **Holandesa**

Peso: **a**

Resumo: O desempenho reprodutivo insatisfatório é um importante entrave produtivo (GRÖHN; RAJALA-SCHULTZ, 2000). Durante o puerpério ocorre a maior incidência da doença acarretando aumento do intervalo entre partos, bem como uma taxa de concepção 20% menor (LEBLANC et al., 2002a). A endometrite é um processo inflamatório superficial do endométrio, que não atinge camada mais profunda que o estrato esponjoso do tecido. Histologicamente a endometrite é caracterizada por dano epitelial, infiltração de células inflamatórias, congestão vascular, edema e por variados graus de acúmulo de linfócitos e plasmócitos nas camadas superficiais do tecido (KENNEDY e MILLER, 1993; BONDURANT, 1999). Serão utilizados 60 bovinos. A caracterização de alterações hemodinâmicas das artérias uterinas e ovarianas são informações importantes para a ginecologia e a obstetrícia na medicina humana e veterinária. (KÖSTER et al., 2001; BORINI et al., 2004; ALVAREZ-CLAU E LUSTE, 2005). O Doppler possibilita determinar a presença, a direção e o tipo de fluxo sanguíneo (CARVALHO et al., 2008). A ferramenta Doppler associada à ultrassonografia convencional fornece informações em tempo real sobre a arquitetura vascular e os aspectos hemodinâmicos dos vasos em diversos órgãos. Este estudo tem por objetivo descrever, através da ultrassonografia Doppler, as alterações hemodinâmicas no útero de fêmeas bovinas causadas pela endometrite, diagnosticada aos 35 dias pós parto. Serão avaliadas 60 vacas Holandesas com até 35 dias pós parto, 30 animais saudáveis e 30 animais com endometrite de propriedades leiteiras do estado de São Paulo. Os resultados obtidos serão submetidos a análise estatística. Palavras Chaves: Endometrite, Doppler, Vacas, Ultrassonografia.

Local do experimento:

São Paulo, 09 de junho de 2016

Prof. Dra. Denise Tabacchi Fantoni
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

Roseli da Costa Gomes
Secretaria Executiva da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: RIBEIRO, Bruno Leonardo Mendonça

Título: **Avaliação do útero bovino com endometrite utilizando a técnica de ultrassonografia Doppler**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

A minha grande inspiração de viver, à figura que me ensinou tudo que sei como pessoa, uma guerreira e principal incentivadora dos meus objetivos minha mãe Aurora;

E em especial a dois homens que gostaria ter convivido mais tempo, mas infelizmente não foi possível, acredito que eles ficariam muito orgulhosos desse objetivo alcançado meu pai Gilson Bastos Ribeiro e meu avô José Farias, saudades meu pai, saudades meu avô.

AGRADECIMENTOS

A Deus criador e responsável pelo conhecimento das coisas mais simples às mais complexas.

À Profa. Dra. Lilian Gregory, pelo privilégio e a confiança depositada em para ser seu orientado durante a graduação, residência médica e pós-graduação, agradeço ao constante aprendizado, as conversas e boas risadas no convívio diário.

Ao grande responsável por me fazer gostar da vida acadêmica, exemplo de professor, de ser humano e humildade, Prof. Dr. Carlos de Sousa Lucci.

Ao grande amigo e conselheiro Enoch Meira Jr. por me ajudar e me aconselhar em muitos momentos decisivos durante minha vida acadêmica. Com certeza um grande professor e orientador.

Aos meus companheiros de viagem Mário Reyes, Gabriela Alves e Eduardo Marques que sem a ajuda deles e companhia seria muito difícil a realização desse estudo.

À minha irmã por todo seu carinho e conselhos sábios que me conhece mais do que eu mesmo e que apenas com um olhar me orienta.

À minha companheira que por muito tempo procurei e agora encontrei Camila Martin.

À uma grande amiga e parceira de muitos momentos Caroline Harumi Seino.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP, pela concessão de bolsa de Mestrado processo 2014/02676-4, de Bolsa BEPE 2015/21779-1 e Auxílio pesquisa, imprescindíveis ao desenvolvimento desta pesquisa.

Ao Prof. Rodrigo Carvalho Bicalho da Cornell University, pelos ensinamentos e oportunidade de participar de sua equipe executando e auxiliando o desenvolvimento de outros projetos de pesquisa.

A todos os proprietários que me permitiram estudar seus animais e aos tratadores que alteraram suas rotinas para que eu pudesse coletar os dados para pesquisa.

Aos professores de ruminantes do Departamento de Clínica Médica da FMVZ-USP: Alice Maria Meilville Paiva Della Libera, Fernando José Benesi, Enrico Lippi Ortolani, Maria Claudia Araripe Sucupira, Fábio Pogliani, Viviani Gomes pela convivência harmoniosa, conhecimentos transmitidos.

E principalmente a todos os animais, por possibilitarem a obtenção dos resultados apresentados neste trabalho e por terem servido de aprendizagem e ensinamentos, devo meu respeito.

RESUMO

RIBEIRO, B. L. M. **Avaliação do útero bovino com endometrite utilizando a técnica de ultrassonografia Doppler.** [Evaluation of bovine uterus with endometritis using Doppler ultrasound technique]. 2016. 72 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

Durante o puerpério há muita incidência de doenças reprodutivas acarretando aumento do intervalo entre partos, bem como diminuição na taxa de concepção. A endometrite é uma enfermidade puerperal que se caracteriza por um processo inflamatório superficial do endométrio. Com o intuito de se obter novas ferramentas diagnósticas não invasivas, precisas e que proporcionam resultados precoce à reprodução, faz-se uso da ultrassonografia convencional associada a ferramenta Doppler que fornece informações em tempo real sobre a arquitetura vascular e os aspectos hemodinâmicos dos vasos em diversos órgãos. Este estudo tem por objetivo descrever, através da ultrassonografia Doppler, as alterações hemodinâmicas no útero de fêmeas bovinas causadas pela endometrite. Avaliou-se o trato reprodutivo feminino de vacas entre 25 a 35 dias pós-parto utilizando a vaginoscopia, ultrassonografia convencional e Doppler, além de citologia e exame microbiológico em 89 vacas Holandesas sendo 33 sadias (controle) e 56 com endometrite diagnosticadas por citologia (saudáveis <10% de polimorfonucleares). Os resultados obtidos destacam-se a que animais com endometrite apresentavam aumento de cérvix ($p=0,04$), e de útero representado pelo corno esquerdo ($p=0,02$). Porém não foi observado diferença quando comparado os escore de condição corporal (ECC). Quanto a ultrassonografia notou-se que animais com fluido intrauterino (FIU) e conteúdo heterogêneo intrauterino (CHIU) tinham endometrite ($p<0,0001$), além de correlação com a presença de *Trueperella pyogenes* e leveduras. Com o modo cores do Doppler obteve-se a vascularização de mesométrio ($p=0,004$) e endométrio ($p=0,025$) associada a endometrite. Entretanto não foi observado diferença estatística nas medidas do Doppler espectral (índice de resistividade, pulsatilidade e fluxo sanguíneo). Portanto a busca de novas técnicas, menos invasivas e de rápido resultado, como a ultrassonografia Doppler, podem fornecer respostas satisfatórias quanto a evolução de alterações uterinas e com isso associar os resultados à precocidade reprodutiva.

Palavras-chave: Diagnóstico. Vascularização. Útero. Vacas. Puerpério.

ABSTRACT

RIBEIRO, B. L. M. **Evaluation of bovine uterus with endometritis using Doppler ultrasound technique.** [Avaliação do útero bovino com endometrite utilizando a técnica de ultrassonografia Doppler]. 2016. 72 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

During the puerperium period there is a high incidence of reproductive diseases resulting in increased calving interval and decrease in conception rate. The endometritis is a postpartum disease that is characterized by a superficial inflammation of endometrium. With the aim to obtain new non-invasive and accurate diagnostic tools, that provide early results in reproduction, it is possible to be used the conventional ultrasound associated to Doppler that provides real time information about vascular architecture and hemodynamic aspects of vessels in several organs. This study aims to describe, through Doppler ultrasound, hemodynamic changes in the uterus of cows caused by endometritis. Were evaluated the female reproductive tract of 89 Holstein cows between 25 to 35 days postpartum using vaginoscopy, conventional ultrasound and Doppler, as well as cytology and microbiological examination. From the 89 animals that were studied, 33 were healthy (control) and 56 with endometritis diagnosed by cytology (healthy <10% polymorphonuclear). The obtained results show that animals with endometritis had increase in cervix ($p = 0.04$) and the uterus represented by left uterine horn ($p = 0.02$). However, it was not detected difference when compared the body condition score (BCS). About the ultrasound was noted that animals with intrauterine fluid (IUF) and intrauterine heterogeneous content (IUHC) had endometritis ($p < 0.0001$) correlation with the presence of *Trueperella pyogenes* and yeasts. With the color Doppler mode it was possible to obtain the vascularization of mesometrium ($p = 0.004$) and endometrium ($p = 0.025$) associated with endometritis. However, it was not observed statistical difference in the measurements of the spectral Doppler (resistance index, pulsatility and blood flow). Therefore, the search for new techniques, less invasive and fast result, as the Doppler ultrasound can provide satisfactory answers as the evolution of uterine changes and thereby associate the results to the reproductive precocity.

Keywords: Diagnostics. Vascularization. Uterus. Cows. Puerperium.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Amostras de secreções obtidas pela vagina	25
Figura 2 -	Visualização da mucosa vaginal e cérvix apresentando coloração rósea e secreção translúcida (A); mucosa vaginal e cérvix esbranquiçada com secreção mucopurulenta (B)	35
Figura 3 -	Mensuração em centímetros do diâmetro de cérvix (A) e cornos uterinos (B)	35
Figura 4 -	Caracterização de conteúdo intrauterino em proporções anormais; fluido intrauterino-FIU (A) e conteúdo hiperecogênico intrauterino-CHIU (B)	36
Figura 5 -	Doppler espectral das artérias uterinas direita e esquerda	37
Figura 6 -	Caracterização de escore 0 para a avaliação subjetiva do padrão de vascularização do mesométrio (M) e 0 para endométrio (círculos vermelhos) pela técnica de avaliação colorimétrica, em modo color Doppler.....	38
Figura 7 -	Caracterização de escore 1 para a avaliação subjetiva do padrão de vascularização do mesométrio 0 para endométrio pela técnica de avaliação colorimétrica, em modo color Doppler.....	38
Figura 8 -	Caracterização de escore 2 para a avaliação subjetiva do padrão de vascularização do mesométrio e escore 0 para endométrio pela técnica de avaliação colorimétrica, em modo color Doppler.....	39
Figura 9 -	Caracterização de escore 3 para a avaliação subjetiva do padrão de vascularização do mesométrio (m) e escore 1 para endométrio (e) pela técnica de avaliação colorimétrica, em modo color Doppler.....	39
Figura 10 -	Caracterização de escore 4 para a avaliação subjetiva do padrão de vascularização do mesométrio (m) e escore 2 para endométrio (e) pela técnica de avaliação colorimétrica, em modo color Doppler.....	40
Figura 11 -	Avaliação ovariana com Doppler modo cores; ovário com CL sem vascularização (A); ovário com CL e vascularizado (B)	41
Figura 12 -	Citologia do lavado intrauterino, neutrófilos (seta vermelha); células epiteliais (seta verde)	42

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Diferença entre medidas de ultrassonografia linear de cérvix e cornos uterinos com endometrite	47
Gráfico 2 - Análise dos índices IR e IP do Doppler espectral entre as artérias uterinas direita e esquerda.....	53
Gráfico 3 - Análise do índice MTM Doppler espectral das artérias uterinas direita e esquerda	54
Gráfico 4 - Análise do fluxo sanguíneo Doppler espectral das artérias uterinas direita e esquerda.....	54

LISTA DE TABELA

Tabela 1 -	Número amostral e separação em relação aos grupos estudados	45
Tabela 2 -	Correlação de animais com endometrite comparado com outras variáveis	46
Tabela 3 -	Escore de condição corporal em relação à endometrite	46
Tabela 4 -	Diferença entre medidas de ultrassonografia linear de cérvix e cornos uterinos com endometrite	47
Tabela 5 -	Presença de fluido intrauterino (FIU) em quantidades anormais ao longo do experimento	48
Tabela 6 -	Correlação de animais com Fluido intrauterino (FIU) comparado com outras variáveis	48
Tabela 7 -	Animais que apresentaram conteúdo heterogêneo intrauterino (CHIU) em quantidades anormais ao longo do experimento	49
Tabela 8 -	Correlação de animais com conteúdo heterogêneo comparado com outras variáveis	49
Tabela 9 -	Avaliação do padrão vascular de endométrio	50
Tabela 10 -	Correlação do modo Doppler cores do endométrio comparado com outras variáveis	50
Tabela 11 -	Frequência da avaliação do padrão vascular de mesométrio	51
Tabela 12 -	Correlação do modo Doppler cores do mesométrio comparado com outras variáveis	51
Tabela 13 -	Frequência de presença de CL em função de endometrite	52
Tabela 14 -	Presença de CLv em função de endometrite	52
Tabela 15 -	Diferença do Doppler espectral nas artérias uterinas	53
Tabela 16 -	Bactérias e leveduras em animais com endometrite	55

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 -	Graduação referente ao tamanho do útero à palpação retal.....	32
Quadro 2 -	Coloração da mucosa vaginal e da projeção vaginal da cérvix e suas características	33
Quadro 3 -	Classificação do grau de umidade da cérvix em escores sua ocorrência e significado	34
Quadro 4 -	Característica e aspecto da secreção vaginal.....	34

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

Kg	Quilogramas
mg	Miligrama
cm	Centímetros
rpm	Rotações por minuto
mL	Mililitros
µL	Microlitros
PMN	Polimorfonucleares
TE	Transferência de embrião
<i>T. pyogenes</i>	<i>Trueperella pyogenes</i>
<i>S. intermedius</i>	<i>Staphylococcus intermedius</i>
ECC	Escore de condição corporal
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
FIV	Fertilização <i>in vitro</i>
CL	Corpo lúteo
FIU	Presença de fluido intrauterino
TP	<i>Trueperella pyogenes</i>
CHIU	Conteúdo Hipercoágulo intrauterino
eclv	Corpo lúteo vascularizado esquerdo
CLv	Corpo lúteo vascularizado
i.u.	Intrauterino
IR	Índice resistividade
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
IP	Índice Pulsatilidade
MTM	Média tempo médio
V_{máx}	Velocidade máxima
GnRH	Hormônio liberador de gonadotrofinas
PGF₂ α	Prostaglandina

LISTA DE SÍMBOLOS

R\$	Reais
α	Alfa
°C	Grau Celsius
μ	Micro
®	Marca Registrada
X	Vezez
$\geq$	Maior ou igual que
$<$	Menor que
%	Porcentagem
=	Igual
+	Positivo
-	Negativo
$\pm$	Mais ou menos

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	20
2.1	TRATO GENITAL DE FÊMEAS BOVINAS.....	20
2.2	PUERPÉRIO	20
2.3	ENDOMETRITE.....	22
2.4	EXAME GINECOLÓGICO	24
2.4.1	Vaginoscopia	24
2.4.2	Metrichack.....	26
2.4.3	Histeroscopia.....	26
2.5	CITOLOGIA UTERINA	27
2.6	EXAME ULTRASSONOGRÁFICO	27
2.6.1	Ultrassonografia Doppler.....	28
3	OBJETIVOS	30
4	MATERIAIS E MÉTODOS	31
4.1	PROPRIEDADES	31
4.2	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	31
4.3	EXAME GINECOLÓGICO	31
4.3.1	Inspeção	31
4.3.2	Palpação retal - Exploração clínica da cérvix e útero e ovários.....	32
4.3.3	Vaginoscopia - Inspeção indireta da vagina	33
4.4	EXAME ULTRASSONOGRÁFICO	35
4.4.1	Ultrassonografia Doppler espectral	36
4.4.2	Ultrassonografia Doppler cores-Mesométrio e Endométrio	37
4.4.3	Ultrassonografia e Doppler cores-Ovário.....	40
4.5	CITOLOGIA UTERINA	41
4.6	EXAME MICROBIOLÓGICO	42
5	ANÁLISE ESTATÍSTICA	44
6	RESULTADOS	45
6.1	RELAÇÃO DOS ANIMAIS ESTUDADOS E DIVISÃO ENTRE OS GRUPOS CONTROLE E COM ENDOMETRITE.....	45

6.2	CORRELAÇÃO ENTRE ENDOMETRITE E VARIÁVEIS ANÁLISADAS.....	45
6.3	DIFERENÇA DO ESCORE DE CONDIÇÃO CORPORAL COM ENDOMETRITE.....	46
6.4	EXAME ULTRASSONOGRÁFICO	47
6.4.1	Ultrassonografia linear - mensuração de cérvix, corno direito e corno esquerdo.....	47
6.4.2	Presença de fluido intrauterino (FIU).....	48
6.4.2.1	Correlação entre FIU e variáveis analisadas	48
6.4.3	Presença de conteúdo hiperecogênico intrauterino (CHIU)	49
6.4.3.1	Correlação entre CHIU e variáveis analisadas	49
6.4.4	Avaliação subjetiva da vascularização do endométrio pelo método colorimétrico (modo Doppler cores).....	50
6.4.4.1	Correlação entre Doppler endométrio e variáveis analisadas	50
6.4.5	Avaliação subjetiva da vascularização do mesométrio pelo método colorimétrico (modo Doppler cores).....	51
6.4.5.1	Correlação entre Doppler mesométrio e variáveis analisadas.....	51
6.4.6	Avaliação ovariana e identificação da presença de corpo lúteo (CL)....	52
6.4.7	Avaliação ovariana e identificação da presença de corpo lúteo vascularizado (CLv).....	52
6.4.8	Avaliação Doppler espectral das artérias uterinas.....	53
6.5	EXAME MICROBIOLÓGICO	55
7	DISCUSSÃO	56
8	CONCLUSÕES	62
	REFERÊNCIAS	63

1 INTRODUÇÃO

A bovinocultura leiteira é uma importante atividade econômica (LOPES; REIS; YAMAGUCHI, 2007). Dados publicados em 2015 pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), comprovam que o rebanho brasileiro de bovinos chegou a aproximadamente 212,3 milhões em 2014, um acréscimo de 569 mil animais em relação ao ano anterior. Esse aumento, refletiu na produção leiteira obtendo valor 35,2 bilhões de litros, um aumento de 2,7% sobre 2013. Desta forma o preço médio nacional do litro de leite atingiu R\$ 0,96, gerando uma produção de R\$ 33,78 bilhões em 2014 (IBGE, 2015).

Em consequência disso, os animais são exigidos quanto a sua produtividade (reprodução e produção leiteira). Essa exigência relaciona-se a diferentes fatores como: alterações nos níveis hormonais, perdas embrionárias, aumento de dias abertos e maior incidência de problemas reprodutivos (RADOSTITS et al., 2007; BOLLWEIN; LÜTTGENAU; HERZOG, 2013).

O desempenho reprodutivo insatisfatório é uma importante questão referente à produtividade (GRÖHN; RAJALA-SCHULTZ, 2000), pois afeta a lucratividade do rebanho levando a diminuição da produção leiteira e do número de bezerros (LEBLANC, 2007).

Um fator que exige atenção na criação de bovinos relatado por muitos autores é o período de transição, compreendido entre a terceira semana pré-parto à terceira semana pós-parto (GRUMMER, 1995). Neste período o animal passa por uma drástica mudança metabólica, mudando do estado de gestante para lactante. Em geral há um aumento das necessidades nutricionais no início da lactação, quando o consumo de alimento geralmente é reduzido, provocando grande mobilização de outras fontes energéticas em especial lipídeos, aminoácidos, vitaminas e minerais (SANTOS et al., 2010). 30 a 50% das vacas em lactação são afetadas por problemas metabólicos ou sofrem com doenças infecciosas no primeiro mês de lactação (LEBLANC, 2010).

Esses problemas geram redução na quantidade de leite e aumento nos custos de produção, além de reduzir o desempenho reprodutivo (SANTOS et al., 2010; RIBEIRO et al., 2013). Consequentemente prejudica a sustentabilidade dos rebanhos leiteiros (RIBEIRO et al., 2012).

As doenças uterinas no pós-parto, como a metrite e endometrite são prevalentes em vacas principalmente com aptidão leiteira. Essas doenças afetam negativamente o desempenho reprodutivo e conseqüentemente sua produção (LEBLANC et al., 2002a; GILBERT et al., 2005). Define-se metrite como a inflamação de todas as camadas do útero, caracterizada por secreção uterina fétida geralmente coloração vermelho-acastanhado e com alterações sistêmicas (febre e redução da produção de leite) ocorrendo geralmente dentro de 21 dias pós-parto (SHELDON et al., 2009; DUBUC et al., 2011). Endometrite é a inflamação do endométrio camada interna no útero, sem alteração sistêmica, que ocorre 21 dias pós-parto (SHELDON et al., 2006). A endometrite não aparente pode ser definida como um quadro de inflamação endometrial, normalmente determinada pela citologia, na ausência de secreção purulenta identificada através da vaginoscopia. Em animais sem sinais aparentes a enfermidade é diagnosticada pela mensuração da proporção de neutrófilos presentes em um esfregaço de células endometriais coletadas por lavado uterino ou pelo uso de escova citológica (SHELDON et al., 2006).

Na busca pelo entendimento dos aspectos morfofisiológicos do aparelho reprodutivo feminino alguns pesquisadores procuram caracterizar alterações hemodinâmicas das artérias uterinas e ovarianas, devido à importância dessas informações para a ginecologia e a obstetrícia na medicina humana e veterinária (HEPPELMANN; KRÜGER; LEIDL, 2013).

O Doppler possibilita determinar a presença, a direção e o tipo de fluxo sanguíneo, sendo utilizado em várias áreas da medicina, como na cardiologia, neurologia e ginecologia (CARVALHO; CHAMMAS; CERRI, 2008). Na ginecologia humana a ultrassonografia com Doppler avalia a hemodinâmica do útero e do ovário durante o ciclo menstrual em mulheres férteis (STEER et al., 1990) e inférteis (STEER et al., 1994), bem como a verificação das causas de perdas gestacionais (FERREIRA et al., 2007), e ainda é utilizada para monitoramento da vascularização ovariana e uterina em programas de fertilização *in vitro* (FIV) e transferência de embriões (TE) humanos (COULAM et al., 1994; YANG et al., 1999; PAN et al., 2004). Na medicina veterinária Bollwein et al. (2000) e Bollwein, Baumgartner e Stolla (2002), usaram esse método de imagem para demonstrar mudanças que ocorreram na circulação uterina durante o ciclo estral e prenhez em vacas. O

Doppler também tem sido utilizado para investigar o fluxo sanguíneo para os ovários (ACOSTA et al., 2002, 2003).

A ferramenta Doppler associada à ultrassonografia convencional fornece informações em tempo real sobre a arquitetura vascular e os aspectos hemodinâmicos dos vasos em diversos órgãos. Verifica-se que as diferentes espécies animais apresentam particularidades em relação à perfusão das artérias maternas e fetais, a qual é influenciada por diversos fatores, como a fase do ciclo reprodutivo, a idade gestacional, dentre outros. Tal fato evidencia a importância da ultrassonografia Doppler para o monitoramento reprodutivo de fêmeas, embora o conhecimento na área ainda não seja completo (BARBOSA; SILVA, 2012). A ultrassonografia com Doppler das artérias uterinas e ovarianas em vacas também tem sido relatada como ferramenta para avaliar a resposta ao tratamento com gonadotrofina coriônica equina em programas de superovulação, sendo observado um aumento no volume do fluxo sanguíneo e uma redução do Índice de Pulsatilidade (IP) das artérias uterinas e ovarianas (HONNENS et al., 2008), o que evidencia a eficácia da estimulação ovariana. No entanto não há relatos descrevendo as alterações hemodinâmicas associadas à endometrite e outras condições mórbidas do útero bovino.

Acredita-se que vacas no período puerperal apresentando endometrite possuem alterações na hemodinâmica do tecido e das artérias uterinas, o que difere esses animais de vacas híginas, por isso torna-se importante a utilização de mais de uma ferramenta no auxílio do diagnóstico de enfermidades uterinas. Desta forma este estudo pretende descrever através da ultrassonografia Doppler as alterações hemodinâmicas no útero de fêmeas bovinas causadas pela endometrite, diagnosticada no período de 25 a 35 dias pós-parto.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 TRATO GENITAL DE FÊMEAS BOVINAS

O trato genital de vacas é constituído por ovários, ovidutos, tubas uterinas, útero, cérvix uterina, vagina e genitália externa (HAFEZ, 2004; GRUNERT; BIRGEL; VALE, 2005). A sustentação dos órgãos genitais internos é feita pelo ligamento largo, que consiste do mesovário, mesossalpinge e do mesométrio que suporta o útero. Em bovinos e ovinos, a união do ligamento largo é dorsolateral na região do ílio, com a convexidade dorsal e os ovários localizados próximos à pelve (HAFEZ, 2004). O útero é composto de dois cornos uterinos, um corpo e uma cérvix. Sua parede é dividida em três regiões diferentes: endométrio, miométrio e perimétrio. O endométrio é a camada da mucosa, constituída pelo epitélio normalmente colunar e lâmina própria submucosa; o miométrio é composto uma camada circular interna espessa de músculos lisos e uma subcamada longitudinal externa delgada que se continua no mesométrio; o perimétrio é uma camada serosa típica (BANKS, 1991).

2.2 PUERPÉRIO

O puerpério compreende o período final do parto até o início dos primeiros sinais compatíveis com o estabelecimento de uma nova gestação durando em torno de 21 dias (MARQUES JÚNIOR, 1993; HORTA, 1995). Pode-se dividir em três fases o puerpério, sendo que, no puerpério precoce ou primeira fase, a hipófise encontra-se refratária ao hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), o que ocorre do primeiro ao 14º dia após o parto, nesse período ocorre as retenções de secundinas e a metrite puerperal aguda. A segunda fase, intermediária, o puerpério recente se encontra dentro do puerpério clínico que se estende até o 21º dia, neste ocorre a total regressão das dimensões uterinas, esse período compreende de sensibilidade da hipófise ao GnRH até ocorrência da primeira ovulação. A terceira fase, pós-ovulatória, termina com a involução uterina completa, e sua duração depende das

condições fisiológicas da vaca após o parto (OLSON et al., 1986; GRUNERT; BIRGEL; VALE, 2005).

Com o processo do parto, há abertura das barreiras anatômicas constituídas pela vulva, vagina e cérvix possibilitando a ascensão de bactérias ao ambiente uterino, *Escherichia coli*, *Trueperella pyogenes* (TP) e *Fusobacterium necrophorum* são consideradas as espécies mais relevantes envolvidas na patogênese de doenças uterinas (SHELDON et al., 2006; BICALHO et al., 2016).

Geralmente a infecção uterina ocorre logo após o parto e persiste durante as 2 primeiras semanas. A maioria dos animais infectados conseguem eliminar a infecção durante as 5 semanas seguintes, no entanto cerca de 10% apresentam a doença (PENGE et al., 2013). Elkjaer et al. (2013) encontraram em sua pesquisa com 125 vacas Holandesas que todos os animais apresentaram bactérias no conteúdo uterino aproximadamente 28 dias pós-parto.

Apesar da contaminação bacteriana uterina ocorrer na maioria dos animais nem todos vão desenvolver a doença. Um dos fatores que irá determinar se o animal apresentará ou não a enfermidade é a eficácia do seu sistema imunológico. Outros fatores como a virulência das bactérias, estresse do animal e a carga de contaminação bacteriana no lúmen uterino também são fatores predisponentes à instalação da infecção no momento do parto (BICALHO et al., 2012; ELKJAER et al., 2013).

Alterações nos mecanismos de defesa contribuem para a persistência de bactérias patogênicas e favorecem o estabelecimento de doenças. Modificações no ambiente uterino e atraso no retorno da atividade ovariana podem resultar em infertilidade. O conhecimento do processo de involução uterina normal é essencial para diferenciar e aliviar possíveis alterações patológicas no útero após o parto (SHELDON; DOBSON, 2004; SHELDON et al., 2006, 2008, 2009).

Em decorrência de todas essas alterações a maioria das doenças uterinas ocorrem no período após o parto e as principais são metrite, endometrite clínica e endometrite citológica. Essas doenças são de grande importância devido a perdas econômica e prejuízos no bem-estar animal, contribuindo para o desconforto da vaca, baixo desempenho reprodutivo e eliminação precoce do rebanho, reduzindo o lucro do produtor rural (BICALHO et al., 2012; MACHADO et al., 2012; PENGE et al., 2013).

2.3 ENDOMETRITE

Endometrite é definida como a inflamação do revestimento endometrial do útero caracterizada clinicamente pelo corrimento vaginal mucopurulento ou purulento, ocorrendo de 21 a 40 dias pós-parto (LEBLANC et al., 2002a; GILBERT et al., 2005; DUBUC et al., 2011). Na América do Norte, a incidência de endometrite é de aproximadamente 28%, variando de 5,3% a 52,6% (CHEONG et al., 2012).

Alguns autores identificaram fatores de risco para o desenvolvimento da endometrite tais como: alta contaminação bacteriana no períneo no momento do parto (FÖLDI et al., 2006), estado metabólico peri-parto, retenção das membranas fetais pós-parto (LEBLANC et al., 2002a; SHELDON et al., 2009), gemelaridade e distocia (FÖLDI et al., 2006).

Os principais agentes bacterianos associados a inflamação do útero são a *Escherichia coli*, *Trueperella pyogenes* e *Fusobacterium necrophorum*. No entanto outras bactérias como *Bacteroides* spp., *Pseudomonas* spp., *Staphylococcus* spp., *Prevotella melaninogenicus* e *Streptococcus* spp. também vem sendo associados a doenças uterinas (SANTOS et al., 2011; BICALHO et al., 2012; MACHADO et al., 2012; SANTOS; BICALHO, 2012). Dentre as bactérias patogênicas a *Trueperella pyogenes* está relacionada a consequências graves para a reprodução (ELKJAER et al., 2013).

Algumas pesquisas demonstram que a *Escherichia coli* é uma das primeiras bactérias a se estabelecerem no ambiente uterino após o parto. Após sua instalação essa bactéria causa alterações que podem favorecer o desenvolvimento de outros micro-organismos como o *Fusobacterium necrophorum* e *Trueperella pyogenes* que culminará na presença de doença (SANTOS et al., 2011; BICALHO et al., 2012).

A etiologia bacteriana das doenças uterinas no pós-parto é bastante dinâmica e apresenta um caráter multifatorial. Bicalho et al. (2012) realizaram pesquisa com a associação dos fatores de virulência presentes em *Escherichia coli*, *Fusobacterium necrophorum* e *Trueperella pyogenes* com doenças uterinas em vacas leiteiras. Os autores observaram que vacas no período pós-parto (1 a 3 dias de lactação) que continham *Escherichia coli* no conteúdo uterino tinham 16,2 vezes mais chances de desenvolver infecção por *Fusobacterium necrophorum* com 8 a 10 dias de lactação.

Desta forma podemos observar a interação das bactérias no período pós-parto para o estabelecimento de doença uterina.

Bicalho et al. (2012) também relataram que animais que apresentavam endometrite também continham *Escherichia coli* com 1 a 3 dias de lactação e apresentavam *Trueperella pyogenes* na avaliação realizada com 8 a 10 dias e 34 a 36 dias de lactação. A prevalência de endometrite foi de 38,1% e 15,6% para vacas positivas e negativas para a *Escherichia coli*, respectivamente. Vacas que apresentaram *Trueperella pyogenes* com 34 a 36 dias de lactação tinham 8,8 mais chances de desenvolver endometrite clínica em comparação com vacas negativas. A presença de retenção de placenta também foi associada com a contaminação com *Escherichia coli*, sendo que animais que apresentaram o problema tiveram 44,8 vezes mais chances de se contaminarem com esta bactéria.

Além de danos no útero a endometrite favorece a disfunção ovariana (por exemplo, tamanho menor do folículo, baixa concentração plasmática de estradiol, e fase luteal prolongada) (SHELDON et al., 2009). O desempenho reprodutivo diminuído (LEBLANC et al., 2002a; DUBUC et al., 2010) aumenta o descarte de animais devido à falha reprodutiva (LEBLANC et al., 2002a, b), e produção de leite reduzida (DUBUC et al., 2011).

Alguns animais podem apresentar uma resposta inflamatória menos intensa, com a ausência de sinais clínicos, esta forma da doença é denominada endometrite inaparente ou citológica. A endometrite inaparente é definida como um quadro de inflamação endometrial sem a presença de secreção purulenta que resulta em uma redução significativa da capacidade reprodutiva (BARANSKI et al., 2012).

Vários métodos podem ser utilizados para o diagnóstico da endometrite, como a observação de descarga vaginal, palpação retal e vaginoscopia que auxiliam na detecção de animais doentes e norteiam a maioria dos tratamentos. Nos casos de endometrite inaparente é necessária a utilização de métodos mais precisos e específicos, como a ultrassonografia, biópsia uterina e exame citológico (THOMÉ et al., 2013). A biópsia é bastante sensível para o diagnóstico, porém é um método caro, fastidioso e demorado, enquanto a ultrassonografia não é muito específica uma vez que o conteúdo intrauterino observado no ultrassom pode não estar presente em todos os animais com a afecção. Desta forma a citologia na fase aguda é um dos principais métodos diagnósticos, o exame pode ser realizado por meio de escova citológica, swabs e lavagem uterina. A escova citológica é considerada o

método mais apropriado pois apresenta um resultado mais fiel em relação a lavagem uterina e *swabs*. Após a coleta de material o conteúdo deve ser avaliado microscopicamente para detectar a quantidade e proporção de leucócitos, polimorfonucleares, em relação as células epiteliais presentes na secreção uterina (SHELDON et al., 2006; BARANSKI et al., 2012). Essa relação é utilizada para diferenciar animais saudáveis de animais com endometrite inaparente (GILBERT et al., 2005).

Um assunto muito discutido é com relação a utilização ou não de tratamentos para endometrite. Embora a administração de prostaglandina (PGF2 α) (HEUWIESER et al., 2000; KASIMANICKAM et al., 2005; GALVÃO et al., 2009; DUBUC et al., 2011) seja frequentemente recomendada para tratar endometrite, existem dados conflitantes na literatura sobre os seus benefícios no potencial reprodutivo dos animais. Antibiótico, como cefapirina é frequentemente prescrito para tratar vacas com endometrite ou descarga vulvar 13 dias pós-parto (LEBLANC et al., 2002b).

2.4 EXAME GINECOLÓGICO

O exame ginecológico baseia-se em anamnese, exame físico geral, exame específico externo dos órgãos genitais femininos e exame interno dos órgãos genitais, consistindo do exame por palpação retal, inspeção indireta da cérvix e da mucosa vaginal por vaginoscopia, além de exames complementares como ultrassonografia; microbiologia; citologia e histopatológica (GRUNERT; BIRGEL; VALE, 2005).

2.4.1 Vaginoscopia

A vaginoscopia é um método de avaliação por inspeção indireta, rápido e com sensibilidade e especificidade maiores do que a palpação retal. Sua utilização auxilia na visualização e detecção de secreções provenientes da cérvix, útero ou vagina

(LEBLANC et al., 2002a). Como vantagem destaca-se a praticidade e o custo baixo além de eliminar diagnósticos falso positivos gerados pela presença de secreções mucopurulentas ou purulentas originadas por vaginites, cistites ou pielonefrites (SHELDON et al., 2006). Barlund et al. (2008) encontraram uma sensibilidade de 53,9% e uma especificidade de 95,4% tendo a citologia esfoliativa endometrial como padrão ouro.

Há uma classificação para as secreções vaginais identificadas como catarro genital. De acordo como Grunert, Birgel e Vale (2005) inicia-se como: catarro genital grau 1- secreção mucopurulenta, com hiperemia da mucosa cervical abertura do óstio cervical, podendo haver prolapso do primeiro anel cervical; grau 2, quando o exame revela um catarro genital de aspecto purulento, podendo conter odor fétido; grau 3 conteúdo purulento e/ou sanguinolento, cérvix pérvia, podendo haver prolapso dos anéis; grau 4 piometra que caracteriza-se pelo acúmulo de exsudato purulento no lúmen uterino enquanto há um corpo lúteo persistente em um dos ovários (SHELDON et al., 2006).

Williams et al. (2005) adaptaram essa classificação inicial, para escores de 0 a 3. Sendo escore 0 – muco translúcido; escore 1 – muco com estrias de pus; escore 2 – secreção mucopurulenta com menos de 50% de pus; escore 3 – secreção mucopurulenta com mais de 50% de pus, ocasionalmente apresentando sangue (Figura 1).

Figura 1 - Amostras de secreções obtidas pela vagina

Fonte: (WILLIAMS et al., 2005).

Legenda: 0 – muco; 1 – muco com estrias de pus; 2 – menos de 50% mucopurulento; 3 – mais de 50% mucopurulento podendo ter sangue.

2.4.2 Metrichheck

Outra ferramenta que auxilia o diagnóstico, semelhante à vaginoscopia, para identificar as diferentes secreções advindas do trato genital é o Metrichheck (Simcro, New Zealand). O Metrichheck é uma haste de aço inox com 50 cm de comprimento, contendo na região que será introduzida no animal uma estrutura cônica de silicone com 4 cm, que tem a função de recolher um pouco do conteúdo para análise visual.

A classificação das secreções observadas, correspondem: 0 = nenhuma secreção; 1 = muco translúcido; 2 = muco com estrias de pus; 3 = mucopurulenta; 4 = secreção purulenta; 5 = secreção fétida e purulenta sanguinolenta (MCDOUGALL et al., 2007). Alguns autores atualmente ao realiza o Metrichheck utilizam a classificação das secreções uterinas de acordo com Williams et al. (2005).

2.4.3 Histeroscopia

A histeroscopia permite a inspeção da superfície endometrial a detecção de sinais de inflamação. Atualmente em seres humanos é um método muito usado para o diagnóstico de alterações na mucosa uterina e vaginal. A fim de minimizar lesões na mucosa por conta do aparelho, utiliza-se solução salina para distender a cavidade uterina, uma vez que não causa maiores efeitos sobre a microcirculação do endométrio e proporciona uma distensão mais suave além da lavagem contínua da cavidade uterina, constituindo então um método mais confiável de avaliação histeroscópica (INDMAN, 2000; CICINELLI et al., 2003). Cicinelli et al. (2005) encontraram sensibilidade e especificidade de 91,8% e 92,9%, respectivamente, para o diagnóstico por histeroscopia fluida de endometrite crônica em humanos baseados na observação de edema e hiperemia da mucosa. Cicinelli et al. (2010) reportaram correlação significativa entre o uso da histeroscopia fluida e da histopatológica para o diagnóstico da endometrite crônica em mulheres. Babacan et al. (2014) notaram haver grande concordância entre o diagnóstico firmado através de ultrassonografia transvaginal e a histeroscopia para processos patológicos no útero de pacientes humanas.

2.5 CITOLOGIA UTERINA

A citologia endometrial ao contrário da biópsia uterina é um método prático e eficiente para a avaliação dos processos infecciosos uterinos, ressaltando ainda que os neutrófilos são a principal linha de defesa do endométrio (DUBUC et al., 2010).

Esta técnica consiste em coletar uma amostra do interior do útero, fixar em uma lâmina, corar e quantificar o número de neutrófilos. A proporção limiar varia de 4% a 18% dependendo do autor e o tempo de amostragem depois do parto (GILBERT et al., 2005; DUBUC et al., 2011). Este método é relativamente fácil de usar, e permite o monitoramento da integridade do útero. O número elevado de polimorfonucleares (PMNs) reflete inflamação local. Em casos clínicos de metrite ou endometrite, o fluxo de neutrófilos para o lúmen uterino é causado pela presença de bactérias ou de suas endotoxinas (MATEUS et al., 2002; SHELDON, 2004).

Kasimanickam et al. (2005) evidenciaram que os resultados obtidos pela técnica da escova citológica foram superiores na detecção de animais com endometrite, indicando que este é um meio mais consistente e confiável de colheita que o lavado uterino para avaliar a citologia endometrial em vacas no puerpério.

2.6 EXAME ULTRASSONOGRÁFICO

O exame ultrassonográfico associado a palpação retal promove uma maior precisão na avaliação das dimensões uterinas e sua involução pós-parto (SHELDON; DOBSON, 2004).

Sheldon et al. (2006) afirmaram que a ultrassonografia é um método de avaliação uterina mais exato que a palpação retal, objetivo, não invasivo e tem como vantagem a realização de um diagnóstico em tempo real. Os autores concluíram ainda, que o método é eficiente na avaliação da involução uterina no puerpério através da mensuração do diâmetro da cérvix, diâmetro uterino e visualização da presença ou ausência de fluidos no lúmen.

A determinação do aumento do conteúdo intrauterino e as dimensões uterinas constituem um método confiável, com boa especificidade para o diagnóstico da

endometrite após a terceira semana pós-parto considerando o histórico do animal (BARLUND et al., 2008; ORAL et al., 2009).

Além da ultrassonografia convencional em muitas áreas da saúde usa-se a ferramenta Doppler com objetivo de observar o fluxo sanguíneo (MIYAMOTO et al., 2006).

2.6.1 Ultrassonografia Doppler

Associada a ultrassonografia convencional há uma ferramenta que vem sendo muito difundida o ultrassom com Doppler. É um mecanismo utilizado para identificar focos de vascularização e o fluxo sanguíneo. A técnica de ultrassonografia apresenta como opções de trabalho o modo B (Bidimensional) utilizado para identificação anatômica e apresentam imagem em escala cinza. Outra opção proporcionada pelo Doppler é o modo Doppler cores, tornando possível estimar a perfusão e direção sanguínea no tecido, observando pontos coloridos durante o exame (GINTHER; MATTHEW, 2004). O Modo espectral no Doppler fornece valores exatos de índices relacionados a vascularização (GINTHER; MATTHEW, 2004).

O princípio de funcionamento do Doppler é detectar a movimentação das hemácias (GINTHER et al., 2007). Porém novos estudos sugerem que a detecção do fluxo ocorre devido ao peso das hemácias serem maior do que de outras células sanguíneas. As alterações de velocidade e sentido do sangue apresentam-se com cores diferentes. Por convenção, o fluxo na direção contrária ao transdutor é azul e o a favor é vermelho, podendo alterar a tonalidade de acordo com a intensidade e direção do fluxo (GINTHER et al., 2007).

O método espectral fornece valores sistólicos, diastólicos, relação de sístole e diástole, índice de resistência (IR), índice de Pulsatilidade (IP) e velocidade máxima do fluxo sanguíneo (GINTHER et al., 2007)

Ferreira e Meira Jr. (2011) relataram a importância no uso do Doppler como uma ferramenta para análise da viabilidade endometrial assim como para interação conceito-materna, além de auxiliar no diagnóstico de enfermidades uterinas.

Estudos realizados usando essa técnica mostraram associação entre o fluxo sanguíneo uterino e involução uterina tardia (HEPPELMANN; KRÜGER; LEIDL,

2013). Em vacas, o Doppler foi usado para avaliar o fluxo sanguíneo no útero durante o ciclo estral (BOLLWEIN et al., 2000), em animais com prenhez positiva bem como no período pós-parto (BOLLWEIN; BAUMGARTNER; STOLLA, 2002).

3 OBJETIVOS

Este estudo tem por objetivo descrever, através da ultrassonografia Doppler, as alterações hemodinâmicas no útero de fêmeas bovinas causadas pela endometrite, diagnosticada no período de 25 a 35 dias pós-parto.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 PROPRIEDADES

Realizou-se o estudo em três propriedades leiteiras com sistema de criação *freestall*, sendo duas no estado de São Paulo- SP (São Pedro e Bragança Paulista) e uma no sul de Minas Gerais-MG (Turvolândia). Todas com controle das datas de cobertura e parição das vacas.

4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Foram selecionados bovinos, gênero fêmea com aptidão leiteira da raça Holandesa, com 25 a 35 dias pós-parto.

Estes animais foram alocados de forma aleatória em 2 grupos experimentais de acordo com a citologia endometrial seguindo a metodologia de Kasimanickam et al. (2005). Um grupo, controle (C), era composto por animais saudáveis sendo a contagem de polimorfonucleares neutrófilos (%PMN) <10%. O segundo grupo, vacas com endometrite (E), eram animais diagnosticados doentes com citologia ≥10% (PMN).

Todos animais nas propriedades que estavam no período de 25 a 35 dias pós-parto foram selecionados para serem submetidos à avaliação clínica geral, ginecológica e colheita de material para exame microbiológico.

4.3 EXAME GINECOLÓGICO

4.3.1 Inspeção

Esta avaliação baseou-se na observação geral do animal, quanto ao estado, atitude e condições nutricionais. Utilizando a escala descrita por Edmonson et al.

(1989) avaliou-se o escore de condição corporal (ECC) escalonando os animais entre 1 (muito magro) a 5 (muito gordo). Inspeccionou a região perineal para observar se havia lesões, vestígios de muco ou secreção de fluxo vaginal, além de alterações no formato, posição, cicatrizes e comprometimento da estrutura vulvar. A exposição da mucosa vulvo-vestibular era realizada com afastamento da rima vulvar para avaliar a coloração desta, investigava-se a presença de vesículas e pústulas.

4.3.2 Palpação retal - Exploração clínica da cérvix e útero e ovários

Avaliação clínica do sistema genital feminino iniciava-se com a palpação retal conforme o proposto por Grunert, Birgel e Vale (2005).

Na palpação retal sentia-se inicialmente a cérvix e cranialmente o corpo do útero, prega intercornual, cornos uterinos e ovários além de formações anatômicas anexas aos órgãos genitais, ligamentos, artérias e linfonodos. Nos ovários avaliava-se formações que caracterizassem sua função, como folículos e corpo lúteo (CL).

No exame da cérvix procurava-se avaliar alterações morfológicas como aumento de volume, alterações na simetria e aderência.

Em relação ao útero verificava-se sua localização dentro da cavidade, tamanho, simetria entre os cornos e consistência. Com o intuito de melhor descrever as alterações no útero Grunert et al. (2005) utilizaram uma notação “E” com escala de I (pouco espesso) até VI (muito volumoso) (Quadro 1).

Quadro 1 - Graduação referente ao tamanho do útero à palpação retal

Notação	Espessura
EI	Pouco espesso ou pequeno
EII	Espessura ou tamanho médio
EIII	Espesso ou de tamanho grande
EIV	Muito espesso
EV	Volumoso
EVI	Muito volumoso

FONTE: (GRUNERT; BIRGEL; VALE, 2005).

Os cornos uterinos eram classificados quanto a simétricos e assimétricos. A notação referente a essas observações eram “s” nos casos de simetria, “As” nos

casos de assimetria. A consistência do útero, representada pela letra “C”, sendo “CI” útero flácido, ou seja, não se contraía sob estímulos de palpação, “CII” útero reagente, contraía e em seguida relaxava e “CIII” útero sob enérgica e prolongada contração.

4.3.3 Vaginoscopia - Inspeção indireta da vagina

Ao termino da palpação, iniciava-se a vaginoscopia que foi realizada por meio de um espéculo vaginal tubular de Götze, 38 por 4 cm, de aço inox, auxiliado por uma fonte de luz, para observar a mucosa vaginal, cérvix e presença de secreção. O instrumento era previamente lavado com água, detergente e posteriormente flambado em uma bandeja de aço inox e resfriado com solução fisiológica estéril NaCl 0,9%, garantindo a lubrificação do instrumento para introduzir na vagina do animal. Previamente a esse procedimento a região perineal e da vulva eram submetidas a higienização utilizando papel toalha.

A coloração da mucosa vaginal e de cérvix foi realizada utilizando-se as cinco primeiras letras maiúsculas do alfabeto remetendo as variadas colorações da mucosa e seus significados conforme o proposto por Grunert, Birgel e Vale (2005) (Quadro 2).

Quadro 2 - Coloração da mucosa vaginal e da projeção vaginal da cérvix e suas características

Notação	Coloração da Mucosa/Aspecto	Condição/Característica
A	Coloração rósea esmaecida/ pálida	rósea (Anêmica)
B	Rósea - sem sinais de irritação ou processo inflamatório	(Normal)
C	Róseo avermelhada	(Hiperemia – cio ou processo inflamatório)
D	Fórnix de cor vermelha, rubor	(Hiperemia dos processos inflamatórios)
E	Vermelha intensa	(Condição patológica/ processo inflamatório intenso)
	Vermelha limitada as pregas do canal cervical	
	A letra P é adicionada a notação quando houver prolapso	(Prolapso dos anéis de Burdi)

FONTE: (GRUNERT; BIRGEL; VALE, 2005).

Conforme proposto por Grunert, Birgel e Vale (2005) o grau de umidade da cérvix foi avaliado e a notação era feita com algarismos romanos de como demonstra o quadro 3.

Quadro 3 - Classificação do grau de umidade da cérvix em escores sua ocorrência e significado

Notação	Grau de umidade	Ocorrência e significado
I	Mucosa seca, pegajosa	Displasia e hipoplasia ovariana em novilhas
II	Pequeno grau de umidade, muco menos viscoso	Início e final do interestro
III	Grau de umidade moderado da mucosa; mucosa brilhante/luzidia	No interestro suspeita-se de endometrite
IV	Intensa umidade da mucosa; cordões de muco viscoso entre porção ventral e dorsal da vagina	Pró-estro 19 e 20 dias do entre ciclo e pró-estro 1 a 4 dia do ciclo
V	Acúmulo de líquido na cavidade vaginal.	Avaliação do líquido

FONTE: (GRUNERT; BIRGEL; VALE, 2005).

Quando observado secreções alteradas ou condição V (Quadro 3), estas eram classificadas com as primeiras cinco letras minúsculas do alfabeto conforme o proposto por Grunert, Birgel e Vale (2005) e demonstrado no quadro 4 e (Figura 2).

Quadro 4 - Característica e aspecto da secreção vaginal

Notação	Secreção vaginal
n (a)	Transparente
mt (b)	Turva
mp (c)	Mucopurulenta
p (d)	Purulenta
s (e)	Sanguinolenta

FONTE: (GRUNERT; BIRGEL; VALE, 2005).

Figura 2 - Visualização da mucosa vaginal e cérvix apresentando coloração rósea e secreção translúcida (A); mucosa vaginal e cérvix esbranquiçada com secreção mucopurulenta (B)

Fonte: (MEIRA Jr. 2012).

4.4 EXAME ULTRASSONOGRÁFICO

O estudo ultrassonográfico do útero no puerpério foi realizado com o equipamento M-Turbo, Fuji film Sonosite (Bothel, Wa, EUA) com uma probe micro convexa (8-5 MHz), como proposto por Meira Jr et al. (2012) e Heppelmann, Krüger e Leidl (2013). Na avaliação ultrassonográfica com cortes transversais, determinou-se os diâmetros de cérvix e cornos, presença de conteúdo no lúmen uterino, além das estruturas ovarianas. Os diâmetros cervical e uterino foram classificados como pequenos ou negativos (<s 3,5 cm), médios ou suspeitos (entre 3,5 e 5 cm) e grandes ou positivos (>s 5 cm) (Figura 3 A e B).

Figura 3 - Mensuração em centímetros do diâmetro de cérvix (A) e cornos uterinos (B)

Fonte: (RIBEIRO, B.L.M., 2016).

As dimensões uterinas foram avaliadas de acordo com Meira Jr et al. (2012), e separadas com presença anormal de fluido intrauterino (FIU) classificada quanto a coleção líquida anecóica em que se observava diâmetro do lúmen uterino em torno de 0,5 cm (Figura 4 A).

Havendo presença de conteúdo heterogêneo intrauterino (CHIU) distendido e a parede uterina com aspecto hiperecoícotal características eram associadas com secreção de natureza purulenta de acordo com o proposto por DesCoteaux, Gnemmi e Colloton (2010) (Figura 4 B).

Figura 4 - Caracterização de conteúdo intrauterino em proporções anormais; fluido intrauterino-FIU (A) e conteúdo hiperecoigênico intrauterino-CHIU (B)

Fonte: (RIBEIRO, B.L.M., 2016).

4.4.1 Ultrassonografia Doppler espectral

Ao término da avaliação ultrassonográfica convencional, passou-se a análise dos padrões hemodinâmicos utilizando a técnica Doppler espectral nas artérias uterinas (direita e esquerda), ambas identificadas conforme descrito por Bollwein et al., (2000). Determinou-se velocidade máxima do fluxo na artéria, índice de pulsatilidade, índice resistibilidade, relação sístole diástole, conforme o descrito por Heppelmann, Krüger e Leidl (2013) (Figura 5).

Figura 5 - Doppler espectral das artérias uterinas direita e esquerda

Fonte: (RIBEIRO, B.L.M., 2016).

4.4.2 Ultrassonografia Doppler cores-Mesométrio e Endométrio

A avaliação do padrão hemodinâmico do tecido uterino pela técnica colorimétrica (modo Doppler cores) na região de ligamento intercornual, foi utilizada para reconhecer alterações hemodinâmicas no tecido. Utilizou-se a escala colorimétrica estabelecida para padrões reprodutivos descrito por Ginther (2007) com o intuito de estabelecer um paralelo com o processo inflamatório.

Os procedimentos envolveram a avaliação subjetiva da vascularização do endométrio (0 - sem vascularização a 2 - muito vascularizado) e do mesométrio (0 - sem vascularização a 4 - extremamente vascularizado) conforme o descrito por Ginther (2007) (Figuras 6 a 10).

Figura 6 - Caracterização de escore 0 para a avaliação subjetiva do padrão de vascularização do mesométrio (M) e 0 para endométrio (círculos vermelhos) pela técnica de avaliação colorimétrica, em modo color Doppler

Fonte: (RIBEIRO, B.L.M., 2016).

Figura 7 - Caracterização de escore 1 para a avaliação subjetiva do padrão de vascularização do mesométrio 0 para endométrio pela técnica de avaliação colorimétrica, em modo color Doppler

Fonte: (RIBEIRO, B.L.M., 2016).

Figura 8 - Caracterização de escore 2 para a avaliação subjetiva do padrão de vascularização do mesométrio e escore 0 para endométrio pela técnica de avaliação colorimétrica, em modo color Doppler

Fonte: (RIBEIRO, B.L.M., 2016).

Figura 9 - Caracterização de escore 3 para a avaliação subjetiva do padrão de vascularização do mesométrio (m) e escore 1 para endométrio (e) pela técnica de avaliação colorimétrica, em modo color Doppler

Fonte: (RIBEIRO, B.L.M., 2016).

Figura 10 - Caracterização de escore 4 para a avaliação subjetiva do padrão de vascularização do mesométrio (m) e escore 2 para endométrio (e) pela técnica de avaliação colorimétrica, em modo color Doppler

Fonte: (RIBEIRO, B.L.M., 2016).

4.4.3 Ultrassonografia e Doppler cores-Ovário

Os ovários foram avaliados quanto a seu tamanho, consistência e estruturas (CL, folículos e cistos). As características morfológicas dos ovários podem ser utilizadas para verificar a presença de anormalidades como cistos e tumores, determinar a existência de atividade ovariana luteal cíclica e estimar qual a provável fase do ciclo, fatores que podem afetar a fertilidade do animal (MELLO, 2014). Utilizou-se a técnica colorimétrica do Doppler afim de classificar a vascularização desse CL e saber o quanto essa vascularização podia ser influenciada por alguma alteração patológica no útero. A escala era feita apenas como contendo ou não vascularização (Figura11 A e B).

Figura 11 - Avaliação ovariana com Doppler modo cores; ovário com CL sem vascularização (A); ovário com CL e vascularizado (B)

Fonte: (RIBEIRO, B.L.M., 2016).

4.5 CITOLOGIA UTERINA

Após a limpeza da vulva com papel e álcool 70% afim de diminuir a contaminação da amostra, foi introduzida uma pipeta de inseminação no útero bovino acoplada a um equipo com um frasco de 250mL de solução NaCl 0,9% estéril, utilizada para distender a parede uterina proporcionando a infusão e consequentemente a recuperação do conteúdo uterino. Uma alíquota dessa solução recuperada foi utilizada para citologia. Foram transferidos 150 μ L para uma câmara de citocentrífuga e as amostras foram fixadas e centrifugadas em uma lâmina de vidro para microscopia a aproximadamente 550 rpm por 6 min de acordo com o processo descrito por Gilbert et al. (2005). Após esse processo as lâminas foram coradas com kit Panótica®. A avaliação da citologia uterina foi realizada através da contagem com diferenciação de 100 células, sob aumento de 400X, em um microscópio óptico da marca Olympus modelo CX31, para a determinação da porcentagem de células polimorfonucleares neutrófilos (%PMN). Para esta contagem a lâmina foi totalmente avaliada com fim de selecionar uma área representativa, dando preferência àquelas em que não houvesse sobreposição de células (Figura 12). Foram considerados positivos no exame citológico os animais que apresentarem porcentagens de neutrófilos superiores a 10% de acordo com o que foi preconizado por Kasimanickan et al. (2004).

Figura 12 - Citologia do lavado intrauterino, neutrófilos (seta vermelha); células epiteliais (seta verde)

Fonte: (RIBEIRO, B.L.M., 2016).

4.6 EXAME MICROBIOLÓGICO

As amostras para exame microbiológico foram obtidas pelo mesmo processo de coleta para citologia. Uma alíquota dessa solução recuperada foi utilizada para exame microbiológico. O frasco era então vedado e refrigerado até o processamento no laboratório de pesquisa do departamento de clínica médica da FMVZ-USP. Uma alíquota de 500 μ L foi colhida na proximidade de um bico de bulsen, com a utilização de ponteiras autoclavadas para este fim e adicionada em caldo tioglicolato (DIFCO®), e foram mantidas em refrigeração de 2 a 10°C e posteriormente enviadas ao Laboratório de Bacteriologia Geral do Instituto Biológico do Estado de São Paulo. Para realização do isolamento e identificação bacteriana, 10 μ L da suspensão das amostras de lavado uterino em caldo tioglicolato foram semeados em ágar sangue de carneiro 5%, incubados por 72 horas a 37°C em condições de microaerofilia. Após o período de incubação havendo proliferação bacteriana neste meio, foram observadas as características morfológicas das colônias como tamanho, forma, coloração, presença e tipo de hemólise. A seguir, foi realizada a bacterioscopia, corando-se pelo método de Gram esfregaços das diferentes colônias, onde ao microscópio foram observadas a morfologia, a disposição das células e as características tintoriais ao Gram (TRABULSI; ALTERTHUM, 2008). As

espécies bacterianas foram identificadas de acordo com Quinn et al. (2005) e Koneman et al. (2008) através das provas bioquímicas.

5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise dos dados foi realizada com auxílio do programa SAS 9.3 (SAS Institute, USA).

Os dados obtidos foram analisados respeitando as premissas estatísticas. Quando necessário foram transformados em log ou retirou-se outlier (Shapiro-Wilk).

Se os dados não atenderam às premissas estatísticas, mesmo após transformação, foram então submetidos à estatística não paramétrica de ordem, pelo teste de Kurskal-Wallis, segundo PROC NPAR1WAY também do SAS.

A fim de se comprovar diferença entre os grupos (controle e endometrite) fez-se uma análise de variância ANOVA, reafirmada por um T-test (JMP 12 – SAS).

Para os dados das variáveis “escore de avaliação subjetiva de perfusão de endométrio e mesométrio”, utilizou-se as mesmas condições que os dados binários (PROC GLIMMIX do SAS).

Para a análise de correlação entre as variáveis, utilizou-se o PROC CORR do SAS, pelo teste de correlação de Spearmann para variáveis que não apresentassem a distribuição normal.

Para todos os testes realizados foi adotado o nível de significância de 5%.

6 RESULTADOS

Os resultados estão descritos abaixo e ilustrados em forma de tabelas e gráficos.

6.1 RELAÇÃO DOS ANIMAIS ESTUDADOS E DIVISÃO ENTRE OS GRUPOS CONTROLE E COM ENDOMETRITE

Foram examinados 100 animais, porém devido a problemas no aparelho de ultrassom foram perdidas 11 amostras, portanto os resultados foram calculados com o total de 89 animais. Os grupos experimentais foram divididos em: animais sadios - grupo controle (C) e animais doentes com endometrite (E) (Tabela 1).

Tabela 1 - Número amostral e separação em relação aos grupos estudados

Animal	Controle	Endometrite
89	33	56

Fonte: (RIBEIRO, B.L.M., 2016).

6.2 CORRELAÇÃO ENTRE ENDOMETRITE E VARIÁVEIS ANÁLISADAS

Após a análise de diferença entre os grupos sadios e doentes, realizou-se o teste de correlação. Com isso notou-se correlação positiva da presença de bactérias mais leveduras ($r=0,38$) com endometrite ($p=0,0003$). Outra correlação importante com a endometrite, porém fraca, ocorre com presença de conteúdo heterogêneo intrauterino (CHIU) ($r=0,34$) e de fluido intrauterino (FIU) ($r=0,37$). Ainda no aspecto ultrassonográfico, com o auxílio do Doppler, constatamos a correlação do Doppler mesométrio ($p=0,0027$) e Doppler endométrio ($r=0,22$) com a doença sendo valor de $p=0,0027$ e $0,0383$ respectivamente. Entretanto há correlação fraca e negativa com a presença de CL no ovário esquerdo vascularizado ($p=0,0359$) (Tabela 2).

Tabela 2 - Correlação de animais com endometrite comparado com outras variáveis

	Endometrite -1<r>1	Valor de P
Bactéria+ levedura	0,38	0,0003
CHIU	0,34	0,0012
FIU	0,37	0,0005
Doppler mesométrio	0,32	0,0027
Eclv	-0,23	0,0359
Doppler endométrio	0,22	0,0383

Fonte: (RIBEIRO, B.L.M., 2016).

Legenda: CHIU=conteúdo heterogêneo intrauterino; FIU=fluido intrauterino; eclv= corpo lúteo vascularizado esquerdo.

6.3 DIFERENÇA DO ESCORE DE CONDIÇÃO CORPORAL COM ENDOMETRITE

Ao realizar análise de endometrite em relação a ECC observamos que 62,61% apresentaram endometrite com ECC 1,0 a 2,5 e 64,61% entre 2,75 a 5,0, não demonstrando diferença estatística entre o grupo controle e endometrite (Tabela 3).

Tabela 3 - Escore de condição corporal em relação à endometrite

	Controle n (%)		Endometrite n (%)		Valor de P
Total de animais	(33/89)	37,08%	(56/89)	62,92%	0,015
ECC (1-2,5)	(22/58)	37,93%	(36/58)	62,07%	0,066
ECC (2.75-5)	(11/31)	35,48%	(20/31)	64,61%	0,106

Fonte: (RIBEIRO, B.L.M., 2016).

6.4 EXAME ULTRASSONOGRÁFICO

6.4.1 Ultrassonografia linear - mensuração de cérvix, corno direito e corno esquerdo

Ao realizar a mensuração de cérvix e cornos uterinos, notou-se diferença entre os animais com endometrite, sendo as medidas de cérvix ($p=0,040$) e corno esquerdo ($p=0,020$). Não houve diferença estatística do diâmetro do corno uterino direito, entretanto sabe-se que existe correlação entre as medidas dos cornos (Tabela 4 e Gráfico 1).

Tabela 4 - Diferença entre medidas de ultrassonografia linear de cérvix e cornos uterinos com endometrite

Estruturas uterinas	Controle	Endometrite	Valor de P
Cérvix	3,55($\pm 0,13$)	3,89($\pm 0,01$)	0,040
Corno direito	2,56($\pm 0,11$)	2,77($\pm 0,08$)	0,100
Corno esquerdo	2,48($\pm 0,13$)	2,89($\pm 0,10$)	0,020

Fonte: (RIBEIRO, B.L.M., 2016).

Gráfico 1 - Diferença entre medidas de ultrassonografia linear de cérvix e cornos uterinos com endometrite

Fonte: (RIBEIRO, B.L.M., 2016).

6.4.2 Presença de fluido intrauterino (FIU)

Dos animais que apresentaram acúmulo anormal, fluido intrauterino (FIU) 75,86% (44/58) tinham endometrite, sendo o valor de $p < 0,0001$. Entretanto 38,71% (12/31) tinham endometrite, mas não apresentava fluido intrauterino (FIU) (Tabela 5).

Tabela 5- Presença de fluido intrauterino (FIU) em quantidades anormais ao longo do experimento

	Controle n (%)		Endometrite n (%)		Valor de P
Presença de FIU	(14/58)	24,14%	(44/58)	75,86%	<,0001
Ausência de FIU	(19/31)	61,29%	(12/31)	38,71%	0,2087

Fonte: (RIBEIRO, B.L.M., 2016).

6.4.2.1 Correlação entre FIU e variáveis analisadas

Essa análise retrata em ordem decrescente a correlação positivada presença de bactéria ($r=0,52$), *Trueperella pyogenes* ($r=0,27$), levedura ($r=0,25$), *Staphylococcus intermedius* ($r=0,23$), *Escherichia coli* ($r=0,23$) com a presença de FIU sendo o valor de $p < 0,05$. Outra análise importante é a observação dessa correlação inversa de presença de CL esquerdo e ou CL esquerdo vascularizado (Tabela 6).

Tabela 6 - Correlação de animais com Fluido intrauterino (FIU) comparado com outras variáveis

	FIU -1<r>1	Valor de P
Bactéria	0,52	0,0001
<i>T.pyogenes</i>	0,27	0,0109
Levedura	0,25	0,0215
<i>S. intermedius</i>	0,23	0,0344
<i>E. coli</i>	0,23	0,0345

Fonte: (RIBEIRO, B.L.M., 2016).

Legenda: *T. pyogenes* = *Trueperella pyogenes*; *S. intermedius* = *Staphylococcus intermedius* *E. coli* = *Escherichia coli*

6.4.3 Presença de conteúdo hiperecogênico intrauterino (CHIU)

Dos animais que apresentaram conteúdo heterogêneo intrauterino (CHIU) 78,72% (37/47) tinham endometrite, sendo o valor de $p < 0,0001$.

Animais que não apresentaram CHIU 54,76% (23/42) não estavam doentes (Tabela 7).

Tabela 7 - Animais que apresentaram conteúdo heterogêneo intrauterino (CHIU) em quantidades anormais ao longo do experimento

	Controle n (%)		Endometrite n (%)		Valor de P
Presença de CHIU	(10/47)	21,28%	(37/47)	78,72%	<,0001
Ausência de CHIU	(23/42)	54,76%	(19/42)	45,24%	0,5371

Fonte: (RIBEIRO, B.L.M., 2016).

6.4.3.1 Correlação entre CHIU e variáveis analisadas

Essa análise retrata em ordem decrescente a forte correlação positiva de FIU ($r=0,72$) e presença de bactérias ($r=0,64$) com conteúdo heterogêneo intrauterino (CHIU). Dentre as bactérias analisadas na correlação com CHIU, destacam-se a *Trueperella pyogenes* ($r=0,36$), *Escherichia coli* ($r=0,30$), *Bacillus* sp. ($r=0,25$) e *Staphylococcus intermedius* ($r=0,22$). Porém achou-se também correlação com levedura ($r=0,27$). Sendo $p < 0,05$ em todos os casos.

Tabela 8 - Correlação de animais com conteúdo heterogêneo comparado com outras variáveis

	CHIU -1<r>1	Valor de P
FIU	0,72	0,0001
Bactéria	0,64	0,0001
<i>T. pyogenes</i>	0,36	0,0007
<i>E. coli</i>	0,3	0,0052
Levedura	0,27	0,0135
<i>Bacillus</i> sp.	0,25	0,0223
<i>S. intermedius</i>	0,22	0,0434

Fonte: (RIBEIRO, B.L.M., 2016).

Legenda: FIU = Fluido intrauterino; *T. pyogenes* = *Trueperella pyogenes*; *S. intermedius* = *Staphylococcus intermedius*; *E.coli* = *Escherichia coli*.

6.4.4 Avaliação subjetiva da vascularização do endométrio pelo método colorimétrico (modo Doppler cores)

Nesta análise nota-se que há diferença em todos os graus de vascularização de endométrio comparando animais com endometrite e saudáveis. Porém 87,50% de animais que tiveram aumento da vascularização em endométrio eram doentes, com endometrite (Tabela 9).

Tabela 9 - Avaliação do padrão vascular de endométrio

Grau de Doppler Endométrio	Controle n (%)	Endometrite n (%)	Valor de P
0	(31/73) 42,47%	(42/73) 57,53%	0,0468
1	(1/9) 11,11%	(8/9) 88,89%	0,0196
2	(1/7) 14,29%	(6/7) 85,71%	0,0588
1+2	(2/16) 12,50%	14/16 87,50%	0,0246

Fonte: (RIBEIRO, B.L.M., 2016).

LEGENDA: 0 = NÃO VASCULARIZADO; 1 = POUCO VASCULARIZADO; 2 = MUITO VASCULARIZADO.

6.4.4.1 Correlação entre Doppler endométrio e variáveis analisadas

Na ultrassonografia realizamos a correlação do Doppler endométrio com *Trueperella pyogenes* ($r=0,38$) e CHIU ($r=0,36$). Todos os resultados tiveram valor de $p<0,05$ (Tabela 10).

Tabela 10 - Correlação do modo Doppler cores do endométrio comparado com outras variáveis

	Doppler endométrio -1<r>1	Valor de P
<i>T. pyogenes</i>	0,38	0,0003
Bactéria	0,38	0,0003
CHIU	0,36	0,0047

Fonte: (RIBEIRO, B.L.M., 2016).

Legenda: CHIU = conteúdo heterogêneo intrauterino; *T. pyogenes* = *Trueperella pyogenes*.

6.4.5 Avaliação subjetiva da vascularização do mesométrio pelo método colorimétrico (modo Doppler cores)

A avaliação do mesométrio ocorreu pelo método de Doppler cores em que se determinou graus de 0 a 4. Nesses resultados notamos que animais com grau de mesométrio 0 e 1 não apresentaram diferença entre os grupos doentes ou sadios. Já grau de vascularização 4 identifica 86,67% de animais com endometrite sendo o valor de $p = 0,0045$ (Tabela 11).

Tabela 11 - Frequência da avaliação do padrão vascular de mesométrio

Grau de Doppler Mesométrio	Controle n (%)	Endometrite n (%)	Valor de P
0	(10/18) 55,56%	(8/18) 44,44%	0,6374
1	(11/20) 55,00%	(9/20) 45,00%	0,6547
2	(5/19) 26,32%	(14/19) 73,68%	0,0389
3	(5/17) 29,41%	(12/17) 70,59%	0,0896
4	(2/15) 13,33%	(13/15) 86,67%	0,0045

Fonte: (RIBEIRO, B.L.M., 2016).

Legenda: 0 = não vascularizado; 1 = pouco vascularizado; 2 = vascularizado; 3 = muito vascularizado; 4 = extremamente vascularizado.

6.4.5.1 CORRELAÇÃO ENTRE DOPPLER MESOMÉTRIO E VARIÁVEIS ANALISADAS

A correlação do Doppler mesométrio foi de ($r=0,52$) com Doppler endométrio e ($r=0,35$) com a presença de bactéria no útero. Porém analisou-se a correlação negativa para presença de levedura ($r=-0,25$). Todos os resultados tiveram valor de $p<0,05$ (Tabela 12).

Tabela 12 - Correlação do modo Doppler cores do mesométrio comparado com outras variáveis

	Doppler mesométrio	Valor de P
Doppler endométrio	0,52	0,000
Bactéria	0,35	0,001
Levedura	-0,25	0,022
CHIU	0,21	0,049

Fonte: (RIBEIRO, B.L.M., 2016).

Legenda: CHIU = Conteúdo intrauterino

6.4.6 Avaliação ovariana e identificação da presença de corpo lúteo (CL)

A avaliação ovariana observou-se que animais com endometrite (64,00% e 69,09%) não tinham corpo lúteo (CL) tanto no ovário direito como no esquerdo valor de $p=0,047$ e $p=0,004$. Mostrando diferença estatística entre os animais sadios (Tabela 13).

Tabela 13 - Frequência de presença de CL em função de endometrite

	Controle n (%)		Endometrite n (%)		Valor de P
Presença de CL Direito	(15/39)	38,46%	(24/39)	61,54%	0,1495
Ausência de CL Direito	(18/50)	36,00%	(32/50)	64,00%	0,0477
Presença de CL Esquerdo	(16/34)	47,06%	(18/34)	52,94%	0,7316
Ausência de CL Esquerdo	(17/55)	30,91%	(38/55)	69,09%	0,0046

Fonte: (RIBEIRO, B.L.M., 2016).

6.4.7 Avaliação ovariana e identificação da presença de corpo lúteo vascularizado (CLv)

Animais com endometrite e sem vascularização de corpo lúteo direito apresentaram 63,79% (37/58) em relação ao grupo controle 36,21 (21/58) sendo o valor de $p=0,356$. O resultado foi similar quando comparamos os animais com endometrite e sem vascularização do corpo lúteo no ovário esquerdo 70,49% (43/61) e o controle 29,51 (18/61) sendo $p=0,0014$ (Tabela 14).

Tabela 14 - Presença de CLv em função de endometrite

	Controle n (%)		Endometrite n (%)		Valor de P
Presença de CLv Direito	(12/31)	38,71%	(19/31)	61,29%	0,2733
Ausência de CLv Direito	(21/58)	36,21%	(37/58)	63,79%	0,0356
Presença de CLv Esquerdo	(15/28)	53,57%	(13/28)	46,43%	0,7055
Ausência de CLv Esquerdo	(18/61)	29,51%	(43/61)	70,49%	0,0014

Fonte: (RIBEIRO, B.L.M., 2016).

6.4.8 Avaliação Doppler espectral das artérias uterinas

Quanto ao método Doppler espectral não houve diferença estatística conforme demonstrado na tabela 15 e gráficos 2 a 4.

Tabela 15 - Diferença do Doppler espectral nas artérias uterinas

Doppler espectral	Controle	Endometrite	Valor de P
Vmáx-Direita	88,47 ($\pm 5,33$)	93,84 ($\pm 4,14$)	0,428
IR- Direita	0,85 ($\pm 0,35$)	0,84 ($\pm 0,02$)	0,766
IP-Direita	2,57 ($\pm 0,20$)	2,66 ($\pm 0,16$)	0,744
S/Direita	22,16 ($\pm 6,39$)	12,63 ($\pm 4,96$)	0,242
MTM-Direita	20,01 ($\pm 2,35$)	21,84 ($\pm 1,83$)	0,541
Fluxo- Direita	0,94(0,11)	1,02 (0,086)	0,540
Vmáx-Esquerda	90,19 ($\pm 4,47$)	85,77 ($\pm 3,38$)	0,433
IR- Esquerda	0,80 ($\pm 0,03$)	0,85 ($\pm 0,03$)	0,217
IP-Esquerda	2,62 ($\pm 0,27$)	2,70 ($\pm 0,20$)	0,809
S/D- Esquerda	19,47 ($\pm 5,67$)	12,19 ($\pm 4,30$)	0,309
MTM-Esquerda	21,50 ($\pm 2,05$)	18,93 ($\pm 1,55$)	0,321
Fluxo- Esquerda	1,01(0,09)	0,89(0,07)	0,321

LEGENDA: VMÁX- VELOCIDADE MÁXIMA; IR- ÍNDICE RESISTIVIDADE; IP-ÍNDICE PULSATILIDADE; S/D- SÍSTOLE E DIÁSTOLE; MTM- MÉDIA TEMPO MÉDIO

Gráfico 2 - Análise dos índices IR e IP do Doppler espectral entre as artérias uterinas direita e esquerda

Fonte: (RIBEIRO, B.L.M., 2016).

LEGENDA: IR - ÍNDICE RESISTIVIDADE; IP - ÍNDICE PULSATILIDADE.

Gráfico 3 - Análise do índice MTM Doppler espectral das artérias uterinas direita e esquerda

Fonte: (RIBEIRO, B.L.M., 2016).

Legenda: MTM= média tempo médio.

Gráfico 4 - Análise do Fluxo sanguíneo Doppler espectral das artérias uterinas direita e esquerda

Fonte: (RIBEIRO, B.L.M., 2016).

6.5 EXAME MICROBIOLÓGICO

As amostras submetidas ao exame microbiológico apresentaram isolamentos de um ou mais micro-organismos (Tabela 16). Entre estes foram isoladas bactérias do gênero *Bacillus*, leveduras, *Trueperella pyogenes*, *Staphylococcus intermedius*, *Escherichia coli*, *Streptococcus* sp., *Proteus* sp., *Staphylococcus aureus*, enterobactérias e *Serratia* sp.

Tabela 16 - Bactérias e leveduras em animais com endometrite

	Endometrite n (%)	Valor de P
Bactéria+Levedura	(6/85) 7,06%	<,0001
Levedura	(21/85) 24,71%	<,0001
Bactéria	(38/85) 44,71%	0,329
<i>T. pyogenes</i>	(10/85) 11,76%	<,0001
<i>S. intermedius</i>	(7/85) 8,24%	<,0001
<i>Sta.aureus</i>	(1/85) 1,18%	<,0001
<i>Streptococcus</i> sp.	(1/85) 1,18%	<,0001
<i>Bacillus</i> sp.;	(13/85) 15,29%	<,0001
<i>E. coli</i>	(7/85) 8,24%	<,0001
<i>Proteus</i> sp.	(2/85) 3,53%	<,0001

Fonte: (RIBEIRO, B.L.M., 2016).

LEGENDA: *T. PYOGENES* = *TRUEPERELLA PYOGENES*; *S. INTERMEDIUS* = *S. INTERMEDIUS*; *STA. AUREUS* = *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*; *E. COLI* = *ESCHERICHIA COLI*.

7 DISCUSSÃO

Conforme proposto por Sheldon et al. (2006) a endometrite ocorre a partir do 21º dia pós-parto e se trata de uma inflamação uterina sem sinais sistêmicos de doença, porém ela destaca-se por estar relacionada ao desempenho reprodutivo negativo. Com isso novas técnicas e bons critérios devem ser utilizados para melhorar a precocidade no diagnóstico dessa enfermidade (DUBUC et al., 2010).

Com o intuito de melhorar a precocidade no diagnóstico de endometrite alguns pesquisadores utilizam uma avaliação subjetiva visual e táteis referente a quantidade de gordura subcutânea no animal conhecido como escore de condição corporal (ECC) que possui variação de 0= muito magra a 5= extremamente gorda (EDMONSON et al., 1989). Para Domecq et al. (1997), a diminuição mais pronunciada no ECC entre a 4º e 8º semanas após o parto seria um fator predisponente para a instalação da endometrite. Entretanto o resultado obtido neste estudo não se observou essa correlação. Acreditamos que a utilização de maior número de animais poderia comprovar os dados obtidos por Domecq et al. (1997). Sabe-se que a utilização de ECC é ferramenta de controle do rebanho, que permite a análise da condição de reserva energética dos animais e do *status* nutricional do rebanho (HOEDEMAKER; PRANGE; GUNDELACH, 2009). Portanto, variações com baixo ECC no peri-parto são associadas com diminuição da fertilidade e um aumento à predisposição às doenças como metrite, endometrite, doenças podais, deslocamento de abomaso e doenças metabólicas (KIM; SUH, 2003; HOEDEMAKER; PRANGE; GUNDELACH, 2009).

Este trabalho teve como o objetivo maior a avaliação ultrassonográfica linear e com Doppler entre animais com e sem endometrite. Sendo assim, encontrou-se diferença entre o tamanho de cérvix e do útero que eram maiores em animais com endometrite. Este resultado vem de acordo com o conhecimento sobre a involução normal uterina e da cérvix pois após o parto o útero encontra-se muito aumentado pesando aproximadamente de 8 a 10 kg. Em geral, uma involução macroscópica do útero ocorre em aproximadamente 3 a 5 semanas pós-parto, período em que o útero deverá pesar aproximadamente 0,9 kg e o diâmetro do corno uterino pré-gravídico deverá medir menos que 5 cm (GIER; MARION, 1968). A involução da cérvix por sua vez ocorre mais lentamente, completando o processo por volta das 4 a 6

semanas pós-parto (MORROW et al., 1966). O estabelecimento da prenhes depois do parto depende do retorno anatômico e funcional do trato genital a um estado semelhante ao anterior a gestação (MATEUS et al., 2002). Slama, Vaillancourt e Goff (1991) e Mateus et al. (2002) provaram que um quadro de infecção uterina proporciona uma involução retardada, o que também foi comprovado neste trabalho pois houve aumento do corno esquerdo em animais com endometrite. Por esta razão Wehrend et al. (2003) ressaltaram a importância da avaliação da involução uterina e cervical para auxiliar na diferenciação entre manifestações patológicas e fisiológicas. Os bovinos com endometrite avaliados neste trabalho apresentaram diâmetro de cérvix maior do que em animais saudáveis. Corroborando com LeBlanc et al. (2002) que caracteriza vacas com endometrite clínica quando apresentam medida de cérvix ≥ 7.5 cm de diâmetro por palpação transretal após o 20º dia pós-parto ou como a presença de secreção mucopurulenta ou purulenta observada por vaginoscopia depois do 26º dia pós-parto.

Além das medidas obtidas de cérvix e útero, notou-se em alguns animais a presença de conteúdo intrauterino em quantidade anormal. Neste estudo 75,86% dos animais que apresentaram acúmulo anormal de fluido intrauterino (FIU) tinham endometrite, sendo o valor de $p < 0,0001$. Alguns autores associam a presença de fluido no útero à endometrite o mesmo resultado foi encontrado nesta pesquisa. Entretanto afirmam que em alguns casos há uma resolução espontânea do quadro clínico (BARLUND et al., 2008; ORAL et al., 2009; MEIRA JR. et al., 2012). A presença do fluido uterino teve correlação com o isolamento de *Trueperella pyogenes*, levedura, *Staphylococcus intermedius*, *Escherichia coli* sugere-se que estes agentes promovam a inflamação da mucosa uterina e da proliferação das glândulas endometriais, por esta razão há maior acúmulo de fluido intrauterino. Não foi possível a realização de biópsia uterina neste trabalho para provarmos tal fato.

Os animais que apresentavam conteúdo heterogêneo intrauterino (CHIU) foram 78,72% e estes tinham endometrite, sendo o valor de $p < 0,0001$. Meira Jr. et al. (2012) também encontraram alta relação com CHIU e o diagnóstico de endometrite (MEIRA JR et al., 2012). Houve correlação entre CHIU e a presença em ordem decrescente de *Trueperella pyogenes*, *Escherichia coli*, levedura, *Bacillus* sp. e *Staphylococcus intermedius* o que demonstra que estas bactérias e leveduras promovem o aparecimento de catarro genital.

Estudos com a ultrassonografia transretal Doppler em relação a reprodução animal vem sendo realizada por pesquisadores alemães em éguas (BOLLWEIN et al., 1998) e em vacas (BOLLWEIN et al., 2000). Esses estudos avaliaram a velocidade de fluxo sanguíneo uterino e ovariano durante o ciclo estral e durante a gestação nos animais.

Em nosso experimento foi identificado nos animais com endometrite, utilizando a técnica Doppler cores, a presença de vascularização tecidual no endométrio com os graus 1 e 2 (88,89% e 85,71%) respectivamente, esse resultado mesmo se tratando de uma avaliação subjetiva identifica que há diferença de vascularização no endométrio entre animais sadios e com endometrite. O modo Doppler cores permite a estimativa subjetiva do grau de vascularização do tecido avaliado, fornecendo imagens coloridas do fluxo sanguíneo (GINTHER; MATHEW, 2004). Não há relatos da utilização da ultrassonografia Doppler (modo color Doppler) para a avaliação de condições mórbidas no endométrio de vaca. Neste trabalho foi feita uma adaptação do modelo proposto por Ginther (2007) para avaliação de alterações hemodinâmicas uterinas ligadas a endometrite. Durante o experimento poucos animais manifestaram alterações do escore de avaliação subjetiva da vascularização endométrio, mas as poucas observações permitiram encontrar correlação positiva com o isolamento de *Trueperella pyogenes* ($p=0,0003$), dado importante no estudo da ultrassonografia associada a endometrite.

Após a avaliação ultrassonográfica com modo Doppler cores do endométrio, passou-se a analisar também a vascularização do mesométrio que apresentou correlação positiva à endometrite ($p=0,00027$), resultado importante para a clínica da reprodução pois esta nova técnica não invasiva pode ser utilizada associada a outros métodos de diagnósticos a predizer uma enfermidade. Entretanto não foi encontrado nenhuma diferença nos dados analisados do modo Doppler espectral. Diferente do observado por (HERZOG; BOLLWEIN, 2013) que afirmam ocorrer uma aumento do índice de Pulsatilidade a partir das primeiras 24 horas pós-parto tendo um pico no 28º dia, diminuindo de forma progressiva até por volta de 90º dia. Inversamente proporcional ocorre com o fluxo sanguíneo, que já começa alto no pós-parto e diminui até por volta do 28º dia mantendo níveis basais até 90º dia. A explicação para isso, segundo os autores é que nesse período há a involução uterina e com isso maior exigência de sangue no tecido. Embora a involução uterina clínica e histológica abranja 21 a 50 pós-parto, isso difere da recuperação dos

padrões hemodinâmicos do útero que exige mais tempo (HERZOG; BOLLWEIN, 2013).

Avançando no entendimento da perfusão uterina, Bollwein et al. (2002) ao avaliar animais prenhes, concluíram que durante toda a gestação, há um forte aumento do fluxo sanguíneo nas artérias uterinas. Entretanto observaram que o índice de resistividade diminui nos primeiros 8 meses de gestação e permanece a um nível relativamente constante até o nascimento do bezerro.

Sabe-se que durante diestro a velocidade do fluxo sanguíneo permanece constante e são correlacionadas à concentração plasmática de estrógeno e progesterona, uma correlação moderada afirmam Bollwein et al. (2016). Estes resultados indicam que há outros fatores envolvidos na regulação do fluxo sanguíneo (HONNENS et al., 2008).

As alterações na perfusão uterina são mais pronunciadas durante os primeiros 4 dias após o parto. As doenças puerperais uterinas como retenção de placenta e metrite têm um impacto negativo sobre involução uterina (HEPPELMANN; KRÜGER; LEIDL, 2013). Assim, o fluxo sanguíneo uterino também é afetado por doenças uterinas puerperais. Vacas com retenção de placenta apresentam índice de resistividade maiores em relação a vacas saudáveis. No 8^o dia, pós-parto vacas com metrite tem um volume no fluxo de sangue (VFS) superior e diminuição do índice de pulsatilidade (IP) das artérias em comparação com vacas saudáveis (HEPPELMANN; KRÜGER; LEIDL, 2013).

Nas vacas saudáveis, o fluxo sanguíneo uterino diminuiu ainda mais depois da completa involução uterina. Entretanto, vacas com patologia uterina a involução completa é lenta ocorrendo entre 45 e 65 dias pós-parto. Estes resultados indicam uma associação entre a involução uterina incompleta e a regeneração do leito vascular uterino em vacas com doença puerperais.

A vascularização uterina e ovariana é bem utilizada na área de reprodução animal, pois auxilia no conhecimento para determinar o melhor momento de realizar uma inseminação artificial e precocidade em determinar prenhes (BOLLWEIN; HEPPELMANN, 2016).

O modo cores do Doppler, utilizado nos folículos e CL em bovinos tem alta referência e atualmente ganha destaque na reprodução animal, pois com as medidas do fluxo sanguíneo folicular, por meio da ultrassonografia Doppler, pode-se identificar folículos em desenvolvimento normal e prever a proximidade da ovulação.

A perfusão vascular do CL e útero é maior durante a primeira onda folicular comparada com a segunda onda folicular do ciclo estral (BOLLWEIN; HEPPELMANN, 2016).

Ao realizar a avaliação ovariana identificamos que alguns animais com endometrite (64,00% e 69,09%) não tinham corpo lúteo (CL) tanto no ovário direito como no esquerdo valor de $p = 0,047$ e $p = 0,004$. Entretanto animais com CL direito e esquerdo apresentaram 61,54% e 52,94% respectivamente. Afim de verificar a influência dos ovários e a sua vascularização frente a presença de corpo lúteo em animais com endometrite, realizou-se por intermédio da técnica Doppler cores a análise colorimétrica do corpo lúteo. O resultado foi que animais com ausência de vascularização em corpo lúteo (CLv) 63,79% direito e 70,49% esquerdo apresentavam endometrite. Mostrando que mesmo os animais apresentando ciclo estral normal diante da endometrite, há uma interferência na reprodução.

Para o diagnóstico da endometrite realizou-se a citologia com a secreção obtida do lavado intrauterino, esse material também foi encaminhado para análise microbiológica, afim de se identificar os principais agentes associados e endometrite e verificar se existia alguma relação deles com alterações hemodinâmicas no útero bovino. Os resultados encontrados foram presença de bactérias do gênero *Bacillus*, *Trueperella pyogenes*, *Staphylococcus intermedius*, *Escherichia coli*, *Streptococcus* sp., *Proteus* sp., *Staphylococcus aureus*, enterobactérias e *Serratia* sp. além de fungo e levedura.

Em 2011 Santos, Gilbert e Bicalho, relataram a realização e identificação da microbiota uterina (metagenoma) em animais saudáveis, proporcionando saber quais micro-organismos podem ser associados a doenças uterinas. Atualmente sabe-se que as principais bactérias que comumente contaminam o lúmen uterino após o parto são *Escherichia coli*, *Streptococcus*, *Trueperella pyogenes* e *Fusobacterium necrophorum* e estas estão associadas à algumas doenças uterinas. Acredita-se que a *Trueperella pyogenes* atua em sinergismos com *Fusobacterium necrophorum*, *Bacteroides* spp., e *Prevotella* spp. aumentando a severidade das doenças uterinas (OLSON et al., 1984; WILLIAMS et al., 2005; SHELDON et al., 2006). Bicalho et al. (2012) afirmam que a TP é reconhecida como um importante agente patogênico associada a endometrite, devido à sua persistência no útero contaminado (POTER et al., 2010). Recentemente, Boer et al. (2015) verificaram que as vacas com qualquer crescimento bacteriano aos 21 dias pós-parto,

independentemente da espécie bacteriana, a taxa de concepção era menor. Machado et al. (2012), comprovaram utilizando metagenoma, alta relação de *Trueperella pyogenes* com endometrite.

Entretanto ao se deparar com secreção anormal cervicovaginal, isso pode indicar comprometimento do endométrio, dependendo da quantidade de bactérias patogênicas presentes Machado et al. (2012).

Trueperella pyogenese *Escherichia coli* possuem maior prevalência quando comparada aos outros patógenos, 49% e 37% dos casos de infecções uterinas respectivamente (WILLIAMS et al., 2005). Madoz et al. (2014) questionou o valor do exame microbiológico como método diagnóstico das endometrite. As leveduras foram reportadas como um agente associado às endometrite crônicas em mulheres (CICINELLI et al., 2008). Neste trabalho as leveduras foram encontradas em grande proporção (22,5%). O isolamento de *Trueperella pyogenes* apresentou correlação com o padrão de inflamação uterino identificado ao se avaliar a vascularização de endométrio pelo método ultrassonográfico colorimétrico.

Apesar da endometrite ser uma enfermidade com cura espontânea, Dubuc et al. (2011) encontraram 63% de cura espontânea, enquanto LeBlanc et al. (2002a) encontraram 77% de autocura. Ela causa ainda muitos prejuízos econômicos e reprodutivos na indústria leiteira. Com objetivo de reduzir isso, faz-se importante o uso de novas ferramentas que possam auxiliar numa melhor precisão e precocidade diagnóstica com o intuito de se melhorar os índices reprodutivos dos animais de produção.

8 CONCLUSÕES

Conclui-se com a realização desse estudo que a endometrite mesmo se tratando de uma doença amplamente estudada ainda há campo para melhora. Conforme observado a utilização do ECC não mostrou nesse estudo nenhuma associação com endometrite. Entretanto com a realização do exame ultrassonográfico constatamos relação existente entre o diâmetro de cérvix e de cornos uterinos com a endometrite. Essa relação foi notória quando se verificou a presença de FIU e CHIU, bem como ao utilizar a ferramenta Doppler cores em mesométrio e endométrio mostrando a relação da vascularização do tecido inflamado frente a endometrite. Porém ao realizar a ultrassonografia com Doppler espectral não observou nenhuma diferença em comparação com animais doentes. A realização do exame microbiológico notamos que as bactérias *Trueperella pyogenes* e *Escherichia coli* possuem importante função no desenvolvimento da endometrite corroborando com outros estudos. Assim sendo, a busca de novas técnicas, menos invasivas e de rápido resultado, exemplo a ultrassonografia Doppler, podem fornecer respostas satisfatórias quanto a evolução de alterações uterinas e com isso associar os resultados às melhores índices reprodutivos.

REFERÊNCIAS

- ACOSTA, T. J.; HAYASHI, K. G.; OHTANI, M.; MIYAMOTO, A. Local changes in blood flow within the preovulatory follicle wall and early corpus luteum in cows. **Reproduction**, v. 125, p. 759–67, 2003.
- ACOSTA, T.J.; YOSHIZAWA, N.; OHTANI, M.; MIYAMOTO, A. Local changes in blood flow within the early and midcycle corpus luteum after prostaglandin F(2 alpha) injection in the cow. **Biol Reprod.**, v. 66, p. 651–8, 2002.
- BABACAN, A.; GUN, I.; KIZILASLAN, C.; OZDEN, O.; MUHCU, M.; MUNGEN, E.; ATAY, V. Comparison of transvaginal ultrasonography and hysteroscopy in the diagnosis of uterine pathologies. **Int J Clin Exp Med**, v. 7, n. 3, p. 764-769, 2014.
- BANKS, W. J. **Histologia veterinária aplicada**. São Paulo: Ed. Manole, 1991. 629 p.
- BARANSKI, W.; PODHALICZ-DZIEGIELEWSKA, M.; ZDUNCZYK, S.; JANOWSKI, T. The diagnosis and prevalence of subclinical endometritis in cows evaluated by different cytologic thresholds. **Theriogenology**, v. 78, p. 1939-1947, 2002.
- BARBOSA, C. C.; SILVA, L. D. M. Ultrassonografia Doppler para avaliação reprodutiva de fêmeas. **Rev. Bras. Reprod. Anim**, Belo Horizonte, v. 36, n.4, p. 220-224, 2012.
- BARLUND, C. S.; CARRUTHERS, T. D.; WALDNER, C. L.; PALMER, C. W. A comparison of diagnostic techniques for postpartum endometritis in dairy cattle. **Theriogenology**, v. 69, n. 6, p. 714-723, 2008.
- BICALHO, M. L. S.; MACHADO, V. S.; OIKONOMOU, G.; GILBERT, R. O.; BICALHO, R. C. Association between virulence factors of *Escherichia coli*, *Fusobacterium necrophorum*, and *Arcanobacterium pyogenes* and uterine diseases of dairy cows. **Vet Microbiol**, v. 157, n. 1–2, p. 125-131, 2012.
- BICALHO, M. L. S.; LIMA, F. S.; MACHADO, V. S.; JR, E. B. M.; GANDA, E. K.; FODITSCH, C.; BICALHO, R. C.; GILBERT, R. O. Theriogenology Associations among *Trueperella pyogenes*, endometritis diagnosis , and pregnancy outcomes in dairy cows. **Theriogenology**, v. 85, n. 2, p. 267–274, 2016.
- BICALHO, R.C.; MACHADO, V.S.; BICALHO, M.L.; GILBERT, R.O.; TEIXEIRA, A.G.; CAIXETA, L.S.Molecular and epidemiological characterization of bovine intrauterine *Escherichia coli*. **J Dairy Sci**, v.93, p. 5818–30, 2010.
- BICALHO, M. L.; MACHADO, V.S.; OIKONOMOU, G.; GILBERT, R.O.; BICALHO, R.C. Association between virulence factors of *Escherichia coli*, fuso- bacterium

necrophorum, and arcanobacterium pyogenes and uterine diseases of dairy cows. **Vet Microbiol**, v.157, p. 125–31, 2012.

BOLLWEIN, H.; MAIERL, J.; MAYER, R.; STOLLA, R. Transrectal color Dopplersonography of the A. uterina in cyclic mares. **Theriogenology**, v.49, p.1483–8, 1998.

BOLLWEIN, H.; MEYER, H.H.; MAIERL, J.; WEBER, F.; BAUMGARTNER, U.; STOLLA, R. Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow in cows during the estrous cycle. **Theriogenology**, v. 53, p.1541–52, 2000.

BOLLWEIN, H.; HEPPELMANN, M.; L.; JOHANNES. Ultrasonographic Doppler use for female reproduction management. **Vet Clin North Am Small Anim Pract**, v. 32, n. 1, p. 149-164, 2016.

BOLLWEIN, H.; BAUMGARTNER, U.; STOLLA, R. Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow in cows during pregnancy. **Theriogenology**, v. 57, n. 8, p. 2053-2061, 2002.

BOLLWEIN, H.; LUTTGENAU, J.; HERZOG, K. Bovine luteal blood flow: Basic mechanism and clinical relevance. **Reprod, Fertil, Dev**, v. 25, n. 1, p. 71–79, 2013.

BOLLWEIN, H.; MEYER, H. H.; MAIERL, J.; WEBER, F.; BAUMGARTNER, U.; STOLLA, R. Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow. **Theriogenology**, v. 53, n. 8, p. 1541-1552, 2000.

CARVALHO, C. F.; CJAMMAS, M. C.; CERRI, G. G. Princípios físicos do Doppler em ultra-sonografia. **Ciênc Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 3, p. 872-879, 2008.

CHENAULT, J. R.; MCALLISTER, J. F.; CHESTERJR., S. T.; DAME, K. J.; KAUSCHE, F. M.; ROBB, E. J. Efficacy of ceftiofur hydrochloride sterile suspension administered parenterally for the treatment of acute postpartum metritis in dairy cows. **J Am Vet Med Assoc**, v. 224, n. 10, p. 1634-1639, 2004.

CHEONG, S. H.; NYDAM, D. V.; GALVAO, K. N.; CROSIER, B. M.; RICCI, A. Use of reagent test strips for diagnosis of endometritis in dairy cows. **Theriogenology**, v. 77, p. 858–864, 2012.

CICINELLI, E.; PARISI, C.; GALANTINO, P.; PINTO, V.; BARBA, B.; SCHONAUER, S. Reliability, feasibility, and safety of minihysteroscopy with a vaginoscopic approach: experience with 6,000 cases. **Fertil Steril**, v. 80, n. 1, p. 199-202, 2003.

CICINELLI, E.; RESTA, L.; NICOLETTI, R.; TARTAGNI, M.; MARINACCIO, M.; BULLETTI, C.; COLAFIGLIO, G. Detection of chronic endometritis at fluid hysteroscopy. **J Minim Invasive Gynecol**, v. 12, n. 6, p. 514-518, 2005.

CICINELLI, E.; DE ZIEGLER, D.; NICOLETTI, R.; COLAFIGLIO, G.; SALIANI, N.; RESTA, L.; RIZZI, D.; DE VITO, D. Chronic endometritis: correlation among hysteroscopic, histologic, and bacteriologic findings in a prospective trial with 2190 consecutive office hysteroscopies. **Fertil Steril**, v. 89, n. 3, p. 677-684, 2008.

CICINELLI, E.; TINELLI, R.; LEPERA, A.; PINTO, V.; FUCCI, M.; RESTA, L. Correspondence between hysteroscopic and histologic findings in women with chronic endometritis. **Acta Obstet Gynecol Scand**, v. 89, n. 8, p. 1061-1065, 2010.

CORDEIRO, J. L. F.; ALBUQUERQUE, A. J. D.; NEVES, J. P.; BADKE, M. R. T.; FAN, L. C. R.; SILVA, J. H. S. Citologia cérvico-uterina para o diagnóstico de catarros genitais na vaca. **Rev Bras Reprod Anim**, v.13, n. 1, p. 53-68, 1989.

COULAM, C. B.; BUSTILLO, M.; SOENKSEN, D. M.; BRITTEN, S. Ultrasonographic predictors of implantation after assisted reproduction. **Fertil Steril**, v. 62, n. 5, p. 1004-1010, 1994.

DE BOER, M.; BUDDLE, B.M.; HEUER, C.; HUSSEIN, H.; ZHENG, T.; LEBLANC, S.J.; et al. Associations between intrauterine bacterial infection, reproductive tract inflammation, and reproductive performance in pasture-based dairy cows. **Theriogenology**, v.83, p.1514–1524, 2015.

DESCOTEAUX, L.; GNEMMI, G.; COLLOTON, J. **Ruminant and camelid reproductive ultrasonography**. Ames: Blackwell Publishing, 2010.

DOMECQ, J. J.; SKIDMORE, A. L.; LLOYD, J. W.; KANEENE, J.B. Relationship between body condition scores and milk yield in a large dairy herd of high yielding Holstein cows. **J Dairy Sci**, v. 80, n.1, p. 101-12, 1997.

DRILLICH, M.; ARLT, S.; KERSTING, S.; BERGWERFF, A. A.; SCHERPENISSE, P.; HEUWIESER, W. Ceftiofur derivatives in serum, uterine tissues, cotyledons, and lochia after fetal membrane retention. **J Dairy Sci**, v. 89, n. 9, p. 3431-3438, 2006.

DRILLICH, M.; RAAB, W.; WITTKE, M.; HEUWIESIER, W. Treatment of chronic endometritis with an intrauterine application of enzymes: a field trial. **Theriogenology**, v. 63, p. 1811-1823, 2005.

DUBUC, J.; DUFFIELD, T. F.; LESLIE, K. E.; WALTON, J. S.; LEBLANC, S. J. Definitions and diagnosis of postpartum endometritis in dairy cows. **J Dairy Sci**, v. 93, n. 11, p. 5225-5233, 2010.

DUBUC, J.; DUFFIELD, T. F.; LESLIE, K. E.; WALTON, J. S.; LEBLANC, S. J. Effects of postpartum uterine diseases on milk production and culling in dairy cows. **J Dairy Sci**, v. 94, n. 3, p. 1339-1346, 2011.

EDMONSON, A. J.; LEAN, I. J.; WEAVER, L. D.; FARVER, T.; WEBSTER, G. A. Body Condition Scoring Chart for Holstein Dairy Cows. **J Dairy Sci**, v. 72, n. 1, p. 68-78, 1989.

EDQVIST, L. E.; KINDAHL, H.; STABENFELDT, G. Release of prostaglandin F₂alpha during the bovine periparturient period. **Prostaglandins**, v. 16, n. 1, p. 111-119, 1978.

ELEY, D. S.; THATCHER, W. W.; HEAD, H. H.; COLLIER, R. J.; WILCOX, C. J.; CALL, E. P. Periparturient and postpartum endocrine changes of conceptus and maternal units in Jersey cows bred for milk yield. **J Dairy Sci**, v. 64, n. 2, p. 312-320, 1981.

ELKJAER, K.; ANCKER, M. L.; GUSTAFSSON, H.; FRIGGENS, N. C.; WALDMANN, A.; MOLBAK, L.; CALLESEN, H. Uterine bacterial flora in postpartum Danish Holstein dairy cows determined using DNA-based fingerprinting: Correlation to uterine condition and calving management. **AnimReprodScienc**, v.138, n. 1, p. 39-48, 2013.

FERREIRA, J. C.; MEIRA, C. Aplicação da ultrassonografia colorida Doppler em programas de transferência de embriões equinos. **Ciênc Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 6, 2011.

FERREIRA, A. M.; PIRES, C. R.; MORON, A. F.; ARAUJO JUNIOR, E.; TRAINA, E.; MATTAR, R. Doppler assessment of uterine blood flow in recurrent pregnancy loss. **Int J Gynaecol Obstet**, v. 98, n. 2, p. 115-119, 2007.

FÖLDI, J.; KULCSÁR, M.; PÉCSI, A.; HUYGHE, B.; DE SA, C.; LOHUIS, J. A. C. M.; v.COX, P.; HUSZENICZA, G. Bacterial complications of postpartum uterine involution in cattle. **Anim Reprod Scienc**, v. 96, n. 3-4, p. 265-281, 2006.

GALVÃO, K. N.; FRAJBLAT, M.; BRITTIN, S. B.; BUTLER, W. R.; GUARD, C. L.; GILBERT, R. O. Effect of prostaglandin F₂alpha on subclinical endometritis and fertility in dairy cows. **J Dairy Sci**, v. 92, n. 10, p. 4906-4913, 2009.

GIER, H. T.; MARION, G. B. Uterus of the cow after parturition: involutional changes. **Am J Vet Res**, v. 29, n. 1, p. 83-96, 1968.

GILBERT, R. O. Bovine endometritis: the burden of proof. **Cornell Vet**, v. 82, n. 1, p. 11-14, 1992.

GILBERT, R. O.; SHIN, S. T.; GUARD, C. L.; ERB, H. N.; FRAJBLAT, M. Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. **Theriogenology**, v. 64, n. 9, p. 1879-1888, 2005.

GINTHER, O. J.; MATHEW, D. U. Doppler ultrasound in equine reproduction: principles, techniques, and potential. **J Equine Vet Sci**, v. 24, n. 12, p. 516-526, 2004.

GINTHER, O. J. **Ultrasonic imaging and animal reproduction**: Color-Doppler ultrasonography. Cross Plains,WI: Equiservices Publishing, 2007, v.4. 258 p.

GOSHEN, T.; SHPIGEL, N. Y. Evaluation of intrauterine antibiotic treatment of clinical metritis and retained fetal membranes in dairy cows. **Theriogenology**, v. 66, n. 9, p. 2210-2218, 2006.

GRIFFIN, J. F. T.; HARTIGAN, P. J.; NUNN, W. R. Non-specific uterine infection and bovine fertility: I. Infection patterns and endometritis during the first seven weeks post-partum. **Theriogenology**, v. 1, n. 3, p. 91-106, 1974.

GRÖHN, Y. T.; RAJALA-SCHULTZ, P. J. Epidemiology of reproductive performance in dairy cows. **Anim Reprod Sci**, v. 60-61, n., p. 605-614, 2000.

GRUMMER, R.R. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. **J. Anim. Sci.**, v. 73, p. 2820-2833, 1995.

GRUNERT, E.; BIRGEL, E. H.; VALE, W. G. **Patologia e clínica da reprodução dos animais mamíferos domésticos**: ginecologia. São Paulo: Varela, 2005. 551 p.

HAFEZ, B. **Reprodução animal**. Barueri: Ed. Manole, 2004. 513 p.

HAIMERL, P.; ARLT, S.; HEUWIESER, W. Evidence-based medicine: quality and comparability of clinical trials investigating the efficacy of prostaglandin F(2alpha) for the treatment of bovine endometritis. **J Dairy Res**, v. 79, n. 3, p. 287-296, 2012.

HEPPELMANN, M.; KRÜGER, L.; LEIDL, H. B. Science Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow during the first two weeks after parturition in Simmenthal heifers. **JVetSci**, v. 14, n. 3, p. 323-327, 2013.

HEUWIESER, W.; TENHAGEN, B. A.; TISCHER, M.; LUHR, J.; BLUM, H. Effect of three programmes for the treatment of endometritis on the reproductive performance of a dairy herd. **Vet Rec**, v. 146, n. 12, p. 338-341, 2000.

HOEDEMAKER, M.; PRANGE, D.; GUNDELACH, Y. Body condition change ante- and postpartum, health and reproductive performance in German Holstein cows. **Reprod Domest Anim**, v. 44, n. 2, p. 167-173, 2009.

HONNENS, A.; VOSS, C.; HERZOG, K.; NIEMANN, H.; RATH, D.; BOLLWEIN, H. Uterine blood flow during the first 3 weeks of pregnancy in dairy cows. **Theriogenology**, v. 70, p. 1048-56, 2008.

HONNENS, A.; NIEMANN, H.; PAUL, V.; MEYER, H. H. D.; BOLLWEIN, H. Doppler sonography of the uterine arteries during a superovulatory regime in cattle uterine blood flow in superovulated cattle. **Theriogenology**, v. 70, p. 859-867, 2008.

HORTA, A. E. M. Fisiologia do puerpério na vaca. In: JORNADAS INTERNACIONALES DE REPRODUCCIÓN ANIMAL, 8., 1995, Santander. **Anais...** Santander: AERA, 1995. p.73-84.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFICA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Sistema IBGE de recuperação automática - SIDRA**. Rio de Janeiro: IBGE, 2015.

INDMAN, P. D. Instrumentation and distention media for the hysteroscopic treatment of abnormal uterine bleeding. **Obstet Gynecol Clin North Am**, v. 27, n. 2, p. 305-315, 2000.

KASIMANICKAM, R.; DUFFIELD, T. F.; FOSTER, R. A.; GARTLEY, C. J.; LESLIE, K. E.; WALTON, J. S.; JOHNSON, W. H. Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. **Theriogenology**, v. 62, n. 1-2, p. 9-23, 2004.

KASIMANICKAM, R.; DUFFIELD, T. F.; FOSTER, R. A.; GARTLEY, C. J.; LESLIE, K. E.; WALTON, J. S.; JOHNSON, W. H. 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. 818-830, 2005.

KIM, I. H.; SUH, G. H. Effect of the amount of body condition loss from the dry to near calving periods on the subsequent body condition change, occurrence of postpartum diseases, metabolic parameters and reproductive performance in Holstein dairy cows. **Theriogenology**, v. 60, n. 8, p. 1445-1456, 2003.

KINDAHL, H.; ODENSEVIK, K.; AIUMLAMAI, S.; FREDRIKSSON, G. Utero-ovarian relationships during the bovine postpartum period. **Anim ReproSci**, v. 28, n. 1, p. 363-369, 1992.

KONEMAN, E.; WINN JR, W.; ALLEN, S.; JANDA, W.; PROCOP, G.; SCHRECKENBERGER, P. **Diagnóstico microbiológico**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 1465 p.

LEBLANC, S. Economics of Improving Reproductive Performance in Dairy Herds. **WCDS Advances in Dairy Technology**, v. 19, p. 201-214, 2007.

LEBLANC, S. J.; DUFFIELD, T. F.; LESLIE, K. E.; BATEMAN, K. G.; KEEFE, G. P.; WALTON, J. S.; JOHNSON, W. H. Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows. **J Dairy Sci**, v. 85, n. 9, p. 2223-2236, 2002a.

LEBLANC, S. J.; DUFFIELD, T. F.; LESLIE, K. E.; BATEMAN, K. G.; KEEFE, G. P.; WALTON, J. S.; JOHNSON, W. H. The effect of treatment of clinical endometritis on reproductive performance in. **J Dairy Sci**, v. 85, n. 9, p. 2237-2249, 2002b.

LEBLANC, S. Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period.

JReprod Devel, v. 56, p. 29–35, 2010. Suplemento 1.

LOPES, P. F.; REIS, R. P.; YAMAGUCHI, L. C. T. Custos e escala de produção na pecuária leiteira: estudo nos principais estados produtores do Brasil. **Rev Econ Sociol Rural**, v. 45, p. 567-590, 2007.

MACHADO, V. S.; OIKONOMOU, G.; BICALHO, M. L. S.; KNAUER, W. A.; GILBERT, R.; BICALHO, R. C. Investigation of postpartum dairy cows' uterine microbial diversity using metagenomicpyrosequencing of the 16S rRNA gene. **Vet Microbiol**, v. 159, n. 3, p. 460-469, 2012.

MACHADO, V.S.; KNAUER, W.A.; BICALHO, M.L.; OIKONOMOU, G.; GILBERT, R.O.; BICALHO, R.C. A novel diagnostic technique to determine uterine health of Holstein cows at 35 days postpartum. **J Dairy Sci**, v.95:1349–57, 2012.

MADOZ, L. V.; GIULIODORI, M. J.; MIGLIORISI, A. L.; JAUREGUIBERRY, M.; DE LA SOTA, R. L. Endometrial cytology, biopsy, and bacteriology for the diagnosis of subclinical endometritis in grazing dairy cows. **J Dairy Sci**, v. 97, n. 1, p. 195-201, 2014.

MATEUS, L.; DA COSTA, L. L.; BERNARDO, F.; SILVA, J. R. Influence of puerperal uterine infection on uterine involution and postpartum ovarian activity in dairy cows. **Reprod Domest Anim**, v. 37, n. 1, p. 31-35, 2002.

MARQUES JÚNIOR, A. P. Fisiologia do puerpério na vaca. **Rev Bras Reprod Anim**, n.4, p.58-69, 1993.

MEIRA JR., E. B. S.; HENRIQUES, L. C. S.; SÁ, L. R. M.; GREGORY, L. Comparison of ultrasonography and histopathology for the diagnosis of endometritis in Holstein-Friesian cows. **J Dairy Sci**, v. 95, n. 12, p. 6969-6973, 2012.

MEJIA, M. E.; LACAU-MENGIDO, I. M. Endometritis treatment with a PGF2alpha analog does not improve reproductive performance in a large dairy herd in Argentina. **Theriogenology**, v. 63, n. 5, p. 1266-1276, 2005.

MELLO, R. R. C. Perdas reprodutivas em fêmeas bovinas. *Agropecuária científica no semiárido*, v. 10, n. 4, p. 7-23, 2014.

MIYAMOTO, A.; SHIRASUNA, K.; HAYASHI, K.-G.; KAMADA, D.; AWASHIMA, C.; KANEKO, E.; ACOSTA, T. J.; MATSUI, M. A potential use of color ultrasound as a tool for reproductive management: New observations using color ultrasound scanning that were not possible with imaging only in black and white. **J Reprod Devel** v. 52, n. 1, p. 153–60, 2006.

MORROW, D. A.; ROBERTS, S. J.; MCENTEE, K.; GRAY, H. G. Postpartum ovarian activity and uterine involution in dairy cattle. **J Am Vet Med Assoc**, v. 149, n., p. 1596-1609, 1966.

OLSON, J. D.; BRETZLAFF, K. N.; MORTIMER, R. G.; BALL, L. The metritis-pyometra complex. In: MORROW, D. A. **Current therapy in theriogenology**. Philadelphia: Saunders, 1986. p.227-236.

OLSON, J.D.; BALL, L.; MORTIMER, R.G.; FARIN, P.W.; ADNEY, W.S.; HUFFMAN, E.M. Aspects of bacteriology and endocrinology of cows with pyometra and retained fetal membranes. **Am J Vet Res**, v.45, p. 2251–2255, 1984.

ORAL , H.; SOZMEN, M.; SERIN, G.; KAYA, S. Comparison of the cytobrush technique, vaginoscopy and transrectal ultrasonography methods for the diagnosis of postpartum endometritis in cows. **J Anim Vet Adv**, v. 8, n. 7, p. 1252-1255, 2009.

PAN, H. A.; WU, M. H.; CHENG, Y. C.; WU, L. H.; CHANG, F. M. Quantification of ovarian stromal Doppler signals in poor responders undergoing in vitro fertilization with three-dimensional power Doppler ultrasonography. **Am J Obstet Gynecol**, v. 190, n. 2, p. 338-344, 2004.

PENG, Y.; WANG, Y.; HANG, S.; ZHU, W. Microbial diversity in uterus of healthy and metritic postpartum Holstein dairy cows. **Folia Microbiol**, v. 58, n. 6, p. 593-600, 2013.

PLETICHA, S.; DRILLICH, M.; HEUWIESER, W. Evaluation of the Metricheck device and the gloved hand for the diagnosis of clinical endometritis in dairy cows. **Dairy Sci**, v. 92, n. 11, p. 5429–5435, 2009.

POTTER, T.J.; GUITIAN, J.; FISHWICK, J.; GORDON, P.J.; SHELDON, I.M. Risk factors for clinical endometritis in postpartum dairy cattle. **Theriogenology**, v.74, p.127–134, 2010.

QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; CARTER, M. E.; DONNELLY, W. J.; LEONARD, F. C. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Porto Alegre: Artemed Editora S.A, 2005. 512 p.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; HINCHCLIFF, K.W.; CONSTABLE, P.D. **Veterinary medicine: a textbook of diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses**. 9. ed. Philadelphia: W.B. Sauders, 2007.

RIBEIRO, E. S.; GALVAO, K. N.; THATCHER, W. W.; SANTOS, J. E. P. Economic aspects of applying reproductive technologies to dairy herds. **Anim. Reprod.**, v. 9, p. 370–387, 2012.

RIBEIRO, E. S.; LIMA, F. S.; GRECO, L. F.; BISINOTTO, R. S.; MONTEIRO, A. P. A.; FAVORETO, M.; AYRES, H.; MARSOLA, R. S.; MARTINEZ, N.; THATCHER, W. W.; SANTOS, J. E. P. Prevalence of periparturient diseases and effects on fertility of seasonally calving grazing dairy. **Folia Microbiol**, v. 96, n. 9, p. 5682-5697, 2013.

SANTOS, J. E. P.; BISINOTTO, R. S.; RIBEIRO, E. S.; LIMA, F. S.; GRECO, L. F.; STAPLES, C. R.; THATCHER, W. W. Applying nutrition and physiology to improve reproduction in dairy cattle. *Soc. **Reprod. Fertil.*** v. 67, p. 387–403, 2010.

SANTOS, T. M.; GILBERT, R. O.; BICALHO, R. C. Metagenomic analysis of the uterine bacterial microbiota in healthy and metritic postpartum dairy cows. ***J Dairy Sci***, v. 94, n. 1, p. 291-302, 2011.

SANTOS, T. M.; BICALHO, R. C. Diversity and succession of bacterial communities in the uterine fluid of postpartum metritic, endometritic and healthy dairy cows. ***PLoS One***, v. 7, n. 12, p. 1-10, 2012.

STATISTICAL ANALISYS SYSTEM (SAS). **Guide of personal computers**. Version 9.0. Cary, NC: SAS/STAT, 2002.

SHELDON, I. M.; NOAKES, D. E. Comparison of three treatments for bovine endometritis. ***Vet Rec***, v. 142, n. 21, p. 575-579, 1998.

SHELDON, I. M. The postpartum uterus. ***Vet Clin North Am Food Anim Pract***, v. 20, n. 3, p. 569-591, 2004.

SHELDON, I. M.; DOBSON, H. Postpartum uterine health in cattle. ***Anim Reprod Sci***, v. 82-83, p. 295-306, 2004.

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.

SHELDON, I. M.; CRONIN, J.; GOETZE, L.; DONOFRIO, G.; SCHUBERTH, H. J. Defining postpartum uterine disease and the mechanisms of infection and immunity in the female reproductive tract in cattle. ***Biol Reprod***, v. 81, n. 6, p. 1025-1032, 2009.

SLAMA, H.; VAILLANCOURT, D.; GOFF, A. K. Pathophysiology of the puerperal period: Relationship between prostaglandin E2 (PGE2) and uterine involution in the cow. *Theriogenology*, v. 36, n. 6, p. 1071–1090, 1991.

STEER, C. V.; CAMPBELL, S.; PAMPIGLIONE, J. S.; KINGSLAND, C. R.; MASON, B. A.; COLLINS, W. P. Transvaginal colour flow imaging of the uterine arteries during the ovarian and menstrual cycles. ***Hum Reprod***, v. 5, n. 4, p. 391-395, 1990.

STEER, C. V.; TAN, S. L.; MASON, B. A.; CAMPBELL, S. Midluteal-phase vaginal color Doppler assessment of uterine artery impedance in a subfertile population. ***Fertil Steril***, v. 61, n. 1, p. 53-58, 1994.

THOMÉ, H. E.; OLIVEIRA, B. M. M.; ARRUDA, R. P.; GUIMARÃES, C. F.; THOMÉ, A. C. S.; BALIEIRO, J. C. C.; FERNANDES, C. B.; CELEGHINI, E. C. C. Métodos de

diagnóstico da resposta inflamatória uterina em vacas. **Rev. Acad. Ciênc. Agrár. Ambient.**, v. 11, n. 1, p. 11-16, 2013.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. São Paulo: Atheneu Editora, 2008. 706 p.

WANG, Z. L.; GOONEWARDENE, L. A. The use of MIXED models in the analysis of animal experiments with repeated measures data. **Can J Anim Sci**, v. 84, n. 1, p. 1-11, 2004.

WEHREND, A.; FAILING, K.; BOSTEDT, H. Cervimetry and ultrasonographic observations of the cervix regression in dairy cows during the first 10 days post partum. **J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med**, v. 50, n. 9, p. 470-473, 2003.

WILLIAMS, E. J.; FISCHER, D. P.; PFEIFFER, D. U.; ENGLAND, G. C.; NOAKES, D. E.; DOBSON, H.; SHELDON, I. M. Clinical evaluation of postpartum vaginal mucus reflects uterine bacterial infection and the immune response in cattle. **Theriogenology**, v. 63, n. 1, p. 102-117, 2005.

WITTROCK, J. M.; PROUDFOOT, K. L.; WEARY, D. M.; VON KEYSERLINGK, M. A. Short communication: Metritis affects milk production and cull rate of Holstein multiparous and primiparous dairy cows differently. **J Dairy Sci**, v. 94, n. 5, p. 2408-2412, 2011.

YANG, J. H.; WU, M. Y.; CHEN, C. D.; JIANG, M. C.; HO, H. N.; YANG, Y. S. Association of endometrial blood flow as determined by a modified colour Doppler technique with subsequent outcome of in-vitro fertilization. **Hum Reprod**, v. 14, n. 6, p. 1606-1610, 1999.

ZERBE, H.; OSSADNIK, C.; LEIBOLD, W.; SCHUBERTH, H. J. Lochial secretions of Escherichia coli- or Arcanobacterium pyogenes-infected bovine uteri modulate the phenotype and the functional capacity of neutrophilic granulocytes. **Theriogenology**, v. 57, n. 3, p. 1161-1177, 2002.