

DENISE MARIS LEBEDENCO BARBOSA

**ASPECTOS BACTERIOLÓGICOS, CLÍNICOS E FISIO-
HISTOLÓGICOS DO ÚTERO DE FÊMEAS BOVINAS
EM ANESTRO**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, para a obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias, Área de Patologia Animal.

Orientadora: Prof.^ª Dr.^ª Eunice Oba

CURITIBA

2000



PARECER

A Comissão Examinadora da Defesa de Tese da Candidata ao Título de Mestre em Ciências Veterinárias. Área Patologia Veterinária **DENISE MARIS LEBEDENCO BARBOSA** após a realização desse evento, exarou o seguinte Parecer:

1) A Tese, intitulada **“ASPECTOS BACTERIOLÓGICOS, CLÍNICOS E FISIOLÓGICOS DE FÊMEAS BOVINAS EM ANESTRO”** foi considerada, por todos os Examinadores, como um louvável trabalho, encerrando resultados que representam importante progresso na área de sua pertinência.

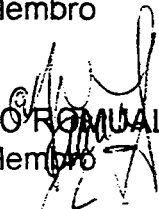
2) A Candidata se houve muito bem durante a Defesa de Tese, respondendo a todas as questões que foram colocadas.

Assim, a Comissão Examinadora, ante os méritos demonstrados pela Candidata, atribuiu o conceito “B” concluindo que faz jus ao Título de Mestre em Ciências Veterinárias, Área de Patologia Veterinária.

Curitiba, 21 de junho de 2000.


Prof. Dr. LUIZ ERNANDES KOZICKI
Presidente/Orientador


Prof. Dr. ALMIR ANTONIO URBANETZ
Membro


Prof. Dr. ROMILDO ROMUALDO WEISS
Membro

Ao meu marido, André, e minha filha
Giovanna, pelos momentos de convívio
que nos foram roubados e pelo estímulo
e compreensão recebidos,
OFEREÇO

A meus pais Anatoli e Vanda Lúcia Lebedenco,
pela herança mesclada de força, coragem,
tranqüilidade e paz,
DEDICO.

Agradecimentos

À Deus, pois sem sua graça e misericórdia eu não teria chegado ao final desta jornada.

À Universidade Federal do Paraná pela oportunidade concedida para realização do curso.

À CAPES, pela bolsa concedida.

Ao departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária da FMVZ – UNESP – Botucatu, pelo apoio financeiro do projeto.

À Professora Dra. Eunice Oba, pela orientação, apoio, estímulo, paciência e amizade.

Ao Professor Dr. Luiz Ernandes Kozicki, pela co-orientação e confiança depositada.

À Professora Dra. Noeme Souza Rocha pelos exames histológicos, fotos de microscopia e informações técnicas, Professor Hélio Langoni pela colaboração nos exames microbiológicos e leptospíricos, Professoras Sueli Mogami Bomfim e Regina Kiomi Takahira e à funcionária Sueli Emílio pelo processamento dos exames laboratoriais, e Professor Alcides de Amorim Ramos pela análise estatística.

Agradecimentos

Aos médicos veterinários Angel Onel Santana Bolívar e Luís Fernando Uribe Velásques pelo auxílio nas colheitas e processamento do material.

Às funcionárias do laboratório de medicina nuclear da faculdade de Medicina da UFPR e do Departamento de Reprodução animal e Radiologia Veterinária pelas dosagens hormonais.

SUMÁRIO:

LISTA DE FIGURAS	8
LISTA DE TABELAS	9
Resumo	11
<i>Abstract</i>	13
1. INTRODUÇÃO	15
2. REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1 – Bacteriologia Uterina	20
2.2 – Sorologia para Leptospirose.....	24
2.3 – Hemograma.....	28
2.4 – Proteínas Plasmáticas Totais e Fibrinogênio Total...30	
2.5 – Macroelementos do Soro Sangüíneo.....	32
2.6 – Hormônios da Reprodução.....	35
2.7 – Histologia Uterina.....	40
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	44
3.1 – Animais.....	45
3.2 – Colheita e Processamento do Material Biológico.....46	
3.2.1. Bacteriologia Uterina.....	47
3.2.2. Colheita de Sangue.....	48
3.3 – Sorologia para Leptospirose.....	48
3.4 – Hemograma.....	49
3.5 – Determinações de Cálcio, Fósforo, Magnésio, Sódio e Potássio.....	50
3.6 – Dosagem Hormonal.....	50
3.7 – Análise Histológica.....	51

3.8 – Análise dos Dados.....	52
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	54
4.1 – Bacteriologia Uterina.....	55
4.2 – Sorologia para Leptospirose.....	59
4.3 – Hemograma.....	62
4.4 – Proteínas Plasmáticas Totais e Fibrinogênio Total..	66
4.5 – Macroelementos do Soro Sangüíneo.....	67
4.6 – Hormônios da Reprodução.....	69
4.6.1. Estradiol.....	69
4.6.2. Progesterona.....	70
4.7 – Histologia Uterina.....	71
5. CONCLUSÕES.....	77
6. APÊNDICE.....	81
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	87

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 – Fêmea bovina: mucosa uterina. Fase estrogênica: infiltrado inflamatório, edema, hemorragia, epitélio alto e dilatação glandular.(HE-200X).....74
- FIGURA 2 – Fêmea bovina: mucosa uterina. Anestro: infiltrado inflamatório, fibroblasto, hemorragia, epitélio baixo e ausência de glândulas. (HE – 200X).....75
- FIGURA 3 – Fêmea bovina: mucosa uterina. Anestro: infiltrado inflamatório, fibroblasto, esclerose vascular e ausência de glândulas. (HE – 200X).....76

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Critério histológico de análise do endométrio de bovinos.....	52
TABELA 2 – Resultados microbiológicos uterinos de fêmeas bovinas em anestro (n=49).....	56
TABELA 3 – Sensibilidade microbiana “ <i>in vitro</i> ” (%) e drogas que melhor agiram contra microorganismos da flora uterina de vacas em anestro (n=49).....	58
TABELA 4 – Resultados da titulação para a prova de soroaglutinação microscópica com diferentes sorovares de leptospira, em vacas em anestro da raça holandesa (n=49).....	60
TABELA 5 – Resultados da titulação para a prova de soroaglutinação microscópica com diferentes sorovares de leptospira, em fêmeas bovinas cíclicas normais da raça holandesa (n=12).....	61
TABELA 6 – Valores médios e erros padrão de constituintes do sangue de vacas em anestro (G1/ n=49) e cíclicas (G2/ n=12).....	63
TABELA 7 – Correlações entre os constituintes sangüíneos de reprodutoras em anestro e normais e o seu nível de significância.....	65
TABELA 8 – Valores médios e erros padrão de minerais do soro sangüíneo de vacas em anestro (G1/ n=49) e normais (G2/ n=12).....	67
TABELA 9 – Correlações entre os macroelementos minerais do soro sangüíneo analisados em reprodutoras em anestro e o seu nível de significância.....	69

Lista de Tabelas

TABELA 10 - Valores médios e erro padrão do hormônio estradiol no soro sangüíneo de vacas em anestro e vacas cíclicas normais, em pg/dL.....	70
TABELA 11 - Valores médios e erro padrão do hormônio progesterona no soro sangüíneo de vacas em anestro e vacas cíclicas normais, em ng/mL.....	71

RESUMO:

Os objetivos deste trabalho foram estudar os aspectos bacteriológicos, clínicos e fisio-histológicos de 61 fêmeas bovinas da raça Holandesa preta e branca, em anestro, todas com mais de 90 dias pós-parto, e doze fêmeas apresentando ciclos estrais normais. Avaliou-se a microflora uterina, pesquisa de aglutininas anti-leptospira, quadro hematológico, concentração de macroelementos minerais, níveis sorológicos de estradiol e progesterona e as alterações histológicas no endométrio. No exame bacteriológico foram encontrados com maior frequência os microorganismos

Streptococcus sp. α-hemolítico, *Staphylococcus sp. não-hemolítico*, *Escherichia coli*, *Corynebacterium sp.* e *Streptococcus sp.* Estes agentes foram mais sensíveis aos antibióticos Gentamicina, Cefalosporina e Nitrofurantoína. Na pesquisa de aglutininas anti-leptospíricas, a maioria das amostras revelou reação positiva (57,37 %). Os valores médios e desvio padrão dos constituintes do sangue de fêmeas em anestro foram: hemácias $5,92 \pm 1,12 \times 10^6 \text{ mm}^3$; hemoglobina $9,24 \pm 0,14 \text{ g/dL}$; volume globular $27,22 \pm 0,42 \%$; leucócitos $13,59 \pm 0,49/\text{mm}^3$; segmentados $27,65 \pm 1,40 \%$; linfócitos $61,63 \pm 1,90 \%$; eosinófilos $5,72 \pm 0,72 \%$; basófilos $0,30 \pm 0,08 \%$; monócitos $4,70 \pm 0,61 \%$; proteína total $8,13 \pm 0,07 \text{ g/dL}$ e fibrinogênio $489,13 \pm 24,88 \text{ mg/dL}$. Para os macromelementos minerais do soro sanguíneo os níveis médios e desvio padrão em vacas em anestro foram: cálcio $11,17 \pm 0,36 \text{ mg/dL}$; fósforo $5,90 \pm 0,29 \text{ mg/dL}$; magnésio $3,57 \pm 0,17 \text{ mg/dL}$; sódio $178,24 \pm 2,51 \text{ mEq/L}$ e potássio $6,00 \pm 0,13 \text{ mEq/L}$. Os valores para o grupo controle foram: cálcio $9,94 \pm 0,72 \text{ mg/dL}$; fósforo $7,51 \pm 0,60 \text{ mg/dL}$; magnésio $2,97 \pm 0,34 \text{ mg/dL}$; sódio $176,58 \pm 5,08 \text{ mEq/L}$ e potássio $5,23 \pm 0,27 \text{ mEq/L}$. O nível sorológico do estradiol em vacas em anestro foi de $19,89 + 2,18 \text{ pg/dL}$, e para vacas cíclicas, $19,06 + 4,82 \text{ pg/dL}$. Quanto à progesterona, a concentração sérica foi de $1,69 + 0,22 \text{ ng/mL}$ para vacas em anestro e de $0,35 + 0,49 \text{ ng/mL}$ para o grupo controle. O endométrio das fêmeas em anestro mostrou-se alterado em 90% delas, apresentando endometrite em graus variados, fibrose periglandular e infiltrado de células mononucleares.

ABSTRACT

The purpose of the present work was to study the bacteriological, clinical and phisio-histological aspects of the 61 female Holstein Friesian breed bovine with anoestrus, all of them with more than 90 days post-partum, and 12 female presenting normal oestrus cycles. The uterine microflora, finding of leptospira in the serum, total blood counts, mineral and hormonal determinations and endometrial histology were evaluated. In the bacteriological exam were founded more often the following microorganisms: microorganismos *Alpha hemolytic streptococci* (AHS), *no hemolytic Staphylococci*, *Escherichia coli*, *Corynebacterium sp.* e *Streptococcus sp.*

These agents were more sensitive to Gentamicin, Cefalosporin and Nitrofurantoína antibiotics. In the finding of agglutinins anti-leptospira, the majority of the samples revealed positive reaction (57,37 %). The average and standard deviation values of the total blood counts in anoestrus cows were: red blood cells $5,92 \pm 1,12 \times 10^6 \text{ mm}^3$; hemoglobin $9,24 \pm 0,14 \text{ g/dL}$; packed cell volume $27,22 \pm 0,42 \%$; white blood cells $13,59 \pm 0,49/\text{mm}^3$; neutrophils $27,65 \pm 1,40 \%$; lymphocytes $61,63 \pm 1,90 \%$; eosinophils $5,72 \pm 0,72 \%$; basophils $0,30 \pm 0,08 \%$; monocytes $4,70 \pm 0,61 \%$; total protein $8,13 \pm 0,07 \text{ g/dL}$ e fibrinogen $489,13 \pm 24,88 \text{ mg/dL}$. To minerals in the blood serum the average and standard deviation in anoestrus cows were: calcium $11,17 \pm 0,36 \text{ mg/dL}$; inorganic phosphorus $5,90 \pm 0,29 \text{ mg/dL}$; magnesium $3,57 \pm 0,17 \text{ mg/dL}$; sodium $178,24 \pm 2,51 \text{ mEq/L}$ and potassium $6,00 \pm 0,13 \text{ mEq/L}$. The values to control group were: calcium $9,94 \pm 0,72 \text{ mg/dL}$; inorganic phosphorus $7,51 \pm 0,60 \text{ mg/dL}$; magnesium $2,97 \pm 0,34 \text{ mg/dL}$; sodium $176,58 \pm 5,08 \text{ mEq/L}$ e potassium $5,23 \pm 0,27 \text{ mEq/L}$. The serum levels of the oestradiol in anoestrus cows was of $19,89 + 2,18 \text{ pg/dL}$, and to cyclic cows, $19,06 + 4,82 \text{ pg/dL}$. To progesterone, the serum concentration was of $1,69 + 0,22 \text{ ng/mL}$ to anoestrus cows and of $0,35 + 0,49 \text{ ng/mL}$ to control group. The endometrium of anoestrus cows has showed changed in 90% of them, presenting endometritis in variated grades, periglandular fibrosis and infiltrate of mononuclear cells.

Introdução

1. INTRODUÇÃO

A atividade das gônadas e glândulas acessórias é influenciada direta ou indiretamente por fatores hereditários, ambientais e nutricionais, enquanto que o ciclo reprodutivo é regulado por interações entre o hipotálamo, hipófise e gônadas, levando a um sincronismo da atividade sexual. Essa atividade sexual é controlada, em grande parte, pelos hormônios gonadotróficos hipofisários que, por sua vez, são comandados pelo hipotálamo, através dos hormônios liberadores. A função reprodutora é controlada por mecanismos endócrinos, e qualquer interferência, seja ela por fatores nutricionais, de manejo ou

Introdução

desequilíbrio hormonal acarretará uma menor resposta ovariana, afetando o estro e contribuindo para o aparecimento de anestro, principalmente, em vacas pós-parto.

Muitos pontos básicos relacionados à fertilidade e à infertilidade da fêmea ainda são bastante complexos, e os problemas na esfera reprodutiva continuam sendo um fator limitante que prejudica a criação do gado leiteiro.

O anestro é uma das principais causas de baixa fertilidade em vacas leiteiras, afetando 13 a 73% dos animais do rebanho, e acarretando um prejuízo econômico pelo fato de aumentar o intervalo entre partos e, conseqüentemente, diminuir o número de crias e a produção láctea no tempo de vida útil do animal.

As vacas leiteiras geralmente exibem ovulação pós-parto aproximadamente em 20 a 45 dias pós parto, e manifestam o estro com cerca de 30 a 72 dias pós-parto, embora algumas, ao redor de 7%, apresentam falha na função ovariana por períodos consideravelmente longos (WEBB *et al.*, 1980).

As vacas de produção elevada consomem mais alimento que as de baixa produção, mas ainda assim não conseguem ingerir quantidade de alimento suficiente para sua produção e manutenção, perdendo peso até 60 a 90 dias pós-parto. As fêmeas de alto potencial leiteiro podem apresentar alterações no rúmen no período seco, reduzindo a capacidade absorptiva do órgão no início da lactação. Este fato, associado à subnutrição acarreta grande perda de peso, podendo produzir uma inatividade ovariana e queda na produção de leite. Esta inatividade ovariana é o anestro, que significa ausência de estro ou do ciclo estral e, geralmente, o animal não manifesta os sinais externos que caracterizam o estro.

Aos problemas de manejo atribui-se 90% dos casos de anestro em vacas leiteiras, embora as causas destes problemas sejam diversas e complexas,

Introdução

assim como as causas fisiológicas, endócrinas, nutricionais, genéticas, infecciosas, parasitárias e ambientais.

O restabelecimento rápido de ciclos ovarianos para a ocorrência do ciclo estral é a meta que todos os criadores de animais leiteiros e de corte desejam. Assim, constituíram-se em objetivos do presente trabalho estudar os aspectos bacteriológicos do útero e a pesquisa de anticorpos anti-leptospira, bem como o estudo do comportamento de hemogramas, macroelementos, determinação dos hormônios estradiol e progesterona, como também o exame histológico do endométrio de fêmeas bovinas em anestro.

*Revisão de
Literatura*

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 - Bacteriologia Uterina

Nos rebanhos leiteiros, os problemas de infertilidade ocasionam severas perdas econômicas. O aumento do intervalo entre partos e a repetição de serviços são conseqüências freqüentes das infecções uterinas pós-parto, retenções de placenta e seqüelas de distocia, ocorrendo infertilidade. As infecções do aparelho genital feminino acarretam prejuízos principalmente ao rebanho leiteiro, levando a processos inflamatórios generalizados.

Estudos realizados por JOHANNNS *et al.* (1967) e ELLIOTT *et al.* (1968) mostraram que 85 a 93 % das vacas apresentaram infecções uterinas duas semanas

Revisão de Literatura

pós-parto, assinalando que somente cinco a nove por cento estão infectadas aos 46-60 dias.

SAGARTZ e HARDENBROOK (1971) observaram, num estudo clínico, bacteriológico e histológico em 147 vacas inférteis de várias raças, entre os dias 13 e 20 do ciclo estral, um crescimento bacteriano em 61,9 % dos animais. O diagnóstico clínico de metrite ou cervicite, em 114 animais, foi associado com cultivo bacteriano positivo em 64 %. Os agentes bacterianos mais freqüentes foram: *Staphylococcus sp.* (associado com endometrite moderada), *Corynebacterium sp.* (endometrite severa e moderada), e *Escherichia coli* (endometrite moderada). Como houve prevalência das lesões histopatológicas no endométrio (90 %) sobre a porcentagem de bactérias isoladas (61,9 %), os autores chegaram à conclusão que existem outros fatores além das infecções bacterianas que diminuem a fertilidade.

STUDER e MORROW (1978), em 113 isolamentos bacteriológicos, realizados no período de 28 a 35 dias pós-parto em vacas holandesas, constataram que 83 isolamentos consistiam de *Corynebacterium pyogenes* (15,93 %), ou coliformes (36,28 %), ou *Streptococcus* (21,24 %), ou combinações entre esses agentes. *Corynebacterium pyogenes*, comparado com outras bactérias, foi o mais severo patógeno do trato reprodutivo das fêmeas pois, correlacionado com achados uterinos, este agente estava associado ao mais alto valor de inflamação do útero.

VLCEK e SVOBODOVÁ (1985), analisando o muco cervical de 282 vacas no puerpério (12 a 80 dias pós-parto), encontraram contaminação bacteriana em vacas com o ciclo reprodutivo ainda não restabelecido (62,16 %), em vacas com anestro pós-parto patologicamente longo (60 %). Em vacas com ciclo estral regular, apenas 35,36 % (proestro e estro) a 40,90 % (metaestro e diestro) possuíam contaminação bacteriana. Além disso, os resultados mostraram que o número de

Revisão de Literatura

bactérias é maior em animais de mais de seis anos (48,78 %) do que em animais mais jovens, de dois a cinco anos (37,87 %). Foi realizado também o antibiograma, constatando que o cloranfenicol e a oxitetraciclina mostraram-se mais eficazes (96,37 % e 92,02 %, respectivamente), enquanto que para a estreptomicina e neomicina, as cepas testadas não exibiram boa sensibilidade.

Segundo MESSIER *et al.* (1984), num experimento com 22 vacas leiteiras pós-parto com e sem metrite e *reapet-breedeers*, a *Escherichia coli* representou 32,1% dos agentes aeróbicos ou anaeróbicos facultativos, e *Corinebacterium pyogenes* 28,6 % e *Streptococcus faecalis* 17,9 %, dados similares com os registrados na literatura. As bactérias Gram-negativas (57,1 %) prevaleceram sobre as Gram-positivas (42,9 %). Os autores concluíram que as bactérias anaeróbicas são a maior parte da flora bacteriana encontrada na metrite pós-parto. Concluíram também que parece não existir nenhuma correlação com a presença ou severidade de lesões histológicas e isolamento de uma ou mais espécies específicas de microorganismos. A única correlação que poderia ser encontrada entre lesões endometriais e isolamento bacteriano foi uma em que a bactéria *C. pyogenes* foi isolada em cultura pura do útero. Além disso, não foi possível estabelecer nenhuma correlação entre o número de bactérias por grama de tecido uterino e a severidade das lesões.

VLCEK *et al.* (1989), realizando um estudo em 73 vacas após um parto difícil e puerpério complicado, observaram 37 (50,68 %) delas com crescimento bacteriano um mês após o parto, e 24 (36,36 %) com crescimento bacteriano dois meses após o parto. Os agentes mais frequentes foram *Actinomyces pyogenes*, *Staphylococcus aureus* e *beta-streptococci*.

Revisão de Literatura

BONNETT *et al.* (1991), estudando a flora uterina e a correlação entre os achados bacteriológicos e histológicos em útero de vacas no 26° e 40° dia pós-parto, observaram que aproximadamente 80% das biópsias realizadas nesses dias mostraram culturas positivas. Bactérias aeróbicas e anaeróbicas foram isoladas em 11% das biópsias. As bactérias comumente encontradas foram *Streptococcus sp.*, *Escherichia coli* e *Corynebacterium pyogenes*. O isolamento de *Corynebacterium pyogenes* esteve fortemente correlacionado ao isolamento de bactérias anaeróbicas e à presença de células inflamatórias (segmentados) no 26° dia, e ao subsequente isolamento de *Corynebacterium pyogenes* no 40° dia. Uma associação foi notada entre o isolamento de bactérias anaeróbicas, bem como de *Corynebacterium pyogenes* no 26° dia, e um aumento de lesões uterinas no 40° dia. O isolamento de *Streptococcus* alfa-hemolítico esteve correlacionado com o isolamento de *Corynebacterium pyogenes* e inflamação. *Corynebacterium pyogenes* e *Streptococcus* alfa-hemolítico apresentaram associação negativa com células mononucleares e focos de linfócitos.

CAMPERO *et al.* (1992) examinaram 69 vacas Holando-argentinas, com história reprodutiva de baixa fertilidade, tendo parido no mínimo uma vez e com, pelo menos, um cio pós-parto observado. Desses animais, 46 (66,7 %) apresentaram endometrite, cervicite e/ou vaginite em graus distintos, e 27 (39,1 %) com cultivo bacteriológico positivo. *Haemophilus somnus* foi o microorganismo mais encontrado (48,1 %) nos casos de cervicite e endometrite, seguindo *Corynebacterium pyogenes* (25,9 %), *Pasteurella multocida* (18,5 %), *Escherichia coli* (7,4 %) e *Pasteurella haemolytica* (3,7 %). A partir das cepas dos três agentes mais freqüentes foi realizada a prova de sensibilidade antimicrobiana, utilizando 16 antibióticos e antimicrobianos. As cepas foram resistentes às sulfamidas e neomicina; apresentaram resistência parcial às tetraciclina e penicilina. As

Revisão de Literatura

sensibilidades à ampicilina, cloranfenicol, colistina e gentamicina foram comuns a todas as cepas.

2.2 – Sorologia para Leptospirose

As infecções pela bactéria *leptospira* ocorrem com frequência no rebanho bovino, e em várias regiões do mundo é endêmica. Esta zoonose afeta o desempenho reprodutivo do animal, com importante prejuízo econômico devido ao aborto e natimortos, que aumenta o intervalo entre partos e diminui a produção láctea.

DURFEE e ALLEN (1980) investigaram a presença de títulos sorológicos em rebanhos com *Leptospira interrogans* sorovar *hardjo* durante um período de 63 semanas, em soros de 104 vacas das raças holandesa e Jersey com sinais de mastites, submetidos a provas de aglutinação microscópicas, com o objetivo de identificar títulos de anticorpos frente ao sorovar *hardjo* durante seis, 33 e 63 semanas após iniciado o surto. A prevalência de títulos de anticorpos para sorovar *hardjo* após seis semanas do surto foi mais alta (94,3%) no grupo dos animais jovens (vacas de uma a três lactações) do que no grupo dos animais com seis ou mais lactações (31,2%). Porém, na 63^o semana, esses títulos declinaram em 54 (87%) das 62 vacas positivas, permaneceram inalterados em seis (10%) e houve uma elevação em dois animais (3%). Estes achados indicam que os perfis sorológicos podem ser um método útil de confirmar a infecção com *L. hardjo*, em rebanhos com surtos recentes da infecção.

Revisão de Literatura

MILNER *et al.* (1980), estudando a prevalência de anticorpos anti-leptospira no soro de 1144 bovinos, constataram que 44,3% destes animais mostravam evidência sorológica de infecção com *leptospira* do sorogrupo *hebdomadis*, e enfatizaram o risco potencial para pessoas com contato ocupacional com o gado.

ELLIS *et al.* (1982) encaminharam amostras de soro de 305 vacas com história de aborto, colhidos no primeiro e décimo-quarto dia após o aborto. O diagnóstico de infecção por *leptospira* foi confirmado em 149 fetos destas vacas, por meio de sorologia, cultura e imunofluorescência direta. Anticorpos anti-leptospira foram detectados em 192 (62,9%) vacas, testando a primeira amostra do soro. Os anticorpos para o sorovar *hardjo* predominaram em 184 (60,3%) dos 192 soros positivos. Nos restantes oito soros positivos, os altos títulos foram encontrados para o sorovar *icerohaemorrhagiae*. Além disso, 98% das vacas tinham títulos semelhantes nas amostras de soro do primeiro e 14º dia. Os autores encontraram uma pequena correlação entre a presença de anticorpos maternos detectáveis e a infecção fetal observada neste estudo (22,8% das vacas que abortaram fetos infectados não possuíam anticorpos séricos detectáveis na soroaglutinação microscópica).

THIERMANN e GARRETT (1983) analisaram os testes soroaglutinação microscópica (SAR) e Ensaio imunossorvente ligado à enzima (ELISA) e constataram que o ELISA é altamente sensível, porém nenhum resultado falso positivo foi obtido ao testar amostras reconhecidamente negativas com a SAR. Os autores realizaram testes no dia da última vacinação, 15 dias após e 180 dias após essa vacinação, para os sorovares *hardjo* e *pomona*. No dia da vacinação, não houve nenhum animal positivo, mas 15 dias após, existiram 52,4%

Revisão de Literatura

de positivos para *hardjo* e 52,4% também para *pomona*. Após 180 dias da vacinação, apenas 15% foram positivos para *pomona* e nenhum para *hardjo*, no teste de soroaglutinação.

ELDER *et al.* (1985) investigaram dois sorovares de leptospira quanto à associação com o aborto bovino, usando o teste de soroaglutinação microscópica. Foram utilizadas 5040 vacas de corte e 3585 vacas leiteiras, sendo que 8% das vacas de corte e 27% das leiteiras tinham abortado aos três meses ou mais durante a gestação. A diferença nessa incidência de aborto provavelmente ocorreu devido ao manejo do animal leiteiro. Conforme relatado por estes autores, *L. pomona* apresentou uma maior influência que *L. hardjo* na probabilidade de causa de aborto. Foi registrada uma diferença na prevalência sorológica de leptospira entre vacas leiteiras e de corte. Essa diferença, talvez, seja devida a um contato maior e mais precoce das novilhas antes de estarem aptas à reprodução com as vacas mais velhas, tornando aquelas mais resistentes à infecção.

ELLIS *et al.* (1985) realizaram um estudo infectando experimentalmente 12 novilhas com *Leptospira interrogans* sorovar *hardjo*, para posteriormente examinar se esta bactéria é excretada na descarga vaginal após o aborto ou parto. Verificaram que este sorovar pode ser encontrado até 91 dias da infecção e 22 dias após o parto, e que todas as fêmeas apresentaram a bactéria na descarga vaginal.

KINGSCOTE (1985), realizou o teste de soroaglutinação microscópica (SAR), cultura bacteriológica e exame histológico em animais de um rebanho infectado com *L. hardjo*. Nove animais (sete touros e duas vacas) foram testados para leptospirose (SAR) seis meses antes e no momento do abate. Destes animais, somente três foram considerados negativos aos seis meses antes do abate, e no abate, apenas dois negativos. Foi realizada a cultura do fluido cérebro espinhal e rins, e o

Revisão de Literatura

sorovar *hardjo* encontrado em cinco rins e um fluido cérebro-espinhal, confirmando o teste pela cultura em cinco animais. Na histopatologia foram observados focos microscópicos de nefrite de variada severidade em todos os rins e grande quantidade de leucócitos mononucleares (observada uma marcante infiltração de leucócitos polimorfonucleares em um touro com título de 1/20000).

HATHAWAY *et al.* (1986) relataram, na Nova Zelândia, num período de dois anos de amostragem, que há uma considerável variação na prevalência dos títulos de *hardjo* conforme o período do ano (de 38,8% em março até 76,2% em novembro), com os mais altos níveis sendo detectados no mês de novembro de cada ano. Tais variações foram devidas, primariamente, às mudanças de manejo e na composição etária do rebanho, além de influências sazonais na transmissão da infecção.

KINGSCOTE (1988), estudando a prevalência de anticorpos para *Leptospira interrogans* sorovares *hardjo* e *pomona* pelo teste de soroaglutinação microscópica, encontrou uma porcentagem de 8,3 % e 0,5 %, respectivamente, em fêmeas bovinas adultas no Estado de Alberta, Canadá. A prevalência do sorovar *hardjo* tem aumentado significativamente desde 1980-82, e anticorpos foram encontrados em muitas cidades do Estado. A prevalência de anticorpos para o sorovar *icterohaemorrhagiae* foi de 0,4 % em Alberta no ano de 1980, e foram obtidas evidências, através de imunofluorescência, da presença de leptospirose para esse sorovar em tratos urinários de bovinos e suínos.

MILLER *et al.* (1991) relacionaram a prevalência de *Leptospira interrogans* no gado com fatores regionais, climáticos e sazonais, em várias regiões dos Estados Unidos, e encontraram uma porcentagem significativamente mais alta ($P < 0,001$) no soro do gado da região sudeste (60 %), centro sul (60 %) e na costa do

Revisão de Literatura

pacífico (65 %). A soroprevalência para as estações do verão, outono e inverno também foram significativamente mais altas ($P < 0,001$) do que a soroprevalência para a primavera. O sorovar *hardjo-bovis* A foi o mais encontrado. A taxa de isolamento pareceu estar mais relacionada à temperatura regional do que à quantidade de precipitação.

2.3 - Hemograma

A importância dos estudos hematológicos nos animais domésticos está bem estabelecida. Na espécie bovina, em condições clínicas normais, o hemograma indica o status nutricional e a capacidade de produção do animal, enquanto que, na enfermidade, é um importante auxílio de diagnóstico, prognóstico e na avaliação de um tratamento adequado.

PATEL *et al.* (1964), analisando constituintes hematológicos no gado Gir, verificaram que o sangue dos bezerros, no qual a contagem total de eritrócitos variou entre 7,2 a 8,0 milhões/ cm^2 , é mais rico que o sangue de animais adultos, onde esta apresentou-se em torno de 6,3 (vacas) a 6,7 milhões (touro) de eritrócitos. Ocorreu o mesmo para o número total de leucócitos, que foi de 14,2 milhões/ cm^2 nas vacas. A taxa média de hemoglobina foi maior nos animais adultos (vacas: $10,4 \pm 0,28$ g %) do que nos mais jovens ($9,1 \pm 0,21$ g %). Quanto ao diferencial de leucócitos, as vacas Gir apresentaram uma média de $35,0 \pm 1,1$ % para polimorfos; de $7,0 \pm 0,7$ % para eosinófilos; de $54,0 \pm 1,3$ % para linfócitos e de $4,0 \pm 0,4$ % para monócitos.

Revisão de Literatura

TALVELKAR *et al.* (1980), num estudo hematológico comparando vacas em lactação e da raça Gir e mestiças ($\frac{1}{2}$ Jersey e $\frac{1}{2}$ Holandesa), encontraram um número de eritrócitos ($6,43 \pm 0,48$ milhões/ mm^3) e hemoglobina ($10,58 \pm 0,33$ gm %) na raça Gir, que são ligeiramente mais baixos do que no gado mestiço (eritrócitos em $6,97 \pm 0,21$ milhões/ mm^3 e hemoglobina em $10,79 \pm 0,24$ gm %). Essa diferença no entanto, não chega a ser significativa e, geralmente, é devida a fatores nutricionais, ambientais e de manejo. A taxa de leucócitos também foi ligeiramente mais alta nas vacas mestiças. A contagem média de linfócitos nas vacas Gir foi de $77,4 \pm 1,85$ %, e nas mestiças, de $73,4 \pm 1,64$ %. Conforme PENNALE e CHRISTIE (1969), os altos valores no número de linfócitos associados com os altos níveis de imunoglobulinas plasmáticas no gado tropical, pode ser um mecanismo fisiológico para a adaptação ao clima tropical. A diferença no número de neutrófilos entre vacas Gir ($18,70 \pm 1,54$ %) e mestiças ($23,60 \pm 1,62$ %) não chega a ser significativa no estudo. As vacas Gir e mestiças apresentaram valores semelhantes na contagem de eosinófilos de $1,70 \pm 0,48\%$ e de $1,90 \pm 0,36\%$, respectivamente, e monócitos de $1,40 \pm 0,17\%$ e de $1,00 \pm 0,14\%$, respectivamente. Não foram detectados basófilos.

MARÇAL (1989), estudando o eritrograma de fêmeas bovinas sadias da raça Holandesa preta e branca, divididas em várias faixas etárias, no Estado de São Paulo, encontrou a média geral de $6,42 \pm 1,06 \times 10^6/\text{mm}^3$ para as hemácias; $30,12 \pm 2,72\%$ para o volume globular; $10,09 \pm 0,98$ g/dL para a hemoglobina; $17,75 \pm 6,69$ μ^3 para VCM (volume corpuscular médio); $16,03 \pm 2,56$ pg para HCM (concentração média de hemoglobina presente na hemácia) e $33,54 \pm 2,20\%$ para CHCM (porcentagem de hemoglobina presente na hemácia). O autor demonstrou haver influência de idade sobre o eritrograma dos bovinos, sendo os maiores valores

Revisão de Literatura

para o número de hemácias, taxa de hemoglobina e volume globular encontrados nos animais jovens. Este mesmo autor observou uma diminuição de hemácias até os 24 meses de idade, quando esses valores estabilizaram-se.

KUMAR e SHARMA (1991) observaram a concentração de hemoglobina, entre outros constituintes do sangue, de vacas com estros férteis e não férteis. O valor médio de hemoglobina nos estros férteis foi de $11,71 \pm 0,21$ g/dL, significativamente maior ($P < 0,05$) em relação à média nos estros não férteis, que foi de $10,21 \pm 0,03$ g/dL.

2.4 - Proteínas plasmáticas totais e fibrinogênio total

MYLREA e HEALY (1968) analisaram fêmeas de 5 rebanhos leiteiros, observando concentração média de proteínas séricas totais de $6,6 \pm 0,64$ g/100 mL em bezerras; nas desmamadas de $6,6 \pm 0,51$ g/100 mL; em novilhas com $6,9 \pm 0,66$ g/100 mL; e em vacas de $7,9 \pm 0,64$ g/100 mL. Estes autores demonstraram que existe uma pequena diferença na concentração média de proteínas totais entre os rebanhos. Por outro lado, verificaram um aumento progressivo dessa concentração de proteínas conforme a idade.

NAKAO *et al.* (1976), determinaram as concentrações de proteínas totais em diferentes disfunções clínicas ovarianas, como estro contínuo ($7,6 \pm 0,8$ g/dL), estro irregular ($7,6 \pm 0,4$ g/dL), anestro por ovário cístico ($7,6 \pm 0,8$ g/dL), anestro por hipofunção ovariana ($7,2 \pm 0,4$ g/dL), estro silencioso por hipofunção ovariana ($6,8 \pm 0,4$ g/dL), corpo lúteo persistente ($6,9 \pm 0,4$ g/dL), atrofia ovariana ($6,4$ g/dL)

Revisão de Literatura

e controle ($7,0 \pm 0,6$ g/dL). Os animais com doença cística ovariana (estro contínuo, estro irregular, anestro por ovário cístico) mostraram significativamente valores altos de proteína sérica total em relação a outros grupos.

SAMAD *et al.* (1980) estudaram alguns constituintes do sangue em três grupos distintos: novilhas em anestro, com hipoplasia genital, as quais nunca entraram na fase estral; vacas com anestro pós-parto de mais de um ano, e grupo controle, com vacas ciclando normalmente. Os níveis médios de proteínas séricas totais das novilhas foi de $5,62 \pm 0,70$ mg/100 mL e das vacas em anestro de $6,25 \pm 0,29$ mg/100 mL, os quais apresentaram uma diferença significativa entre eles, mas não diferiram significativamente das vacas normais ($6,10 \pm 0,36$ mg/100 mL).

KUMAR *et al.* (1986), analisando constituintes bioquímicos em vacas e novilhas normais, em anestro e repetidoras de estro, observaram uma significativa redução no nível de proteínas séricas totais no grupo de vacas repetidoras de estro, com valo médio de $6,54 \pm 0,14$ mg/100 mL e em anestro de $6,48 \pm 0,20$ mg/100 mL.

DUTTA *et al.* (1988), num estudo em novilhas em anestro e cíclicas, verificaram que os níveis de proteínas séricas encontradas foram significativamente mais altos em novilhas normais ($8,76 \pm 0,30$ g/100 mL), comparadas às em anestro ($6,58 \pm 0,42$ g/100 mL). DUTTA *et al.* citam que outros pesquisadores também detectaram este componente em níveis baixos no sangue de animais em anestro.

TEGEGNE *et al.* (1993), analisando metabólitos sanguíneos em vacas Zebu em diferentes regimes de nutrição e amamentação, encontraram uma concentração média de proteínas plasmáticas totais de 7,9 g/ dL (variando entre 3,3 e 10,5 g/ dL). Diminuições nessa concentração foram encontradas na oitava, décima e

décima-sexta semana pós-parto, enquanto elevações foram notadas nas décima-segunda, décima-nona e vigésima-nona semana pós-parto, embora sem significância.

2.5 - Macroelementos do Soro Sangüíneo

TUMBLESON *et al.* (1973) avaliaram o efeito da idade sobre concentrações de eletrólitos séricos em vacas leiteiras da raça Holandesa e Guernsey, com idade entre um mês e 16 anos. As concentrações de cálcio e fósforo sérico diminuíram significativamente com o avanço da idade, com redução mais marcante do fósforo (de $9,83 \pm 0,28$ mg/dL com seis meses de idade até $5,08 \pm 0,91$ mg/dL aos 10 anos), fazendo com que a relação Ca: P aumentasse com significância de $P < 0,001$. Quanto à média do sódio sérico, não houve diferenças de concentração conforme a idade ou a raça, e a média dos valores de potássio sérico diminuiu significativamente até aos dois anos de idade (de $4,77 \pm 0,14$ mEq/L com seis meses de idade até $4,06 \pm 0,08$ mEq/L aos dois anos), e depois disso permaneceu estável.

MURTUZA *et al.* (1979), observando a concentração de alguns minerais no gado Harijana, selecionou diferentes estados fisiológicos para o seu estudo: novilhas, vacas secas vazias, vacas em prenhez tardia e vacas em lactação precoce. Os valores médios das concentrações de cálcio foram: $10,22 \pm 0,15$; $10,01 \pm 0,23$; $11,22 \pm 0,40$ e $9,85 \pm 0,10$ mg/dL, respectivamente. No caso do fósforo, as médias foram de $4,40 \pm 0,17$; $3,41 \pm 0,22$; $5,24 \pm 0,43$ e $3,44 \pm 0,13$ mg/dL, respectivamente. O magnésio apresentou médias de $2,09 \pm 0,03$; $2,80 \pm 0,08$; $2,17 \pm 0,09$ e $2,28 \pm 0,12$ mg/dL, respectivamente. As médias de sódio nos quatro estágios estudados

Revisão de Literatura

foram $154,71 \pm 3,5$; $142,74 \pm 1,34$; $139,87 \pm 1,18$ e $133,87 \pm 3,31$ mEq/L, respectivamente, e as médias de potássio, na mesma seqüência, foram de : $4,32 \pm 0,12$; $4,58 \pm 0,15$; $4,27 \pm 0,15$ e $4,89 \pm 0,09$ mEq/L.

SAMAD *et al.* (1980) verificaram uma diferença significativa nos níveis de fósforo inorgânico entre novilhas ($3,31 \pm 0,37$ mg/100 mL) e vacas em anestro ($3,34 \pm 0,62$ mg/100 mL), comparados ao grupo controle ($4,05 \pm 0,43$ mg/100 mL). A deficiência de fósforo inorgânico nestes animais foi, provavelmente, devido à pobre qualidade e baixa quantidade de nutrientes. Uma dieta suplementar é necessária para melhorar a fertilidade dos animais.

SIVAJAH *et al.* (1986) observaram a concentração de cálcio e fósforo sérico em fêmeas bovinas no estro ($8,15 \pm 2,46$ para o Ca e $6,36 \pm 1,50$ mg/dL para o P), próximo ao parto ($7,22 \pm 1,62$ e $5,73 \pm 0,92$ mg/dL, respectivamente), no anestro ($7,48 \pm 2,13$ e $6,21 \pm 1,24$ mg/dL, na mesma seqüência), em recém paridas ($7,24 \pm 1,77$ para o Ca e $7,16 \pm 0,90$ mg/dL para o P) e na prenhez precoce. ($7,04 \pm 2,07$ e $6,42 \pm 1,97$ mg/dL, respectivamente). Em todos estes estágios esses minerais não variaram significativamente, mas os níveis de cálcio ficaram abaixo dos níveis normais.

DUTTA *et al.* (1988), em seus estudos, encontraram uma taxa de fósforo sérico inorgânico significativamente mais baixa nas novilhas em anestro ($2,77 \pm 0,61$ mg/100 mL), do que nas novilhas cíclicas ($4,17 \pm 0,73$ mg/100 mL). Os níveis de cálcio sérico foram $10,73 \pm 0,06$ mg/dL para novilhas em anestro e $11,02 \pm 0,05$ mg/dL para novilhas cíclicas normais, entretanto não houve diferença significativa entre as médias.

Revisão de Literatura

BARUA *et al.* (1988), analisaram as concentrações de sódio e potássio sérico durante o ciclo estral em vacas, e encontraram médias dos valores de sódio variando entre $139,13 \pm 2,28$ a $143,63 \pm 1,89$ mEq/L, colhidos a cada cinco dias do ciclo estral. Os valores de potássio sérico variaram entre $4,53 \pm 0,43$ a $5,48 \pm 0,75$ mEq/L entre os diferentes dias das colheitas. Os resultados não revelaram nenhuma significância.

KUMAR e SHARMA (1991), em seu estudo sobre constituintes bioquímicos do sangue em vacas comaios férteis e não-férteis, relataram valores médios de cálcio e fósforo de $9,14 \pm 0,18$ e $6,44 \pm 0,42$ mg/dL, respectivamente, para vacas comaios férteis. Em vacas comaios não-férteis, os valores foram $8,60 \pm 0,26$ e $4,98 \pm 0,08$ mg/dL, para Ca e P, respectivamente. O fósforo sérico em vacas comaios não-férteis foi significativamente inferior, mas não houve variação significativa no caso do cálcio, apesar da média mais baixa nessas fêmeas.

2.6 - Hormônios da Reprodução

A reprodução é controlada por um mecanismo endócrino complexo, que pode ser influenciado por vários fatores, alterando as taxas de produção, e/ou a liberação dos hormônios da reprodução, com redução dos seus níveis.

GLENCROSS e MUNRO (1974), estudando o padrão hormonal de uma fêmea bovina com cistos ovarianos, e relacionando esse padrão hormonal com seu comportamento sexual ninfomaniaco, encontraram um baixo nível de progesterona plasmática (0,01 ng/mL) e um alto nível de estradiol no plasma (10-12,5 pg/mL no dia do estro e 18 pg/mL quatro dias após).

Revisão de Literatura

NAKAO *et al.* (1976), estudaram diferentes tipos de disfunção clínica ovariana, e verificaram que, em animais com problema cístico no ovário, a média da concentração de progesterona foi de $2,15 \pm 2,71$ ng/mL, e em animais com hipofunção ovariana o nível médio de progesterona foi de $2,34 \pm 2,14$ ng/mL. As vacas do grupo controle na fase folicular e lútea apresentaram níveis de progesterona plasmática de $0,35 \pm 0,20$ e $2,34 \pm 1,14$ ng/mL, respectivamente. Em vacas com sintomatologia de anestro, os níveis de progesterona estiveram entre os valores do grupo controle em fase folicular e do grupo controle na fase lútea.

GOODALE *et al.* (1978), verificando as mudanças hormonais no plasma de vacas leiteiras pós-parto, obtiveram os seguintes resultados: o nível de estradiol plasmático no terceiro dia pós-parto foi de $5,4 \pm 0,5$ pg/mL; no oitavo dia pós-parto foi de $4,4 \pm 0,4$ pg/mL e no décimo terceiro dia pós-parto, de $5,1 \pm 0,6$ pg/mL. Nesses mesmos períodos, foram realizadas as dosagens de progesterona plasmática, apresentando valores de $0,28 \pm 0,02$; $0,13 \pm 0,01$ e $0,16 \pm 0,01$ ng/mL, respectivamente para o terceiro, oitavo e décimo terceiro dia pós-parto. A atividade do 17β - estradiol no plasma foi alta, mas não diferiu entre os dias; porém nenhuma concentração de progesterona plasmática excedeu 1,0 ng/mL em qualquer observação durante o período pós-parto. Segundo estes autores, a concentração mais alta de progesterona no terceiro dia reflete uma secreção residual do corpo lúteo regredido da prenhez.

SCHAMS *et al.* (1978), num estudo sobre perfis hormonais em vacas leiteiras, encontraram valores de progesterona menores que 1 ng/mL imediatamente após o parto. As primeiras elevações acima deste nível consistiram, na maioria dos casos, de ciclos de duração irregular (curto ou

Revisão de Literatura

longo). Somente 28% dos animais mostraram um primeiro ciclo regular ($20,4 \pm 1,9$ dias) com elevados níveis de progesterona por $13 \pm 2,1$ dias. Nos ciclos irregulares, os valores da concentração de progesterona foram mais baixos em relação aos valores dos ciclos regulares ($4,5 \pm 2,5$ contra $6,7 \pm 2,0$ ng/ mL, respectivamente).

FOSTER *et al.* (1980), analisando relações entre concentrações plasmáticas de progesterona e gonadotrofinas em vacas leiteiras nos primeiros dez dias pós-parto, após injeção do hormônio GnRH, observaram um aumento significativo nas concentrações plasmáticas de LH (hormônio luteinizante) e FSH (hormônio folículo-estimulante) em todos os animais, mas apenas uma vaca mostrou um aumento significativo no nível de progesterona (>1 ng/ mL).

HUMBLOT e THIBIER (1980), num estudo de monitoração de progesterona em 450 vacas de um rebanho sessenta dias após o parto, encontraram 29% destas fêmeas apresentando anestro verdadeiro. Esses autores consideraram como anestro verdadeiro animais que apresentaram valores de progesterona abaixo de 2 ng/ mL no plasma em mais de dez dias. Neste estudo, após a constatação do anestro, as vacas foram tratadas com o hormônio GnRH ou prostaglandina $F_{2\alpha}$, que possibilitou diminuir o período não prenhe (intervalo parto-concepção) deste rebanho em dezessete dias.

WEBB *et al.* (1980), realizaram dosagens hormonais em vacas leiteiras no período pós-parto e detectaram que, para a maioria dos animais, o primeiro ciclo ovariano completo foi precedido de um curto período de elevada concentração de progesterona plasmática. Essa elevação, provavelmente, originou-se de folículos luteinizados, conseqüentes da onda de LH, ocorrendo

Revisão de Literatura

quatro a cinco dias antes do aumento da progesterona. Estes autores citam que uma onda de LH não ocorreu quando a progesterona estava elevada no plasma.

HUMPHREY *et al.* (1983) descreveram que níveis de progesterona sérica diminuem de uma média de $2,1 \pm 1,2$ ng/ mL, dois dias antes do parto, para níveis basais de $0,1 \pm 0,1$ ng/ mL no sexto dia pós-parto, e permanecem neste nível até o quarto e quinto dia antes do primeiro estro, em vacas de corte durante o anestro pós-parto. Já os níveis médios de estradiol no soro foram de 113 ± 54 pg/ mL no parto, declinando rapidamente para 7 ± 3 pg/ mL no sexto dia pós-parto, e permanecendo nestes níveis até aumentar para 10 ± 3 pg/ mL antes do primeiro estro pós-parto.

ABEYAWARDENE *et al.* (1984) determinaram concentrações de 17β -estradiol e progesterona no plasma de fêmeas bovinas pós-parto, durante o ciclo estral e após ovariectomia. Durante os primeiros dez dias pós-parto, os níveis de progesterona no plasma apresentaram-se em níveis basais ($< 0,3$ ng/ mL), e os níveis de estradiol diminuíram de 15 pg/ mL para 1 pg/ mL. Nas vacas ovariectomizadas, esses níveis permaneceram basais durante todo o estudo (até vinte e nove dias pós-parto). Nos animais que apresentaram um ciclo estral regular, o estradiol mostrou um pico pré-ovulatório (3,5 a 4,0 pg/ mL) aos treze dias pós-parto e um pico pós-ovulatório (2,0 a 3,5 pg/ mL) após seis a sete dias do primeiro pico, e a progesterona foi aumentando gradualmente após o primeiro pico de estradiol, típico da fase lútea do ciclo estral.

ROCHE *et al.* (1985), conduziram um experimento para determinar as concentrações de LH e progesterona em novilhas prenhes e não prenhes, entre o sétimo dia antes e vigésimo após a inseminação artificial. Concentrações

Revisão de Literatura

sangüíneas de progesterona não foram diferentes antes da inseminação e por dezesseis dias depois da inseminação entre os grupos. Entre o sétimo dia antes da inseminação e o dia da inseminação, os níveis de progesterona declinaram de uma média de 9,0 ng/ mL para 0,6 ng/mL. Quatro dias após a inseminação as concentrações de progesterona elevaram-se novamente para mais de 1 ng/ mL e continuaram até o dia 16 pós-inseminação (7,0 a 9,0 ng/ mL). Nas novilhas não prenhes, após o décimo-sexto dia da inseminação, a concentração de progesterona diminuiu gradativamente.

DAWUDA *et al.* (1988), em vacas zebu nigerianas no período pós-parto (120 dias), verificaram que as concentrações de progesterona apresentaram, em média, níveis basais até o vigésimo dia pós-parto. Das dez vacas estudadas, seis exibiram dois a três ciclos estrais, na maior parte irregulares, e então entraram em anestro, caracterizando o pós-parto nestas vacas por ciclos estrais curtos e irregulares e anestro. No anestro a concentração de progesterona permaneceu abaixo de 0,5 ng/ mL.

DUTTA *et al.* (1992), analisaram a concentração sérica de progesterona em novilhas Jersey em anestro, das quais foram colhidas quatro amostras por animal com cinco dias de intervalo, e apresentaram o seguinte resultado: $0,43 \pm 0,20$; $0,46 \pm 0,12$; $0,44 \pm 0,22$ e $0,48 \pm 0,16$ ng / mL, respectivamente, nas quatro amostras. Nas novilhas normais (grupo controle), foram colhidas amostras no dia do estro, nos 4°, 8°, 13° e 16° dias pós-estro e encontraram os seguintes valores: $0,30 \pm 0,13$; $1,16 \pm 0,30$; $2,80 \pm 1,22$; $5,46 \pm 0,80$ e $4,26 \pm 0,19$ ng / mL, respectivamente. O nível de progesterona aumentou progressivamente entre os dias quatro e treze do ciclo, e depois começou a declinar ($4,26 \pm 0,19$ ng / mL no décimo-sexto dia).

TEGEGNE *et al.* (1993) realizaram dosagens de progesterona em vacas zebu africanas durante o período pós-parto, e até a 12^o semana pós-parto, e os níveis de progesterona apresentaram-se abaixo de 1 ng/ mL em todos os animais. Após 33 semanas, cinco vacas mostraram atividade ovárica com concentração de progesterona acima de 1 ng/ mL em níveis irregulares durante oito a dez dias antes do estabelecimento dos níveis regulares (alcançando 8 a 10 ng/ mL). Neste estudo com vacas em prolongado anestro pós-parto, a falha na concepção e a mortalidade embrionária precoce foram as responsáveis pela baixa eficiência reprodutiva nas vacas zebu.

2.7 - Histologia Uterina

Um ambiente uterino normal é importante na fertilidade bovina, pois o endométrio possui um papel crítico na viabilidade e desenvolvimento do embrião. Problemas após o parto como retenção de placenta e infecções uterinas podem resultar em reações inflamatórias, fibrose periglandular e alterações nas glândulas e vasos uterinos.

SAGARTZ e HARDENBROOK (1971) realizaram uma avaliação clínica, bacteriológica e histológica no aparelho reprodutivo de vacas cíclicas que não conceberam em 2 ou mais inseminações ou coberturas seguidas. Foi constatado uma endometrite crônica leve em 76 % dos achados histopatológicos. Observaram também 14% das vacas com endometrite crônica moderada a severa, 4% com endometrite subaguda branda, 2% com endometrite subaguda moderada a severa, e 3% sem nenhuma alteração histológica. A endometrite severa foi associada com

Revisão de Literatura

Actinomyces spp., e endometrite moderada com *Staphylococcus sp.*, *Actinomyces spp.*, *Escherichia coli* e *Streptococcus sp.* A prevalência de lesões histopatológicas no endométrio foi de 90% nas vacas estudadas (n=147).

STUDER e MORROW (1978) verificaram, em vacas que apresentavam anormalidades do endométrio associadas com infertilidade, alterações histológicas como glândulas císticas com epitélio superficial; infiltração de neutrófilos, eosinófilos, células plasmáticas e macrófagos; acúmulo de folículos linfocíticos e fibrose ou encapsulamento periglandular. A infecção por *Actinomyces pyogenes* provocou inflamação aguda e endometrite em 97,4 % das vacas com isolamento positivo desse agente.

MESSIER *et al.* (1984) compararam três grupos quanto aos aspectos histológicos e microbiológicos. O primeiro grupo foi composto de vacas de três a 21 dias pós-parto, apresentando metrite. No segundo, vacas com 40 a 60 dias pós-parto, sem evidência de metrite e mostrando sinais de estro. E, no terceiro, vacas repetidoras de cio, com ciclos estrais regulares, mas com falha na concepção por três ou mais serviços. No primeiro grupo, as lesões histológicas foram caracterizadas por uma infiltração do epitélio uterino superficial de neutrófilos e macrófagos, além de perda de numerosas glândulas uterinas e fibrose periglandular. No segundo grupo, detectou-se uma fibrose moderada da lâmina própria, atrofia e desaparecimento de muitas glândulas uterinas, e infiltração do "*stratum compactum*" por algumas células mononucleares. Finalmente, no terceiro grupo, composto de seis animais, duas vacas possuíam apenas uma reação inflamatória mínima do endométrio, caracterizada por uma infiltração difusa de mastócitos com leve fibrose periglandular. Em outras duas vacas as lesões foram um pouco mais extensas, com endométrio infiltrado por um grande número de mastócitos e fibrose periglandular

Revisão de Literatura

moderada. As duas vacas restantes mostraram severas lesões no endométrio, como lesões ulcerativas do epitélio superficial, infiltração do córion por eosinófilos e fibrose periglandular, causando compressão das glândulas uterinas.

GONZALEZ *et al.* (1985) analisaram as alterações de necrose uterina, glândulas císticas, infiltrações celulares (por neutrófilos, eosinófilos, células plasmáticas e macrófagos) e infiltração linfocítica difusa e focal como sendo os achados histológicos mais comuns associados à baixas taxas de concepção. Nesse estudo, o número de vacas com problemas reprodutivos aumentou conforme a severidade da endometrite, que foi medida em escores variando de um a quatro. Dos 65 animais do experimento, 91,3 % das vacas apresentaram endometrite grau quatro, 73,5 % com endometrite grau três, e 56,5 % das vacas grau dois tinham problemas de infertilidade. Endometrite e fibrose foram as causas mais importantes de infertilidade nestas vacas. Exudatos inflamatórios e anticorpos criaram um ambiente desfavorável para o espermatozóide, e a fibrose uterina com perdas glandulares danosas alterou a síntese de proteínas pelo endométrio. Além disso, foi observado que a dilatação cística não é um achado comum na endometrite crônica bovina, porém a cervicite foi encontrada em muitos casos, indicando a importância desta alteração, principalmente onde é utilizada a monta natural. O número de mastócitos tornou-se maior conforme a severidade do dano endometrial, podendo ser um indicador da severidade ou cronicidade da endometrite.

GAYNES *et al.* (1990) afirmaram que a biópsia do endométrio não é representativa do útero bovino, como o é em eqüinos. Para a biópsia ser representativa, deveria ser feita em, no mínimo, três locais (corpo e cornos uterinos); mas, devido ao trauma e custo envolvido, a informação obtida não justifica três biópsias. Afora estes problemas, segundo esses autores, a biópsia uterina confere

Revisão de Literatura

informações valiosas sobre vacas leiteiras subférteis e também pode ser utilizada para diagnosticar endometrite crônica com a causa de repetição de cio.

BONNET *et al.* (1991), analisaram biópsias endometriais de vacas leiteiras colhidas no 26º e 40º dia pós-parto. As amostras do 26º dia mostravam inflamação mais severa e maior número de células segmentadas em relação às amostras do 40º dia pós-parto. Nesse estudo não houveram diferenças significativas nas espécies de bactérias isoladas, nem no número total de diferentes bactérias isoladas das biópsias endometriais do 26º comparadas às do 40º dia pós-parto.

CAMPERO *et al.* (1992) observaram, no exame histopatológico de algumas vacas estudadas, fibrose periglandular e endometrite crônica, além de infiltração de linfócitos e células plasmáticas em áreas do extrato esponjoso. Especialmente na presença de *A. pyogenes*, foram encontrados grande número de neutrófilos na submucosa e nas glândulas uterinas. O agente *Haemophilus somnus*, que teve o maior número de isolamentos, foi associado a casos de severa vulvite, vaginite, endometrite e aborto. A presença de fibrose periglandular confere um prognóstico desfavorável, mesmo que o resultado bacteriológico seja negativo, pois, conforme observação, há uma maior correlação entre os achados clínicos e histopatológicos, do que os vistos entre esses achados clínicos e os resultados bacteriológicos.

OHTANI e OKUDA (1995) estudaram aspectos histológicos em vacas holandesas repetidoras de estro e com ciclo estral normal no primeiro e oitavo dia após o estro, na fase de implantação. No primeiro dia, foi detectado nas “repeat breeders” secreções glandulares e vacuolação supranuclear. Essas características secretórias não estavam presentes nas vacas normais. Somente as vacas cíclicas normais demonstraram mitoses glandulares e no estroma. Entretanto, o

Revisão de Literatura

aparecimento de edema no estroma e reação pseudodecidual, foram observados nas vacas cíclicas normais e “*repeat-breeders*”. No oitavo dia, as características não foram diferentes do primeiro dia, nos dois grupos. Em todos os animais, as glândulas uterinas continham secreções volumosas, e nenhuma mitose. Foram observadas poucas mitoses no estroma e reação pseudodecidual somente nas vacas cíclicas normais.

*Material e
Métodos*

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 – Animais

Foram utilizadas 61 vacas da raça holandesa preta e branca com idade entre três a nove anos, sendo 49 com sintomas de anestro há mais de 90 dias pós-parto e 12 fêmeas com ciclos estrais normais como grupo controle, provenientes de 5 propriedades nas regiões de Botucatu, Sertãozinho - SP, e Londrina - PR.

Estes animais foram alimentados com concentrado e, como volumoso, receberam silagem de milho. Os suplementos minerais foram fornecidos à vontade.

Material e Métodos

Todo o manejo, alimentação e desempenho reprodutivo das vacas foram anotados em fichas individuais. Os animais estavam em bom estado sanitário (vacinados contra febre aftosa, controle de brucelose, tuberculose e campilobacteriose).

Primeiramente procedeu-se a um exame clínico, consistindo de anamnese, exame geral e ginecológico (exame retal e vaginal). No exame retal foram avaliados e anotados os seguintes parâmetros: tamanho, consistência e contratilidade do útero; simetria dos cornos uterinos, tamanho dos ovários e presença, tamanho e consistência de folículos, corpos lúteos e cistos. Pela vaginoscopia verificou-se a forma da porção vaginal do cérvix, o grau de abertura do canal cervical, coloração e umidade das mucosas vaginais e cervicais e a presença de possíveis secreções. Todos esses dados foram anotados na ficha de cada animal.

A execução do experimento deu-se entre 1995 e 1997. As colheitas do material (sangue, material cervical e fragmentos de mucosa uterina) foram realizadas no período da manhã, das 8 às 12 horas, com o animal no tronco de contenção. Colheram-se amostras de material cervical para bacteriologia, amostras de sangue para leptospirose, hematologia, dosagem mineral, dosagem hormonal e material para biópsia endometrial.

3.2 - Colheita e processamento de material biológico

3.2.1. Bacteriologia uterina

Após higienização, procedeu-se à aplicação do espécuro vaginal para a inspeção da cérvix. Para a colheita de material cervical foi utilizado um aplicador metálico contendo no seu interior um tubo de metal rígido esterilizado, onde inseriu-se o “swab”estéril¹. Após a colheita, o “swab” foi colocado dentro de um tubo de ensaio contendo meio de transporte Stuart, e transportado em até 24 horas para processamento laboratorial no departamento de Higiene e Saúde Pública do Serviço de Diagnóstico Microbiológico da FMVZ – UNESP – Botucatu.

As amostras foram semeadas em placas de ágar base² adicionado de dez por cento de sangue bovino e em ágar Mc Conkey³. Após 24, 48 e 72 horas de incubação a 37° C, foi observada a morfologia das colônias encontradas, corando-se os esfregaços pela técnica de Gram. Por meio de provas bioquímicas, os microorganismos puderam ser identificados, segundo CARTER e COLE JUNIOR (1990).

As amostras de diferentes microorganismos isolados foram repicadas para tubos contendo meio de ágar infuso cérebro coração⁴, a fim de obter-se um mensturo para o estudo de sensibilidade bacteriana “*in vitro*” frente à drogas antimicrobianas e provas de taxonomia.

Os antibiogramas realizaram-se segundo BAUER *et al.* (1966) em placas contendo meio de ágar Müller Hinton.

¹ Ceconete – Centro de Controle e Produtos para Diagnóstico Ltda. – São Paulo/SP

² Blood Agar Base Nº2 – OXOID

³ McConkey Agar Nº3 - OXOID

⁴ Brain Heart Infusion – BHI - OXOID

Material e Métodos

Testaram-se as seguintes drogas: cloranfenicol (30 µg), enrofloxacina (5 µg), tetraciclina (30 µg), nitrofurantoína (300 µg), gentamicina (10 µg), ampicilina (10 µg), neomicina (30 µg), estreptomicina (10 µg) e outras drogas na dependência do agente isolado.

3.2.2. Colheita de sangue

As amostras de sangue foram colhidas por venopunção jugular, utilizando-se agulhas 40 x 15, em tubos de ensaio (30 mL) e em frascos contendo EDTA⁵ (Ácido etilenodiaminotetracético, sal sódico) a 10%, este último destinado a exame hematológico. Os tubos com sangue foram centrifugados a 800g por 10 min para obtenção do soro, devidamente acondicionado em frascos identificados, e armazenados a -18° C para posteriores dosagens hormonais e minerais. Uma alíquota do soro foi enviada ao Centro de Diagnóstico da FMVZ – UNESP para a pesquisa de anticorpos anti-leptospíricos.

3.3 – Sorologia para Leptospirose

Esse exame é conhecido como Prova de soroaglutinação microscópica, e foi realizado de acordo com as normas recomendadas pelo

⁵EDTA – Química Moderna – São Paulo/SP

Material e Métodos

Ministério da Saúde (BRASIL, 1995). Como antígenos, foram utilizados nove sorovares de leptospiros cultivadas em meio líquido de Ellinghausen a 28° C. As culturas sofreram repiques semanais em idênticas condições de cultivo e temperatura, sendo utilizadas após a quarta ou quinta passagem.

Inicialmente, as amostras foram triadas na diluição 1:50 para os seguintes sorovares: *icterohaemorrhagiae*, *tarassovi*, *wolffi*, *pomona*, *copenhageni*, *grippotyphosa*, *hardjo*, *bratislava* e *castellonis*.

Os soros que apresentaram 50% ou mais de aglutinação na diluição de 1:50 foram separados para posterior titulação, considerando como positivos os títulos 1: 100, sendo o resultado final expresso como correspondente à diluição onde ocorreu um mínimo de 50% de aglutinação para os diferentes sorovares pesquisados.

3.4 - Hemograma

A contagem diferencial e avaliação dos leucócitos procederam-se através de esfregaços corados pela técnica de Leishman. As amostras foram submetidas às seguintes determinações:

- Contagem total de hemáceas e leucócitos por meio do contador automático de células⁶;

⁶Contador de células – modelo CC510 , São Paulo/SP

Material e Métodos

- Contagem total de hemoglobina pelo método de cianometemoglobina⁷;
- Volume globular pelo método do micro-hematócrito⁸;
- Proteínas totais pelo método de refratometria⁹;
- Fibrinogênio pela técnica de precipitação pelo calor (JAIN, 1986).

3.5 - Determinações de cálcio, fósforo, magnésio, sódio e potássio

Para o cálcio, o fósforo e o magnésio foram utilizados “kits” comerciais¹⁰ e analisados por meio do método colorimétrico¹¹. O sódio e o potássio foram determinados pelo fotômetro de chama¹².

3.6 - Dosagem Hormonal

Para a concentração sérica dos hormônios estradiol e progesterona utilizou-se “kits” comerciais de fase sólida da DPC¹³, sem extração prévia, através do sistema de radioimunoensaio (RIA)¹⁴. Os procedimentos utilizados

⁷ Hemoglobinômetro, modelo Hb 520, CELM, São Paulo/SP.

⁸ FC – 280 – CELM

⁹ Refratômetro – Atago, Coltd

¹⁰ Kit comercial Analisa – Belo Horizonte – MG e Selmi – Barueri - SP

¹¹ FC- -280 - CELM

¹² Contador Beckman, Modelo 5500

¹³ Coat –A –Count, Diagnostic Products Corporation – Los Angeles – USA

¹⁴ Modelo Kineti count 48, Vitek

para as dosagens hormonais foram os mesmos especificados pelo fabricante. O coeficiente de variação intra-ensaio (CV) foi de 5,90 %.

3.7 - Análise Histológica

Biópsias da região de bifurcação uterina de cada animal totalizando 56 foram colocadas em frascos individuais contendo solução tamponada de formalina 10%, que foi trocada em 48 horas e, posteriormente, substituída por álcool a 70%, onde os materiais permaneceram até o momento da inclusão em parafina. O processamento histológico foi realizado de acordo com os métodos convencionais. A espessura dos cortes variou de 4.0 – 5.0 μ com a coloração utilizada de Hematoxilina e Eosina (HE).

A leitura microscópica foi realizada em microscópio de luz e os diagnósticos histológicos das lesões do endométrio seguiram os critérios: a) tipos de células inflamatórias, edema e hemácias presentes nos estratos esponjosos e compactos do endométrio; b) características do epitélio das glândulas e do segmento luminal, do endométrio (BONNETT *et al.*, 1991).

Para demonstrar a incidência do infiltrado inflamatório e característica do epitélio no endométrio utilizou-se a graduação subjetiva tal como: ausente = 0, discreto = + (25%), moderado = ++ (50%) e acentuado = +++ (100%). Esta graduação foi aleatória, isto é, contou-se ao acaso 10 campos de médio aumento (10x 10) do microscópio de luz para cada animal estudado. Os processos inflamatórios agudos e crônicos foram considerados quando os critérios citados na Tabela 1 prevaleciam acima de 50%: polimorfonucleares,

Material e Métodos

edema e hemácias; mononucleares, fibroblastos, epitélio baixo e dilatação glandular, respectivamente.

TABELA 1 – Critério histológico de análise do endométrio de bovinos

Endométrio	Células do epitélio	Inflamação aguda	Inflamação crônica
Epitélio luminal	Alto, baixo, secretor		
Estrato esponjoso		Edema, polimorfo-nucleares, hemácias	Mononucleares, fibroblastos
Estrato compacto	Dilatada, tubular	Edema, polimorfo-nucleares, hemácias	Mononucleares, fibroblastos

ausente = 0, discreto = + (25%), moderado = ++ (50%) e acentuado = +++ (100%)

3.8 - Análise dos Dados

Para a análise estatística dos dados referentes aos constituintes do sangue e níveis hormonais e minerais utilizou-se o método dos quadrados mínimos descrito por HARVEY (1990).

Nos resultados da hematometria foi utilizado o erro padrão ao invés de desvio padrão, em decorrência da alta variabilidade dos dados.

Material e Métodos

Para as diferenças entre médias, aplicou-se o teste de Turkey com 5% de probabilidade. Esse teste também foi aplicado para comparar os reagentes da sorologia para leptospirose.

A estatística descritiva foi usada para comparar os resultados da histologia uterina.

Resultados e Discussão

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 – Bacteriologia Uterina

Os resultados dos cultivos bacterianos do útero de vacas em anestro encontram-se na Tabela 2. Dos 49 exames bacteriológicos, 22 (44,9 %) dos cultivos apresentaram resultados positivos, com isolamento de um ou mais microorganismos e 27 (55,1 %) foram negativos.

Em 22 amostras com crescimento bacteriano, foram isolados doze tipos de microorganismos, desde um crescimento discreto, moderado até exuberante.

Resultados e Discussão

O exame bacteriológico do útero das doze vacas do grupo controle apresentou resultados negativos.

TABELA 2 - Resultados microbiológicos uterinos de fêmeas bovinas em anestro (n = 49).

MICROORGANISMOS	NºISOLAMENTOS	FREQUÊNCIAS (%)
<i>Streptococcus sp</i> α -hemolítico	7	24,14
<i>Staphylococcus sp.</i> não-hemolítico	4	13,79
<i>Escherichia coli</i>	3	10,34
<i>Corynebacterium sp.</i>	3	10,34
<i>Streptococcus sp.</i>	2	6,90
<i>Pasteurela hemolítica</i>	2	6,90
<i>Corynebacterium bovis</i>	2	6,90
<i>Actynomices piogenes</i>	2	6,90
<i>Staphylococcus β-hemolítico</i>	1	3,45
<i>Klebsiella sp.</i>	1	3,45
<i>Acinetobacter sp.</i>	1	3,45
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	3,45
TOTAL	29	100

Resultados e Discussão

A bactéria mais encontrada foi *Streptococcus sp. a-hemolítico* (24,14 %), seguida por *Staphylococcus sp. não-hemolítico* (13,79 %), *Escherichia coli* (10,34 %), *Corynebacterium sp.* (10,34 %), *Streptococcus sp.* (6,90%), *Pasteurella hemolítica* (6,90%), *Corynebacterium bovis* (6,90%), *Actynomices piogenes* (6,90%), . A maioria destes microorganismos foi relatada na literatura consultada (HAWK *et al.*, 1958; SAGARTZ e HARDENBROOK, 1971; STUDER e MORROW, 1978; MESSIER *et al.*, 1984; VLCEK e SVOBODOVÁ., 1985; VLCEK *et al.*, 1989; NOAKES *et al.*, 1990; BONNET *et al.*, 1991; BONNET *et al.*, 1991; CAMPERO *et al.*, 1992; OHTANI e OKUDA, 1995). KOZICKI *et al.*(1988) também encontraram os três primeiros agentes na mesma ordem de ocorrência. Os agentes *Staphylococcus sp. β-hemolítico* (3,45 %), *Klebsiella sp* (3,45 %), *Acinetobacter sp.* (3,45 %) e *Enterobacter cloacae* (3,45 %) foram encontrados na mesma proporção e são pouco estudados por outros autores.

O estudo da sensibilidade bacteriana “in vitro” (%), e drogas que melhor agiram contra os microorganismos do útero de fêmeas bovinas em anestro podem ser observados na Tabela 3.

Resultados e Discussão

TABELA 3 - Sensibilidade microbiana "in vitro" (%) e drogas que melhor agiram contra microorganismos da flora uterina de vacas em anestro (n = 49).

Microorganismo		Nal.	Ampi	Cefa	Cloran	Enro	Eritro	Estrept	Genta	Neo	Nitro	Peni G	Sulfa	Tetra	Nor
<i>Streptococcus sp.</i> α hemolítico n=7	S	NT	28,57	100,00	57,14	28,57	100,00	NT	57,14	25,00	14,29	NT	0	57,14	100,00
	PS	NT	0	0	42,86	14,29	0	NT	0	0	57,14	NT	0	42,86	0
	R	NT	71,43	0	0	57,14	0	NT	42,86	75,00	28,57	NT	100,00	0	0
<i>Corynebacterium sp.</i> n=5	S	100,00	100,00	100,00	100,00	50,00	100,00	0	100,00	75,00	60,00	100,00	40,00	100,00	0
	PS	0	0	0	0	25,00	0	100,00	0	0	20,00	0	0	0	100
	R	0	0	0	0	25,00	0	0	0	25,00	20,00	0	60,00	0	0
<i>Staphilococcus sp.</i> n=4	S	NT	25,00	100,00	50,00	100,00	100,00	NT	100,00	100,00	100,00	NT	100,00	0	100,00
	PS	NT		0	25,00	0	0	NT	0	0	0	NT	0	50,00	0
	R	NT	75,00	0	25,00	0	0	NT	0	0	0	NT	0	50,00	0
<i>Escherichia coli</i> n=3	S	NT	66,67	0	66,67	100,00	NT	NT	100,00	NT	100,00	NT	100,00	0	100,00
	PS	NT	0	66,67	33,33	0	NT	NT	0	NT	0	NT	0	33,33	0
	R	NT	33,33	33,33	0	0	NT	NT	0	NT	0	NT	0	66,67	0
<i>Actinomyces pyogenes</i> n=2	S	NT	100,00	NT	100,00	100,00	100,00	NT	100,00	100,00	100,00	NT	0	100,00	NT
	PS	NT	0	NT	0	0	0	NT	0	0	0	NT	0	0	NT
	R	NT	0	NT	0	0	0	NT	0	0	0	NT	100,00	0	NT
<i>Pasteurella hemolítica</i> n=2	S	NT	0	NT	100,00	0	0	NT	100,00	100,00	100,00	NT	100,00	0	NT
	PS	NT	0	NT	0	100,00	0	NT	0	0	0	NT	0	100,00	NT
	R	NT	100,00	NT	0	0	100,00	NT	0	0	0	NT	0	0	NT
<i>Streptococcus sp.</i> n=2	S	NT	0	100,00	100,00	100,00	100,00	NT	100,00	0	50,00	NT	50,00	50,00	100,00
	PS	NT	0	0	0	0	0	NT	0	100,00	0	NT	0	50,00	0
	R	NT	100,00	0	0	0	0	NT	0	0	50,00	NT	50,00	0	0
<i>Acinetobacter sp.</i> n=1	S	NT	100,00	100,00	100,00	0	NT	NT	100,00	NT	100,00	NT	100,00	100,00	100,00
	PS	NT	0	0	0	100,00	NT	NT	0	NT	0	NT	0	0	0
	R	NT	0	0	0	0	NT	NT	0	NT	0	NT	0	0	0
<i>Enterobacter cloacae</i> n=1	S	NT	0	100,00	0	100,00	NT	NT	0	NT	100,00	NT	0	0	100,00
	PS	NT	0	0	0	0	NT	NT	0	NT	0	NT	0	0	0
	R	NT	100,00	0	100,00	0	NT	NT	100,00	NT	0	NT	100,00	100,00	0
<i>klebsiella sp.</i> n=1	S	NT	0	100,00	0	NT	NT	0	100,00	0	100,00	0	100,00	0	NT
	PS	NT	0	0	100,00	NT	NT	100,00	0	100,00	0	0	0	100,00	NT
	R	NT	100,00	0	0	NT	NT	0	0	0	0	100,00	0	0	NT
<i>Staphilococcus sp.</i> β hemolítico n=1	S	NT	100,00	100,00	100,00	NT	NT	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	NT
	PS	NT	0	0	0	NT	NT	0	0	0	0	0	0	0	NT
	R	NT	0	0	0	NT	NT	0	0	0	0	0	0	0	NT

S= sensível; PS= parcialmente sensível; R= resistente. *NT= não testado.

Nal= Ac. Nalidixico; Amp= Ampicilina; Cefa= Cefalosporina; Cloran= Cloranfenicol; Enro= Enrofloxacin; Eritro= Eritromicina; Estrept= Estreptomicina; Genta= Gentamicina; Neo= Neomicina; Nitro= Nitrofurantoina; Peni G= Penicilina G; Sulfa= Sulfazotrin; Tetra= Tetraciclina; Nor= Norfloxacin.

Resultados e Discussão

As bactérias encontradas neste estudo foram sensíveis principalmente aos seguintes antibióticos: Gentamicina, Cefalosporina e Nitrofurantoina, fato também constatado por VLCEK e SVOBODOVÁ (1985) e CAMPERO *et al.* (1992).

4.2 – Sorologia para leptospirose

Os resultados da soroaglutinação para leptospirose para fêmeas bovinas em anestro e fêmeas cíclicas normais estão descritas na Tabela 4 e 5, respectivamente.

Dos 61 animais testados, apenas 26 não reagiram a nenhum sorovar de *leptospira* testado, resultando num índice de reação de 57,37 % no total de vacas, sendo 13,11 % de vacas normais reagentes e 44,26 % de vacas em anestro reagentes.

Resultados e Discussão

TABELA 4 – Resultados da titulação para a prova de soroaglutinação microscópica com diferentes sorovares de leptospira, em vacas em anestro da raça holandesa (n=49).

SOROVAR	TITULAÇÕES				TOTAL
	1:100	1:200	1:400	1:800	
<i>ICTEROHAEMORRHAGIAE</i>	03	-	-	-	03
<i>TARASSOVI</i>	-	-	-	-	-
<i>WOLFFI</i>	06	03	01	-	10
<i>POMONA</i>	-	-	-	-	-
<i>COPENHAGENI</i>	-	-	-	-	-
<i>GRIPPOTYPHOSA</i>	-	-	-	-	-
<i>HARDJO</i>	13	05	01	-	19
<i>BRATISLAVA</i>	10	04	-	-	14
<i>DJASIMAN</i>	-	-	-	-	-
<i>CASTELLONIS</i>	01	-	-	-	01

Nas vacas em anestro, os sorovares de leptospira encontrados com maior freqüência foram *hardjo* (40,42 %), também encontrado por DURFEE e ALLEN (1980); ELLIS *et al.* (1982); THIERMANN e GARRET (1985); ELDER *et al.* (1985); ELLIS *et al.* (1985); KINGSCOTE (1985); HATHAWAY *et al.* (1986); KINGSCOTE (1988); MILLER *et al.* (1991). A porcentagem do sorovar *bratislava* foi de 29,78 %, bem superior aos resultados de ELLIS *et al.* (1982), que encontrou apenas 5,6 % de vacas com títulos maiores que 1:10. O sorovar *wolffi* foi encontrado em 21,27 % das vacas , e o

Resultados e Discussão

sorovar *icterohaemorrhagiae*, em 6,38 % delas, pouco inferior aos achados de ELLIS *et al.* (1982) e superior aos dados de KINGSCOTE (1988) e MILLER *et al.* (1991). Quanto ao sorovar *castellonis* houve uma prevalência de apenas 2,12 %. Das 49 vacas em anestro, 22 não reagiram a nenhum sorovar testado.

TABELA 5 – Resultados da titulação para a prova de soroglutinação microscópica com diferentes sorovares de leptospira, em fêmeas bovinas cíclicas normais da raça holandesa (n=12).

SOROVAR	TITULAÇÕES				TOTAL
	1:100	1:200	1:400	1:800	
<i>ICTEROHAEMORRHAGIAE</i>	-	01	-	-	01
<i>TARASSOVI</i>	-	-	-	-	-
<i>WOLFFI</i>	03	02	02	-	07
<i>POMONA</i>	-	-	-	-	-
<i>COPENHAGENI</i>	-	-	-	-	-
<i>GRIPPOTYPHOSA</i>	-	-	-	-	-
<i>HARDJO</i>	02	05	01	-	08
<i>BRATISLAVA</i>	-	01	-	-	01
<i>DJASIMAN</i>	-	01	-	-	01
<i>CASTELLONIS</i>	-	-	-	-	-

O sorovar de leptospira encontrado com maior frequência no soro de vacas cíclicas normais foi *hardjo* (44,44 %), sorovar estudado pelos autores DURFEE e ALLEN (1980); ELLIS *et al.* (1982); THIERMANN e GARRET (1985); ELDER *et al.* (1985); ELLIS *et al.* (1985); KINGSCOTE (1985);

Resultados e Discussão

HATHAWAY *et al.* (1986); KINGSCOTE (1988); MILLER *et al.* (1991). Em segundo lugar está o sorovar *wolffi* (38,88 %) e, posteriormente, o sorovar *bratislava* (5,55 %), com porcentagem bem similar à descrita por ELLIS *et al.* (1982). Com os mesmos valores estão os sorovares *icterohaemorrhagiae* (5,55 %) e *djasiman* (5,55 %), o primeiro também relatado por ELLIS *et al.* (1982), KINGSCOTE (1988) e MILLER *et al.* (1991). As quatro amostras restantes não apresentaram aglutinação aos sorovares testados.

A reação ao teste de soroaglutinação microscópica nas vacas em anestro e vacas normais não teve diferença significativa, segundo a análise estatística.

4.3 - Hemograma

As médias e erros padrão dos constituintes do sangue estudados encontram-se na Tabela 6.

Resultados e Discussão

TABELA 6 – Valores médios e erros padrão de constituintes do sangue de vacas em anestro (G1 / n=49) e cíclicas (G2 / n=12).

Parâmetros	G1	G2
Hemácias (x 10 ⁶ /mm ³)	5,92 ± 0,12	6,02 ± 0,23
Hemoglobina (g/dl)	9,24 ± 0,14	9,24 ± 0,28
Volume globular (%)	27,22 ± 0,42	28,67 ± 0,83
Leucócitos (mm ³)**	13,59 ± 0,49a	8,97 ± 0,95b
Segmentados (%)*	27,65 ± 1,40a	34,17 ± 2,74b
Linfócitos (%)	61,63 ± 1,90	56,50 ± 3,73
Eosinófilos (%)	5,72 ± 0,72	5,75 ± 1,41
Basófilos (%)	0,30 ± 0,08	0,50 ± 0,17
Monócitos (%)	4,70 ± 0,61	3,08 ± 1,20
Fibrogênio (mg/dl)	489,13 ± 24,88	408,33 ± 48,70
Proteína total (g/dl)	8,13 ± 0,07	7,40 ± 0,15

* p< 0,05

**p< 0,01

Nas vacas cíclicas normais (grupo controle G2), as médias da contagem de hemáceas e hemoglobina estão de acordo com as médias encontradas por PATEL *et al.* (1964) e TALVELKAR *et al.* (1980), mas a média do número de leucócitos é mais baixa que aquela relatada por estes autores. KUMAR e SHARMA (1991) relatam valores mais altos para a

Resultados e Discussão

hemoglobina ($11,71 \pm 0,21$ para vacas comaios férteis e $10,21 \pm 0,03$ g/dL em vacas comaios não férteis).

Na análise de variância houve diferença significativa ($P < 0,01$) entre vacas normais e em anestro para a variável contagem total de leucócitos. As vacas em anestro possuem significativamente maior número de leucócitos totais, em relação às vacas cíclicas normais. Conforme descrito por TALVEKAR *et al.* (1980), grandes variações no número de leucócitos totais, entre 4000 a 12000/mm³, em bovinos aparentemente saudáveis, têm sido relatadas por vários pesquisadores (RATTAN *et al.* loc. cit.; BREAZILE, 1966; SHARMA *et al.*, 1973 e SHALM *et al.*, 1975). Estas variações podem ocorrer devido à idade, atividade muscular e estresse fisiológico no momento da colheita do sangue, além de temperatura ambiente e infestação parasitária.

Não houve diferença significativa quanto à concentração de hemáceas, hemoglobina e volume globular.

Na contagem diferencial de leucócitos, os valores médios encontrados foram semelhantes aos citados por PATEL *et al.*, 1964, mas diferem dos resultados de TALVEKAR *et al.*, 1980. Os valores médios de segmentados nas fêmeas bovinas normais foram significativamente maiores ($P < 0,05$) do que nas fêmeas em anestro.

As correlações e seu nível de significância entre os vários parâmetros da hematimetria estão apresentados na tabela 7.

Resultados e Discussão

TABELA 7 – Correlações entre os constituintes sanguíneos de reprodutoras em anestro e normais e o seu nível de significância.

	HEM	Hb	VG	LEU	SEG	LIN	EOS	BAS	MON	PTT
Hb	0,60	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VG	0,70**	0,69**	-	-	-	-	-	-	-	-
LEU	-0,06	0,12	-0,12	-	-	-	-	-	-	-
SEG	-0,18	-0,09	-0,22	-0,02	-	-	-	-	-	-
LIN	0,14	-0,08	0,17	-0,12	-0,86**	-	-	-	-	-
EOS √	0,01	0,13	-0,04	0,11	0,25*	-0,60**	-	-	-	-
BAS √	0,15	0,13	0,29*	-0,24	-0,01	-0,01	0,01	-	-	-
MON √	-0,04	0,31*	0,03	0,31*	0,04	-0,39**	0,13	-0,12	-	-
PTT	-0,04	0,08	0,07	0,22	-0,08	0,04	-0,05	-0,12	0,15	-
FIB	0,33**	0,27*	0,23	0,10	-0,14	0,09	0,00	-0,04	0,07	0,35**

HEM = Hemáceas; HB = Hemoglobina; VG = Volume globular; LEU = Leucócitos; SEG = Segmentados; LIN = Linfócitos; EOS = Eosinófilos; BAS = Basófilos; MON = Monócitos; PTT = Proteína total; FIB = Fibrinogênio.

* $r_{58} = 0,25 \rightarrow P < 0,05$ ** $r_{58} = 0,33 \rightarrow P < 0,01$

4.4- Proteínas plasmáticas totais e fibrinogênio total

As médias e erros padrão das variáveis proteína plasmática total e fibrinogênio total são apresentadas na Tabela 6. As correlações estão descritas na Tabela 7.

O nível médio da proteína plasmática total foi de $8,13 \pm 0,07$ g/dL para fêmeas em anestro e $7,40 \pm 0,15$ g/dL para fêmeas bovinas normais. Estes dados estão em concordância com os dados de MYLREA e HEALY (1968), NAKAO *et al.* (1976), KUMAR *et al.* (1986), DUTTA *et al.* (1988), KUMAR e SHARMA (1991) e TEGEGNE *et al.* (1993). SAMAD *et al.* (1980) relatam médias mais baixas: $6,25 \pm 0,29$ g/dL para vacas em anestro e $6,10 \pm 0,36$ g/dL para o grupo controle, e SHANDOLIA e VERMA (1987) observaram valores mais altos em búfalas em anestro e normais ($9,25 \pm 0,28$ e $8,83 \pm 0,36$ g/dL, respectivamente).

Quanto ao efeito de condição patológica, os valores médios de proteína plasmática total foram significativamente maiores nas fêmeas em anestro ($P < 0,01$). CHANDOLIA e VERMA (1987) também obtiveram resultado semelhante, e concluem que suas observações, assim como de outros autores citados, não associam a deficiência de proteína com a condição de anestro. TEGEGNE *et al.* (1993) também chegou à conclusão que a restrição ou não da dieta ou amamentação não influenciou os níveis de metabólitos sangüíneos em vacas zebu, e nenhuma diferença foi observada entre as vacas cíclicas ou acíclicas, sugerindo que estas vacas são capazes de compensar desequilíbrios nos níveis de metabólitos sangüíneos através de efeitos homeostáticos, até certo limite.

Resultados e Discussão

A média dos valores de fibrinogênio em vacas em anestro foi de $489,13 \pm 24,88$ mg/dL e para vacas cíclicas normais, de $408,33 \pm 48,70$ mg/dL, conforme apresentado na Tabela 6. Estes resultados mantiveram-se dentro dos parâmetros referidos. Não houve diferença significativa entre as médias.

4.5- Macroelementos do soro sangüíneo

Nutrientes indispensáveis ao bom desempenho reprodutivo na espécie bovina, têm sido bastante estudados, alguns mais que outros, e relacionam-se estreitamente com a saúde do animal.

Os valores médios e erros padrão da concentração desses macroelementos no soro estão apresentados na Tabela 8.

TABELA 8 – Valores médios e erros padrão de minerais do soro sangüíneo de vacas em anestro (G1/ n=49)) e normais (G2/ n=12).

Parâmetros	G1	G2
Cálcio (mg/dL)	$11,17 \pm 0,36$	$9,94 \pm 0,72$
fósforo (mg/dL) *	$5,90 \pm 0,29a$	$7,51 \pm 0,60b$
Magnésio (mg/dL)	$3,57 \pm 0,17$	$2,97 \pm 0,34$
Sódio (mEq/L)	$178,24 \pm 2,51$	$176,58 \pm 5,08$
Potássio (mEq/L)*	$6,00 \pm 0,13a$	$5,23 \pm 0,27b$

*p< 0,05

Resultados e Discussão

Os níveis de cálcio encontrados foram concordantes com os estudos de TUMBLESON *et al.* (1973); MURTUZA *et al.* (1979) e KUMAR e SHARMA (1991), mas são mais altos do que os valores relatados por SAMAD *et al.* (1980); SIVAIAH *et al.* (1986) e DUTTA *et al.* (1988). Conforme a Tabela 8, não houve diferença significativa entre os níveis de cálcio no presente estudo. Todos os autores citados que trabalharam com vacas em anestro não relataram qualquer diferença significativa entre vacas em anestro e normais.

Quanto à concentração de fósforo, os valores para vacas em anestro e normais não divergem dos resultados apresentados por TUMBLESON *et al.* (1973) e SIVAIAH *et al.* (1986), mas são superiores aos encontrados por MURTUZA *et al.* (1979); SAMAD *et al.* (1980); DUTTA *et al.* (1988) E KUMAR e SHARMA (1991). No presente estudo, as vacas em anestro apresentaram valores médios de fósforo significativamente inferiores ($P < 0,05$) em relação às vacas normais, em concordância com os autores citados acima, exceto SIVAIAH *et al.* (1986), que não encontrou diferenças significativas.

Os valores de magnésio em vacas em anestro e cíclicas normais não apresentaram diferença significativa. Achados semelhantes são descritos por MURTUZA *et al.* (1979).

No caso do minerais sódio e potássio, resultados inferiores aos descritos na Tabela 8 são descritos por MURTUZA *et al.* (1979). BARUA (1988) relatou níveis de potássio semelhantes e níveis de sódio inferiores aos resultados encontrados. No presente experimento, houve diferença significativa entre os níveis de potássio de fêmeas em anestro e normais ($P < 0,05$).

Resultados e Discussão

As correlações entre os diferentes macroelementos minerais estudados estão apresentadas na Tabela 9.

TABELA 9 – Correlações entre os macroelementos minerais do soro sanguíneo analisados em reprodutoras em anestro e o seu nível de significância.

	Cálcio	Fósforo	Magnésio	Sódio
Fósforo (mg/dL)	0,30	-	-	-
Magnésio (mg/dL)	0,06	-0,06	-	-
Sódio (mEq/L)	0,19	0,30*	0,05	-
Potássio (mEq/L)	0,14	0,31*	0,40**	0,53**

* $r_{61} = 0,25 \rightarrow P < 0,05$ ** $r_{61} = 0,33 \rightarrow P < 0,01$

4.6 – Hormônios da Reprodução

4.6.1 – Estradiol

Os valores médios e erros padrão do hormônio esteróide estradiol de fêmeas bovinas em anestro e normais estão descritos na Tabela 10.

Resultados e Discussão

TABELA 10 - Valores médios e erro padrão do hormônio estradiol no soro sanguíneo de vacas em anestro e vacas cíclicas normais, em pg/dL.

Condição	n	Médias
Vacas em anestro (pg/dL)	49	19,89 ± 2,18a*
Vacas normais (pg/dL)	12	19,06 ± 4,82a*

*p < 0,05

A concentração geral sérica de estradiol foi em média de 19,75 + 4,82 pg/mL, com cv = 77,23%. Resultados inferiores foram relatados por GLENCROSS e MUNRO (1974), trabalhando com vacas com cistos ovarianos, e por GOODALE *et al.* (1978), HUMPREY *et al.* (1983), ABEYAWARDENE *et al.* (1984) e STAGG *et al.* (1995), os quais trabalharam com vacas no período pós-parto.

Entre os resultados da concentração de estradiol no soro de vacas em anestro e vacas com ciclos regulares não houve diferença estatística.

4.6.2 – Progesterona

Como a concentração sorológica de progesterona reflete diretamente a função do corpo lúteo, ela é um indicador preciso da função ovariana e tem sido utilizada para monitorar a prenhez, ciclos estrais e atividade ovariana pós-parto (PETERS, 1984).

Os valores médios e erros padrão do hormônio esteróide progesterona de fêmeas bovinas em anestro e normais estão descritos na Tabela 11.

Resultados e Discussão

TABELA 11 - Valores médios e erro padrão do hormônio progesterona no soro sanguíneo de vacas em anestro e vacas cíclicas normais, em ng/mL.

Condição	n	Médias
Vacas em anestro (ng/mL)	49	1,69 ± 0,22a*
Vacas normais (ng/mL)	12	0,35 ± 0,49b*

*p < 0,05

Os resultados descritos na Tabela 11 são semelhantes aos encontrados por GLENCROSS e MUNRO (1974); NAKAO *et al.* (1976); SCHAMS *et al.* (1978); WEBB *et al.* (1980); HUMBLLOT (1980); HUMPHREY *et al.* (1983); ABEYAWARDENE *et al.* (1984); KOZICKI *et al.* (1984); PETERS (1984); ROCHE *et al.* (1985); DUTTA *et al.* (1992); TEGEGNE *et al.* (1993) e RHODES *et al.* (1995). Entretanto, GOODALE *et al.* (1978); FOSTER *et al.* (1980); ETHERINGTON *et al.* (1985); DAWUDA *et al.* (1988); ARCHBALD *et al.* (1990) relataram dados inferiores para vacas em anestro.

Pela análise estatística, a concentração de progesterona no soro de vacas em anestro foi significativamente superior à concentração deste hormônio no soro do grupo controle.

4.7 – Histologia Uterina

Resultados e Discussão

Um total de 56 animais foram submetidos à biópsia, sendo 49 animais com síndrome de anestro e sete animais pertencentes ao grupo controle, ciclando normalmente. Porém, nove amostras de fêmeas em anestro e uma do grupo controle foram retirados do estudo, por não apresentarem condições adequadas para análise histológica. Portanto, 82 % das biópsias possuíram material suficiente para a avaliação microscópica.

Essas amostras de endométrio continham epitélio luminal e glandular constituído por células cilíndricas. Os epitélios variaram de cilíndrico alto a baixo, com infiltrado inflamatório e hemorragias. Na maioria das amostras predominou a ausência de glândulas (figuras 2 e 3).

As alterações inflamatórias foram encontradas em 90 % dos animais em anestro (n=36), conforme evidenciam as figuras 2 e 3, não diferindo dos achados de SAGARTZ e HARDENBROOK (1971). Em dez amostras não foi constatada alteração, duas delas sendo de animais cíclicos.

As alterações fibróticas apareceram em 17 animais, principalmente sob a forma periglandular, com grau discreto (n=12), e moderado (n=5). Fibrose moderada também foi relatada por MESSIER *et al.*(1984) e CAMPERO *et al.*(1992).

Muitas vezes, a dilatação glandular acompanhou a fibrose (n=5). A endometrite aguda esteve presente em 15 amostras, geralmente em grau de severidade discreto (n=9) e moderado (n=4). Endometrite aguda acentuada foi encontrada em duas amostras de epitélio, sendo que uma apresentava também esclerose vascular (figura 3). A incidência de endometrite crônica foi menor, mostrando-se discreta em cinco animais e moderada em dois animais. Algumas vacas tiveram endometrite associada à fibrose (n=8), dilatação glandular (n=3), edema (n=7), hemorragias (n=7) e presença de macrófagos (n=4). Segundo

Resultados e Discussão

BONNET *et al.* (1991), o acúmulo de células mononucleares geralmente é um indicativo de um processo patológico.

Foram também analisadas histologicamente apenas seis amostras das doze vacas do grupo controle que estavam ciclando normalmente, pela dificuldade de se conseguir permissão do proprietário para a realização desse exame em fêmeas cíclicas. Constatou-se alterações em quatro delas: endometrite aguda em grau discreto (n=1) e moderado (n=1). A endometrite crônica também esteve presente, associada à fibrose em grau acentuado (n=2) e, em um destes, a dilatação glandular também esteve presente.

Nos animais ciclando regularmente, o epitélio endometrial é prismático simples, com glândulas tubulares simples ou ramificadas. No tecido conjuntivo estão numerosas células mononucleares e polimorfonucleares. Dependendo da fase do ciclo estral, o epitélio uterino encontra-se hipertrofiado, e o tecido conjuntivo frouxo mais vascularizado e congesto (figura 1). No anestro, o endométrio é delgado e as glândulas são esparsas.

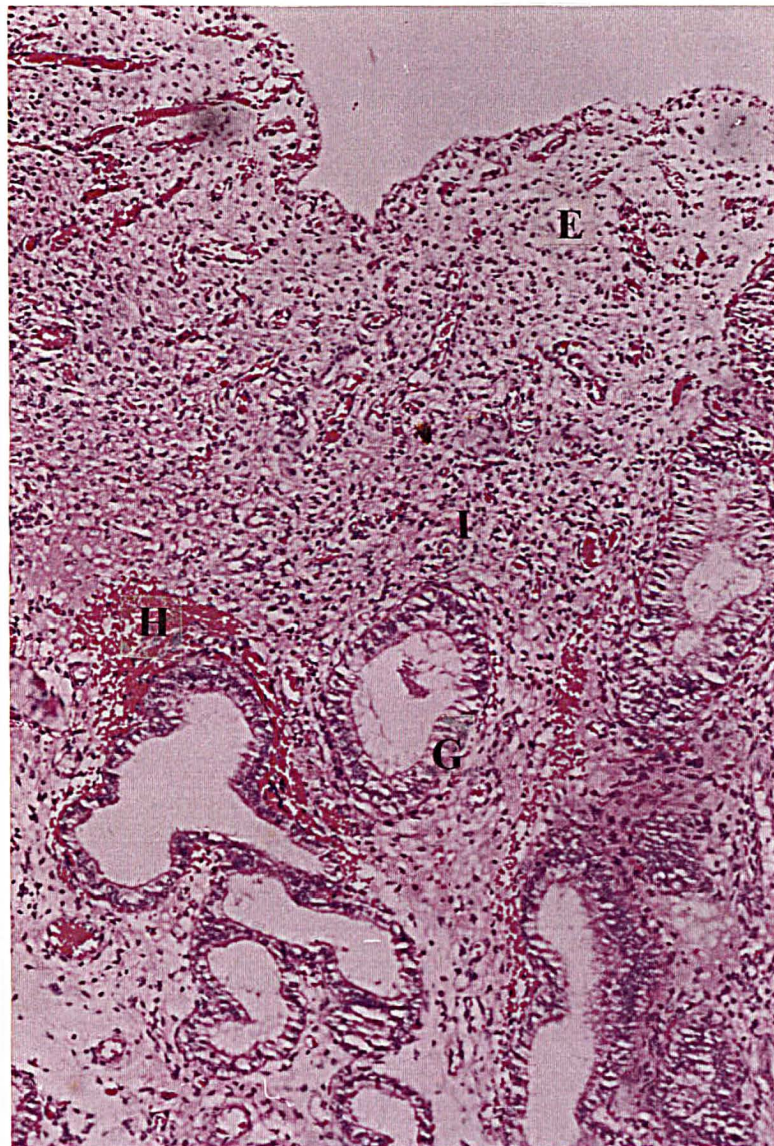


FIGURA 1 – Fêmea bovina: mucosa uterina. Fase estrogênica: infiltrado inflamatório (I), edema (E), hemorragia (H), epitélio alto e dilatação glandular (G). (HE – 200X).

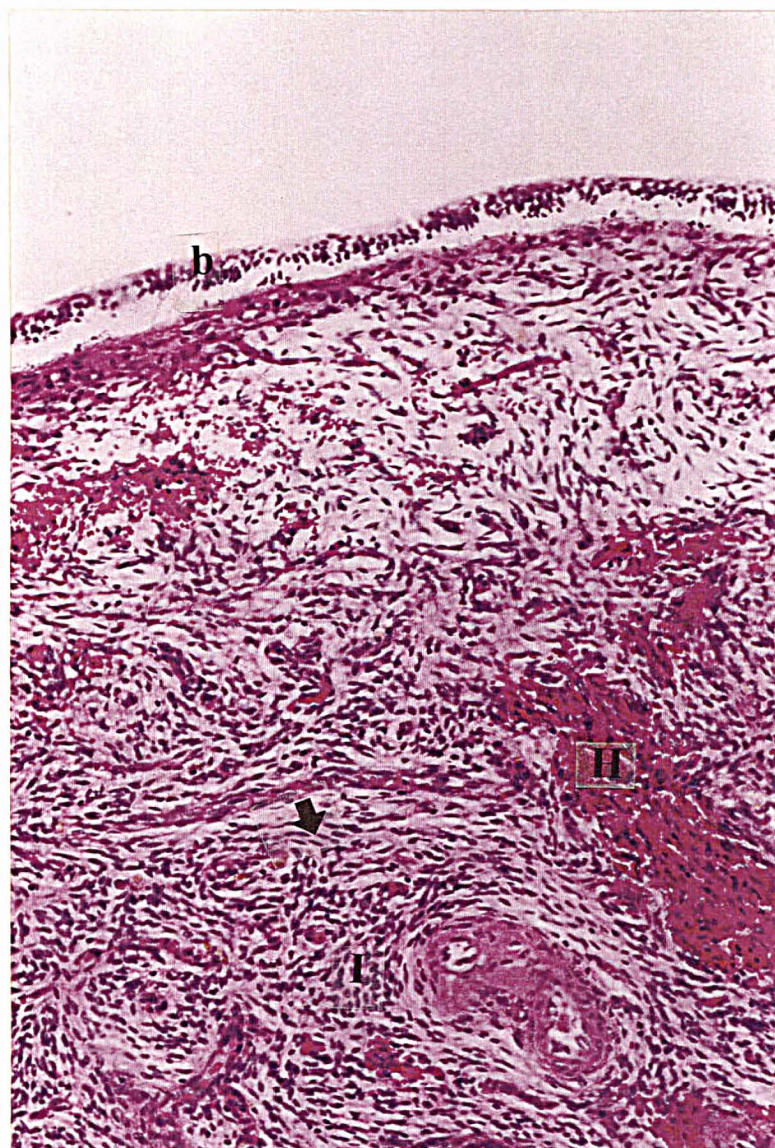


FIGURA 2 – Fêmea bovina: mucosa uterina. Anestro: infiltrado inflamatório (I), fibroblasto (➡), hemorragia (H), epitélio baixo (b). Ausência de glândulas. (HE – 200X).

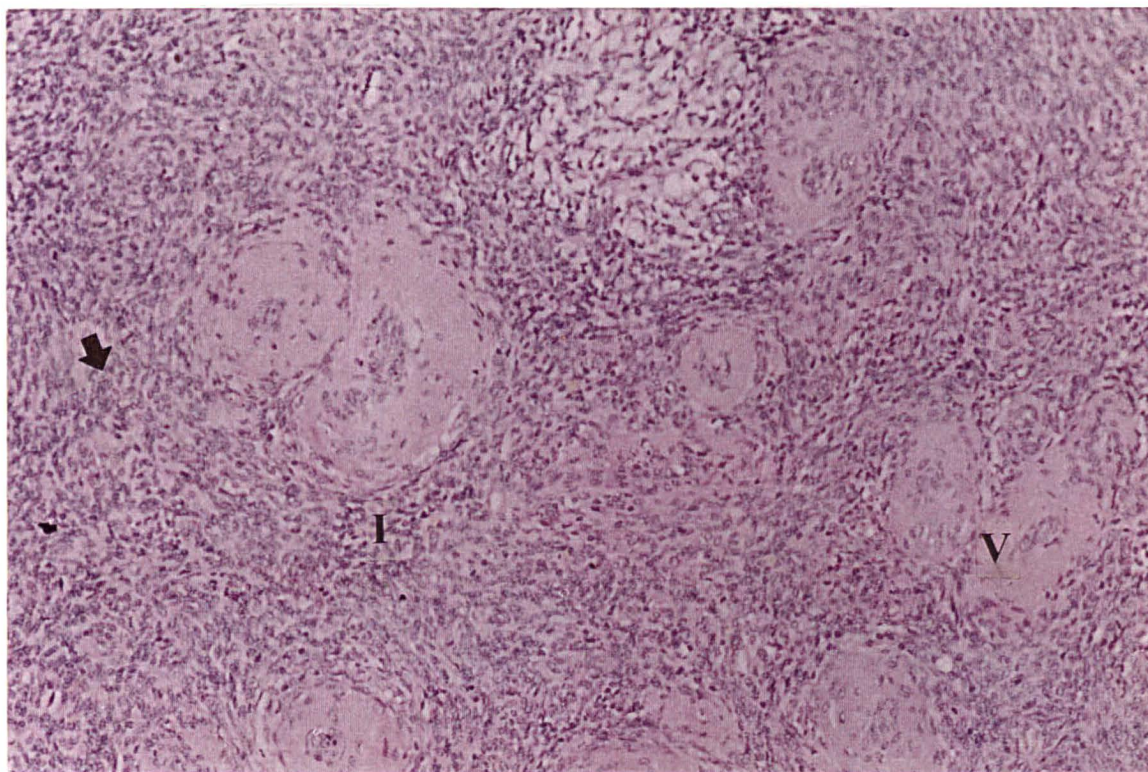


FIGURA 3 – Fêmea bovina: mucosa uterina. Anestro: infiltrado inflamatório (I), fibroblasto (➡), esclerose vascular (V) e ausência de glândulas. (HE – 200X).

Conclusões

5. CONCLUSÕES

- 1** A flora endometrial de vacas em anestro apresentou-se composta por *Streptococcus sp. α-hemolítico*, *Staphylococcus sp. não-hemolítico*, *Escherichia coli*, *Corynebacterium sp.*, *Streptococcus sp.*, *Pasteurella hemolítica*, *Corynebacterium bovis*, *Actynomices piogenes*, *Staphylococcus sp. β-hemolítico*, *Klebsiella sp*, *Acinetobacter sp.* e *Enterobacter cloacae*. Estes microorganismos foram mais sensíveis aos antibióticos Gentamicina, Cefalosporina e Nitrofurantoína.

Conclusões

- 2** A pesquisa de aglutininas anti-leptospira obteve resultado positivo em mais de 50 % das amostras estudadas. Em virtude da alta prevalência, outros estudos devem ser realizados. As infecções por leptospira constituem um grave problema, porém não existem evidências de que esta enfermidade possa ser um fator causador de anestro.

- 3** Os constituintes do sangue apresentaram os seguintes valores médios para vacas em anestro: hemácias $5,92 \pm 1,12 \times 10^6 \text{ mm}^3$; hemoglobina $9,24 \pm 0,14 \text{ g/dL}$; volume globular $27,22 \pm 0,42 \%$; leucócitos $13,59 \pm 0,49/\text{mm}^3$; segmentados $27,65 \pm 1,40 \%$; linfócitos $61,63 \pm 1,90 \%$; eosinófilos $5,72 \pm 0,72 \%$; basófilos $0,30 \pm 0,08 \%$; monócitos $4,70 \pm 0,61 \%$; proteína total $8,13 \pm 0,07 \text{ g/dL}$ e fibrinogênio $489,13 \pm 24,88 \text{ mg/dL}$. Destas variáveis, as que mostraram significância em relação aos dados do grupo controle foram o número superior de leucócitos ($P < 0,01$), a porcentagem inferior de segmentados ($P < 0,05$) e a concentração superior de proteínas totais ($P < 0,01$) nos animais em anestro.

- 4** Os níveis séricos médios dos macromelementos minerais estudados foram, para vacas em anestro: cálcio $11,17 \pm 0,36 \text{ mg/dL}$; fósforo $5,90 \pm 0,29 \text{ mg/dL}$; magnésio $3,57 \pm 0,17 \text{ mg/dL}$; sódio $178,24 \pm 2,51 \text{ mEq/L}$; e potássio $6,00 \pm 0,13 \text{ mEq/L}$. Os valores para o grupo controle foram: cálcio $9,94 \pm 0,72 \text{ mg/dL}$; fósforo $7,51 \pm 0,60 \text{ mg/dL}$; magnésio $2,97 \pm 0,34 \text{ mg/dL}$; sódio $176,58 \pm 5,08 \text{ mEq/L}$; e potássio $5,23 \pm 0,27 \text{ mEq/L}$. Nas

Conclusões

fêmeas em anestro foi constatado uma concentração sérica significativamente maior de Potássio e menor de Fósforo.

- 5** Os valores médios de progesterona e estradiol no soro sanguíneo de vacas em anestro foram, respectivamente, $1,69 + 0,22$ ng/mL e $19,89 + 2,18$ pg/dL. Para o grupo controle a concentração sérica foi de $0,35 + 0,49$ ng/mL e $19,06 + 4,82$ pg/dL, para progesterona e estradiol, respectivamente.
- 6** O epitélio endometrial se mostrou alterado em 90 % das fêmeas bovinas em anestro. Estas fêmeas bovinas apresentaram endometrite em graus distintos, fibrose periglandular e infiltrado de células mononucleares.
- 7** Os resultados dos exames clínicos e laboratoriais nas fêmeas bovinas em anestro revelaram mais de uma causa como origem.

Apêndice

Apêndice 01

FICHA INDIVIDUAL DO ANIMAL

IDENTIFICAÇÃO DO ANIMAL:

NOME _____ No _____ RAÇA _____ IDADE _____ REG _____

Nº LACTAÇÕES _____ ÚLTIMO PARTO _____ ÚLTIMO ESTRO _____

TRATAMENTO _____

EXAME GINECOLÓGICO:

VAGINA _____

CÉRVIX _____

OVÁRIO DIREITO _____

OVÁRIO ESQUERDO _____

CORPO DO ÚTERO _____

CORNO DIREITO _____

CORNO ESQUERDO _____

MATERIAL PARA EXAME:

SANGUE S/ ANTICOAG. 20 ML _____ SANGUE C/ ANTICOAG. 5 ML _____

SWAB UTERINO _____ BIÓPSIA ENDOMETRIAL _____

PROPRIEDADE _____

PROPRIETÁRIO _____

ENDEREÇO _____

Nº VACAS _____ Nº TOUROS _____ MONTA NAT. () INSEM. ARTIF. ()

MANEJO: INTENSIVO () SEMI-INTENSIVO () MISTO () CONFINAM. ()

ALIMENTAÇÃO: VOLUMOSO _____ CONCENTRADO _____

SAL MINERAL _____ URÉIA _____ OUTROS _____

OBSERVAÇÕES _____

Apêndice 02

TABELA 1 - Avaliação histológica do útero de animais em anestro (n = 40)*

Animais	Fibrose	Endometrite	D. glandular	Presença de E, H e M
1	0	+	0	0
2	0	+	0	0
3	+	0	0	0
5	+	0	0	0
6	++	++	0	0
7	++	0	0	0
8	0	0	0	0
9	++	++	0	0
10	0	0	0	0
11	+	+	0	0
13	0	++	0	0
15	++	0	0	0
16	0	+	0	0
17	0	0	0	0
18	0	++	0	0
19	0	+	0	0
20	0	0	0	0
21	0	0	0	0
22	++	++	++	0
23	+	0	0	0
24	+	0	0	0
25	0	+	0	0
26	0	0	0	0
30	0	++	0	+
31	0	++	0	+
32	0	+	0	+
33	+	+	++	++
34	++	+	+	+
35	0	+	0	+
36	+	+	0	+
37	+	+	0	0
38	0	0	0	0
39	+	+	+	0
40	0	+++	0	0
41	0	0	+	0
42	+	0	0	0
44	+	0	+	0
46	+	0	+	0
47	0	+++	0	0
48	+	0	0	0

*Graduação: 0 = ausente, + = discreto (25%), ++ = moderado (50%) e +++ = acentuado (100%)

TABELA 2 - Avaliação histológica do útero de animais do grupo controle (n = 6)*

Animais	Fibrose	Endometrite	D. glandular	Presença de E, H e M
1	0	++	0	0
3		+	0	0
5	++	+++	0	0
6	0	0	0	0
7	+++	+	++	0
8	0	0	0	0

*Gradação: 0 = ausente, + = discreto (25%), ++ = moderado (50%) e +++ = acentuado (100%)

*Referências
Bibliográficas*

Referências Bibliográficas

ABEYAWARDENE, S.A., HATHORN, D.J., GLENCROSS, R.G. Concentrations of oestradiol - 17 β and progesterone in bovine plasma and defatted milk during the post-partum anovulatory period, during oestrus cycles and following ovariectomy. **British Veterinary J.**, v. 140, p. 458-467, 1984.

ARCHBALD, L.F. *et al.* Incidence and treatment of abnormal postpartum ovarian function in dairy cows. **Theriogenology**, v. 30, p. 283-289, 1990.

BARUA, P.M., DUTTA, J.C., RAJKONWAR, C.K. Serum sodium and potassium levels during oestrus cycle in cows. **Indian Veterinary J.**, v. 65, p. 1155-1156, 1988.

BAUER, A.W. *et al.* Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **Am. J. Clin. Pathol.**, v.45, p. 493-496, 1966.

BONNETT, B.N. *et al.* Endometrial biopsy in Holstein-Friesian dairy cows. III. Bacteriological analysis and correlations with histological findings. **Can. J. Vet. Res.**, v. 55, p. 168-173, 1991.

BONNETT, B.N. *et al.* Endometrial biopsy in Holstein-Friesian dairy cows. I. Technique, histological criteria and results. **Can. J. Vet. Res.**, v. 55, p. 155-161, 1991.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Manual de leptospira**. 2. Ed. rev. – Fundação Nacional de Saúde, 1995. 89 p.

CAMPERO, C.M. *et al.* Hallazgos clínicos, bacteriológicos e histopatológicos en vacas lecheras, asociados com problemas reproductivos. **Revista de Med. Vet.**, v. 73 p. 264-272, 1992.

Referências Bibliográficas

CARTER, G. R.; COLE JUNIOR, J. R. **Diagnostic procedures in veterinary bacteriology and micology**. 5 ed. New York: Academic Press, 1990. p.261

CHANDOLIA, R.K., VERMA, S.K. Studies on biochemical profiles in anestrus buffalo heifers. **Indian Vet. J.**, v. 64, p. 482-484, 1987.

DAWUDA, P.M. *et al.* Serum progesterone concentrations during the post-partum period of indigenous nigerian zebu cows. **British Vet. J.**, v. 144, p. 253-257, 1988.

DURFFE, P. T., ALLEN, J. D. Serological titres of dairy cows over a 63-week period following natural infection with *Leptospira interrogans* serovar *hardjo*. **Australian Vet. J.**, v. 56, p. 574-579, 1980.

DUTTA, J.C. *et al.* Blood biochemical studies in anoestrus and normal cyclic cattle. **Indian Vet. J.**, v.65, p. 239-241, 1988.

DUTTA, J.C. *et al.* Studies on anoestrus cattle – serum progesterone profile. **Indian Vet. J.**, v.69, p. 236-237, 1992.

ELDER, J.K. *et al.* The significance of leptospiral titres associated with bovine abortion. **Australian Vet. J.**, v. 62 , p. 258-261, 1985.

ELLIOTT, L. *et al.* Uterus of the cow after parturition: bacterial content. **Am. J. Vet. Res.**, v.29, p.77-81, 1968.

ELLIS, W. A. *et al.* Bovine leptospiroses: Microbiological and serological findings in aborted fetuses. **Vet. Rec.**,v.110, p. 147-150, 1982.

Referências Bibliográficas

ELLIS, W. A. *et al.* Bovine leptospiroses: Serological findings in aborting cows. **Vet. Rec.**, v.110, p. 178-180, 1982.

ELLIS, W. A. *et al.* Excretion of *Leptospira interrogans serovar hardjo* following calving or abortion. **Res. in Vet. Sci.**, v.39, p. 296-298, 1985.

FOSTER, J.P., LAMMING, G. E., PETERS, A. R. Short-term relationships between plasma LH, FSH and progesterone in post-partum dairy cows and the effect of Gn-RH injection. **J. Reprod. Fert.**, v.59, p. 321-327, 1980.

GAINES, J. Examining individual cows in a subfertile dairy herd. **Vet. Medicine, janeiro**, p. 85-88, 1990.

GLENCROSS, R.G., MUNRO, I.B. Oestradiol and progesterone levels in plasma of a cow with ovarian cysts. **Vet. Rec.**, v. 24, p. 169, 1974.

GONZALEZ, H.E. *et al.* Morphometric studies of the bovine uterus: Microscopic lesions and retropective history. **Am. J. Vet. Res.**, v. 46, p. 2588-2595, 1985.

GOODALE, W.S. *et al.* Transitory changes of postpartum dairy cows. **J. Dairy Sci.**, v. 61, p. 740-746, 1978.

HARVEY, W. R. **User's guide for LSMLMW and MIXMDL PC-2 version. Mixed model least-squares and maximum likelihood computer program.** Columbus, Ohio State University Press, 1990. 91p.

Referências Bibliográficas

HATHAWAY, S.C., LITTLE, T. A., PRITCHARD, D.G. Problems associated with the serological diagnosis of *Leptospira interrogans* serovar *hardjo* infection in bovine populations. **Vet. Rec**, v. 119, p. 84-86, 1986.

HAWK, H.W. *et al.* Bacteriological studies of uteri of clinically normal cows of low fertility. **J. Dairy Sci.**, v.41, p. 120-128, 1957.

HUMBLOT, P., THIBIER, M. Progesterone monitoring of anestrus dairy cows and subsequent treatment with a prostaglandin F_{2α} analog or gonadotropin-releasing hormone. **Am. J. Vet. Res.**, v. 41, p. 1762-1766, 1980.

HUMPHREY, W.D. *et al.* Characterization of hormonal patterns in the beef cow during postpartum anestrus. **J. Anim. Sci.**, v. 56, p. 445-453, 1983.

JAIN, N. P. **Schalm's veterinary hematology**. 4. ed. Philadelphia: Lea & Febirger, 1986. 1221 p.

JOHANNNS, C.J., CLARK, T.L., HERRICK, J.B. Factors affecting calving interval. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 151, p. 1692-1704, 1967.

KINGSCOTE, B. Leptospiral antibodies in cattle in Alberta and evidence of na emerging serovar. **Can. Vet. J.**, v. 29, p. 647-653, 1988.

KINGSCOTE, B. *Leptospira interrogans* serovar *hardjo* infection in cattle in the South Okanagan District of British Columbia. **Can. Vet. J.**, v. 26, p. 328-332, 1985.

Referências Bibliográficas

KOZICKI, L.E. *et al.* Achados clínicos do trato reprodutivo de vacas no puerpério e sua relação com a progesterona. **Revista do Setor de Ciências Agrárias**, v. 6, p. 45-49, 1984.

KOZICKI, L.E. *et al.* Contribuição ao tratamento do anestro pós-puerperal em vacas leiteiras. **Revista do Setor de Ciências Agrárias**, v. 10, p. 157-162, 1988.

KUMAR, S. *et al.* Biochemical changes in certain reproductive stages of nondescript cows and heifers. **Indian Vet. J.**, v. 63, p. 348-350, 1986.

KUMAR, S., SHARMA, M.C. Level of haemoglobin and certain serum biochemical constituents in rural cows during fertile and non-fertile oestrus. **Indian Vet. J.**, v. 68, p. 361-364, 1991.

MARÇAL, W.S. Eritrograma de bovinos (*Bos taurus*, Linnaeus 1758) em fêmeas da raça holandesa preta e branca, sadios, criados no estado de São Paulo. São Paulo, 1989. 106 f. Dissertação (mestrado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista.

MESSIER, S. *et al.* Comparison of swabbing and biopsy for studying the flora of the bovine uterus. **Can. Vet. J.**, v. 25, p. 283-288, 1984.

MILLER, D.A., WILSON, M.A., BERAN, G.W. Relationships between prevalence of *Leptospira interrogans* in cattle, and regional, climatic, and seasonal factors. **Am. J. Vet. Res.**, v.52, p. 1766-1768, 1991.

MILNER, A.R. *et al.* *Leptospira* serogroup hebdomadis infection as australian zoonosis. **Australian Vet. J.**, v. 56, p. 70-73, 1980.

Referências Bibliográficas

MURTUZA, M., PANDEY, M.D., RAWAT, J.S. Concentration of certain minerals in the serum of Haryana cattle under various physiological states. **Indian Vet. J.**, v. 56, p. 95-99, 1979.

MYLREA, P.J., HEALY, B.V. Concentrations of some components in the blood and serum of apparently healthy dairy cattle. **Australian Vet. J.**, v. 44, p. 570-573, 1968.

NAKAO, T. *et al.* Peripheral blood levels of progesterone and 11-hydroxycorticosteroids and serum protein pattern in cows with clinical ovarian dysfunction. **Jap. J. Vet. Sci.**, v.38, p. 207-213, 1976.

NOAKES, D.E., WALLACE, L.M., SMITH, G.R. Pyometra in a Friesian heifer: bacteriological and endometrial changes. **Vet. Rec.**, v. 126, p. 509, 1990.

OHTANI, S., OKUDA, K. Histological observation of the endometrium in repeat breeder cows. **J. Vet. Med. Sci.**, v. 57, p. 283-286, 1995.

PATEL, B.M., MENON, G.N., SHUKLA, P.C. Haematological constituents of blood of Gir cattle. **Indian Vet. J.**, p. 415-421, 1964.

PETERS, A.R. Reproductive activity of the cow in the post-partum period. I. Factors affecting the length of the post-partum acyclic period. **Br. Vet. J.**, v. 140, p. 76-84, 1984.

RHODES, F.M. *et al.* Sequential changes in ovarian follicular dynamics in *Bos indicus* heifers before and after nutritional anoestrus. **J. Reprod. Fert.**, v. 104, p. 41-49, 1995.

Referências Bibliográficas

ROCHE, J.F. *et al.* Concentrations of luteinising hormone and progesterone in pregnant and non-pregnant heifers. **Vet. Rec.**, v. 116, p. 153-155, 1985.

SAGARTZ, J.W., HARDENBROOK, H.J. A clinical, bacteriologic and histologic survey of infertile cows. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 158, p. 619-622, 1971.

SAMAD, A., ALI, K.M., RAHMAN, A. Studies on certain blood constituents of anestrus cattle. **Indian Vet. J.**, v. 57, p. 135-138, 1980.

SCHAMS, D. *et al.* Profiles of LH and progesterone in postpartum dairy cows and their relationship to the commencement of cyclic functions. **Theriogenology**, v. 10, p. 453-468, 1978.

SIVAIAH, K., BABU RAO, K., MURTHY, A.S. Serum calcium and inorganic phosphorus levels in ongole cross-bred cows. **Indian Vet. J.**, v. 63, p. 804-806, 1986.

STAGG, K. *et al.* Follicular development in long-term anoestrus suckler beef cows fed two levels of energy post-partum. **Anim. Repr. Sci.**, v. 38, p. 49-61, 1995.

STUDER, E., MORROW, D.A. Postpartum evaluation of bovine reproductive potential: comparison of findings from genital tract examination per rectum, uterine culture, and endometrial biopsy. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 172, p. 489-494, 1978.

TALVELKAR, B.A., KULKARNI, B.A., RAIKAR, R.K. Hematological studies in Gir and cross-bred cows. **Indian Vet. J.**, v. 57, p. 640-643, 1980.

Referências Bibliográficas

TEGEGNE, A., ENTWISTLE, K.W., MUKASA-MUGERWA, E. Plasma progesterone and blood metabolite profiles in post-partum small east african Zebu cows. **Trop. Anim. Hlth. Prod.**, v. 25, p. 101-110, 1993.

THIERMANN, A.B., GARRETT, L.A. Enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of antibodies to *Leptospira interrogans* serovars *hardjo* and *pomona* in cattle. **Am. J. Vet. Res.**, v. 44, p. 884-887, 1983.

TUMBLESON, M.E. *et al.* Serum electrolyte concentrations, as a function of age, in female dairy cattle. **Cornell Vet.**, v.63, p. 58-64, 1973.

VLCEK, Z. *et al.* Fertility of cows after dystocias and complicated puerperium with respect to bacteriological and mycological findings in the genitalia. **Acta Vet. Brno**, v. 58, p. 245-260, 1989.

VLČEK, Z., SVOBODOVÁ, R.. Ocurrance and antibiotic sensitivity of bacteria present in the cervical mucus of cows in late puerperium and postpuerperal period. **Acta Vet. Brno**, v. 54, p. 91-97, 1985.

WEBB, R. *et al.* Plasma progesterone and gonadotrophin concentrations and ovarian activity in post-partum dairy cows. **J. Reprod. Fert.**, v. 59, p. 133-143, 1980.