



Esteroides e análogos da prostaglandina F2 α na prevenção de endometrites pós-parto em vacas girolandas

Steroids and prostaglandin F2 α analogs in the prevention of endometritis postpartum in giroland cows

Thales Discini Vasconcelos, Cristiano Rodrigues Borges Guimarães, Carlos Antônio de Carvalho Fernandes, Miller Pereira Palhão, Jairo Pereira Neves[‡]

Universidade José do Rosário Vellano, Alfenas, MG, Brasil.

[‡]Correspondência: jpneves@terra.com.br

Resumo

Objetivou-se avaliar a ocorrência de endometrites, a taxa de prenhez (TP) e o intervalo parto concepção (IPC) de vacas leiteiras tratadas 10 dias pós-parto com esteroides ou análogo da prostaglandina F2 α . Dividiu-se 207 animais clinicamente sãos em 4 tratamentos: T1 (0,5 mg de Cipionato de Estradiol; T2 (70 mg de progesterona); T3 (0,5 mg de cloprostenol) e T4 2 mL de solução salina. 30 a 45 dias pós-parto realizou-se o exame ginecológico e nos animais saudáveis realizou-se a citologia endometrial. Por fim, estes animais foram submetidos a um protocolo de IATF. Analisou-se o IPC por ANOVA e as variáveis qualitativas pelo teste do Qui-Quadrado. O IPC não diferiu ($P < 0,05$) entre os tratamentos ($104,7 \pm 72,6$; $93,5 \pm 63,0$; $98,2 \pm 77,8$; $112,8 \pm 67,8$, respectivamente). O Cloprostenol reduziu ($P < 0,01$) o número de animais não gestantes (10%, 5/50) em relação ao controle (26%, 13/50). Não houve diferença ($P < 0,09$) entre os tratamentos na incidência de endometrites. A TP não diferiu entre os animais diagnosticados com endometrite subclínica. Conclui-se que a utilização de esteroides ou análogos da prostaglandina F2 α neste período não é eficiente na prevenção de endometrites e na melhoria da TP e IPC. O Cloprostenol foi o único a reduzir o número de animais não gestantes em comparação ao controle.

Palavras-chave: Cloprostenol Sódico, Cipionato de Estradiol, citologia endometrial, intervalo parto concepção, vaginoscopia.

Abstract

This study was designed to evaluate steroids or prostaglandin F2 α analogue treatment performed 10 days after parturition postpartum over the following reproductive indexes: occurrence of endometritis, the pregnancy rate (PR) and parturition conception interval (PCI). Two-hundred seven ($n = 207$) cows without reproductive abnormalities were assigned in four treatments performed 10 days after parturition: T1 (0.5 mg estradiol cypionate, T2 (progesterone 70 mg), T3 (0.5 mg cloprostenol, prostaglandin F2 α analogue) and T4 (2 ml saline). Thirty to forty-five days after parturition all animals were gynecologically examined, and the endometrial cytology was performed only in cow without clinical endometritis. Finally, these animals were submitted to an IATF protocol. The PCI was analyzed by ANOVA and the qualitative variables were analyzed by the Chi-Square. The PCI did not differ ($P < 0.2$) between treatments (104.7 ± 72.6 , 93.5 ± 63.0 , 98.2 ± 77.8 , 112.8 ± 67.8 , respectively). Cloprostenol treatment reduced ($P < 0.01$) the number of non-pregnant animals (10%, 5/50) compared to the control (26%, 13/50). The steroids or Cloprostenol treatment is not effective to prevent endometritis or improve PR and PCI indexes, when injected at this period. Cloprostenol was the only one to reduce the number of non-pregnant animals in comparison to the control.

Keywords: Cloprostenol Sodium, conception interval, endometrial cytology, Estradiol Cypionate, vaginocopy.

Introdução

Apesar dos esforços para controlar as infecções uterinas em bovinos ela ainda se destaca como uma das principais afecções nos rebanhos leiteiros, principalmente, no período pós-parto. Após a involução uterina, estas afecções comumente chamadas de endometrites, quando não controladas, podem influenciar negativamente os índices reprodutivos do rebanho, aumentando, por exemplo, o intervalo de tempo entre o parto e a concepção (LeBlanc et al., 2011).

Os e antibióticos são comumente utilizados nos tratamentos das endometrites bovinas, porém, ainda há controvérsias quanto ao seu uso, pela sensibilidade dos microrganismos atuantes na infecção com o fármaco utilizado e os prejuízos econômicos acarretados pelos resíduos destes antibióticos no leite, tornando-se inadequado ao consumo (Fernandes et al., 2007) Neste contexto, alternativas como o uso de hormônios esteroides e prostaglandinas vêm sendo avaliados nas pesquisas com a finalidade de minimizar a ocorrência das infecções uterinas.



A prostaglandina F2 α (PGF2 α) e o 17 β -estradiol (E2) são os principais hormônios envolvidos no mecanismo de defesa hormonal do sistema reprodutor. A progesterona (P4), entretanto, é considerada imunossupressora, uma vez que inibe os mecanismos de defesa uterina, podendo atrasar o processo de involução uterina e predispor a ocorrência de endometrites (Dhaliwal et al., 2001; Seals et al., 2002; Lewis, 2003, 2004).

Produzida pelo útero, a PGF2 α além de promover a luteólise do corpo lúteo é uma molécula pró-inflamatória, estimulando a produção de citocinas que proporcionam a síntese de leucotrienos B4 (LTB4), os quais são quimiotáticos, atraem neutrófilos, estimulando a fagocitose e a função dos linfócitos na superfície do endométrio (Lewis, 1997, 2003, 2004; Fernandes e Figueiredo, 2007) favorecendo as condições uterinas. As concentrações de prostaglandinas na circulação geralmente são altas na primeira semana após o parto, assim como a velocidade da involução uterina neste período. As concentrações mais baixas deste hormônio são atingidas em torno de 15 dias após o parto, quando geralmente há elevação da concentração de P4 na corrente sanguínea (Kozicki, 1998).

Objetivou-se avaliar a ocorrência de endometrites, o intervalo parto concepção (IPC) e a taxa de prenhez (TP) ao primeiro serviço de vacas leiteiras tratadas com hormônios esteroides (Cipionato de Estradiol – CE - ou Progesterona - P4) ou análogo da prostaglandina F2 α (Cloprostenol Sódico - PGF) aproximadamente 10 dias após o parto.

Material e Métodos

Local e animais

O estudo foi realizado na fazenda Bocaina no Município de Passos, MG. Foram utilizadas 207 vacas leiteiras da raça Girolando. Estes animais foram mantidos confinados com fornecimento de silagem de milho, concentrado proteico de acordo com suas exigências nutricionais, água e mistura mineral vitaminada e fornecidas à vontade. Todos os procedimentos foram previamente aprovados pelo Comitê de Ética da Universidade José do Rosário Vellano/protocolo CEUA-Unifenas 25 A/2016.

Delineamento experimental

Neste estudo, foram utilizados animais da raça Girolando (n = 207) com até 20 dias pós-parto (DPP) com histórico do último parto eutócico e sem retenção de placenta. Animais que apresentavam alterações em outros sistemas e com baixo escore de condição corporal \leq na escala de 1 a 5) não foram utilizados. Os animais considerados aptos foram aleatoriamente divididos em 4 tratamentos.

No primeiro tratamento (T1, n = 54) os animais receberam 1 mg de Cipionato de Estradiol (CE) (ECP, Pfizer, SP); no segundo tratamento (T2, n = 53) os animais receberam 70 mg Progesterona (P4) (Afisterone[®], CEVA, SP); no terceiro tratamento (T3, n = 50) os animais receberam 0,5 mg Cloprostenol Sódico (CS) (Clocio[®], Bimeda, SP) e no quarto e último tratamento (T4, n = 50) os animais receberam 2 mL de solução de NaCl 0,9%. Todas aplicações foram preconizadas por via intramuscular (IM) profunda aproximadamente 10 dias após o parto dos animais (10,6 \pm 7,6; Tab. 1).

Tabela 1. Tratamentos utilizados em vacas girolandas no período pós-parto.

Tratamentos	Descrição e dosagem
Estradiol	Cipionato de Estradiol - 1 mg - IM
Progesterona	Progesterona - 70 mg - IM
Prostaglandina	Cloprostenol sódico - 0,5 mg - IM
Controle	Solução de NaCl 0,9 % - 2 mL - IM

Entre a quarta e a sexta semana pós-parto procedeu-se o exame ginecológico utilizando a palpação retal, a vaginoscopia e a ultrassonografia para o diagnóstico de endometrites clínicas. Após o exame ginecológico, foi procedido o exame citológico para o diagnóstico de endometrites subclínicas utilizando-se a técnica do “cytobrush” endometrial em vacas sem evidências de endometrites clínicas. Foram considerados positivos para endometrites subclínicas os animais que foram observados mais de 5% de neutrófilos no esfregaço transcervical, conforme Gilbert et al., 2005.

Ainda no período pós-parto, no exame ginecológico por palpação transretal, qualquer corno uterino ligeiramente assimétrico em relação ao seu oposto com coleção de líquido foi considerado a presença de um processo inflamatório e, portanto, uma endometrite clínica.

Para vaginoscopia foram utilizados espéculos metálicos com uma fonte de luz, previamente desinfetados em compostos de amônio quaternário. Antes de sua introdução na vagina foi feita a higienização da vulva, mediante lavagem com água corrente e secagem com papel toalha. O diagnóstico para endometrite clínica



foi realizado quando foram detectados hiperemia, umidade acentuada e secreção com aspecto turvo, mucopurulento e purulento.

Para os exames ultrassonográficos foi utilizado um ultrassom portátil (Sonoscape A5V) equipado com um transdutor linear de 5,0 - 7,5 MHz através da via transretal. O diagnóstico de endometrite clínica foi realizado pela presença de conteúdo uterino apresentando pontos de ecogenicidade indicativos de endometrites.

O método utilizado para diagnóstico de endometrite citológica (subclínica) foi a técnica do “cytobrush” endometrial, que consiste numa escova ginecológica modificada, não estéril, que foi introduzida através da vagina até o corpo do útero para depois ser rotacionada para a obtenção do material celular do endométrio. Somente os animais considerados negativos para endometrites clínicas foram submetidos ao exame citológico para diagnóstico de endometrites subclínicas.

Logo após a coleta das amostras endometriais foi realizada a rolagem da escova ginecológica sobre as lâminas histológicas. Posteriormente, as lâminas foram identificadas com número do animal, data da colheita e coradas. Foi utilizado o método de coloração Panótico (Labtest). Mais tarde estas lâminas foram examinadas em microscopia de luz com objetivas de 20X e 40X. As avaliações citológicas foram determinadas pelo percentual de neutrófilos (células PMN) presentes em cada lâmina corada após contagem de 200 células. Foram considerados como indicativo de endometrites subclínicas todos os animais que apresentaram mais de 5% de neutrófilos em relação ao número total de células de descamação presentes na lâmina histológica (Gilbert et al., 2005).

Por fim, após um período de espera voluntária de 30 dias estes animais foram submetidos a um protocolo de Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) e avaliados quanto ao percentual de TP ao primeiro serviço e o IPC.

Análise estatística

Os dados foram digitados em planilhas eletrônicas para posterior análise estatística utilizando o programa Sistemas de Análises Estatísticas e Genéticas (Ribeiro Junior, 2001).

As variáveis, grau de espessura uterina, posição uterina, cor da mucosa, umidade da mucosa, caráter da secreção e conteúdo uterino foram segregadas de acordo com escores e posteriormente analisadas pelo teste do Qui-quadrado.

As variáveis, parto-primeiro serviço e período pós-parto, por apresentarem distribuição normal, foram analisadas por análise de variância. Já as variáveis PMN e número de serviços por concepção, não apresentaram distribuição normal e por isso foram estudadas através do teste não paramétrico de *Kruskall-Wallis*.

Para todas as variáveis, os níveis de significância foram de 1-5% de probabilidade.

Resultados

Aos 10 dias após o parto e nas dosagens preconizadas neste estudo o CE, a P4, o CS e a solução salina NaCl 0,9% não influenciaram ($P > 0,05$) no IPC dos animais ($104,7 \pm 72,6$; $93,5 \pm 63,0$; $98,2 \pm 77,8$; $112,8 \pm 67,8$ respectivamente para os tratamentos T1, T2, T3 e T4; Tab. 2).

Entretanto, o número de animais não gestantes (10%, 5/50) ao final do estudo foi menor ($P < 0,01$) no grupo tratado CS quando comparado aos animais tratados apenas com solução salina NaCl 0,9% (26%, 13/50).

A aplicação de CE, P4, CS e solução salina NaCl 0,9% aproximadamente 10 dias após o parto não influenciou ($P > 0,05$) na ocorrência de endometrites diagnosticadas como clínicas 1,8% (1/54), 5,5% (3/53), 6,0% (3/50) e 0% (0/50), respectivamente. Assim como, os tratamentos neste período e nas doses preconizadas também não influenciaram ($P < 0,09$) na ocorrência de endometrites subclínicas diagnosticadas posteriormente pelo exame citológico (40,0, 56,0, 42,9 e 20,9%, respectivamente para os tratamentos T1, T2, T3 e T4; Tab.3).

O tratamento empregado também não influenciou ($P > 0,05$) a taxa de prenhez após o primeiro serviço de animais diagnosticados como negativos (55,4%, 31/56) ou positivos (55,3%, 21/38) para endometrite subclínica (Tab. 4).

Tabela 2. Influência do tratamento no Intervalo Parto Concepção (IPC) na média do período de serviços.

Tratamento	Número Animais	Período de serviços (Dias)
1	40	$104,7 \pm 72,6$
2	43	$93,5 \pm 63,0$
3	45	$98,2 \pm 77,8$
4	37	$112,4 \pm 67,8$

Cipionato de Estradiol (T1), Progesterona (T2), Cloprostenol Sódico (T3) e solução salina NaCl 0,9% (T4).



Tabela 3: Influência do tratamento na ocorrência de endometrites subclínicas.

Tratamento	% Positivo	Número de animais
1	40,0	10/25
2	56,0	14/25
3	42,9	9/25
4	20,9	5/24

Cipionato de Estradiol (T1), Progesterona (T2), Cloprostenol Sódico (T3) e solução salina NaCl 0,9% (T4); Valor de P = 0,09.

Tabela 4. Influência da endometrite subclínica sobre a taxa de prenhez

Citologia	% Prenhez
Negativo	55,4 (31/56)
Positivo	55,3 (21/38)

Valor de P = 1,0.

Discussão

No presente estudo, não se observou influência dos tratamentos no IPC. Apenas a aplicação de 0,500 mg de CS aproximadamente 10 dias após o parto conseguiu reduzir o número de animais não gestantes em comparação ao grupo controle. Fernandes et al. (2012) com uma aplicação de 0,530 mg de CS logo após o parto e outra aplicação 48h após a primeira, associado a oxitetraciclina, conseguiu reduzir o IPC (149,61 + 55,82^a vs 121,59 + 42,41^b) apenas com inclusão do CS ao tratamento de vacas diagnosticadas com retenção de placenta. Ao que parece, o uso de CS neste período pode acelerar a involução uterina e reduzir a ocorrência de endometrites influenciando na diminuição do IPC, conforme Fernandes et al., 2012.

Este autor ainda ressalta que, a utilização rotineira do CS após o parto de vacas leiteiras vem se tornando uma realidade. Estudos avaliando a utilização de uma ou de duas doses de CS demonstraram que além de favorecer a aceleração da involução uterina o análogo da PGF reduziu a incidência de infecções, o número de serviços por concepção e o período de serviços de vacas leiteiras tratadas com duas doses de CS em relação aos animais tratados com apenas uma dose do análogo da PGF2 α (Fernandes et al., 2002a,b).

Entretanto, uma única aplicação de CS aproximadamente 10 dias após o parto ainda pode ser eficaz, visto que, as altas concentrações de PGF2 α são encontradas apenas na primeira semana após o parto (Kozicki, 1998). Essas altas concentrações de PGF2 α aceleram a involução uterina, mas principalmente, neste caso, podem ter melhorado a resposta imune na superfície do endométrio (Lewis, 1997, 2003, 2004; Fernandes e Figueiredo, 2007) influenciando a qualidade do ambiente uterino e na redução do número de animais não gestantes como visto no grupo tratado com CS.

Santos et al. (2012) utilizando 3 mg de CE 24h após o parto e 0,500 mg de CS 7 e 14 dias após o parto observaram uma diminuição significativa do IPC em vacas pluríparas tratadas apenas com análogo da PGF2 α (Grupo Controle -127,7 dias, Grupo CS - 111,4 dias e Grupo CE-150,5 dias).

A endometrite subclínica é uma inflamação crônica com infiltrado leucocitário no lúmen uterino, formado principalmente por neutrófilos. Por não apresentar sinais clínicos evidentes, seu diagnóstico se fundamenta em exames citológicos e se manifesta comumente após 21 dias pós-parto (DPP) (Föld et al., 2006; Sheldon et al., 2006).

Os tratamentos com CE, P4 e CS não influenciaram a ocorrência de endometrites clínicas e subclínicas. Em outro estudo, entretanto, observou-se que a inclusão de CS ao tratamento com oxitetraciclina em vacas diagnosticadas com retenção de placenta reduziu a ocorrência de infecções uterinas em comparação ao grupo que recebeu apenas o antibiótico (45% vs 79,49%, respectivamente; Fernandes et al., 2012).

Santos et al. (2012) também não observaram diferença na contagem de neutrófilos com a aplicação de 3 mg de CE 24h após o parto ou a aplicação de 0,500 mg de CS 7 e 14 dias após o parto assim como neste estudo.

O exame citológico realizado em vacas clinicamente sadias permitiu o diagnóstico de endometrites subclínicas. Entretanto, o diagnóstico desses animais não pareceu um bom parâmetro de avaliação de sua capacidade reprodutiva. Isso pode ter ocorrido pelo fato do exame ter sido preconizado apenas em animais livres de endometrites clínicas e, por tanto, os processos inflamatórios diagnosticados como endometrites subclínicas poderiam estar já em resolução.

Mesmo a P4 sendo considerada imunossupressora, uma vez que ela pode inibir os mecanismos de defesa uterina, atrasando o processo de involução uterina e predispondo a ocorrência de endometrites (Dhaliwal et al., 2001; Seals et al., 2002; Lewis, 2003, 2004), não foram observados efeitos deletérios quanto a sua utilização neste período e nestas concentrações.

Este estudo avaliou uma única aplicação de CE, P4 e CS aproximadamente 10 dias após o parto. Talvez o uso de uma dosagem maior, aplicações em períodos diferentes como feito por outros autores ou até mesmo o uso de dois hormônios simultaneamente poderiam ter alcançado resultados mais satisfatórios.



Conclusão

Conclui-se que os tratamentos com esteróides utilizados não são eficientes na prevenção de endometrites, no aumento da taxa de prenhez (TP) e na diminuição do Intervalo Parto Concepção (IPC). O tratamento com Cloprostenol Sódico foi o único a reduzir o número de animais não gestantes em comparação ao grupo tratado apenas com solução salina.

Agradecimentos

À FAPEMIG, APQ-02168-14, pelo suporte financeiro. À Fazenda Bocaina no Município de Passos - MG pela cedência dos animais e estrutura.

Referências

- Dhaliwal GS, Murray RD, Woldehiwet Z.** Some aspects of immunology of the bovine uterus related to treatments for endometritis. *Anim Reprod Sci*, v.67, p.135-152, 2001.
- Fernandes CAC, Figueiredo ACS.** Avanços na utilização de prostaglandinas na reprodução de bovinos. *Rev Bras Reprod Anim*, v.31, p.406-414, 2007.
- Fernandes CAC, Palhão MP, Ribeiro JR, Viana JHM, Gioso MG, Figueiredo ACS, Oba E, Costa DS.** Associação entre oxitetraciclina e cloprostenol no tratamento de vacas leiteiras com retenção de placenta. *R. Bras Ciênc Vet*, v.19, n.3, p.178-182, 2012.
- Fernandes CAC, Viana JHM, Ferreira AM.** Efeito do cloprostenol sódico no pós-parto de vacas leiteiras e retorno à atividade reprodutiva. *A Hora Veterinária*, v.126, p.13-17, 2002a.
- Fernandes CAC, Vieira MR, Valle MAG.** Efeito do cloprostenol sódico no pós-parto de vacas leiteiras sobre a incidência de infecções uterinas e fertilidade futura. *A Hora Veterinária*, v.127, p.41-45, 2002b.
- Földi J, Kulcsár M, Pécsi A, Huyghe B, de Sa C, Lohuis JACM.** Bacterial complications of postpartum uterine involution in cattle. *Anim Reprod Sci*, v.96, p.265-281, 2006.
- Gilbert RO, Shin ST, Guard CL, Erb HN, Frajblat M.** Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology*, v.64, p.1879-1888, 2005
- Kozicki LE.** Aspectos fisiológicos e patológicos do puerpério em bovinos. *Arch Vet Sci*, v.3, p.9-19, 1998.
- LeBlanc SJ, Osawa T, Dubuc J.** Reproductive tract defense and disease in postpartum dairy cows. *Theriogenology*, v.76, p.1610-1618, 2011.
- Lewis GS.** Steroidal regulation of uterine immune defenses. *Anim Reprod Sci*, v.82/83, p.281-294, 2004.
- Lewis GS.** Steroidal regulation of uterine resistance to bacterial infection in livestock. *Reprod Biol Endocrinol*, v.1, p.1-8, 2003.
- Lewis GS.** Uterine health and disorders. *J Dairy Sci*, v.80, p.984-994, 1997.
- Ribeiro Júnior JI.** Análises estatísticas no SAEG. Viçosa: UFV, 2001. 301p.
- Santos FC, Filho BDO, Meirinhos MLG.** Uso do cloprostenol e do cipionato de estradiol, durante o puerpério, sobre o risco relativo da presença intrauterina de bactérias gram-negativas, em vacas Girolando. In: Congresso Estadual de Iniciação Científica, I, 2012, Urutaí, GO: Anais do Congresso Estadual de Iniciação Científica, 2012.
- Seals RC, Matamoros I, Lewis GS.** Relationship between postpartum changes in 13, 14-dihydro-15-keto-PGF₂ concentrations in Holstein cows and their susceptibility to endometritis. *J Anim Sci*, v.80, p.1068-1073, 2002.
- Sheldon IM, Lewis GS, LeBlanc S, Gilbert RO.** Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology*, 65:1516-1530, 2006.
-