

Artículo original

Avaliação microbiológica uterina durante o puerpério de vacas Nelore primíparas

Danila Fernanda Rodrigues Frias^{a,*}, Diego Rodrigues Pereira^b, Dora Inés Kozusny-Andreani^a, Hélio Muniz Simon^a

^aUniversidade Camilo Castelo Branco – UNICASTELO, Campus de Fernandópolis, São Paulo.

^bUniversidade Estadual de Goiás, Campos Belos, Goiás. Brasil.

Recibido 29 de enero de 2016; aceptado 21 de abril de 2016

Resumo: O objetivo deste estudo foi avaliar a microbiota uterina de vacas primíparas da raça Nelore durante o período puerperal. Foi coletado material do útero de 15 fêmeas recém-paridas, uma vez por semana, durante 60 dias. O material coletado foi inoculado em meio de cultura, e os microrganismos foram identificados por meio de coloração de Gram, coloração Azul de Algodão e testes bioquímicos. As amostras foram isolados *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp., *S. intermedius*, *Bacillus* spp., *Actinomyces pyogenes*, *Sporothrix schenckii*, *Trichophyton verrucosum* e *Candida albicans*, geralmente em associações. Com isso, concluímos que o puerpério é um processo séptico, e os agentes encontrados são os mesmos que provocam a maioria dos casos de infecções uterinas pós-parto. O número e a variação de microrganismos decrescem a cada semana, demonstrando o processo natural de autodefesa do útero que ocorre quando o animal apresenta-se sadio.

Palavras chave: microrganismos, puerpério, primíparas, vacas Nelore.

Evaluación microbiológica uterina durante el puerperio de vacas Nelore primíparas

Resumen: El objetivo de este estudio fue evaluar la microbiota uterina de vacas primíparas de la raza Nelore durante el puerperio. El material fue recogido del útero de 15 vacas que habían parido recientemente, una vez a la semana durante 60 días. El material recogido se inoculó en medios de cultivo y los microorganismos fueron identificados mediante las tinciones de Gram, Azul de Algodón, y por pruebas bioquímicas. En los cultivos se aislaron *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp., *S. intermedius*, *Bacillus* spp., *Actinomyces pyogenes*, *Sporothrix schenckii*, *Trichophyton verrucosum* y *Candida albicans*, generalmente con más de un microorganismo por muestra. Se concluyó que el puerperio es un proceso séptico, y que estos agentes son la causa de la mayoría de los casos de infecciones uterinas después del parto. El número y variedad de microorganismos disminuyeron cada semana, lo que demuestra un proceso natural de autodefensa del útero cuando el animal está sano.

Palabras clave: microorganismos, puerperio, primíparas, vacas Nelore.

Uterine microbiological assessment of primiparous nelore cows during puerperium

Abstract: It was aimed to evaluate the uterine microbiota of primiparous Nelore cows during the puerperal period. To 15 fifteen females immediately parous, secretions were obtained from the uterus once a week, during sixty days. Material obtained was inoculated in culture media, and microorganism identification was made by smears stained by the Gram method, cotton blue and biochemical tests. Microorganisms recovered were *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus*, *S. intermedius*, *Streptococcus* spp., *Bacillus* spp., *Actinomyces pyogenes*, *Sporotrix schenckii*, *Trichophyton verrucosum* and *Candida albicans*, generally recovering more than one microorganism per culture, demonstrating that the puerperium is a septic process. The number and type of microorganisms decreased every week, demonstrating the natural process of self-defense of the uterus that occurs by the end of puerperium.

Keywords: microorganism, puerperium, primiparous, Nelore cows.

* Correspondencia:

E-mail: danilafrias@yahoo.com.br

Introducción

O Brasil é o detentor do maior rebanho bovino do mundo, composto por cerca de 180 milhões de cabeças [1,2]. Ao longo da última década, se firmou como um grande produtor e exportador de carne bovina [3], e a pecuária de corte passou a representar uma das mais importantes atividades do agronegócio brasileiro [4].

A bovinocultura de corte brasileira é explorada basicamente em sistema de produção a pasto, sendo representada por diversas raças, destacando-se a Nelore, presente em grandes áreas nos estados das regiões Sudeste, Centro Oeste e Norte do país [4]. Entretanto, mesmo estando difundida na maioria dos Estados brasileiros, é uma atividade que ainda apresenta níveis de produção muito abaixo de seu potencial [5]; e, por isso, a busca pelo aumento da eficiência reprodutiva é um fator fundamental para seu crescimento [1].

As principais causas da baixa eficiência reprodutiva em fêmeas bovinas são as infecções uterinas provocadas por agentes bacterianos durante o puerpério. Este período compreende o intervalo que vai da expulsão placentária até o retorno do organismo materno ao estado normal de não gestante [6,7], e é um dos mais importantes no ciclo reprodutivo, uma vez que, durante seu curso, ocorre o restabelecimento da fertilidade da fêmea, com a completa involução uterina e reinício da fisiologia endócrina [8]. A demora no retorno do útero ao seu tamanho e posição do pré-parto, também é um fator desencadeante para infecções uterinas [6]. Portanto, para que a maximização da eficiência reprodutiva de uma fêmea aconteça é essencial que ocorra a rápida restauração do trato reprodutivo no puerpério [9].

Todos os animais possuem naturalmente algum tipo de defesa contra alguns patógenos, razão pela qual a contaminação do trato genital no período puerperal pode não trazer problemas. Porém, alguns animais, podem apresentar falhas em seus mecanismos de defesa, o que contribui para a persistência de bactérias patogênicas no trato genital e favorece o desenvolvimento de infecções clínicas e subclínicas [8,10] que comprometem a fertilidade da fêmea, aumentando o número de serviços por concepção, ou mesmo provocando a esterilidade [11].

Um quadro de infecção uterina é facilmente instalado no animal já que a condição estéril do útero é perdida no pós-parto, uma vez que as bactérias, patogênicas ou não, presentes nas fezes e pele do animal penetram via canal do parto [10,12,13]. Após o parto, as alterações ocorridas no endométrio, juntamente com o fluido e debris celulares presentes no lúmen uterino, promovem a rápida multiplicação destas bactérias [14], e por isso, em mais de 90% das vacas é possível observar contaminação uterina durante duas a três semanas após o parto [10,13,15]. Outros fatores que agravam ainda mais esta situação é a ocorrência de partos distócicos, palpções vaginais, usam de instrumentos invasivos para observação fetal, cesarianas e retenção de placenta [15].

Mesmo com a infecção uterina instalada, o processo de

involução do útero acontece, e ela é eliminada dentro de duas a três semanas, dependendo da gravidade da infecção [16]. Isso ocorre porque, durante o período puerperal, o número de bactérias aumenta durante alguns dias no início, mas logo decresce, conforme o progresso de involução do órgão [10,13,17]. O quadro é considerado um processo séptico, e a eliminação destas bactérias ocorre normalmente pela contração uterina, produção de substâncias antibacterianas pelo tecido uterino, fagocitose e fechamento da cérvix [9,18].

Nos primeiros 15 dias após o parto, 85 a 93% dos úteros bovinos podem estar contaminados por diferentes bactérias. Por volta do 40º dia apenas 30% dos úteros estão contaminados, e menos de 9% apresentam esta característica entre 50 e 70 dias após a parição [9].

Os microrganismos encontrados em animais com infecção uterina puerperal são de diversos tipos, ou seja, constituem uma flora bacteriana mista. Geralmente são agentes oportunistas presentes no meio ambiente que, após a inoculação e devido a fatores predisponentes, como calor e nutrientes, se instalam e se desenvolvem rapidamente no útero, causando infecção. Neste período, o útero está repleto de sangue e outros líquidos, que funcionam como excelente meio de cultura para as bactérias. Além disso, a inércia uterina, que é favorecida pelo processo inflamatório, fornece condições ideais para a multiplicação dos agentes [16].

Trueperella pyogenes, *Fusobacterium* sp. e *Bacteróides* sp. são os microrganismos mais frequentes em culturas de material uterino durante o puerpério [9,15]. O isolamento de *T. pyogenes* tem sido associado a várias anormalidades, incluindo alterações histológicas no útero bovino pós-parto [19]. Além disso, é considerado o principal patógeno oportunista do trato reprodutivo dos bovinos [20].

A escassez de dados sobre pesquisa, avaliação clínica e microbiológica do útero, em vacas da raça Nelore no período puerperal, associado à relevância destas informações para incrementar o manejo reprodutivo, visando o melhor desempenho da eficiência reprodutiva em rebanhos desta raça, formam as bases para o desenvolvimento deste trabalho, que teve por objetivo a avaliação da microbiota uterina de vacas primíparas da raça Nelore, durante o período puerperal.

Materiais e métodos

O projeto foi conduzido no Centro Zootécnico da Universidade Camilo Castelo Branco, Campus VII - Fazenda Santa Rita, no Município de Fernandópolis, São Paulo.

Foram utilizadas quinze vacas primíparas Nelore LA (Livro Aberto) recém-paridas, com idade aproximada de dois anos e meio, identificadas por meio de brincos numerados. Esses animais são oriundos do rebanho pertencente à universidade, criados a pasto e recebem concentrado à base de cana triturada, caroço de algodão, farelo de milho e suplementadas com sal mineralizado. O

pasto utilizado é formado por capim Mombaça (*Panicum maximum*), em sistema de pastejo rotacionado, composto por quatro piquetes, com período de ocupação de dez dias e descanso de 30 dias.

Os animais foram contidos em mangueiro por pessoal capacitado, assim como manipulados posteriormente durante a coleta das amostras.

As coletas de material do útero para avaliação microbiológica foram realizadas a cada sete dias, sendo a primeira aos três (± 3) dias após o parto (dpp), até 60 dpp, e seguiram os seguintes passos, de acordo com protocolo desenvolvido pelos próprios autores:

Primeiramente houve a contenção do animal em brete, seguindo as normas de bem-estar. Em seguida foi realizada a limpeza da vulva e introdução de escova ginecológica estéril armazenada em pipeta estéril, revestida com camisinha sanitária, rompida após a passagem do 1º anel cervical. Já no útero, a escova ginecológica foi exposta seguida por execução de movimento circular no sentido horário.

Após a realização da coleta do material, a escova foi recolhida para o interior da pipeta e retirada do aparelho reprodutor. Com utilização de uma tesoura, a extremidade distal da escova impregnada com o material coletado foi cortada e armazenada em tubo de ensaio estéril e identificado com o número do animal. Este material foi encaminhado imediatamente ao laboratório de microbiologia para inoculação em meio de cultura apropriado.

Os meios de cultura utilizados foram: ágar tripticase soja (TSA, Difco), ágar Sabouraud (Difco), ágar sangue e ágar MacConkey (Oxoid). Após a inoculação, as placas foram incubadas em estufa a 37 °C $\pm 0,5$ °C durante sete dias, com a primeira avaliação realizada após 48 h da inoculação, para verificação de crescimento de bactérias e fungos [21].

A morfologia das bactérias isoladas foi verificada por meio da coloração de Gram e microscopia óptica; enquanto os fungos foram avaliados macroscopicamente pela análise das características das colônias e microscopicamente por meio da utilização de lâminas contendo o material microbiológico corado com azul de algodão.

Os isolados bacterianos foram diferenciados pela utilização de métodos bioquímicos. Para as bactérias do gênero *Staphylococcus* spp. foram empregados os testes de catalase e coagulase. No primeiro foi adicionada uma gota de peróxido de hidrogênio 3% (v/v) sobre a colônia, e as bactérias catalase positivas emitiram bolhas de gás. Para o teste de coagulase em lâmina foi depositada uma gota de plasma sanguíneo em lâmina de vidro sob uma pequena quantidade de bactérias; desta forma, estafilococos coagulase positivos coagularam o plasma [21].

As bactérias gram-negativas foram cultivadas em ágar MacConkey para obtenção de culturas puras e posterior identificação através do sistema API 20E® (Biomerieux). Para realização deste teste, as colônias bacterianas foram diluídas em solução de cloreto de sódio 0,8% (p/v) estéril e 100 μ L desta suspensão foram depositados em cada cela. O sistema foi perfeitamente vedado e incubado por 24h a 36°C $\pm 0,5$ °C, quando as reações bioquímicas foram então

avaliadas e os microrganismos identificados.

Resultados e Discussão

Das amostras analisadas foram isoladas as seguintes bactérias: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *S. aureus*, *Streptococcus* spp., *S. intermedius*, *Bacillus* spp. e *T. pyogenes*. Estes microrganismos foram identificados por meio de coloração de Gram e testes bioquímicos. Diversos tipos de bactérias gram-positivas e gram-negativas podem ser isoladas do útero no pós-parto [14]. Alguns autores relataram a presença de *E. coli*, *T. pyogenes*, *Streptococcus* spp. e *Staphylococcus* spp. em útero de vacas sadias no puerpério [19,22-24]. Silva e Lobato [25] analisaram amostras de conteúdo uterino com endometrite e encontraram *T. pyogenes*, *Streptococcus* spp., *S. aureus*, *E. coli*, *Proteus* spp., *Bacillus* spp. e *Bacteroides* spp.

Do gênero *Staphylococcus* foram identificadas cepas que diferiram fenotipicamente entre si quando caracterizadas através de provas bioquímicas. Foram observadas estirpes alfa e beta hemolíticas quando cultivadas em meio ágar sangue, coagulase positivas e negativas, e catalase positivas. Houve predominância de *S. aureus* em 66,7% e 93,3% das amostras processadas provenientes da primeira e segunda coleta (terceiro e 10º dias pós-parto, respectivamente). Silva e Lobato [25] encontraram *S. aureus* em amostras avaliadas de casos de endometrite pós-parto, embora a predominância fosse de *T. pyogenes*.

As bactérias gram-negativas, *E. coli*, *P. mirabilis*, e *P. aeruginosa*, foram isoladas em 53,3%, 33,3% e 20% dos animais, respectivamente.

As culturas realizadas em ágar Sabouraud apresentaram desenvolvimento de fungos filamentosos e leveduriformes. Quantitativamente a presença destes microrganismos foi inferior ao das bactérias. Através das características microscópicas e macroscópicas foi possível identificar a presença dos fungos filamentosos *Sporothrix schenckii*, *Trichophyton verrucosum* e leveduriformes identificados como *Candida albicans*.

As bactérias do gênero *Bacillus* foram pouco frequentes assim como o fungo *T. verrucosum* isolado de um animal, nas duas primeiras coletas.

Os isolados em associações foram encontrados em todas as amostras, dentre as quais destacaram-se as de *S. aureus* com *S. intermedius*; *E. coli*, *P. aeruginosa*, *T. pyogenes* e *S. schenckii*; *S. aureus* com *Streptococcus* spp.; *E. coli*, *P. mirabilis*, *T. pyogenes*, *C. albicans* e *S. schenckii*; *S. aureus* com *E. coli*, *T. pyogenes* e *C. albicans*. As associações entre estas bactérias podem causar sérios problemas, pois o sinergismo entre elas pode favorecer o crescimento e a patogenicidade destas [13,26].

Os dados citados anteriormente são de extrema importância e demonstraram que todos os animais envolvidos no estudo estavam propensos a desenvolver algum tipo de infecção uterina puerperal, pois os microrganismos isolados são os mais comumente encontrados neste tipo de patologia.

Alguns autores afirmaram que os microrganismos isolados de animais com infecção uterina puerperal são de diversos tipos predominando as bactérias *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *T. pyogenes*, *E. coli* e outros coliformes [19,27,28].

Durante todo o período puerperal foram detectadas oscilações com relação ao número de animais que apresentavam invasão uterina pelos diferentes microrganismos. A frequência de isolamentos bacterianos foi muito variável, porém a diminuição tanto em número, quanto em diversidade ficou evidente com o passar dos dias. Esta diminuição ou desaparecimento dos diferentes microrganismos, observado a partir dos 35 (± 3) dias pós-parto, nos mostrou que a tendência no decorrer do puerpério é de que o útero diminua consideravelmente sua microbiota após completa involução. A hipótese de que o ambiente uterino se torne livre de bactérias foi confirmado por Jesus [27], quando coletou material uterino de 178 fêmeas bovinas repetidoras de cio em diferentes períodos pós-parto, as quais tinham histórico de corrimento cérvico-vaginal purulento, onde 28,18% das amostras não apresentaram isolamento bacteriano.

Nas duas primeiras coletas observou-se que o útero da maioria dos animais foi colonizado por *S. aureus* (93,3%) e *T. pyogenes* (66,7%), havendo um decréscimo na terceira coleta. Na quarta coleta foi detectada a reinfecção por *S. aureus* no útero de dois animais, mantendo-se na amostragem seguinte. A partir da sexta coleta até o final do experimento observou-se diminuição gradativa destes microrganismos.

Foram isolados *S. intermedius* do material uterino em 40% dos animais apenas na primeira coleta. Com relação à *Streptococcus* spp. verificou-se baixa frequência de isolamento, variando entre 6,7% e 13,3% dos animais, até a sexta coleta. Na figura 1 estão apresentadas as frequências de isolamentos de microrganismos encontrados no útero de vacas no período puerperal.

No estudo de Willians *et al.* [29], *E. coli*, *T. pyogenes*, e *Proteus* spp. foram as bactérias mais frequentemente isoladas. *E. coli* foi isolada principalmente até sete dias

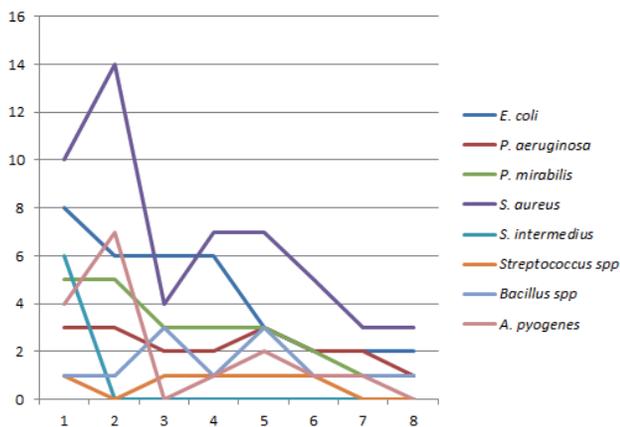


Figura 1: Frequência do isolamento de bactérias presentes no útero vacas primíparas Nelore, durante o período puerperal.

após o parto e precedeu *T. pyogenes*, isolada principalmente depois de 14 dias pós-parto [29]. Estes dados são semelhantes aos obtidos sobre *E. coli* e *T. pyogenes*, porém no presente estudo a bactéria mais isolada foi *S. aureus*.

As bactérias gramnegativas identificadas como *E. coli*, *P. aeruginosa* e *P. mirabilis* foram isoladas em animais durante todo o período de involução uterina. Dentre essas, *E. coli* apresentou maior ocorrência, com percentagens que variaram entre 53,3% na primeira coleta, 40% da segunda a quarta coleta caindo para 20% nas últimas coletas. As bactérias *P. aeruginosa* e *P. mirabilis* foram isoladas em 20% e 33,3%, respectivamente, com pequenas oscilações durante o período puerperal. A presença de *E. coli* no útero após 14 dias pós-parto está relacionada com quadros de metrite puerperal, sendo que as toxinas liberadas por essas bactérias podem causar sinais clínicos sistêmicos e atrasar o processo de involução uterina [12].

A ocorrência do gênero *Bacillus* foi pouco expressiva já que a frequência de isolamentos oscilou entre 6,7% e 20% dos animais.

Com relação à presença de fungos, *T. verrucosum* foi isolado do material proveniente de um animal na primeira coleta. Da terceira a sexta coleta houve desenvolvimento de *S. schenckii* em 6,7% dos animais, nas demais coletas as culturas foram negativas para fungos filamentosos.

A frequência de isolamentos de *C. albicans* a partir do material uterino proveniente da terceira coleta foi de 20%, observando-se redução para 6,7% na quinta e sexta, e mantendo-se negativo até a última coleta.

A tendência observada a partir da quinta coleta foi à diminuição ou desaparecimento dos diferentes microrganismos. Alguns autores citaram que nos primeiros 15 dias após o parto, 85% a 93% dos úteros bovinos podem estar contaminados por diferentes bactérias [18]. Por volta do 40º dia, apenas 30% dos úteros estão contaminados, e menos de 9% apresentam esta característica entre 50 e 70 dias após a parição [9]. Os resultados obtidos neste trabalho são semelhantes aos citados por estes autores.

Cermeño *et al.* [17], isolando microrganismos de puerpério normal e patológico identificaram a associação de bactérias aeróbias e anaeróbias em puerpério patológico, enquanto apenas bactérias aeróbias foram observadas nos animais que apresentaram puerpério fisiológico, evidenciando a importância das associações bacterianas e seu potencial de ação em úteros pós-parto. De forma semelhante, Dohmen *et al.* [11] isolaram bactérias anaeróbias gramnegativas usando cotonetes de 101 vacas com endometrite clínica ou subclínica. Esta foi uma informação importante encontrada neste estudo, pois também foram isoladas apenas bactérias aeróbias ou microaerófilas, o que caracteriza a ocorrência apenas de puerpério fisiológico.

Conclusões

De acordo com os resultados obtidos nessa pesquisa, concluímos que:

O puerpério é um processo séptico em vacas Nelore

primíparas, pois durante este período o ambiente uterino apresentou-se colonizado por bactérias e/ou fungos. Houve substancial decréscimo da população de microrganismos durante este período, o que deixou evidente a ação de defesa do próprio útero contra os microrganismos invasores.

Os principais microrganismos causadores de infecções uterinas estão presentes durante o período puerperal tornando todos os animais susceptíveis a desenvolver a enfermidade. Portanto é imprescindível que o animal esteja em condições fisiológicas adequadas no parto para que as defesas próprias do organismo expulsem estes agentes e evitem o desenvolvimento da doença.

Referências

1. Azevedo DMMR, Martins Filho R, Lobo RNB, Malhado CHM, Lobo RB, Moura AAA, *et al.* Desempenho reprodutivo em vacas nelore no Norte e Nordeste do Brasil. *Rev Bras Zootec.* 2006; 35:988-96.
2. Anualpec. Anuário da Pecuária Brasileira. 19 ed. Brasil: Informa Economic/FNP; 2011.
3. Lucena RB, Pierezan F, Kommers GD, Irigoyen LF, Figuera RA, Barros CSL. Doenças de bovinos no Sul do Brasil: 6706 casos. *Pesq Vet Bras.* 2010; 30:428-34.
4. Oliveira Filho JP. Diarréia em bezerros da raça nelore criados extensivamente: Estudo clínico e etiológico [dissertação]. Faculdade de medicina veterinária e zootecnia. Departamento de higiene veterinária e saúde pública. Universidade Estadual Paulista - UNESP, Botucatu, São Paulo, 2006.
5. Euclides Filho K, Correa ES, Euclides VPB. Boas práticas na produção de bovinos de corte. Brasil: Embrapa Gado de Corte; 2002.
6. Bonnett BN, Martin SW, Meek AH. Associations of clinical findings, bacteriological and histological results of endometrial biopsy with reproductive performance of postpartum dairy cows. *Prev Vet Med.* 1993; 15:205-20.
7. Martins TM, Borges AM. Avaliação uterina em vacas durante o puerpério. *Rev Bras Reprod Anim.* 2011; 35:433-43.
8. Bouters R, Vandeplassche M. Postpartum infection in cattle: diagnosis, preventive and curative treatment. *J S Afr Vet Assoc.* 1977; 48:237-9.
9. Gambarini ML, Carvalhedo AS, Souza AS, Mesquita AJ. Efeito da infusão uterina com biguanida polimérica sobre a colonização bacteriana do útero de vacas com metrite puerperal. *Rev Bras Reprod Anim.* 1999; 23:413-14.
10. Sheldon IM, Dobson H. Postpartum uterine health in cattle. *Anim Reprod Sci.* 2004; 82:295-306.
11. Dohmen MJW, Lohuis JACM, Huszenicza GY, Nagy P, Gacs M. The relationship between bacteriological and clinical findings in cows with subacute/chronic endometritis. *Theriogenology.* 1995; 43:1379-88.
12. Foldi J, Kulcsár M, Pécsi A, Huyghe BSC, Lohuis JACM, Cox P, *et al.* Bacterial complications of postpartum uterine involution in cattle. *Anim Reprod Sci.* 2006; 96:265-81.
13. Sheldon IM. Endometritis in cattle: pathogenesis, consequences for fertility, diagnosis and therapeutic recommendations. Part Reprod. 2007; 2:1-5.
14. Azawi OI. Postpartum uterine infection in cattle. *Anim Reprod Sci.* 2008; 105:187-208.
15. Olson JD, Bretzalaff KN, Mortimer RG, Ball L. The metritis-pyometra complex. In: Morrow DA, editor. *Current therapy in theriogenology.* Philadelphia: Saunders; 1986. p 227-36.
16. Fernandes CAC. Infecções uterinas em bovinos. *Hora Vet.* 2001; 21:122.
17. Cermeño H, Colmenares O, Guerrero N, Bastidas P, Scaramelli A. Aislamiento bacteriológico posparto em vacas mestizas com puerperio normal y patológico. *Arch Latinoam Prod Anim.* 1997; 5 Suppl 1:S594-6.
18. Hussain AM, Daniel RCW, O'Boyie D. Postpartum uterine flora following normal and abnormal puerparium in cows. *Theriogenology.* 1990; 34:291-302.
19. Bonnett BN, Martin SW, Gannon VPJ, Miller RB, Etherington WG. Endometrial biopsy in Holstein-Friesian dairy cows. *Can J Vet Res.* 1991; 55:168-73.
20. Roppel MK, Campero CM. Acción de *Actinomyces pyogenes* en el tracto reproductor bovino. *Theriogenology.* 1998; 27:14-20.
21. Tortora GJ, Funke BR, Case CL. *Microbiologia.* 10ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2012.
22. Vasconcelos JLM, Esper CR, Santos RM, Vasconcelos CGC, Wechsler FS. Detecção de subfertilidade em vacas leiteiras por meio de medidas anatômicas da região pélvica e do aparelho genital. *Arq Bras Med Vet Zoot.* 2000; 52:468-74.
23. Kask K, Kurykin J, Lindjarv R, Kask A, Kindahl H. Assessment of early postpartum reproductive performance in two high estonian dairy herds. *Acta Vet Scand.* 2003; 44:131-43.
24. Lopes DT. Efeitos da utilização de prostaglandina F2α durante o puerpério precoce sobre a eficiência produtiva de vacas leiteiras [dissertação]. Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO, 2007.
25. Silva N; Lobato FC. Isolation and antimicrobial susceptibility of bacteria recovered from utero of dairy cows with postpartum endometritis. *Rev Bras Reprod Anim.* 1993; 23:410-11.
26. Willians EJ, Fisher DP, Pfeiffer DU, England GCW, Noakes DE, Dobson H, *et al.* Clinical evaluation of postpartum vaginal mucus reflect uterine bacterial infection and the immune response in cattle. *Theriogenology.* 2005; 63:102-17.
27. Jesus VLT, Andrade VLB, Alves PAM, Fonseca AH. Resultados laboratoriais de isolamento da microflora uterina de fêmeas bovinas da bacia leiteira do Estado do Rio de Janeiro, no período de 1981 a 1986. *Ver Bras Reprod Anim.* 2001; 25:242-3.
28. Andrade JRA, Silva N, Silveira W, Teixeira MCC. Estudo epidemiológico de problemas reprodutivos em

- rebanhos bovinos na bacia leiteira de Goiânia. Arq Bras Med Vet Zoot. 2005; 57:770-5.
29. Willians EJ, Fischer DP, Noakes DE, England GCW, Rycroft A, Dobson H, *et al.* The relationship between uterine pathogen growth density and ovarian function in the postpartum dairy cow. Theriogenology. 2007; 68:549-59.