

DANILSY CORNÉLIO PEREIRA

**TRATAMENTOS ALTERNATIVOS PARA ENDOMETRITE EM FÊMEAS  
BOVINAS LEITEIRAS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós- Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: José Domingos Guimarães

Coorientadores: Bruna Waddington de Freitas e  
Simone Eliza Facioni Guimarães

VIÇOSA - MINAS GERAIS

2023

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

P436t  
2023 Pereira, Danilsy Cornélio, 1990-  
Tratamentos alternativos para endometrite em fêmeas  
bovinas leiteiras / Danilsy Cornélio Pereira. – Viçosa, MG, 2023.  
1 dissertação eletrônica (48 f.): il. (algumas color.).

Orientador: José Domingos Guimarães.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,  
Departamento de Veterinária, 2023.

Referências bibliográficas: f. 39-48.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2023.757>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Bovino - Doenças - Tratamento. 2. Endometrite.  
3. Plasma sanguíneo. 4. Plaquetas (Sangue). I. Guimarães, José  
Domingos, 1963-. II. Universidade Federal de Viçosa.  
Departamento de Veterinária. Programa de Pós-Graduação em  
Medicina Veterinária. III. Título.

CDD 22. ed. 636.20896

Bibliotecário(a) responsável: Euzébio Luiz Pinto CRB-6/3317


DANILSY CORNÉLIO PEREIRA

**TRATAMENTOS ALTERNATIVOS PARA ENDOMETRITE EM FÊMEAS  
BOVINAS LEITEIRAS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós- Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 01 de agosto de 2023.


Assentimento:

Documento assinado digitalmente  
 DANILSY CORNELIO PEREIRA  
Data: 18/12/2023 09:21:16-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Danilsy Cornélio Pereira

Autora

Documento assinado digitalmente  
 JOSE DOMINGOS GUIMARAES  
Data: 15/12/2023 16:28:52-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

José Domingos Guimarães

Orientador

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, pela vida, pela saúde e as oportunidades que sempre colocou em meu caminho, por me dar forças para conseguir passar por tudo isso e continuar na caminhada para a realização dos meus sonhos.

Aos meus pais, Nilo Izidoro Pereira e Maria das Graças Aparecida Cornélio Pereira, que são a base de tudo, pelo amor e ajuda de sempre e toda à família, sem vocês nada seria possível.

À minha melhor amiga Gisélia Fernandes Santana, pelo apoio e incentivo a nunca desistir dessa jornada, me falta palavras que descrevam minha gratidão por tê-la na minha vida, pois, sempre presentes nos momentos de alegrias e tristezas.

À minha amiga Ludmila Souza Fernandes Santana, por todo conhecimento que me foi passado e por toda ajuda prestada.

Ao Meu orientador, Prof. Dr. José Domingos Guimarães, por ser um exemplo de professor, pela confiança, paciência, ensinamento e por participar do meu amadurecimento profissional.

As Coorientadoras Prof<sup>a</sup>. Dra. Bruna Waddington de Freitas e Prof<sup>a</sup>. Dra. Simone Eliza Facioni Guimarães, pela participado da construção deste trabalho e da minha formação.

Ao membro externo da banca examinadora, Dr. Faider Alberto Castaño Villadiego, por aceitar o convite e por todo conhecimento depositado neste trabalho.

A todos pós-graduandos e estagiários da Universidade Federal de Viçosa, pela contribuição na execução deste trabalho, vocês foram essenciais.

Ao Aécio Carlos de Oliveira e toda sua equipe do Laboratório Clínico do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa pela parceria e apoio.

À equipe do Setor de esterilização do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa pelo apoio e ajuda no dia-a-dia.

À empresa Centro Experimental NOWAVET Agro, e ao Programa de Desenvolvimento da Pecuária Leiteira da Universidade Federal de Viçosa (PDPL/ UFV) pela parceria.

À Rosi, nossa mãozona da pós-graduação, por sempre estar disposta a nos ajudar, com toda paciência do mundo, doçura, carisma e por deixar tudo mais leve, gratidão eterna.

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realizar a pós-graduação.

À coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

Agradecer é admitir que houve um momento em que se precisou de alguém. Ninguém e nada cresce sozinho; sempre é preciso um olhar de apoio, uma palavra de incentivo, um gesto de compreensão, à todos, muito obrigada.

Agradeço aos órgãos de fomento Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelos apoios.

*"O sucesso é a soma de pequenos esforços - repetidos dia sim, e no outro dia também".*

(Robert Collier)

## RESUMO

PEREIRA, Danilsy Cornélio, M.Sc. Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2023. **Tratamentos alternativos para endometrite em fêmeas bovinas leiteiras.** Orientador: José Domingos Guimarães. Coorientadoras: Bruna Waddington de Freitas e Simone Eliza Facioni Guimarães.

Os estudos na utilização do plasma rico em plaquetas (PRP) mostraram que as plaquetas atuam no processo de hemostasia, cicatrização de feridas e reepitelização, liberando diversos fatores de crescimento que estimulam a angiogênese, a mitose celular, a quimiotaxia dos neutrófilos, macrófagos e fibroblastos. O presente estudo teve como objetivo avaliar a eficiência do tratamento com plasma rico em plaquetas associado ou não a antibióticos e solução fisiológica, todos via intrauterina, em fêmeas bovinas positivas para endometrites pós-parto. A partir dos 21 dias pós-parto foram selecionadas 32 vacas, por meio de exame ultrassonográfico, com presença ou não de líquido no útero, sendo realizado as mensurações do diâmetro uterino e diâmetro dos 1º e 2º maiores folículos e contagem da população folicular do ovário direito e esquerdo. Foi feito lavado uterino de baixo volume com 100 mL de solução fisiológica a 0,9 % de NaCl, e amostras do lavado encaminhado para análises de laboratoriais. Posteriormente foram selecionadas 24 vacas positivas para endometrite pós-parto e oito vacas negativas para endometrite pós-parto, sendo distribuídas em 4 grupos com 8 animais cada, grupo 1: Tratamento com infusão intrauterina com plasma rico em plaquetas e antibiótico (n=8; PRP + ATB); grupo 2: Tratamento com infusão intrauterina com plasma rico em plaquetas (n=8; PRP); grupo 3: Tratamento com lavado intrauterino com solução fisiológica a 0,9 % de NaCl (n=8; **controle positivo**) e grupo 4: sem tratamento (n=8; **controle negativo**). O preparo do PRP foi de forma autóloga, por punção da veia jugular. Após a infusão dos tratamentos, de acordo com os respectivos grupos, foi aguardado nove dias e realizado novamente as avaliações ginecológicas e coletas de amostras para análises laboratoriais. Houve diferença ( $p < 0,05$ ), no grupo 3 e 4 observando a idade da categoria pluripara e primípara. Após o tratamento se observou na avaliação macroscópica do fluido uterino, melhora nos grupos 1 e 3 de 87,5 % e no grupo 2, melhora de 75 %. Na primeira avaliação da contagem do percentual de polimorfonucleares (% PMN) houve diferença ( $p < 0,05$ ) entre os grupos com e sem endometrite, e após o tratamento, na segunda avaliação, não houve diferença ( $p > 0,05$ ) entre os grupos, constatando a eficiência nos tratamentos. Comparando o % PMN nos animais com e sem infecção uterina nos parâmetros de idade, ordem de parto, escore de condição corporal,

produção de leite e diâmetro uterino, não foi verificada diferença ( $p>0,05$ ) entre os valores obtidos nos diferentes grupos de tratamento. No exame microbiológico, as bactérias mais frequentes foram *Escherichia coli*, *Trueperella pyogenes* e *Klebsiella pneumoniae*, não havendo diferença ( $p>0,05$ ) entre os grupos estudados. Na atividade folicular se notou que na primeira e segunda avaliação não houve diferença entre os diâmetros do 1° e 2° maiores folículos, totais de folículos, tanto no ovário direito como no ovário esquerdo ( $p>0,05$ ). Diante do exposto, o plasma rico em plaquetas (PRP) se mostra uma excelente alternativa para tratamento em vacas com endometrite pós-parto, em detrimento aos tratamentos convencionais.

**Palavras-chave:** Bovinos, infecção uterina e plasma rico em plaquetas.

## ABSTRACT

EREIRA, Danilsy Cornélio, M.Sc. Federal University of Viçosa, August 2023. **Alternative treatments for endometritis in dairy females**. Advisor: José Domingos Guimarães. Co-supervisors: Bruna Waddington de Freitas and Simone Eliza Facioni Guimarães.

Studies on the use of platelet-rich plasma (PRP) have shown that platelets act in the process of hemostasis, wound healing and re-epithelialization, releasing several growth factors that stimulate angiogenesis, cellular mitosis, chemotaxis of neutrophils, macrophages and fibroblasts. The present study aimed to evaluate the efficiency of treatment with platelet-rich plasma associated or not with antibiotics and saline solution, all intrauterine, in bovine females positive for postpartum endometritis. From 21 days postpartum, 32 cows were selected through ultrasound examination, whether or not there was any fluid in the uterus, with measurements of the uterine diameter and diameter of the 1st and 2nd largest follicles and counting of the follicular population of the ovary, right and left. A low-volume uterine lavage was performed with 100 mL of 0.9% NaCl saline solution, and samples of the lavage were sent for laboratory analysis. Subsequently, 24 cows positive for postpartum endometritis and eight cows negative for postpartum endometritis were selected, being distributed into 4 groups with 8 animals each, group 1: Treatment with intrauterine infusion with platelet-rich plasma and antibiotics (n=8; PRP + ATB); group 2: Treatment with intrauterine infusion with platelet-rich plasma (n=8; PRP); group 3: Treatment with intrauterine lavage with 0.9% NaCl saline solution (n=8; positive control) and group 4: no treatment (n=8; negative control). The PRP was prepared autologously, by puncture of the jugular vein. After the infusion of treatments, according to the respective groups, nine days were waited and gynecological evaluations and sample collection for laboratory analysis were carried out again. There was a difference ( $p < 0.05$ ) in groups 3 and 4, observing the age of the pluriparous and primiparous categories. After treatment, the macroscopic evaluation of the uterine fluid showed an improvement of 87.5% in groups 1 and 3 and an improvement of 75% in group 2. In the first evaluation of the polymorphonuclear percentage count (% PMN) there was a difference ( $p < 0.05$ ) between the groups with and without endometritis, and after treatment, in the second evaluation, there was no difference ( $p > 0.05$ ) between the groups, verifying the efficiency of the treatments. Comparing the % PMN in animals with and without uterine infection in the parameters of age, birth order, body condition score, milk production and uterine diameter, no difference ( $p > 0.05$ ) was found between the values obtained in the different groups. of treatment. In the microbiological

examination, the most common bacteria were *Escherichia coli*, *Trueperella pyogenes* and *Klebsiella pneumoniae*, with no difference ( $p>0.05$ ) between the groups studied. In follicular activity, it was noted that in the first and second evaluation there was no difference between the diameters of the 1st and 2nd largest follicles, total follicles, in both the right and left ovaries ( $p>0.05$ ). In view of the above, platelet-rich plasma (PRP) is an excellent alternative for treating cows with postpartum endometritis, to the detriment of conventional treatments.

**Keywords:** Cattle, uterine infection and platelet-rich plasma.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** – Demonstrativo da obtenção de Plasma Rico em Plaquetas pelo método de centrifugação \_\_\_\_\_ 27
- Figura 2** – Esquema da 1º e 2º avaliação experimental de vacas com e sem endometrite pós-parto \_\_\_\_\_ 28
- Figura 3** – Frequência de endometrite de acordo com fluido uterino na 1ª e 2ª avaliação em vacas leiteiras no pós-parto, submetidas ao tratamento para endometrite \_\_\_\_\_ 30

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Protocolo de dupla centrifugação para obtenção do plasma rico em plaquetas de forma autólogo\_\_\_\_\_26
- Tabela 2** - Parâmetros zootécnicas de vacas leiteiras primíparas e pluríparas\_\_\_\_\_29
- Tabela 3** - Média e desvio padrão do percentual de polimorfonucleares na 1ª e 2ª avaliação ginecológica em vacas leiteira no pós-parto, de acordo com o grupo experimental (G)\_\_\_\_\_30
- Tabela 4** – Categoria animal, média  $\pm$  desvio padrão dos parâmetros de idade, ordem de parto, escore de condição corporal (ECC) e produção de leite/dia de acordo com o percentual polimorfonucleares (PMN) observado na 1ª avaliação, de acordo com os grupos com ( $>18\%$  PMN) e sem ( $\leq 18\%$  PMN) infecção\_\_\_\_\_31
- Tabela 5** -Média  $\pm$  desvio padrão do diâmetro uterino em vacas leiteiras, com e sem endometrite, na 1ª e 2ª avaliação e entre os grupos\_\_\_\_\_32
- Tabela 6** - Frequência de agentes patológicos em fluido uterino após cultivo e isolamento bacteriano (n=64) em avaliações ginecológicas de vacas leiteiras no pós-parto\_\_32
- Tabela 7** - Atividade ovariana na 1ª avaliação ( $\geq 21$  dias pós-parto) e na 2ª avaliação ( $\geq 29$  dias pós-parto) de vacas leiteiras\_\_\_\_\_33

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

$\alpha$  – Alfa

ATB – Antibiótico

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais

cm – Centímetro

E2 - Hormônio estrógeno

ECC – Escore de condição corporal

EGF - fator de crescimento epidérmico,

FGF - Fator de crescimento de fibroblastos

FPI - Fração plasmática inferior

FPS - Fração plasmática superior

Fr – Unidade French

g – Grama

GnRH - Hormônio liberador de gonadotrofinas

HGF - Fator de crescimento de hepatócitos,

IGFs - Fator de crescimento semelhante à insulina

IU - Intrauterino

Kg – Quilo

LBV - Lavado de baixo volume

LH - Hormônio luteinizante

LPS – Lipopolissacarídeo

LTB4 - Leucotrienos B4

M – Muco

mHz - Megahertz

min. – Minuto

mL – Mililitro

mm – milímetro

MP – Muco purulento

MT – Muco transparente

NaCl – Cloreto de Sódio

P4 - Hormônio progesterona

PDGF - Fator de crescimento derivado de plaquetas

PDPL - Desenvolvimento da Pecuária Leiteira

PGF2 $\alpha$  - Hormônio prostaglandina 2 $\alpha$

PMN – Polimorfonucleares

PPP – Plasma pobre plaquetas

PRP – Plasma rico em plaquetas

S – Sanguinolento

S" - Sul

T.T.O - Tratamento

TGF- $\beta$  - Fator de crescimento transformante- $\beta$

UFV - Universidade Federal de Viçosa

US - Ultrassonografia

$\mu$ L – Microlitro

$\mu$ m – Micrometro

VEFG - Fator de crescimento endotelial vascular

W" - Oeste

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	16
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b>	17
2.1. Eventos fisiológicos reprodutivos em vacas leiteiras pós-parto	17
2.2. Patologias reprodutivas em vacas leiteiras no pós-parto	17
2.3. Endometrite pós-parto	18
2.2.3.1. Diagnósticos de endometrite	19
2.2.3.2. Tratamentos para endometrite	20
2.2.3.2.1. Tratamento alternativo para endometrite pós-parto: plasma rico em plaquetas	21
<b>3. HIPÓTESE</b>	22
<b>4. OBJETIVO</b>	22
4.1. Objetivo geral	22
4.2. Objetivos específicos	22
<b>5. MATERIAL E MÉTODOS</b>	22
5.1. Ética	22
5.2. Propriedades	23
5.3. Animais	23
5.4. Lavado uterino de baixo volume	23
5.5. Análises laboratoriais	24
5.5.1. Citologia endometrial	24
5.5.2. Exame microbiológico	25
5.6. Avaliação macroscópica do fluido uterino	25
5.7. Delineamento experimental	25
5.8. Coleta de sangue para obtenção do plasma rico em plaquetas	26
5.9. Segunda avaliação das vacas com ou sem endometrite pós parto	27
<b>6. ANÁLISES ESTATÍSTICAS</b>	28
<b>7. RESULTADOS</b>	28
7.1. Caracterização zootécnicas do rebanho experimental	28
7.2. Padrões de avaliações para confirmação de infecção uterina durante avaliação ginecológica	29
7.2.1. Avaliação macroscópica do fluido uterino e sua eficiência pós-tratamento	29
7.3. Exame de citologia do fluido uterino de vacas leiteiras no pós-parto	30

7.3.1. Determinação do percentual de polimorfonucleares na citologia endometrial do fluido uterino	30
7.3.2.1. Polimorfonucleares de acordo com os parâmetros zootécnicos das fêmeas entre os grupos com e sem endometrite	31
7.4. Exame microbiológico de fluido uterino de vacas leiteiras no pós-parto	32
7.4.1. Exame microbiológico	32
7.5. Atividade ovariana em vacas leiteiras no pós-parto	33
<b>8. DISCUSSÃO</b>	<b>33</b>
8.1. Comportamento do rebanho experimental	34
8.2. Efeitos dos tratamentos nas vacas com endometrite pós parto	36
<b>9. CONCLUSÕES</b>	<b>38</b>
<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>39</b>

## 1. INTRODUÇÃO

De acordo com Leblanc (2010) todas as vacas leiteiras tem alteração fisiológica no período de transição, pois, ocorre menor ingestão de matéria seca, balanço energético negativo, perda de escore de condição corporal no início da lactação, redução da função imunológica, possibilitando a contaminação bacteriana uterina pós-parto.

Segundo Campos et al. (2011) as infecções uterinas resultam grande perdas econômicas para a atividade da bovinocultura leiteira, acarretando considerável redução na rentabilidade dos rebanhos. A maior incidência de doenças ocorre no puerpério, provocando queda na produção de leite, menores taxas de concepção, aumento no intervalo de parto, primeiro serviço e aumento no descarte de vacas por falhas reprodutivas (Sheldon, 2004). Essas enfermidades estão associadas a retenção de placenta, metrites, endometrites (Sheldon et al., 2006; Bell e Roberts, 2007; Benzaquen et al., 2007).

As enfermidades puerperal é caracterizado com aumento de volume uterino, secreção purulenta e odor fétido, sendo que, a metrite consiste na inflamação de todas camadas do útero, sendo, endométrio, submucosa, muscular e serosa, ocorre dentro dos primeiros 21 dias pós-parto, em casos mais severos, os animais podem apresentar sinais clínicos, como apatia, febre, diminuir a ingestão alimentar, toxemia entre outros, já a endometrite é a inflamação uterina que ocorre após 21 dias pós parto, que envolve o endométrio e os tecidos glandulares, as fêmeas não apresentam sinais sistêmico, está associação a infecção crônica do útero, com presença de bactérias patogênicas (Sheldon et al., 2009).

Segundo Scrollavezza et al. (1997) o tratamento convencional de vacas com endometrite, a administração de antibiótico por via parenteral e/ ou via infusão uterina, necessita a espera do período de carência do fármaco e descarte do leite, sendo assim, estudos realizados na área clínica reprodutiva, vem buscando formas alternativas de tratamento economicamente viáveis e eficientes em vacas com endometrite, principalmente ao fato de evitar ou minimizar os resíduos no leite, tempo de carência para o consumo e descarte do leite.

Estudos em terapias regenerativas tem empregado os produtos derivados do sangue do animal, após o preparo do plasma rico em plaquetas. A concentração plaquetária pode aumentar de três a cinco vezes seus benefícios, apresentando ações no processo de hemostasia, cicatrização de feridas e reepitelização, por meio de diversos fatores de crescimento que estimulam a angiogênese, a mitose celular, a quimiotaxia dos neutrófilos, também sua eficácia na prevenção de possíveis isquemias após injúria tecidual (Gasperini, 2003), podendo ser uma

estratégia ou alternativa no tratamento para vacas com endometrite pós-parto.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Eventos fisiológicos reprodutivos em vacas leiteiras pós-parto**

No Puerpério ocorre alterações fisiológicas no útero imediatamente após o parto, iniciando a sua recuperação normal e finaliza até o primeiro estro fértil do animal estabelecendo uma nova gestação (Alvarenga, 2006; Martins, Borges, 2011). Este período é dividido em duas etapas: puerpério de delivramento onde ocorre a expulsão dos envoltórios fetais até 12 horas após a expulsão do feto, o prolongamento desse período se torna patológico, sendo denominada retenção de placenta (Noakes, Parkinson e England, 2001a; Bicudo, 2002) e o puerpério propriamente dito que é caracterizado pela involução uterina, ocorrendo rápida diminuição do tamanho uterino, devido ao processo de involução das fibras musculares, mobilização de células de defesa, incluindo muco, células fagocíticas e anticorpos e reparação das estruturas endometriais (Bicudo, 2002; Azawi, 2008).

Para que ocorra normalmente a involução uterina, alguns hormônios são necessários, sendo, a ocitocina secretada durante a descida do leite, auxilia na contração uterina e expulsão dos fluidos uterino, o hormônio estrógeno (E2) auxilia na barreira física e também na contratilidade uterina, auxiliando na drenagem do fluido, o hormônio prostaglandina  $2\alpha$  (PGF $2\alpha$ ) produzido e secretado pelo próprio útero é uma molécula pró-inflamatória, ativa a produção de citocinas que promove a síntese de leucotrienos B4 (LTB4) que são quimiotáticos que tem como função atrair os neutrófilos, para que ocorra a fagocitose e a função dos linfócitos na superfície do endométrio (Lewis, 2004; Fernandes e Figueiredo, 2007), a luteólise do corpo lúteo gestacional é necessário, porque o corpo lúteo produz o hormônio progesterona (P4) que é considerado imunossupressor, sendo assim, tem a função de inibir o mecanismo de defesa do útero, conseqüentemente retardando o processo de involução uterina, podendo propiciar a instalação de um quadro de metrite e posteriormente endometrite uterina (Seals et al., 2002; Lewis, 2003, 2004; Rocha et al., 2004).

### **2.2 Patologias reprodutivas em vacas leiteiras no pós-parto**

De acordo com Sheldon et al. (2006) o puerpério patológico é a ocorrência de manifestações dos sinais clínicos da infecção uterina, e depende da intensidade e patogenicidade dos agentes microbianos presentes o útero.

Quando ocorre modificações nos mecanismos de defesa uterino permitem que bactérias aeróbicas, como *Escherichia coli* e *Trueperella pyogenes* (anteriormente denominada como *Arcanobacterium pyogenes*) e anaeróbicas, como *Fusobacterium necrophorum* e *Prevotella melaninogenica* entre outras, se desenvolvam no ambiente uterino, resultando em maior grau de inflamação endometrial, acarretando nas patologias uterinas pós-parto (Sheldon e Dobson, 2004; Williams et al., 2005).

A retenção de placenta é uma patologia reprodutiva que ocorre logo após a expulsão do feto, onde a placenta fica retida por tempo superior a 12 horas. A frequência dessa patologia pode variar de 1,9 a 39,2 % (Benedictus, 2015). Os principais fatores de riscos que estão associados à incidência de retenção de placenta são indução de parto, aborto, gestações gemelares, distocia, fetotomia, cesárea, deficiências nutricionais, agentes infecciosos, entre outros (Beagley et al., 2010).

De acordo com Sheldon (2009) de 80 a 100 % das vacas apresentam bactérias no lúmen uterino nas duas primeiras semanas pós-parto, alguns animais conseguem debelar a infecção sem ter a necessidade de tratamento, mas, devido a exposição da placenta aderida ao útero por mais de 12 horas pós-parto, conseqüentemente 20 % ou mais dessas vacas, apresentaram aumento de concentração bacteriana no útero, e posteriormente um quadro de metrite. Em algumas fazendas, a metrite ocorre em aproximadamente em 20 % das vacas em lactação, podendo ter uma variação de 8 a 40 % dessa enfermidade (Curtis et al., 1985; Goshen e Shpigel, 2006; Hammon et al., 2006; Huzzey et al., 2007; Galvão et al., 2009).

A metrite ocorre em até 21 dias pós-parto, acometem as estruturas do endométrio, os tecidos glandulares e principalmente as camadas musculares (miométrio) (Boralli e Zappa, 2012). Os animais podem apresentar descarga uterina fétida associada a sinais sistêmico e febre ( $> 39,4$  °C) (Sheldon et al., 2006). Após a persistência dessa patologia acima de 21 dias pós-parto, passando clinicamente a ser endometrite uterina.

### 2.3 Endometrite pós-parto

A endometrite uterina é a inflamação do endométrio, com presença de descarga vaginal de muco purulento, onde o animal não apresenta sinais sistêmicos e ocorre acima de 21 dias pós-parto (Leblanc et al., 2002). Conseqüentemente ocasionando atraso na involução uterina,

baixo índice de concepção ao primeiro serviço de inseminação e aumento do período de serviço (Sheldon et al., 2004; Benzaquen et al., 2007).

Segundo Sheldon et al. (2009) a função ovariana está diretamente prejudicada, dependendo da gravidade da contaminação uterina no puerpério, pois em alguns casos a liberação de endotoxinas inibem a secreção pulsátil do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) pelo hipotálamo e conseqüentemente do hormônio luteinizante (LH) pela glândula hipofisária.

A endometrite de grau 1° consiste no processo inflamatório da mucosa endometrial, com presença de secreção de estrias de pus pela via cérvico-vaginal, já o grau 2° observam-se uma secreção muco purulenta, a cérvix levemente edemaciada e avermelhadas, o grau 3° o animal apresenta expulsão diariamente da secreção com aspecto purulento, mostrando uma infecção mais intensa e grande volume cervical (Gautam et al., 2010).

A endometrite subclínica é uma forma crônica que não apresenta sinais clínicos, como alteração no fluido uterino, seu efeito negativo na reprodução é que a fêmea apresenta repetição de cio de forma regular ou irregular, conseqüentemente atrasando a sua fisiologia reprodutiva (Kasimanickam et al., 2004; Gilbert et al., 2005), e acomete 35 a 50 % das vacas entre o 35° e 60° dia pós-parto (Leblanc, 2008). Porém, são necessários alguns exames complementares para diagnosticar as endometrites.

### 2.3.1 Diagnósticos de endometrite

De acordo Miller et al. (1980), Kristula e Bartholomew (1998) e Leblanc et al. (2002) a palpação uterina transretal após três semanas pós-parto para identificar o atraso na involução uterina ou da cérvix é uma técnica subjetiva para detectar vacas com endometrites, pois, o tempo de involução uterina pode variar entre animais, e alguns estudos mostram apenas 22 % de eficácia pela palpação transretal na identificação da endometrite.

O exame com vaginoscopia é baseado na avaliação da secreção que se apresenta anormal, sendo elas, muco turvo, purulenta, mucopurulenta e muco sanguinolento na vagina e cérvix, devido essa alteração a taxa de vacas com endometrite aumenta para 59 a 82 %, tendo a presença de bactérias (Bretzlaff, 1987; Leblanc et al., 2002a).

Segundo Kasimanickam et al. (2004), Barlund et al. (2008) e Boralli et al. (2012) o exame ultrassonográfico é uma ótima ferramenta, pois, auxilia a verificar a presença de conteúdo no lúmen uterino, quando maior a imagem hiperecoica, maior é a chance de contaminação bacteriana, podendo fornecer diagnóstico imediato para endometrite clínica.

Para coleta de amostra do fluido uterino, para o exame de citologia endometrial, pode-se realizar a técnica de lavado uterino com solução fisiológica (NaCl 0,9 %) ou a técnica de escova endometrial (*cytobrush*), (Kaufmann et al., 2009). Quando se tem processo inflamatório/infecioso, ocorre proliferação de leucócitos polimorfonucleares (PMN), principalmente os neutrófilos, que são dentre as células fagocíticas, as mais abundantes na circulação e também as primeiras células a serem ativadas na defesa pelo sistema imunológico (Hammon, 2006).

De acordo com Kenney (1978) e Bonnet et al. (1991a) a técnica da biópsia uterina, com a avaliação histológica do fragmento uterino, contribui na avaliação reprodutiva da fêmea, possibilitando o prognóstico e auxiliando na conduta de tratamento.

### 2.3.2 Tratamentos para endometrite

Os tratamentos para endometrite tem como objetivo controlar e tratar a infecção uterina, e conseqüentemente prevenir novas infecções, restabelecendo a saúde e a produtividade animal (Leblanc, 2008).

Os antibióticos são comumente utilizando na terapia de endometrite, seja ela, de uso sistêmico ou local. Os fármacos mais utilizando são: tetraciclina, penicilina, cefapirina, cloranfenicol, gentamicina, sulfonamida, oxitetraciclina, entre outras, porém, existe controvérsia sobre o uso, devido ao uso indiscriminado podendo acarretar resistência bacteriana, e o prejuízos de resíduos de antibióticos no leite (Sheldon e Dobson, 2004, Fernandes et al., 2007, Leblanc, 2008).

De acordo com Santos et al. (2010) a bactéria de maior prevalência na endometrite pós-parto é a *trueperella pyogenes*, apresentando alta resistência (54,2 %) para a oxitetraciclina, porém menor quando comparado a outros princípios ativos, sendo, amoxicilina (56,9 %), ampicilina (86,1 %), cloranfenicol (100 %), florfenicol (59,7 %) e penicilina (86,1 %), e apenas a tetraciclina apresentou valor inferior de 50 % de resistência.

De acordo com Sheldon (2007) e Azawi (2008) a via mais utilizada para tratamento de vacas com endometrite é a via intrauterina, apesar da sua eficiência ser questionável, pois, tem como desvantagens, dependendo do fármaco utilizado pode causar irritações levando a lesões endometriais, além da necessidade de descartar o leite por contaminação de resíduo de antibióticos.

Quando se tem presença de corpo lúteo no ovário, é necessário o uso de prostaglandina F<sub>2α</sub> (PGF<sub>2α</sub>) para promover a luteólise do corpo lúteo e induzir o estro, proporcionando

aumento natural da concentração de estrógeno e estimular o sistema imunológico, possibilitando ao útero, combater a infecção uterina pelo aumento leucocitário ao órgão reprodutor (Lewis, 1997; Sheldon, 2007).

No estudo de Gautam et al. (2010) 74,7 % das vacas que tiveram endometrite antes de 60 dias pós-parto recuperaram-se espontaneamente, enquanto 25,3 % tiveram persistência do quadro patológico entre 61 e 150 dias pós-parto. Portanto, recomenda-se tratar todos os animais que apresentam endometrite clínica, já que, nos casos mais graves, os animais não são capazes de combater a infecção uterina, e os danos acarretados ao endométrio podem reduzir ou impossibilitar as fêmeas de se tornarem gestantes (Sheldon, 2007; Gautam et al., 2010).

### 2.3.2.1 Tratamento alternativo para endometrite pós-parto: plasma rico em plaquetas

Segundo Gasperini (2003) e Vendramin et al. (2006) o plasma rico em plaquetas (PRP) se refere a hemocomponente obtido a partir da centrifugação do sangue total, contém alta concentração de plaquetas em pequeno volume de plasma. De acordo com López et al. (2012) as plaquetas são anucleadas, de formato ovoides ou arredondadas, provenientes das células da medula óssea denominada megacariócito, são pequenos fragmentos citoplasmáticos que variam de tamanho entre 2,9 a 4,3  $\mu\text{m}$ .

As plaquetas possuem citoplasma que contém grânulos e armazenam diversas proteínas bioativas. Segundo Urman et al. (2019) os grânulos das plaquetas possuem múltiplas proteínas, sendo, peptídeos antimicrobianos, fibronectina e vitronectina, inúmeros fatores de crescimento, como fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), fator de crescimento epidérmico (EGF), fator de crescimento de fibroblastos (FGF), fator de crescimento de hepatócitos (HGF), fator de crescimento transformante- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), fator de crescimento semelhante à insulina (IGFs) e fator de crescimento endotelial vascular (VEFG) (Böck et al., 2002) e citocinas contendo as interleucinas anti-inflamatórias e pró-inflamatórias (Frantz et al., 2020).

Quando se tem a ativação das plaquetas, ocorre a estimulação dos  $\alpha$ -grânulos e liberação das moléculas no local lesionado, promovendo o recrutamento de outras plaquetas, leucócitos e proteínas plasmáticas, para atuarem no processo de reparação tecidual (Cremonesi et al., 2020).

Segundo Foster et al. (2009) nos primeiros 10 minutos após a ativação das plaquetas, 70 % dos fatores de crescimento são secretados pelos  $\alpha$ -grânulos e depois 95 % durante a primeira hora. No entanto, nos estudos de Redler et al. (2011) notaram-se que após a ativação e liberação dos fatores de crescimento, as plaquetas permanecem sintetizando essas moléculas

por aproximadamente 10 dias, mantendo assim seus efeitos biológicos por mais tempo. No entanto, McCarrel e Fortier (2009) constataram quando se tem ativação das plaquetas, sem utilização dos agentes exógenos, ocorre a liberação mais lenta e por tempo prologando.

Estudos de Dal et al. (2019) demonstraram eficiência da administração de plasma rico em plaquetas intramamária na recuperação de vacas leiteiras com mastite. Já Lange-Consiglio et al. (2015) e Marini et al. (2016) constaram que administração intrauterina de plasma rico em plaquetas em vacas com problemas reprodutivos, sendo, endometrite ou síndrome de repetição de estro, ocasionaram diminuição do processo inflamatório no endométrio, e aumento do percentual de vacas prenhas de 33 para 70 %.

### **3. HIPÓTESE**

O plasma rico em plaquetas é eficaz no tratamento de endometrite em vacas leiteiras.

### **4. OBJETIVO**

#### 4.1 Objetivo geral

Avaliar a eficiência do tratamento via intrauterina com plasma rico em plaquetas associado ou não a antibióticos e solução fisiológica, em fêmeas bovinas positivas para endometrites pós-parto.

#### 4.2 Objetivos específicos

- Avaliar os efeitos dos tratamentos pela avaliação macroscópica do fluido uterino;
- Avaliar os efeitos dos tratamentos sobre a população de microrganismos por meio do cultivo microbiológico de amostra de fluido uterino;
- Avaliar os efeitos dos tratamentos pela citologia endometrial por meio do percentual dos polimorfonucleares no fluido uterino;

### **5. MATERIAL E MÉTODOS**

#### 5.1 Ética

O estudo foi realizado em conformidade com as recomendações da Legislação Brasileira, após a aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Viçosa (CEUA/UFV) protocolo 02/2022, sendo supervisionado e coordenado pelo Médico Veterinário José Domingos Guimarães, CRMV-MG 5379.

## 5.2 Propriedades

O experimento foi realizado nos meses de agosto a outubro de 2022, em propriedades de vacas leiteiras, sendo, duas propriedades situadas no município de Coimbra nas coordenadas 20° 51 S" de latitude e 42° 48 W" de longitude e uma propriedade no município de Cajuri, nas coordenadas de 20° 48 S" de latitude e 42° 48 W" de longitude, na região da Zona da Mata Mineira, são fazendas parceiras do Programa de Desenvolvimento da Pecuária Leiteira da Universidade Federal de Viçosa (PDPL/ UFV).

## 5.3 Animais

Foram utilizadas 32 vacas acima de 21 dias pós parto, sendo, primíparas e pluríparas da raça Holandesa (preta e branca), com idade de 27 a 93 meses de idade, da primeira a quinta ordem de lactação, produção de leite média de 25,75 kg/dia, escore de condição corporal média de 2,75, variando de 2,25 a 3,25 (escore de 1 a 5 – ECC; Dias et al., 2016), criadas em confinamento no sistema de *Compost Barn*, sendo alimentadas com silagem de milho no cocho de acordo com a produção de leite, sendo formulada pelo zootecnista responsável pelas fazendas, e sal mineral e água *ad libitum*.

No exame ginecológico, foi utilizando ultrassom (Mindray® DP 2200 VET) acoplado ao transdutor linear transretal de 5 e 7 MHz, para avaliação uterina quanto à presença de conteúdo intrauterino de acordo com a ecogenicidade da estrutura na imagem, a mensuração do diâmetro uterino, foi realizado na região do ligamento externo dos cornos uterinos de acordo com Kasimanickam et al. (2004), sendo classificados como negativos para endometrite com a espessura uterina  $< 35$  mm, suspeitos para endometrite com a espessura uterina entre  $35 \geq x < 50$  mm e positivos para endometrite a espessura uterina  $\geq 50$  mm. A avaliação da atividade ovariana foi realizada quanto ao diâmetro dos 1° e 2° maiores folículos e contagem dos números totais dos folículos antrais em cada ovário.

## 5.4 Lavado uterino de baixo volume

Após a contensão individual de cada vaca em tronco de contensão apropriado, realizou-se a avaliação ultrassonográfica, foi feita a higienização da região perineal utilizando desinfetante CB-30 (ourofino®) na concentração de 1 %, posteriormente foram submetidas ao lavado uterino de baixo volume, com infusão de 100 mL de solução fisiológica 0,9 % (NaCl). Uma sonda Foley de látex de 2 vias (22 Fr), protegida por uma camisinha sanitária, que foi rompida após passar o último anel cervical, após transpassar todos anéis cervicais e inflar o cuff da sonda de Foley com 15 ou 20 mL de ar, o mandril foi removido e acoplado uma sonda em Y estéril na ponta da sonda de Foley, e infundido 100 mL da solução fisiológica 0,9 % (NaCl) intrauterino, após a realização da massagem uterina por palpação transretal, a solução foi sifonada diretamente em 2 tubos Falcon estéreis de 15 mL, que foram imediatamente tampados para evitar contaminação. Os tubos foram mantidos em caixa isotérmica com gelo até o envio ao laboratório para realização das culturas microbiológicas e identificação dos agentes e para análise citológica endometrial, para avaliação do percentual de células polimorfonucleares.

## **5.5 Análises laboratoriais**

### **5.5.1 Citologia endometrial**

A análise da citologia endometrial foi realizada pela determinação do percentual de polimorfonucleares. Após a centrifugação das amostras a 700 g por 5 minutos, o sobrenadante foi descartado, e amostra de cada pellet foi preparada em lâmina empregando a técnica de squash, colocando uma amostra do pellet sobre a lâmina de 26 x 76 mm para microscopia, e utilizando outra lâmina sobre a amostra do pellet, lâmina sobreposta foi retirada propiciando o atrito e a confecção do esfregaço, em seguida as lâminas foram coradas com kit panótico rápido – (laborclin®). Foi utilizado o microscópio óptico (Olympus, modelo CX31), em aumento de 1000 x, para contagem de 200 células polimorfonucleares em diferentes locais da lâmina, onde não havia sobreposição de células, para determinação do percentual de células polimorfonucleares neutrófilos (% PMN).

Foram considerados positivos para endometrite, as amostras que apresentarem percentual de polimorfonucleares superiores a 18 % de neutrófilos coletados entre 21 a 33 dias pós-parto, ou maior que 10 % de neutrófilos em amostras de vacas com 34 a 47 dias (Sheldon et al., 2006).

### **5.5.2 Exame microbiológico**

As amostras para exame microbiológico foram encaminhadas em uma caixa de isopor contendo gelo reciclável (4 °C) para o laboratório parceiro Centro Experimental NOWAVET Agro, localizado no município de Coimbra-Minas Gerais.

As amostras foram centrifugadas a 700 g por 10 minutos de acordo com Quinn et al. (2005) e Koneman et al. (2008) e em seguida, 10 µL da suspensão das amostras foram semeadas em uma placa de petri contendo ágar sangue de ovino 5 %, incubadas por 72 horas a 37 °C em condições de microaerofilia, para isolamento e identificação bacteriana por meio das características morfológicas das colônias como tamanho, forma, coloração.

### **5.6 Avaliação macroscópica do fluido uterino**

A avaliação macroscópica do conteúdo uterino foi realizada imediatamente após a coleta de acordo com o critérios estabelecidos por Grunert e Gregory (1984) pelo aspecto e coloração do conteúdo do fluido uterino, sendo caracterizado como normal, o fluido muco (M) e coloração transparente, e fluido e coloração patológica, foi classificado em: aspecto muco turvo (MT), muco purulento (MP), purulento (P) e sanguinolento (S), e de acordo com a alteração da coloração: opaco, amarelado, esbranquiçado, achocolatado e avermelhado. Sendo foi observado também se as amostras tinham odor, e classificado como inodoro ou fétido.

### **5.7 Delineamento experimental**

Posteriormente os animais foram distribuídos em quatro grupos, contendo, oito animais por grupo, sendo 24 vacas classificadas positivas para endometrite e oito vacas negativas para endometrite, como segue abaixo:

**Grupo 1 (n=8; PRP + ATB):** Tratamento com infusão intrauterina com plasma rico em plaquetas e antibiótico via intrauterina;

**Grupo 2 (n=8; PRP):** Tratamento com infusão intrauterina com plasma rico em plaquetas;

**Grupo 3 (n=8; controle positivo):** Tratamento com lavado intrauterino com solução fisiológica a 0,9 % de NaCl;

**Grupo 4 (n=8; controle negativo):** sem tratamento.

Todas as vacas dos grupos 1, 2 e 3 antes de se efetuar o tratamento e imediatamente após a coleta das amostras do lavado uterino de baixo volume foram submetidas ao lavado uterino com solução fisiológica para retirar o exsudato uterino, os lavados foram repetidos até que o fluido uterino se mostrasse transparente, quando então as vacas foram submetidas aos tratamentos específicos para cada grupo experimental.

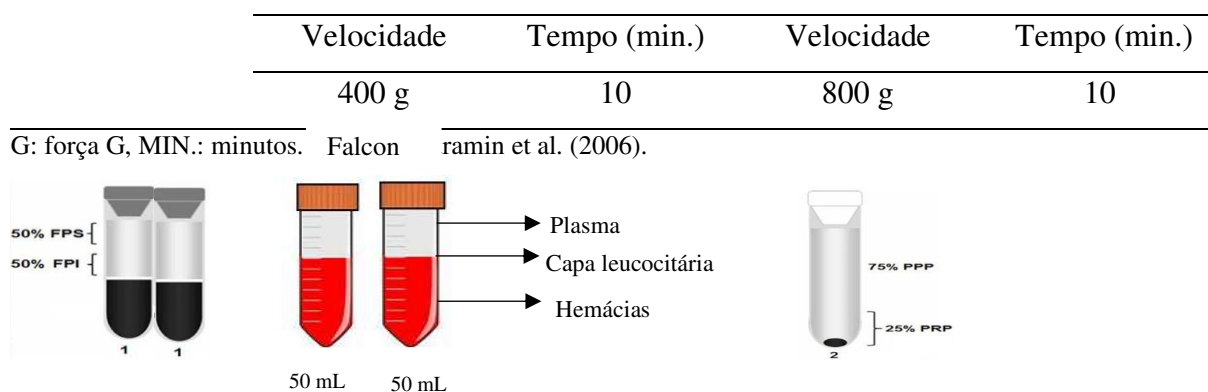
### 5.8 Coleta de sangue para obtenção do plasma rico em plaquetas

Os animais do grupo 1 e 2 foram contidas em tronco de contenção apropriado e submetidas a assepsia com álcool 70 % da região cervical e punção de 100 mL de sangue da veia jugular, utilizando seringa de 60 mL estéril, contendo o anticoagulante citrato de sódio a 5 %, e agulha 40 x 12 mm, o sangue foi depositado em dois tubos Falcon estéreis de 50 mL cada, contendo anticoagulante citrato de sódio 3,8 %.

Posteriormente as amostras foram submetidas a técnica de dupla centrifugação de acordo com o protocolo descrito por Vendramin et al. (2006) (tabela 1), sendo a primeira centrifugação com 400 g por 10 minutos, para separação do plasma da zona de névoa (capa leucocitária) e das hemácias. O plasma sobrenadante de ambos os tubos foi arbitrariamente dividido em duas frações (figura 1) fração plasmática superior (FPS) e fração plasmática inferior (FPI). A FPI considerada como sendo 50 % do plasma mais próximo à capa leucocitária e a FPS (50 % da fração plasmática superior a FPI) foi descartada. A FPI foi transferida para um segundo tubo Falcon estéril de 50 mL contendo anticoagulante e centrifugada, na rotação de 800 g por 10 minutos, para melhor obtenção do plasma rico em plaquetas. Após o término da segunda centrifugação, o plasma sobrenadante (75 % considerado pobre em plaquetas - PPP) foi descartado, sendo conservado apenas 25 % (média de 20 mL) da fração inferior considerado PRP. Após o preparo do PRP, foi realizado a contagem das plaquetas manualmente, de acordo com ao método de Todd & Sanford (1982), garantindo que as infusões intrauterinas foram realizadas com aumento da concentração plaquetária de aproximadamente  $700 \times 10^3/\mu\text{L}$  na concentração final do PRP, sendo de três a cinco vezes mais concentrado quando comparado ao sangue total.

**Tabela 1:** Protocolo de dupla centrifugação para obtenção do plasma rico em plaquetas de forma autólogo

Protocolo	1ª centrifugação	2ª centrifugação
-----------	------------------	------------------



**Figura 1:** Demonstrativo da obtenção de Plasma Rico em Plaquetas pelo método de centrifugação. Esquema em preto e branco a esquerda: os tubos número 1 representam as frações plasmática superior (FPS) e fração plasmática inferior (FPI) obtida após a 1ª centrifugação. Esquema colorido ao centro: mostra como fica o sangue após a 1º centrifugação. Esquema em preto e branco a direita: o tubo número 2 representa a fração do plasma rica em plaquetas (PRP) e fração do plasma pobre em plaquetas (PPP) obtidas após a 2º centrifugação. Fonte: Vendramin et al. (2006).

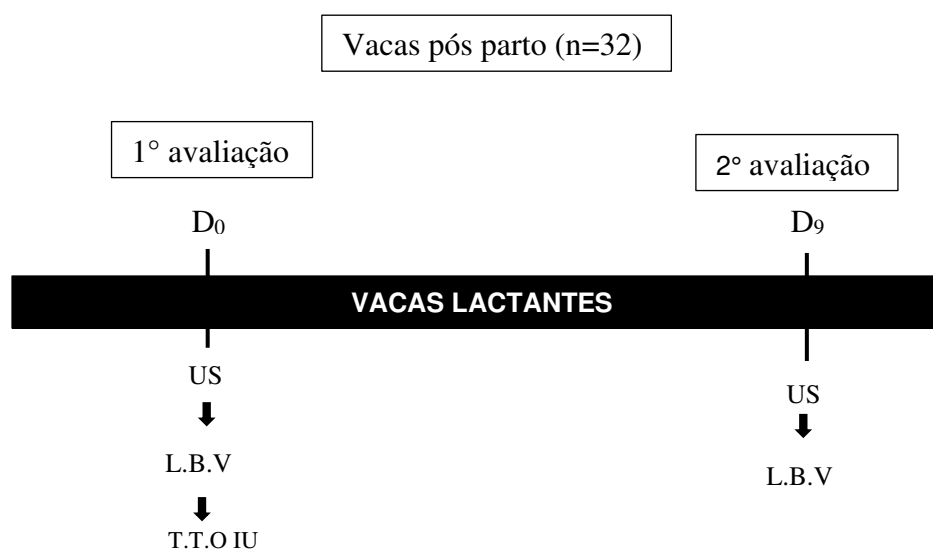
Após o preparo do PRP, oito vacas aleatoriamente positivas para endometrite, receberam o tratamento de infusão intrauterino de 20 mL PRP mais 50 mL de antibiótico (METRIFIM® - base de cloridrato oxitetraciclina - 5,7 g) por meio da extremidade da sonda de Foley, sendo classificadas como grupo 1, já para o grupo 2, mais oito vacas aleatórias também positivas para endometrite, receberam o tratamento de infusão intrauterino com 20 mL de PRP. As oito vacas escolhidas aleatórias e positivas para endometrite para grupo 3, foram submetidas apenas ao lavado uterino com solução fisiológica 0,9 % de NaCl, estéril, empregando em média 200 a 300 mL de solução ou até que o fluido sifonado saísse transparente.

Após a avaliação ultrassonográfica uterina, mensuração do diâmetro do útero e lavado uterino de baixo volume com solução fisiológica NaCl 0,9 % estéril, ao constar que o conteúdo uterino apresentava com aspecto fisiológico (muco) com coloração transparente, oito vacas que foram classificadas como negativas para endometrite, foram utilizadas para o grupo 4, sem tratamento.

### 5.9 Segunda avaliação das vacas com ou sem endometrite pós parto

Após nove dias do tratamento, as vacas foram submetidas novamente as mesmas avaliações e procedimentos empregados na primeira avaliação, no intuito de verificar a

presença ou não de conteúdo intrauterino, mensuração do diâmetro uterino e avaliação do perfil folicular e coletas de amostras para as análises microbiológicas e citológicas.



**Figura 2:** Esquema da 1ª e 2ª avaliação experimental de vacas com e sem endometrite pós-parto. **LBV:** Lavado de baixo volume, **US:** Ultrassonografia, **T.T.O IU:** Tratamento intrauterino

## 6. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Para as análises foi utilizado o software BioEstat 5.3 (Belém, Brasil). Na verificação dos pressupostos de normalidade dos resíduos e de homogeneidade de variância, os testes de Shapiro Wilk e Levene foram executados respectivamente. Quando os dados se apresentaram paramétricos, os testes t de Student, t de Student pareado ou ANOVA seguida do teste de Tukey foram aplicados. Já para dados não paramétricos foram considerados os testes de Mann-Whitney, e os valores médios comparados pelos testes de Wilcoxon, Kruskal Wallis ou teste de Dunn. Diferenças entre dados caracterizados como frequências foram analisadas por teste exato de Fisher ou Qui-quadrado. Diferenças foram consideradas significativas quando  $p < 0,05$ .

## 7. RESULTADOS

### 7.1 Caracterização zootécnicas do rebanho experimental

Na tabela 2 estão sumariadas as características dos animais em cada grupo experimental, havendo diferença ( $p < 0,05$ ) da idade das fêmeas do grupo 3 (NaCl 0,9%;  $56,63 \pm 21,33$  meses de idade) com as fêmeas do grupo 4 (controle negativo;  $30,13 \pm 10,22$  meses de idade).

Na categoria animal, observou-se diferenças ( $p < 0,05$ ) no grupo experimental entre vacas pluríparas e primíparas, sendo, no grupo 1 (PRP + ATB): 87,5 % pluríparas e 12,5 % primíparas; grupo 2 (PRP): 75 % pluríparas e 25 % primíparas; grupo 3 (NaCl 0,9 %): 62,5 % pluríparas e 37,5 % primíparas e grupo 4 (controle negativo): 12,5 % pluríparas e 87,5% primíparas, este último, diferindo dos demais grupos quanto ao percentual de fêmeas pluríparas e primíparas ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 2:** Parâmetros zootécnicos de vacas leiteiras primíparas e pluríparas

Grupos	Percentual de categoria animal		Idade (m)	Ordem de parto	ECC	Produção leite/dia
	Plurípara	Primípara				
<b>G1</b>	87,5 % <sup>Aa</sup>	12,5 % <sup>Bb</sup>	$52,38 \pm 11,34^A$	$2,38 \pm 0,74^A$	$2,66 \pm 0,33^A$	$27,29 \pm 12,62^A$
<b>G2</b>	75 % <sup>Aa</sup>	25 % <sup>Bb</sup>	$47,38 \pm 17,06^A$	$2,63 \pm 1,19^A$	$2,75 \pm 0,42^A$	$25,78 \pm 6,76^A$
<b>G3</b>	62,3 % <sup>Aa</sup>	37,5 % <sup>Bb</sup>	$56,63 \pm 21,33^{AB}$	$2,63 \pm 1,51^A$	$2,72 \pm 0,53^A$	$28,48 \pm 8,07^A$
<b>G4</b>	12,5 % <sup>Bb</sup>	87,5 % <sup>Aa</sup>	$30,13 \pm 10,22^{AC}$	$1,25 \pm 0,71^A$	$2,88 \pm 0,44^A$	$22,58 \pm 3,13^A$

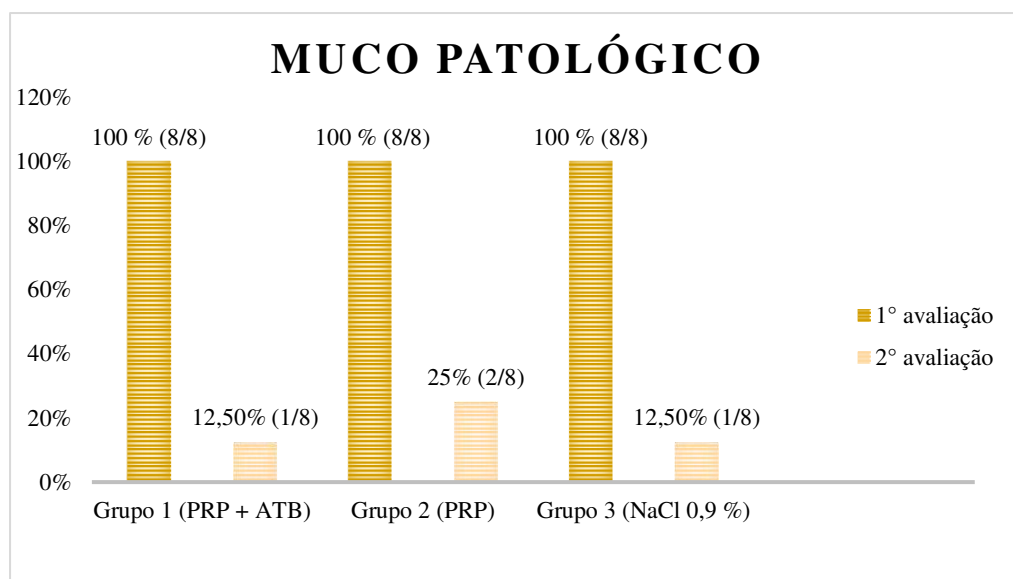
Valores médios seguidos por letras maiúsculas na mesma coluna e minúsculas na mesma linha e para cada parâmetro, diferem entre si ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Kruskal Wallis; m: meses; ECC: escore de condição corporal; G1: grupo 1 tratamento infusão intrauterina com plasma rico em plaquetas + antibiótico; G2: grupo 2, tratamento infusão intrauterina com plasma rico em plaquetas; G3: grupo 3, lavado uterino com solução fisiológica 0,9 % (NaCl) estéril; G4: grupo 4, controle negativo, sem tratamento.

## 7.2 Padrões de avaliações para confirmação de infecção uterina durante avaliação ginecológica

### 7.2.1 Avaliação macroscópica do fluido uterino e sua eficiência pós-tratamento

Com relação as avaliações macroscópicas do fluido uterino (figura 3) se observou que na 1ª avaliação, as fêmeas dos grupos 1 (PRP + ATB), 2 (PRP) e 3 (NaCl 0,9 %), que são considerados grupos positivos para endometrite (muco turvo, muco purulento, purulento e sanguinolento), 100 % dos animais apresentaram alteração no fluido uterino na ocasião da coleta. Na 2ª avaliação após o tratamento, as fêmeas do grupo 1 e 3, apresentaram 12,5 % dos animais que permaneceram com muco patológico e no grupo 2 foram observados 25 % dos animais com muco patológico. Diante disso, se constatou a eficácia do tratamento nas vacas

positivas para endometrite por meio da avaliação macroscópica do fluido uterino, pois, nos grupos 1 e 3 apenas uma fêmea e no grupo 2 duas fêmeas não ficaram curadas, respectivamente.



**Figura 3:** Frequência de endometrite de acordo com fluido uterino na 1ª e 2ª avaliação em vacas leiteiras no pós-parto, submetidas ao tratamento para endometrite. Legenda: G1: grupo 1 tratamento infusão intrauterina com plasma rico em plaquetas + antibiótico; G2: grupo 2, tratamento infusão intrauterina com plasma rico em plaquetas; G3: grupo 3 lavado uterino com solução fisiológica 0,9 % (NaCl) estéril; G4: grupo 4 controle negativo, sem tratamento, ( ) número de animais curados e total de vacas no grupo experimental.

### 7.3 Exame de citologia do fluido uterino de vacas leiteiras no pós-parto

#### 7.3.1 Determinação do percentual de polimorfonucleares na citologia endometrial do fluido uterino

O percentual de polimorfonucleares (% PMN) no fluido uterino, na 1ª avaliação, no 1 grupo (PRP + ATB) apresentou 34 % PMN, no 2 grupo (PRP) 35 % PMN, no 3 grupo (NaCl 0,9 %) 29 % PMN e no 4 grupo 17 % PMN. Houve diferença entre os valores obtidos, com o grupo 4 (controle negativo) diferindo dos demais grupos ( $p < 0,05$ ; tabela 3).

Na 2ª avaliação, ou seja, após o tratamento para endometrite, não houve diferença na frequência de polimorfonucleares no fluido uterino entre os grupos ( $p > 0,05$ ) sendo: grupo 1 (12 %), grupo 2 (15 %), grupo 3 (14 %) em relação ao grupo 4 (10 %) que era grupo controle, sem endometrite. Mostrando assim, a eficácia dos tratamentos, na avaliação citologia endometrial pelo percentual de polimorfonucleares (tabela 3).

**Tabela 3:** Média e desvio padrão do percentual de polimorfonucleares na 1ª e 2ª avaliação ginecológica em vacas leiteira no pós-parto, de acordo com o grupo experimental (G)

Avaliações	G1 (%)	G2 (%)	G3 (%)	G4 (%)
1º avaliação	34 ± 0,075 <sup>a</sup>	35 ± 0,085 <sup>a</sup>	29 <sup>a</sup> ± 0,069 <sup>a</sup>	17 ± 0,062 <sup>b</sup>
2º avaliação	12 ± 0,040 <sup>a</sup>	15 ± 0,032 <sup>a</sup>	14 <sup>a</sup> ± 0,029 <sup>a</sup>	10 ± 0,037 <sup>a</sup>

Valores seguidos por letras minúsculas na mesma linha diferem entre si ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey; G1: grupo 1 tratamento infusão intrauterina com plasma rico em plaquetas + antibiótico; G2: grupo 2, tratamento infusão intrauterina com plasma rico em plaquetas; G3: grupo 3, lavado uterino com solução fisiológica 0,9 % (NaCl) estéril; G4: grupo 4, controle negativo, sem tratamento.

### 7.3.2 Polimorfonucleares de acordo com os parâmetros zootécnicos das fêmeas entre os grupos com e sem endometrite

Após a análise das médias e os desvios-padrão dos parâmetros idade, ordem de parto, escore de condição corporal e produção de leite em relação ao percentual de polimorfonucleares (percentual de PMN  $> 18$  % são considerados com endometrite e PMN  $\leq 18$  % são animais sem endometrite) verificou que não houve diferença ( $p > 0,05$ ) entre os grupos estudados.

Conforme a categoria animal (primípara e pluripara) e o percentual de polimorfonucleares (PMN) não se verificou diferença ( $p > 0,05$ ) no grupo com infecção ( $n = 16$  e 7 de vacas pluriparas e primíparas, respectivamente) e sem infecção ( $n = 5$  e 3 de vacas pluriparas, respectivamente; tabela 4).

Comparando as categorias plurípara com primípara, também não houve diferença ( $p > 0,05$ ) entre os grupos com ( $> 18$  % PMN) e sem ( $\leq 18$  % PMN) infecção (tabela 4).

**Tabela 4:** Categoria animal, média  $\pm$  desvio padrão dos parâmetros de idade, ordem de parto, escore de condição corporal (ECC) e produção de leite/dia de acordo com o percentual polimorfonucleares (PMN) observado na 1ª avaliação, de acordo com os grupos com ( $> 18$  % PMN) e sem ( $\leq 18$  % PMN) infecção

Parâmetros	Nº da categoria animal		Idade	Ordem parto	ECC	Produção de leite/dia
	Pluripara	Primípara				
Com infecção ( $> 18$ % PMN)	16	7	49,6 $\pm$ 17,1	2,4 $\pm$ 1,1	2,7 $\pm$ 0,4	26,6 $\pm$ 9,2
Sem infecção ( $\leq 18$ % PMN)	5	3	36,0 $\pm$ 18,6	1,7 $\pm$ 1,2	3,0 $\pm$ 0,4	24,1 $\pm$ 3,3

( $P > 0,05$ ) pelo teste de Fischer; PMN: polimorfonucleares, Nº número.

Ao se observar as médias e os desvios-padrão do diâmetro uterino e o percentual de polimorfonucleares, verifica-se que não houve diferença ( $p > 0,05$ ) entre os grupos com ( $22,52 \pm 8,83$  e  $22,36 \pm 9,23$  mm) e sem ( $18,41 \pm 5,03$  e  $21,46 \pm 9,41$  mm) infecção uterina na 1ª e 2ª avaliação, respectivamente. Comparando a 1ª com a 2ª avaliação, também não houve diferença ( $p > 0,05$ ; tabela 5).

**Tabela 5:** Média  $\pm$  desvio padrão do diâmetro uterino em vacas leiteiras, com e sem endometrite, na 1ª e 2ª avaliação e entre os grupos

Parâmetros	Diâmetro uterino (mm)	
	1º Avaliação	2º Avaliação
Com infecção (>18% PMN)	22,52 $\pm$ 8,83	22,36 $\pm$ 9,23
Sem infecção ( $\leq$ 18% PMN)	18,41 $\pm$ 5,03	21,46 $\pm$ 9,41

( $P > 0,05$ ) pelo teste de Fisher; PMN: polimorfonucleares; mm: milímetros.

#### 7.4 Exame microbiológico de fluido uterino de vacas leiteiras no pós-parto

##### 7.4.1 Exame microbiológico

Das 64 amostras submetidas ao exame microbiológico, obteve-se isolamento de um ou mais microrganismo nas amostras de fluidos uterinos constatadas como positivas para endometrite. Os mais frequentes foram as bactérias *Escherichia coli*, *Trueperella pyogenes* e *Klebsiella pneumoniae*, não havendo diferença ( $p > 0,05$ ) entre a primeira (início do experimento) e segunda avaliação (nove dias pós-tratamento) quantos aos agentes isolados nas fêmeas no qual a endometrite persistiu.

Porém, na 1ª avaliação, a bactéria mais frequentemente isolada foi *Trueperella pyogenes* presente em 61,5 % das amostras e a segunda bactéria foi *Escherichia coli* com 30,8 % e a terceira bactéria foi *Klebsiella pneumoniae* com 7,7 % (tabela 6).

Já na 2ª avaliação, a *Trueperella pyogenes*, reduziu consideravelmente para 45,5 % dos agentes identificados nos cultivos bacterianos (16 % do total das amostras), e as bactérias *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* não foram identificadas.

De acordo com os resultados do exame microbiológico na 2ª avaliação, se pode afirmar que os tratamentos para endometrite foram eficazes para alcançar a cura ou reduzir o número de animais com infecção uterina (tabela 6).

**Tabela 6:** Frequência de agentes patológicos em fluido uterino após cultivo e isolamento bacteriano (n=64) em avaliações ginecológicas de vacas leiteiras no pós-parto

Agentes Bacterianos	Pós-parto %	
	1ª avaliação	2ª avaliação
<i>Escherichia coli</i>	30,76	-
<i>Trueperella pyogenes</i>	61,55	16
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	7,69	-
<b>Total</b>	<b>100</b>	<b>16</b>

(P>0,05) pelo teste Kappa; N: número.

### 7.5 Atividade ovariana em vacas leiteiras no pós-parto

Ao avaliar a atividade folicular por meio do exame ultrassonográfico, sobre avaliações do 1º e 2º maiores folículos e totais de folículos, tanto no ovário direito e no esquerdo, notou-se que tanto na 1ª e 2ª avaliação não houve diferença (p>0,05), entre os parâmetros avaliados sendo: diâmetros do 1º e 2º maiores folículos, totais de folículos, tanto no ovário direito como no ovário esquerdo. Comparando a 1ª avaliação com a 2ª avaliação, constatou-se também que não houve diferença (p>0,05) entre os parâmetros acima avaliados (tabela 7).

**Tabela 7:** Atividade ovariana na 1ª avaliação ( $\geq 21$  dias pós-parto) e na 2ª avaliação ( $\geq 29$  dias pós-parto) de vacas leiteiras

GRUPOS	OVD			OVE		
	1º DMF	2ºDMF	T. FOL	1º DMF	2ºDMF	T. FOL
<b>1º AVALIAÇÃO</b>						
G1	9,45 ± 4,94	6,29 ± 3,68	9,00 ± 3,63	9,53 ± 6,53	3,68 ± 1,29	7,75 ± 2,82
G2	8,50 ± 4,89	5,46 ± 2,98	10,63 ± 4,17	6,07 ± 4,50	4,55 ± 1,45	9,00 ± 4,60
G3	9,47 ± 4,29	6,56 ± 2,92	6,63 ± 2,50	9,16 ± 4,27	4,21 ± 0,86	7,38 ± 3,29
G4	13,14 ± 4,57	7,31 ± 3,62	8,00 ± 5,40	7,80 ± 2,15	4,59 ± 1,62	7,25 ± 3,11
<b>2º AVALIAÇÃO</b>						
G1	10,94 ± 10,04	5,03 ± 3,44	8,63± 4,90	10,47± 6,00	6,64±3,89	8,25 ± 4,83
G2	10,65 ± 4,61	7,04 ± 3,07	9,25± 5,70	7,80 ± 5,46	4,18±1,64	8,75 ± 2,82
G3	10,43 ± 3,26	7,07 ± 1,93	6,50± 2,07	8,03 ± 2,72	4,36±1,24	6,63 ± 2,92
G4	11,51 ± 5,13	4,68 ± 1,53	5,38± 2,26	10,03± 4,67	4,75±2,17	10,25 ± 4,65

(P>0,05) pelos testes de Kruskal Wallis, Wilcoxon e Teste T pareado; 1ºDMF: diâmetro do primeiro maior folículo; 2ºDMF: diâmetro do segundo maior folículo; T. FOL: total de folículos; OVD: ovário direito; OVE: ovário esquerdo; G1: grupo 1 tratamento infusão intrauterina com plasma rico em plaquetas + antibiótico; G2:

grupo 2, tratamento infusão intrauterina com plasma rico em plaquetas; G3: grupo 3, lavado uterino com solução fisiológica 0,9 % (NaCl) estéril; G4: grupo 4, controle negativa.

## 8. DISCUSSÃO

### 8.1 Comportamento do rebanho experimental

De acordo com a categoria animal, estudos anteriores verificaram que existe maior possibilidade de ocorrer endometrite clínica em vacas primíparas do que em vacas pluríparas (Ghanem et al., 2002; Leblanc et al., 2002; Dubuc et al., 2010; Gautam et al., 2010; Potter et al., 2010; Giuliadori et al., 2013). Tal fato, segundo Sheldon et al. (2009) as primíparas podem apresentar mais distorcia, podendo levar ao aumento de áreas uterinas lesadas durante o parto, maior probabilidade de retenção de placenta, danos tecidual e conseqüentemente maior contaminação bacteriana, seguida por endometrite clínica ou subclínica. No entanto, estudos realizados por Giuliadori et al. (2017) constataram que não há relação de endometrite com o número de partos, sendo corroborado pelo presente estudo (tabela 2), nota-se que o grupo experimental 4, que são vacas negativas para endometrite 87,5 % das vacas eram primíparas e nos grupos de vacas com infecção uterina (1, 2 e 3) com total de 24 animais, apenas sete vacas eram primíparas.

Na avaliação da condição de reserva energética e status nutricional do rebanho no periparto, segundo Kim e Suh (2003) e Hoedemaker, Prange e Gundelach (2009) a diminuição do ECC é associada com a diminuição da fertilidade do animal, podendo acarretar a predisposição às doenças nos podais, deslocamento de abomaso e doenças metabólicas, e também enfermidades uterinas, tais como metrite e endometrite. Em outro estudo, associando escore da condição corporal e percentual de polimorfonucleares com endometrite, Bacha e Regassa (2009) verificaram que vacas acima de quatro semanas pós-parto apresentaram 28,5 % de infecção uterina com  $ECC \leq 2,50$ , concluindo que, vacas com menor escore de condição corporal, possuem maior probabilidade de apresentar um quadro de endometrite, em comparação às vacas com  $ECC \geq 2,75$ .

No presente estudo, na avaliação da frequência de polimorfonucleares no fluido uterino (tabela 4), as vacas com infecção (>18% PMN) apresentaram  $ECC \leq 2,70$ , embora corrobore aos estudos anteriormente citados e ao estudo de DuBuc et al. (2010) onde os autores verificaram que as vacas tiveram mais predisposição a endometrite citológica, quando o escore

de condição corporal estava abaixo de 2,75. O grupo 4, representado pelas vacas sem endometrite, apresentaram escore de condição corporal acima desses valores ( $2,88 \pm 0,44$ ), porém sem diferença estatística entre os demais grupos quanto a frequência de endometrite (tabela 2). Grummer, Hayirli e Mashek (2004) sugeriram que em vacas leiteiras, o ideal de escore de condição corporal, no dia do parto é de 2,75 a 3,00, e não perder mais de 0,5 pontos de ECC entre o parto e primeiro serviço, pois, abaixo disso, ocorre muitos efeitos negativos para sua sanidade pós-parto, lactação e posteriormente reprodução, podendo entrar em período de anestro prolongado.

Segundo Mateus et al. (2002) e Kasimanickam et al. (2004) o exame ultrassonográfico é um método confiável para diagnosticar vacas negativas para endometrite, pois, apresenta boa especificidade 79,1 %. Diante disto, Kasimanickam et al. (2004) propuseram uma classificação para diagnóstico de endometrites baseado no diâmetro dos cornos uterinos, sendo que em vacas negativas para endometrite, o diâmetro uterino é  $< 35$  mm, em vacas suspeitas para endometrite, diâmetro de  $35 \geq X < 50$  mm e em vacas positivas para endometrite, o diâmetro  $\geq 50$  mm. No entanto, no presente estudo, na avaliação do diâmetro uterino (tabela 5), os valores obtidos não corroboram com os autores, constatou que o diâmetro uterino das vacas com endometrite foi de  $22,55 \pm 8,83$  mm e após os tratamentos foi para  $21,46 \pm 9,41$  mm, e o grupo controle apresentou  $18,41 \pm 5,03$  mm. Entretanto, Barlund et al. (2008) afirmam que além da avaliação ultrassonográfica são necessários métodos complementares como avaliação macroscópica do fluido uterino, citologia endometrial, cultura bacteriana, para avaliação de vacas com ou sem endometrite.

Segundo Rocha et al. (2004) e Williams et al. (2005) no ambiente uterino podem ser encontradas diversas bactérias, tanto bactérias Gram-positivas, como as Gram-negativas, sendo corroborado pelo presente estudo (tabela 6) onde foram isoladas as bactérias *Trueperella pyogenes* que são bactérias Gram-positivas e as bactérias *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* que são Gram-negativas.

Segundo estudos realizados por Azawi et al. (2008) as coletas de conteúdo uterino em vacas acima de 21 dias pós-parto, apresentam grande isolamento de cepas de *Trueperella pyogenes*, sendo correlacionadas com endometrites severas, e subsequentemente com infertilidade ao primeiro serviço, podendo ou não estar associada com a *Escherichia coli*. O presente estudo corrobora aos estudos de Williams et al. (2005) que verificaram que as bactérias *Trueperella pyogenes* e *Escherichia coli*, tiveram maior prevalência em vacas com endometrite, quando comparadas com os outros patógenos.

De acordo Santos et al. (2012) o crescimento de *Trueperella pyogenes* em vacas com infecções uterinas instaladas a partir do 35º dia pós-parto, é pertinente pelo crescimento de *Escherichia coli* durante a primeira semana do puerpério. LeBlanc (2008) verificou que 15 a 20 % das vacas possuíam endometrite clínica entre quatro a seis semanas pós-parto. Azawi et al. (2008) afirmam também que essas bactérias causam alterações no ambiente uterino, levando a hipóxia tecidual por conta do metabolismo microbiano, consequentemente, ativa a células inflamatórias como os polimorfonucleares, principalmente neutrófilos.

Segundo Sheldon et al. (2009) a infecção uterina com alta concentração de bactéria Gram-negativa, principalmente *Escherichia coli*, são produtoras de lipopolissacarídeos (LPS) em sua parede, e essa alta síntese de LPS prejudicam a saúde uterina.

Na avaliação da atividade ovariana, por meio da mensuração do diâmetro folicular dos ovários, utilizando o ultrassom (tabela 7), nota-se que as vacas positivas para endometrite, na 1ª avaliação apresentaram o diâmetro do 1º maior folicular no ovário direito, sendo: grupo 1 (PRP + ATB;  $9,45 \pm 4,94$  mm), grupo 2 (PRP;  $8,50 \pm 4,89$  mm) e grupo 3 (NaCl 0,9 %;  $9,47 \pm 4,29$  mm) e esquerdo: grupo 1 ( $9,53 \pm 6,53$  mm), grupo 2 ( $6,07 \pm 4,50$  mm) e grupo 3 ( $9,16 \pm 4,27$  mm), sendo menores que 10 mm e de acordo com os autores Suziki et al. (2001) e Lavon et al. (2008) quando se tem presença de bactérias Gram negativas, pode ocorrer alteração na secreção de FSH e LH, pelo eixo hipotalâmico hipofisário gonadal, devido a existência do lipopolissacarídeo (LPS) presente na parede das bactérias.

Spicer e Alpizar (1994) verificaram que o aumento da liberação de citocinas pró-inflamatórias pelas células endometriais, pode afetar o desenvolvimento folicular, devido à redução na síntese de estrógenos pelas células da granulosa, tal fato também foi verificado por Sheldon et al. (2008) onde constataram que o diâmetro folicular fica comprometido, devido, a baixa concentração plasmática de estradiol. Estudos anteriores de LeBlanc et al. (2002a) e Williams et al. (2005) haviam verificado que em animais positivos para endometrite, as estruturas ovarianas tinham menor diâmetro folicular e com menor chance de ser palpáveis.

## **8.2 Efeitos dos tratamentos nas vacas com endometrite pós parto**

O método de lavado uterino com solução fisiológica 0,9 % (NaCl) tem a função de auxiliar na remoção mecânica de debris celulares, de microrganismos e mediadores inflamatórios do lúmen uterino (Brinsko et al., 2003; Vanderwall, Woods, 2003; Knutti et al., 2010), sendo corroborado pelo presente estudo, onde após o lavado uterino e avaliação macroscópica do fluido uterino e infusão dos tratamentos em seu respectivos grupos (figura 3), houve eficiência

significativa no aspecto e coloração dos fluido uterino, mostrando-se fluido uterino fisiológico (aspecto do muco e coloração translúcida), sendo que, nos grupos 1 (PRP + ATB) e 3 (NaCl 0,9 %), a frequência de 87,5 % (7/8) das vacas em cada grupo apresentam eficiência no tratamento e no grupo 2 (PRP), a frequência de 75 % (6/8) das vacas apresentaram eficiência do tratamento na avaliação macroscópica do fluido uterino.

Nos estudos de Kasimanickam et al. (2004) e Gilbert et al. (2005) obtiveram os resultados de 35 a 50 % das vacas diagnosticadas com endometrite, por meio do método de citologia endometrial por contagem do percentual polimorfonucleares. Já Leblanc (2008) verificou de 15 a 20 % de vacas com endometrite entre 28 a 42 dias pós-parto. No presente estudo, se verificou 29 % de vacas com endometrite, no período de 21 a 40 dias pós-parto. Na 1ª avaliação ginecológica, as vacas positivas para endometrite, apresentaram valores médios no grupo 1 (PRP + ATB; 34 % de PMN), grupo 2 (PRP; 35 % de PMN) e grupo 3 (NaCl 0,9 %; 29 % de PMN) para percentual de polimorfonucleares (tabela 3).

Após os tratamentos das vacas com endometrite, observou redução significativa na contagem do percentual de polimorfonucleares (% PMN), mostrando a eficiência em cada grupo de tratamento (tabela 3), sendo, o grupo 1 (PRP + ATB; 12 % de PMN), grupo 2 (PRP; 15 % de PMN) e grupo 3 (NaCl 0,9 %; 14 % de PMN), corroborando com os estudos de Reghini et al. (2016) que constataram redução no percentual de PMN, utilizando tratamento com PRP.

Segundo Bendinelli et al. (2010), Van Buul et al. (2011) a redução no percentual de PMN se dá pelo efeito imunomodulador do PRP, pela via inibitória do NF- $\kappa$ B (Fator nuclear kappa-B) fazendo com que ocorra inibição das migrações das células inflamatórias para o local da inflamação.

Sheldon et al. (2006) notaram que o uso de oxitetraciclina para tratamento intrauterino de vacas com endometrite, provoca irritação na mucosa endometrial. Meira Junior (2014) constatou na 1ª avaliação de citologia endometrial, 51,33 % no percentual de polimorfonucleares, após a infusão intrauterina de oxitetraciclina, se obteve na 2ª avaliação (intervalo de nove dias) percentual de 33,71 %, considerando que a redução foi baixa em relação aos outros fármacos utilizados nos outros grupos experimentais, relacionando ao fato do fármaco utilizado causar irritação na mucosa endometrial, causando um processo inflamatório.

No entanto, no presente estudo, se verificou que no grupo 1, que recebeu tratamento com plasma rico em plaqueta associado a antibiótico, na 1ª avaliação apresentou o percentual de 34 % de PMN, já na 2ª avaliação apresentou 12 % de PMN, redução significativa, que não se mostrou diferente ( $p > 0,05$ ) ao valor obtido no grupo 4 (controle negativo) com 10 % na 2ª avaliação (tabela 3), constatando-se que o PRP minimizou o efeito do processo inflamatório.

Anitua et al. (2004) constataram que o PRP alterou os efeitos induzidos pelo LPS nas células endometriais por meio da eliminação das bactérias produtoras, melhorando o ambiente uterino, aumentando a expressão gênica. No presente estudo, na 2ª avaliação (tabela 6) constatou-se ausência das bactérias Gram-negativas (*Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*), sintetizadoras de LPS em sua parede, após os tratamentos, notando-se assim eficiência dos tratamentos.

## 9. CONCLUSÕES

O presente estudo demonstra que o uso de infusão intrauterina com plasma rico em plaquetas e antibiótico, plasma rico em plaquetas e solução fisiológica (NaCl 0,9 %) em vacas com endometrite se mostraram eficazes no tratamento uterino.

Na avaliação por meio da citologia endometrial, notou-se redução do processo inflamatório uterino mediante do percentual polimorfonucleares, mostrando eficiência nos tratamentos.

O uso do plasma rico em plaquetas e antibiótico, plasma rico em plaquetas e solução fisiológica (NaCl 0,9 %) se mostram eficazes no efeito bactericida para as bactérias Gram-negativas (*Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*) e na redução do número de animais positivos para bactérias Gram-positivas (*Truperella pyogenes*).

Desde modo, o uso do plasma rico em plaquetas, solução fisiológica (NaCl 0,9 %) ou plasma rico em plaquetas associado ao antibiótico são excelentes alternativas para tratamento em vacas com endometrite pós-parto, mostrando eficácia semelhante aos demais tratamentos empregados no presente estudo, porém, vale ressaltar que o plasma rico em plaquetas não apresenta resíduo no leite e nem resistência bacteriana por ser tratar de um hemocomponente do sangue total do próprio animal, sendo assim, não havendo necessidade de descarte do leite, e a ação plaquetária estimula os  $\alpha$ -grânulos e liberação das moléculas no local lesionado, recrutando outras plaquetas, leucócitos e proteínas plasmáticas, para atuarem no processo de reparação tecidual, aumentando o seu potencial de cicatrização.

## REFERÊNCIAS

ALVARENGA, F.C.L. Parto normal, In: Nereu Carlos Prestes & Fernanda da Cruz Landim-Alvarenga. **Obstetrícia Veterinária**, 1ª Ed., Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2006, p. 82-96.

ANITUA, E.; ANDIA, I.; ARDANZA, B.; NURDEN, P.; NURDEN, A.T. Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 91, p. 4–15, 2004.

AZAWI, O.; ALI, J.; LAZIM, J. Pathological and anatomical abnormalities affecting buffalo cows reproductive tracts in Mosul Iraqi **Journal Veterinary Science**, v.22, p. 59–67, 2008.

AZAWI, O.I. Postpartum uterine infection in cattle – **Animal Reproduction Science**, v.105, p.187-208, 2008.

BACHA, B.; REGASSA, F.G. Subclinical endometritis in Zebu x Friesian crossbred dairy cows: risk factors, association with subclinical mastitis and effect on reproductive performance. **Tropical Animal Health and Production**, v.42, p.397- 403, 2009.

BARLUND, C.S.; CARRUTHERS T.D.; WALDNER, C.L.; PALMER, C.W. A comparison of diagnostic techniques for postpartum endometritis in dairy cattle. **Theriogenology**, v. 69, p. 714-723, 2008

BEAGLEY, J.C.; WHITMAN, K.J.; BAPTISTE, K.E.; SCHERZER, J. Physiology and treatment of retained fetal membranes in cattle. **Journal Veterinary International Medicine**, v. 24, p. 261-268. 2010.

BELL, M.J.; ROBERTS, D.J. The impact of uterine infection on a dairy cow's performance. **Theriogenology**, v.68, p.1074-1079. 2007.

BENDINELLI, P.; MATTEUCCI, E.; DOGLIOTTI, G.; CORSI, M. M.; BANFI, G.; MARONI, P.; DESIDERIO, M. A. Molecular basis of anti-inflammatory action of platelet-rich

plasma on human chondrocytes: Mechanisms of NF-kappaB inhibition via HGF. **Journal of Cellular Physiology**, v. 225, p. 757-766, 2010.

BENEDICTUS, L. **Bovine materno-fetal alloimmune mediated disorders: MHC class I (in) compatibility in Retained Fetal Membranes and Bovine Neonatal Pancytopenia**. 2015. Tese de Doutorado. Uitgeverij BOXPress.

BENZAQUEN, M.E.; RISCO, C.A.; ARCHBALD, L.F.; MELENDEZ, P.; THATCHER, M.J.; THATCHER, W.W. Rectal temperature, calving-related factors, and the incidence of puerperal metritis in postpartum dairy cows. **Journal Dairy Science**, v.90, p.2804-2814, 2007.

BICUDO, S.D.; LOPES, M.D. Terapêutica do Sistema Reprodutor. In: Silvia Franco Andrade **Manual de Terapêutica Veterinária**, 2ª Ed., São Paulo, Roca, 2002, p.297-330.

BÖCK, M.; RAHRIG, S.; KUNZ, D.; LUTZE, G.; HEIM, M.U. Platelet concentrates derived from buffy coat and apheresis: biochemical and functional differences. **Transfusion Medicine**, v. 12, p. 317–324. 2002.

BONNET, B. N. et al. Endometrial biopsy in Holsnstein-Friesian dairy cows I: Technique histological criteria and results. **Canadian Journal Veterinary Reserch**, v. 55, n. 2, p. 155-161, 1991a.

BORALLI, I.C.; ZAPPA, V. Endometrite em bovinos: Revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 19, n. 4, p. 442-434. 2012.

BRETZLAFF, K. Rationale for treatment of endometritis in the dairy cow. **Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice**, v.3, n.3, p.593-607, Nov. 1987.

BRINSKO, S.P.; RIGBY, S.L.; VARNER, D.D.; BLANCHARD, T.L. A practical method for recognizing mares susceptible to post-breeding endometritis. **Journal Dairy Science**, v.4, n 5, p. 102-110, 2003.

CAMPOS, M. D. S. M. et al. Prevenção da metrite puerperal em bovinos leiteiros de pequenas propriedades do município de Pombos - PE. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, V.78, p. 208-215, 2011.

CREMONESI, F.; BONFANTI, S.; IDDA, A.; LANGE-CONSIGLIO, A. Platelet-rich plasma for regenerative medicine treatment of bovine ovarian hypofunction. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 7, p. 517. 2020.

CURTIS, C.R. et al. Path analysis of dry period nutrition, postpartum metabolic and reproductive disorders, and mastitis in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 68, n. 9, p. 2347-2360, Sep. 1985.

DAL, G.E., A. SABUNCU, D. AKTARAN BALA, S.Ö. ENGINLER, A.C. CETIN, B. CELIK, AND Ö. KOCAK. Evaluation of intramammary platelet concentrate efficacy as a subclinical mastitis treatment in dairy cows based on somatic cell count and milk amyloid A levels. **Kafkas University Veterinary Fakültesi Dergisi**, v. 25, p.357–363, 2019.

DUBUC, J. et al. Risk factors for postpartum uterine diseases in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 12, p. 5764-71, Dec. 2010.

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

FERNANDES, C.A.C.; FIGUEIREDO, A.C.S. Avanços na utilização de prostaglandinas na reprodução de bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.31, p. 406-414. 2007.

FOSTER, T. E.; PUSKAS, B.L.; MANDELBAUM, B.R.; GERHARDT, M.B.; RODEO, S.A. 2009. Platelet-rich plasma: From basic science to clinical applications. **American Journal Sports Medicine**, 37:2259–2272.

FRANTZ, N., M. FERREIRA, M. I. KULMANN, G. FRANTZ, A. BOS-MIKICH, AND R. OLIVEIRA. 2020. Platelet-rich plasma as an effective alternative approach for improving

endometrial receptivity—A clinical retrospective study. **JBRA Assisted Reproduction**, 24:442–446.

GALVÃO, K.N. et al. Effect of intrauterine infusion of ceftiofur on uterine health and fertility in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 4, p. 1532-1542, Apr. 2009.

GASPERINI, G. Análise quantitativa do protocolo de obtenção do plasma rico em plaquetas do núcleo de cirurgia e traumatologia bucomaxilofacial do HU-UFSC, **Theriogenology**, v. 69, p. 50-58, 2003.

GAUTAM, G.; NAKAO, T.; KOIKE, K.; LONG, S.T.; YUSUF, M.; RANASINGHE, R.M.S.B.K.; HAYASHI, A. Spontaneous recovery or persistence of postpartum endometritis and risk factors for its persistence in Holstein cows. **Theriogenology**, v.73, p.168-179, 2010.

GHANEM, M. et al. Factors Leading to Endometritis in Dairy Cows in Egypt with Special Reference to Reproductive Performance. **Journal of Reproduction and Development**, v. 48, n. 4, p. 371-375. 2002.

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

GIULIODORI, M.J. et al. Clinical endometritis in an Argentinean herd of dairy cows: Risk factors and reproductive efficiency. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 1, p. 210-218, 2013.

GIULIODORI, M.J. et al. Purulent vaginal discharge in grazing dairy cows: Risk factors, reproductive performance, and prostaglandin F<sub>2α</sub> treatment. **Journal of Dairy Science**, v. 100, p. 3805-3815, 2017.

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

GRUMMER, R.R.; MASHEK, D.G.; HAYIRLI, A. Dry matter intake and energy balance in the transition period. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 20, p. 447- 470. 2004.

GRUNERT, E.; GREGORY, R.M. **Diagnóstico e terapêutica da infertilidade na vaca**. Porto Alegre: Ed. Sulina, 1984. 174 p.

HAMMON, D.S. et al. Neutrophil function and energy status in Holstein cows with uterine health disorders. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 113, p. 21-29. 2006.

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

HUZZEY, J.M. et al. Prepartum behavior and dry matter intake identify dairy cows at risk for metritis. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 7, p. 3220-3233. 2007.

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

KAUFMANN, T.B.; DRILLICH, M.; TENHAGEN, B.A.; FORDERUNG, D.; HEUWIESER, W. Prevalence of bovine subclinical endometritis 4 h after insemination and its effects on first service conception rate. **Theriogenology**, v. 71, p. 385-391. 2009.

KENNEY, R.M. Cyclic and pathologic changes of the mare endometrium as detected by biopsy, with a note on early embryonic death. *J. Am. Veterinary Medicine Association*, v.172, p.241-62, 1978.

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

KNUTTI, B.; PYCOCK, J. F.; VAN DER WIJDEN, G. C.; KÜPFER, U. The influence of early post breeding uterine lavage on pregnancy rate in mares with intrauterine fluid accumulations after breeding. **Equine Veterinary Education**, v. 12, p. 276-270, 2010.

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

KRISTULA, M.A.; BARTHOLOMEW, R.; LAEMMLI, U.K. Evaluation of prostaglandin F2a treatment in Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, v.227, p.680-685, 1998.

LANGE-CONSIGLIO, A.; CAZZANIGA, N.; GARLAPPI, R.; SPELTA, C.; POLLERA, C.; PERRINI, C.; CREMONESI, F. Platelet concentrate in bovine reproduction: Effects on in vitro embryo production and after intrauterine administration in repeat breeder cows. **Reproduction Biology Endocrinology**, v. 13, p.65. 2015.

LAVON, Y.; LEITNER, G.; GOSHEN, T.; BRAW-TAL, R.; JACOBY, S.; WOLFENSON, D. Exposure to endotoxin during estrus alters the timing of ovulation and hormonal concentrations in cows. **Theriogenology**, Stoneham, v.70, n.6, p.956-967, 2008.

LeBLANC, J.S. Postpartum uterine disease and dairy herd reproductive performance: A review. **The Veterinary Journal**, v.176, p.102-114, 2008.

LEBLANC, S.J. et al. Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 9, p. 2223-2236, 2002.

LEBLANC, S.J. Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period. **Journal of Reproduction and Development**, Suppl. v. 56, p.S29-S35. 2010.

LEWIS, G.S. Steroidal regulation of uterine immune defenses. **Animal Reproduction Science**, v.82/83, p.281-294. 2004.

LEWIS, G.S. Steroidal regulation of uterine resistance to bacterial infection in livestock. **Reproduction Biology Endocrinology**, v.1, p.1-8, 2003.

LEWIS, G.S. Uterine health disorders. **Journal Dairy Science**, v.80, p.984-994. 1997.

LÓPEZ, C.; GIRALDO, C.E.; CARMONA, J.U. Evaluación de un método de doble centrifugación en tubo para concentrar plaquetas bovinas: estudio celular. **Archives Medicine Veterinary**, v. 44, p.109-115, 2012.

MARINI, M.G., C. PERRINI, P. ESPOSTI, B. CORRADETTI, D. BIZZARO, P. RICCABONI, E. FANTINATO, G. URBANI, G. GELATI, F. CREMONESI, AND A. LANGE-CONSIGLIO. Effects of platelet-rich plasma in a model of bovine endometrial inflammation in vitro. **Reproduction Biology Endocrinology**, v14, p.58, 2016.

MARTINS, T.M.; BORGES, A.M. Avaliação uterina em vacas durante o puerpério. **Revista Brasileira de Reprodução Animal, Belo Horizonte**, v. 35, n. 4, p. 433-443, 2011.

MATEUS, L.; COSTA, L.L.; BERNARDO, F.; SILVA, J.R. Influence of puerperal uterine infection on uterine involution and postpartum ovarian activity in dairy cows. **Reproduction of Domestic Animals**, v. 37, p. 31-35, 2002.

MC CARREL, T.; FORTIER, L. Temporal growth factor release from platelet-rich plasma, trehalose lyophilized platelets, and bone marrow aspirate and their effect on tendon and ligament gene expression. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 27, p. 1033-1042, 2009.

MEIRA JR., E.B.S. **Estudo comparativo entre tratamentos para as endometrites dos graus II e III em bovinos**, 2014, 101 f, Tese (Doutorado, em Medicina Veterinária e Zootecnia) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

MILLER, H.V.; KIMSEY, P.B.; KENDRICK, J.W.; DARIEN, B.; DOERING, L.; FRANTI, C. et al. Endometritis of dairy cattle: diagnosis, treatment and fertility. **Bovine Practice**, v. 5, p.13-23, 1980.

NOAKES, D.E.; PARKINSON, T.J.; ENGLAND, G.C.W. The puerperium and the care of the newborn. **In:** D. E. Noakes, T. J. Parkinson & G. C. W. England, *Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics*, 8<sup>a</sup> ed., p 189-202. China: W. B.Saunders. 2001a.

POTTER, T.J. et al. Risk factors for clinical endometritis in postpartum dairy cattle. *Theriogenology*, v. 74, p. 127-134, 2010.

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

REDLER, L. H.; THOMPSON, S.A.; S. H. HSU, S.H.; AHMAD, C.S.; LEVINE, W.N. Platelet-rich plasma therapy: A systematic literature review and evidence for clinical use. *The Physician and Sportsmedicine*, v. 39, p. 42–51. 2011.

REGHINI, M.F.S.; RAMIRES NETO, C.; SEGABINAZZI, L.G.; CASTRO CHAVES, M.M.B.; DELL'AQUA, C.P.F.; BUSSIERE, M.C.C.; DELL'AQUA JUNIOR., J.A.; PAPA, F.O.; ALVARENGA, M.A. Inflammatory response in chronic degenerative endometritis mares treated with platelet-rich plasma. *Theriogenology*, v. 86, p. 516-522, 2016.

ROCHA, A.A.; GAMBARINI, M.L.; ANDRADE, M.A.; FILHO, B.D. O; GOMES, F.A. Microbiota cérvico-vaginal durante o final de gestação e puerpério em vacas Girolando. *Ciência Animal Brasileira*, v.5, p.215-220, 2004.

SANTOS, T.M.A, CAIXETA, L.S, MACHADO, V.S, RAUF, A.K, GILBERT, R.O, BICALHO, R.C – Association between virulence factors of *Escherichia coli*, *Fusobacterium necrophorum*, and *Arcanobacterium pyogenes* and uterine diseases of dairy cows – *Veterinary Microbiology*, v. 157, p. 125–131, 2012.

SANTOS, T.M.A.; CAIXETA, L.S.; MACHADO, V.S.; RAUF, A.K.; GILBERT, R.O.; BICALHO, R.C. Antimicrobial resistance and presence of virulence factor genes in *Arcanobacterium pyogenes* isolated from the uterus of postpartum dairy cows. *Veterinary Microbiology*, v. 145, p. 84-89, 2010.

SCROLLAVEZZA, P., ABLONDI, M., POGLIACOMI, B., GUARESCHI, D., DALL'AGLIO, R., POLDI, R., PEZZOLI, G. Ozone treatment in mastites, metritis and retention of fetal membranes in the cows. **In:** Atti Intern. Symp. Ozone Application, Havana, Cuba. 1997.

SEALS, R.C.; MATAMOROS, I.; LEWIS, G.S. Relationship between postpartum changes in 13, 14-dihydro-15-keto-PGF<sub>2</sub> concentrations in Holstein cows and their susceptibility to endometritis. **Journal Animal Science**, v.80, p.1068-1073. 2002.

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

SHELDON, I. M.; DOBSON, H. Postpartum uterine health in cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 82-83, p. 295-306. 2004.

SHELDON, I.M. Endometritis in cattle: pathogenesis, consequences for fertility, diagnosis and therapeutic recommendations. **Partners Reproduction**, v.2, p.1-5, 2007.

SHELDON, I.M.; LEWIS, G.S.; LeBLANC, S.; GILBERT, R.O. Defining postpartum uterine disease in dairy cattle. **Theriogenology**, v.65, p.1516-1530, 2006.

SHELDON, M.; WILLIAMS, E.J.; MILLER, A.; NASH, D.M.; HERATH, S. Uterine Disease in Cattle after parturition. **The Veterinary Journal**, v. 176, p. 115-121. 2008.

SPICER, L.J.; ALPIZAR, E. Effects of cytokines on FSH-induced estradiol 482 production by bovine granulosa cells in vitro: Dependence on size of follicle. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 11, p. 24-34. 1994.

SUZUKI, C.; YOSHIOKA, K.; IWAMURA, S.; HIROSE, H. Endotoxin induces delayed ovulation following endocrine aberration during the proestrous phase in Holstein heifers. **Domestic Animal Endocrinology**, v.20, n.4, p.267-278, 2001.

URMAN, B.; A. BOZA, A.; BALABAN, B. Platelet-rich plasma another add-on treatment getting out of hand? How can clinicians preserve the best interest of their patients? **Human Reproduction**, v. 34, p. 2099–2103. 2019.

VAN BUUL, G.M.; KOEVOET, W.L.; KOPS, N.; BOS, P.K.; VERHAAR, J.A.; WEINANS, H.; BERNSEN, M.R.; VAN OSCH, G.J. Platelet-rich plasma releasate inhibits inflammatory processes in osteoarthritic chondrocytes. **American Journal Sports Medicine**, v. 39, p. 2362-2370, 2011.

VANDERWALL, D.K.; WOODS, G.L. Effect on fertility of uterine lavage performed immediately prior to insemination in mares. **Journal American Veterinary Medicine Association**, v. 222, p. 1108-1119, 2003.

VENDRAMIN, F.S.; FRANCO, D.; NOGUEIRA, C.M.; PEREIRA, M.S.; FRANCO, T.R. Plasma rico em plaquetas e fatores de crescimento: técnica de obtenção e utilização em cirurgia plástica. **Revista do Colégio Brasileiro**, cir. 33, p. 24-28, 2006.

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