

LEONARDO JOSÉ CAMPOS JÚNIOR

**TRATAMENTOS ALTERNATIVOS AOS CONVENCIONAIS COM SOLUÇÃO
FISIOLÓGICA OZONIZADA EM FÊMEAS BOVINAS LACTANTES COM
ENDOMETRITE CLÍNICA PUERPERAL**

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
Victor Henrique Gomez-Leon

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2023**

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

T

C198t
2023
Campos Júnior, Leonardo José, 1998-
Tratamentos alternativos aos convencionais com solução
fisiológica ozonizada em fêmeas bovinas lactantes com
endometrite clínica puerperal / Leonardo José Campos Júnior. –
Viçosa, MG, 2023.
1 dissertação eletrônica (43 f.): il.

Orientador: José Domingos Guimarães.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Veterinária, 2023.
Inclui bibliografia.
DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2023.329>
Modo de acesso: World Wide Web.

1. Bovinos de leite. 2. Endometrite. 3. Ozonioterapia.
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. 636.0898142


LEONARDO JOSÉ CAMPOS JÚNIOR

**TRATAMENTOS ALTERNATIVOS AOS CONVENCIONAIS COM SOLUÇÃO
FISIOLÓGICA OZONIZADA EM FÊMEAS BOVINAS LACTANTES COM
ENDOMETRITE CLÍNICA PUERPERAL**


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: 27 de fevereiro de 2023.

Assentimento:

Documento assinado digitalmente
 LEONARDO JOSE CAMPOS JUNIOR
Data: 26/05/2023 20:55:43-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Leonardo José Campos Júnior
Autor

Documento assinado digitalmente
 JOSE DOMINGOS GUIMARAES
Data: 26/05/2023 21:40:36-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

José Domingos Guimarães
Orientador

*Dedico a todos que de alguma forma, pude
colaborar na transformação de suas vidas.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, Jesus Cristo e Nossa Senhora Aparecida, que nos dias de escuridão clarearam meu caminho, na incerteza apresentaram certezas, nas dificuldades restabeleceram às forças, na angústia trouxeram paz e quando mais precisei, me mostraram o melhor caminho a seguir.

Aos meus pais Danielle e Leonardo, que sempre acreditaram no meu sonho e na minha competência.

Ao meu avô Paulo (*in memoriam*), que foi o homem mais importante da minha vida.

Aos meus irmãos Maria Júlia e Gabriel.

A minha noiva Lara, que me deu forças, apoio e sempre acreditou no meu potencial, tornando toda caminhada iluminada e me apresentando o propósito de tudo, quando chegou na minha vida.

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realizar a graduação e pós-graduação com maestria; obtendo o privilégio de levar o brasão da instituição pela vida profissional.

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

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).

Ao Departamento de Medicina Veterinária da UFV.

Ao meu orientador José Domingos, que além dos conselhos e aprendizados técnicos se tornou uma grande referência dentro e fora da instituição.

A agropecuária CFM, pelos 4 anos de treinamento que hoje me tornaram mais criterioso, técnico e responsável.

Ao Sr. Antônio Maria, Sr. Paulo Cupertino e Sr. José Afonso, por aceitarem a proposta de trabalho em seu seletor rebanho produtivo.

Ao Médico Veterinário do Programa de Desenvolvimento da Pecuária Leiteira – PDPL Marcus Vinicius, pela confiança, credibilidade e parceria na execução do projeto.

Aos graduandos e pós-graduandos que estiveram comigo na realização do projeto, nas descontrações do dia a dia e nas viagens de rotina do laboratório.

Agradeço a todos outros familiares, amigos e colegas, que de alguma forma colaboraram na jornada.

Muito Obrigado!

*“Concentre-se nos pontos fortes,
reconheça as fraquezas, agarre
as oportunidades e proteja-se
contra as ameaças”*

Sun Tzu

RESUMO

CAMPOS Jr, Leonardo José, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2023. **Tratamentos Alternativos aos Convencionais com Solução Fisiológica Ozonizada em Fêmeas Bovinas Lactantes com Endometrite Clínica Puerperal.** Orientador: José Domingos Guimarães. Coorientadores: Victor Henrique Gomez-Leon e Bruna Waddington de Freitas.

A ozonioterapia é uma técnica que se baseia na utilização do ozônio como agente terapêutico, para infecções fúngicas, bacterianas e virais. Levando em consideração animais de produção, a terapêutica enfrenta dois grandes desafios: a resistência a antimicrobianos e o elevado período de carência para os resíduos desses fármacos nos produtos de origem animal. Buscam-se, diante desses obstáculos, tratamentos alternativos, sendo um deles a solução fisiológica ozonizada. No presente estudo, foram randomizados 67 animais, de 3 fazendas distintas, positivos para endometrite, em 5 grupos: Tratados com lavado uterino com solução fisiológica a 0,9 % NaCl (SF; n=15), tratados com lavado uterino com solução fisiológica ozonizada (SFOz; n=13), tratados com lavado uterino com solução fisiológica ozonizada e infusão uterina de cloridrato de oxitetraciclina (SFOz+ATBi; n=13), tratados com lavado uterino com solução fisiológica e infusão uterina de cloridrato de oxitetraciclina (SF+ATBi; n=13) e, por fim, tratados exclusivamente infusão uterina de cloridrato de oxitetraciclina (ATBi; n=13). Imediatamente após o tratamento, as vacas foram submetidas ao protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF). O tratamento com SFOz e SFOz+ATBi não apresentou diferenças ($P>0,05$) em relação à taxa de concepção e a taxa de animais curados, quando comparados com os outros tratamentos convencionais; já a SF se mostrou menos eficaz em relação a taxa de animais recuperados, quando comparado com o ATBi ($P<0,05$). Já a taxa de concepção ao final das 3 inseminações consecutivas ao tratamento foi diferente ($P<0,05$), onde a fazenda B foi mais eficiente que a fazenda A e C. Já na cura clínica final, foi mais eficiente na fazenda A e B em relação a fazenda C. Houve correlação quanto à classificação ultrassonográfica em cruces com o padrão ouro de diagnóstico, a percentagem de polimorfonucleares no exame citológico do útero ($r=0,50$). Em conclusão, o tratamento com solução fisiológica ozonizada se apresentou como uma boa alternativa ao tratamento para endometrite, mostrando eficácia semelhante aos tratamentos convencionais, podendo ser empregado em substituição aos antibióticos. Entretanto, o uso da solução fisiológica não associada ao uso de antibióticos ou soluções oxidativas pode apresentar baixa eficácia no tratamento de endometrite. Além disso, o manejo no qual os rebanhos são submetidos influência de forma significativa na resposta ao tratamento.

Palavras-chave: Bovinocultura de leite. Metrite. Ozonioterapia.

ABSTRACT

CAMPOS Jr, Leonardo José, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February 2023. **Alternative treatments to conventional ones with ozonized physiological solution in lactating bovine females with clinical puerperal endometritis.** Advisor: José Domingos Guimarães. Co-advisors: Victor Henrique Gomez-Leon and Bruna Waddington de Freitas.

Ozone therapy is a technique based on the use of ozone as a therapeutic agent for fungal, bacterial and viral infections. Taking into account production animals, therapy faces two major challenges: resistance to antimicrobials and the long withdrawal period for residues of these drugs in products of animal origin. Faced with these obstacles, alternative treatments are sought, one of which is the ozonated saline solution. In the present study, 67 animals, from 3 different farms, positive for endometritis, were randomized into 5 groups: Treated with uterine lavage with 0.9% NaCl saline solution (SF; n=15), treated with uterine lavage with saline solution ozonized (SFOz; n=13), treated with uterine lavage with ozonized saline solution and uterine infusion of oxytetracycline hydrochloride (SFOz+ATBi; n=13), treated with uterine lavage with saline solution and uterine infusion of oxytetracycline hydrochloride (SF +ATBi; n=13) and, finally, treated exclusively with uterine infusion of oxytetracycline hydrochloride (ATBi; n=13). Immediately after treatment, the cows were submitted to the fixed-time artificial insemination (FTAI) protocol. The treatment with SFOz and SFOz+ATBi did not show differences ($P>0.05$) in relation to the conception rate and the rate of cured animals, when compared with the other conventional treatments; SF, on the other hand, was less effective in relation to the rate of recovered animals, when compared to ATBi ($P<0.05$). The conception rate at the end of the 3 consecutive inseminations to the treatment was different ($P<0.05$), where farm B was more efficient than farm A and C. As for the final clinical cure, it was more efficient in farm A and B in relation to farm C. There was a correlation regarding the ultrasonographic classification in crosses with the diagnostic gold standard, the percentage of polymorphonuclear cells in the cytological examination of the uterus ($r=0.50$). In conclusion, treatment with ozonated saline solution was a good alternative to treatment for endometritis, showing similar efficacy to conventional treatments, and can be used instead of antibiotics. However, the use of saline solution not associated with the use of antibiotics or oxidative solutions may have low efficacy in the treatment of endometritis. In addition, the management in which the herds are submitted significantly influences the response to treatment.

Keywords: Dairy cattle. Metritis. Ozone therapy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema do protocolo de Inseminação Artificial em Tempo Fixo.....	26
--	----

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Número animais e taxa de concepção acumulada* nas três inseminações artificiais subsequentes à diferentes tratamentos de endometrite em vacas da raça Holandesa-PB, no pós-parto, em manejo de *Compost barn*..... 27
- Tabela 2 - Número de prenhez, total e percentual de animais curados de endometrites após diferentes tratamentos em vacas da raça Holandesa-PB, no pós-parto, em manejo de *Compost barn*..... 27
- Tabela 3 - Número de animais e eficiência dos diferentes tratamentos de endometrites, referentes aos dias em lactação (DEL), em vacas da raça Holandesa-PB, no pós-parto, criadas em manejo de *Compost barn* 28
- Tabela 4 - Número animais, percentual médio e desvio-padrão de polimorfonucleares em vacas da raça Holandesa-PB, no pós-parto, com endometrites, criadas em manejo de *Compost barn* 29
- Tabela 5 - Número animais tratados, gestantes e total curados e gestantes após a 1ª IA, em vacas da raça Holandesa-PB, no pós-parto, criadas em manejo de *Compost barn*, submetidas a diferentes tratamentos de endometritis 30
- Tabela 6 - Número animais tratados, gestantes nas três primeiras inseminações pós-tratamento, total de gestação e taxa de concepção em vacas da raça Holandesa-PB, no pós-parto, criadas em manejo de *Compost barn*, submetidas a diferentes tratamentos de endometritis 30

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1. Fisiologia reprodutiva de fêmeas bovinas.....	13
2.2. Infecções uterinas no puerpério	17
2.3. Diagnóstico	18
2.4. Tratamentos.....	20
2.5. Ozonioterapia.....	21
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	22
3.1. Ética	22
3.2. Animais	22
3.3. Histórico	22
3.4. Delineamento experimental	23
3.5. Avaliação Ultrassonográfica	23
3.6. Citologia Uterina	24
3.7. Parâmetros físicos do exsudato intrauterino.....	24
3.8. Tratamentos.....	25
3.9. Inseminação artificial em tempo fico – IATF.....	26
3.10. Análises estatísticas.....	26
4. RESULTADOS.....	26
4.1. Eficácia dos tratamentos	26
4.2. Métodos de diagnóstico	28
4.3. Efeito “FAZENDA”	29
5. DISCUSSÃO	30
5.1. Tratamentos e cura clínica.....	30
5.2. Comprovação dos métodos de diagnóstico.....	32
5.3. O efeito “FAZENDA” na cura clínica e taxa de concepção	33
6. CONCLUSÃO.....	34
7. REFERÊNCIAS	34

1. INTRODUÇÃO

O puerpério de fêmeas bovinas é marcado pela ocorrência de diversas doenças que atingem os rebanhos com alta frequência, com destaque para as infecções uterinas. Gastos elevados com tratamento, diminuição de consumo de matéria seca, atraso na involução uterina, diminuição produção de leite e, em alguns relatos, subsequentes casos de subfertilidade são algumas das perdas observadas nessas ocasiões.

A capacidade de uma vaca permanecer em um rebanho por mais tempo está associada aos eventos que podem ocorrer durante o período pós-parto. Nesse contexto, o resultado reprodutivo mais efetivo em uma fazenda consiste na capacidade das fêmeas bovinas em produzir um bezerro por ano, aumentando, dessa forma, a produtividade no período em lactação, bem como o número de bezerros nascidos por ano no rebanho. Entretanto, para que essa meta seja alcançada, é necessário o rápido retorno à ciclicidade após o parto, favorecendo a concepção até os 90 dias pós-parto, obtendo, assim, intervalo de partos de 12 meses (Marques Júnior, 1993; Horta, 1995; Kask et al., 2003).

Dentre as principais enfermidades reprodutivas que acometem as fêmeas bovinas, as infecções uterinas se destacam em função de sua grande incidência, principalmente no que concerne aos rebanhos leiteiros (Fernandes, 2001). A infecção uterina não se restringe, unicamente, aos danos diretos da patologia no órgão genital, permanecendo, além disso, associada aos gastos elevados com tratamento, à diminuição no consumo de matéria seca, ao atraso na involução uterina, à diminuição da produção de leite e, em alguns relatos, aos subsequentes casos de subfertilidade (Lewis, 1997; Bell e Roberts, 2007; Sheldon, 2007; Martins et al., 2010).

As infecções uterinas podem ser classificadas levando em consideração o grau de comprometimento tecidual acometido do animal sendo: endometrite, miometrite, panmetrite e parametrite, referindo-se, respectivamente, à inflamação do endométrio, do miométrio, do perimétrio e dos tecidos adjacentes ao útero, tais como os tecidos de sustentação (Jones, 2000).

A incidência de endometrite e metrite em rebanhos bovinos varia, de maneira significativa, de acordo com o sistema de produção e fase de produção mediante aos quais o animal está submetido. Martins (2010) verifica a incidência de 64 % de endometrite e metrite em sistema de produção leiteira no qual vacas da raça Holandesa eram mantidas confinadas em estrutura de *free-stall*, em período de até 42 dias pós-parto.

Hodiernamente, o plano terapêutico convencional mais empregado nos tratamentos para endometrite e metrite consiste no uso de antibióticos, administrado por via parenteral e/ou por

infusões uterinas. A pauta de discussão científica a respeito desse tipo de tratamento, por sua vez, consiste, principalmente, na questão econômica atrelada ao descarte do leite, bem como no período de carência do abate em relação aos resíduos para o consumo humano dos produtos de origem animal. É válido ressaltar, além da questão econômica levantada, a problemática envolvendo a grande variação da sensibilidade dos microrganismos às diferentes drogas utilizadas (Norell e Packham, 1992), sendo um fator de grande relevância no estabelecimento ou não dessa conduta de tratamento. Dessa forma, o uso de métodos alternativos frente à utilização indiscriminada de antibióticos torna-se, por conseguinte, um fator positivo para modernização da pecuária (Fernandes, 2001).

A ozonioterapia, técnica que utiliza o ozônio como agente terapêutico para diversas patologias (Bocci, 1998), vem sendo cada vez mais estudada em diversas vias de aplicação e finalidades distintas como tratamentos alternativos, como por exemplo, para o tratamento de infecções fúngicas, bacterianas e virais (Guerra et al., 1999). Por meio do ozônio terapêutico, Quintana et al. (2019) obtiveram resultados positivos com uso de óleo ozonizado nos tratamentos para mastite subclínica em fêmeas bovinas, causada por *Staphylococcus aureus*. Imhof et al. (2019) verificaram diminuição do período em serviços e conseqüentemente do intervalo de partos, quando utilizou a espuma de ozônio intrauterina versus bolus intrauterino de oxitetraciclina para o tratamento de retenção de placenta.

Diante do exposto, o presente estudo teve como objetivo, identificar vacas com endometrite clínica por meio da classificação baseada em Sheldon et al. (2006) e avaliações complementares, como a dos parâmetros físicos do conteúdo intrauterino, avaliações ultrassonográficas e citologia uterina; testar protocolo alternativo para tratamento de endometrites em vacas no período puerperal; avaliar o tratamento de solução fisiológica ozonizada para casos de endometrite clínica; avaliar a eficácia dos tratamentos empregados sobre a taxa de concepção na 1ª inseminação até a terceira inseminação pós tratamento; verificar a acurácia no diagnóstico de endometrite por diferentes protocolos empregados; avaliar o efeito fazenda/manejo sobre a eficácia do tratamento.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Fisiologia reprodutiva de fêmeas bovinas

A fisiologia da fêmea está relacionada com vários eventos, incluindo a produção de oócitos, comportamento sexual e ovulação, os quais são diretamente influenciados pelo ciclo

estral do animal. Esse ciclo é regulado por hormônios que controlam a ovulação, gestação e fecundação, como o GnRH produzido no hipotálamo, FSH e LH produzidos na hipófise anterior, estradiol e progesterona produzidos nos ovários e prostaglandinaF2 α produzida no útero (González, 2002).

Durante o período fetal, a partir do terço inicial da gestação, inicia-se a multiplicação das células germinativas nas fêmeas, resultando na formação dos folículos ovarianos e dos oócitos. Esse processo cessa antes do nascimento, de modo que, ao nascer, o ovário já contém um número definido de folículos capazes de chegar à ovulação. Durante a vida fetal e pré-púbere, os oócitos permanecem parados (fase de repouso) e só voltam a se desenvolver na puberdade. Na fase adulta, o desenvolvimento dos folículos até a ovulação é controlado por vários hormônios (Niciura, 2008).

Durante cada ciclo estral, podem ocorrer três ondas de crescimento folicular, com a primeira detectada no dia 0, a segunda até o dia 10 e a terceira até o dia 17. Em cada onda, de 10 a 50 folículos são recrutados para crescerem, mas apenas um é selecionado e ovulado. Esse folículo dominante, presente no ovário na última onda do ciclo estral, é responsável por ovular e impedir a ovulação dos outros folículos subordinados que entram em atresia. Após a ovulação, as células do folículo passam por uma luteinização e formam o corpo lúteo (Niciura, 2008).

Os ovários possuem outra função, que é a produção de hormônios esteroides, como o estradiol e a progesterona. O estradiol é produzido pelas células dos folículos ovarianos e causa impacto no Sistema Nervoso Central (SNC), induzindo o comportamento de cio na fêmea. Ele também é responsável por aumentar a massa do endométrio e provocar a contratilidade muscular no útero. Além disso, o estradiol estimula o desenvolvimento das características sexuais secundárias e da glândula mamária, regulando ainda a liberação do FSH e LH. A progesterona é produzida pelas células luteínicas do corpo lúteo e atua no endométrio, garantindo a implantação do embrião, mantendo a gestação e contribuindo para o desenvolvimento da glândula mamária. Altas concentrações de progesterona têm o efeito de inibir o cio e a onda pré-ovulatória de LH (Niciura, 2008).

Durante o ciclo estral, a liberação do GnRH desencadeia a produção e liberação de FSH e LH, que atuam nos ovários. O FSH é responsável pelo recrutamento folicular e estimula o crescimento inicial dos folículos ovarianos, enquanto o LH é responsável pelo crescimento final do folículo dominante, ovulação e formação do corpo lúteo (luteinização) (Soares e Junqueira, 2018). Sob estímulo do FSH e do LH, ocorre a produção e liberação de estradiol pelo folículo ovariano e, após a ovulação, o LH induz a luteinização das células da granulosa e teca e a secreção de progesterona pelo corpo lúteo. O estradiol inibe a secreção de FSH e estimula a de

LH, que aumenta significativamente 3 dias antes da ovulação. Em contrapartida, a progesterona inibe a liberação de LH e mantém a gestação (Cerezetti et al., 2019). Assim, os ciclos estrais podem ser divididos em fase estrogênica e luteínica. Durante a fase estrogênica, ocorre o desenvolvimento do folículo que resultará na ovulação. Essa fase se divide em proestro e estro, sendo caracterizada pelo predomínio do estrógeno (Santos et al., 2012). Já a fase luteínica é marcada pelo desenvolvimento do corpo lúteo, que é responsável pela produção de progesterona. Nessa fase, acontecem o metaestro e diestro. Durante o metaestro e diestro, há um aumento na produção de progesterona, enquanto no proestro e estro, há uma queda na sua produção. O período entre o parto e o ressurgimento do estro é chamado de anestro, no qual não há manifestação do ciclo estral (Hafez, 2004).

O ápice pré-ovulatório do LH acontece nas primeiras seis horas após a aceitação da primeira monta, e a ovulação ocorre cerca de 20 horas depois do pico de LH. Portanto, em média, a ovulação ocorre 27 ± 5 horas após o início do cio. Após a ovulação, as células do folículo ovariano que liberou o oócito sofrem luteinização, dando origem ao corpo lúteo que começa a secretar progesterona na fase luteínica. A secreção de progesterona é mantida até a fase de reconhecimento materno da gestação. Se houver gestação positiva, com a presença de concepto no interior do útero, o corpo lúteo continua a sintetizar progesterona, função que é posteriormente realizada pela placenta. Por outro lado, na ausência de gestação, ocorre a lise do corpo lúteo (luteólise), devido à ação da $PGF2\alpha$ produzida no endométrio. Isso interrompe a síntese de progesterona, e novo ciclo estral tem início (Niciura, 2008).

O ciclo estral em bovinos é dividido em quatro fases: proestro, estro, metaestro e diestro. A duração do ciclo estral é medida a partir do intervalo entre dois cios, que é, em média, de 21 dias, mas pode variar de 17 a 24 dias. Como a vaca é uma fêmea poliéstrica não estacional ou poliéstrica contínua anual, o cio ocorre em intervalos regulares durante todo o ano, independentemente da estação do ano ou da luminosidade (Niciura, 2008).

Durante o proestro, que é o período compreendido entre a luteólise e a primeira aceitação de monta, ocorre o crescimento folicular (fase folicular) e aumento da atividade dos órgãos reprodutivos. Nessa fase, ocorre o crescimento folicular final, a regressão do corpo lúteo do ciclo estral anterior e aumento do útero e da atividade secretória das glândulas endometriais. A mucosa vaginal torna-se hiperêmica (avermelhada), assim como a vulva, que também fica edemaciada, hiperêmica e úmida. A fêmea apresenta alguns sintomas, como inquietação, cauda erguida, micção constante, eliminação de muco cristalino e transparente pela vulva e perda de apetite (Niciura, 2008; Soares e Junqueira, 2018).

Durante a fase de estro, as fêmeas bovinas apresentam manifestações comportamentais características, incluindo imobilidade durante a monta, comportamento homossexual, descarga de muco vaginal, mugidos frequentes, intensa movimentação e aumento na frequência de micção, entre outras. Por muito tempo, essas características foram e ainda são utilizadas para a detecção convencional do estro (Baruselli et al., 2007). No entanto, as manifestações do estro são influenciadas por diversos fatores, incluindo idade (De Silva et al., 1981), produção de leite (Van Vliet e Van Eerdenburg, 1996), condições ambientais (White et al., 2002) e fatores sociais, como hierarquia (Landaeta-Hernández et al., 2004).

O metaestro é considerado uma fase progestacional, marcada pelo aumento dos níveis de progesterona e pela presença do corpo lúteo hemorrágico. Nessa fase, o miométrio passa por um relaxamento progressivo, o que faz com que o útero que estava firme comece a relaxar. É possível encontrar uma secreção pálida, escassa e espessa, enquanto a vulva não apresenta mais edema e a vaca rejeita a monta. É comum ocorrer sangramento nessa fase. É importante ressaltar que o metaestro é a fase em que ocorre a ovulação (Colazo e Mapletoft, 2017).

O diestro é a fase mais extensa do ciclo estral, durando cerca de 10 a 13 dias. Durante essa fase, há um predomínio da progesterona e a presença do corpo lúteo maduro. O miométrio passa por um relaxamento, enquanto as ondas foliculares continuam a crescer. A cérvix encontra-se fechada, e a vagina apresenta uma secreção escassa e espessa, com coloração pálida. A vulva não apresenta edema nessa fase (Silva, 2021).

Em caso de estabelecimento de gestação, a produção de progesterona é mantida, inicialmente pelo corpo lúteo e depois pela placenta, e não ocorrerá o início de novo ciclo estral. No final da gestação, a concentração de gonadotrofinas diminui devido à retroalimentação negativa intensa da progesterona e do estrógeno. Após o parto, as concentrações de FSH aumentam, levando à emergência da primeira onda de crescimento folicular dentro de 2 a 7 dias após o parto (Wiltbank et al., 2002). No entanto, para que ocorra a ovulação do folículo dominante, é necessário que a frequência dos pulsos de LH atinja aproximadamente um pulso por hora (Bó et al., 2003). A ausência ou inadequação na pulsatilidade de LH impede que essas estruturas se desenvolvam para além do diâmetro da divergência folicular. Após o parto, o período necessário para que o útero volte ao tamanho e ao estado fisiológico normal (invólucção uterina), permitindo o estabelecimento de nova gestação, é de 18 a 25 dias (Rhodes et al., 2003; Niciura, 2008).

2.2. Infecções uterinas no puerpério

Compreendido entre o parto e o primeiro estro fértil pós-parto, o puerpério é dividido em três fases: puerpério precoce, intermediário e fase pós-ovulatória. Na primeira fase, a hipófise encontra-se refratária ao hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), devido à elevada concentração de progesterona no sangue; possuindo como intervalo o período compreendido entre o primeiro dia ao 14º dia após o parto. Já na segunda fase, a hipófise encontra-se responsiva ao GnRH até a ocorrência da primeira ovulação, que ocorre de 12 a 16 h após o término do estro. A terceira fase, por sua vez, compreende o período desde a primeira ovulação até a involução uterina completa, sendo que sua duração é dependente das condições fisiológicas da vaca após o parto (Olson et al., 1986; Marques Júnior, 1993; Horta, 1995).

No puerpério, diversos fatores favorecem o aparecimento de infecções, tais como: má higiene; nutrição inadequada; e complicações do parto, como a retenção de placenta, distocias, prolapso uterino e até mesmo algumas lesões traumáticas que afetam diretamente o mecanismo de defesa do animal. Além disso, naturalmente, as barreiras físicas, como a vulva e cérvix, estão rompidas, facilitando também a instalação de infecções uterinas (Olson et al., 1986).

Existem vários tipos de infecções uterinas que podem ocorrer durante o puerpério de vacas. Alguns dos tipos mais comuns incluem: metrite puerperal aguda, uma infecção bacteriana aguda que ocorre geralmente nos primeiros dias após o parto; e piometra, uma infecção crônica do útero que é caracterizada pela presença de pus; e endometrite, uma inflamação do endométrio, que é a camada interna do útero, muitas vezes causada por infecção bacteriana (Correa, 2023). Esta última, pode ser causada por microrganismos inespecíficos naturalmente presentes no meio ambiente, tais como *A. pyogenes*, *E. coli*, *Haemophilus somnus*, *Pasteurella sp.*, *Flavobacterium sp.*, *Streptococcus sp.*, *Enterobacter sp.*, *Bacillus cereus*, *Citrobacter sp.*, *Trueperella pyogenes* e *Bacteroides melaninogenicus*.

Gilbert et al. (2005) por meio do método de citologia uterina para diagnóstico, verificaram a prevalência de endometrite clínica de 53 % nos rebanhos leiteiros dos Estados Unidos. Já Quintela et al. (2010) utilizando métodos de citologia uterina e ultrassonografia, verificaram incidência da endometrite de 45,7 % na Espanha. Segundo Baranski et al. (2012) alguns animais podem manifestar baixa resposta inflamatória, com ausência de sinais clínicos da endometrite. Desta forma, a apresentação da doença é denominada endometrite inaparente ou subclínica, sem a ocorrência de secreção purulenta, sendo necessária a utilização de métodos diagnósticos complementares, como a ultrassonografia, biópsia uterina e exame citológico (Thomé et al., 2013).

2.3. Diagnóstico

Levando em consideração que o diagnóstico e tratamento da endometrite possui características rebanho-específicas, a eficácia no contexto diagnóstico e tratamento estará diretamente relacionada ao método diagnóstico utilizado, à prevalência da doença na fazenda e aos métodos de tratamento (LeBLANC, 2008). Todavia, visando rápida recuperação do animal acometido, o método diagnóstico se torna de suma importância, dessa forma identificando a presença de infecção uterina e direcionando um tratamento adequado (Sheldon, 2004).

O diagnóstico definitivo da endometrite é feito a partir do exame histopatológico do útero, por meio de uma biópsia uterina, predizendo a fertilidade subsequente do animal (Bonnet et al., 1993). Entretanto, devido ao fato da biópsia uterina ser um procedimento invasivo que pode causar desconforto e dor nos animais, podendo levar a reações adversas, raramente é executada na prática com bovinos.

No que se refere à metrite ou endometrite clínica puerperal, a avaliação do órgão genital externo, palpação retal, vaginoscopia ou ultrassonografia são úteis para o diagnóstico das doenças uterinas. Na palpação retal, é possível avaliar a consistência, o tamanho e a posição dos órgãos reprodutivos e identificar alterações como a presença de fluidos anormais, tecido de cicatrização e outras alterações na estrutura do útero. A vaginoscopia é uma técnica usada para avaliar os órgãos reprodutivos das vacas (Domingos, 2009). Em vacas com endometrite, a vaginoscopia pode ser usada para avaliar a presença de descarga vaginal purulenta, bem como observar possíveis lesões ou inflamações no útero e outras partes dos órgãos reprodutivos. Por sua vez, na ultrassonografia, é possível avaliar a presença de inflamação, excesso de fluidos, tecido de cicatrização, e a estrutura e função do útero e ovários (Barlund et al., 2008).

A presença de fluido intrauterino em vacas com endometrite pode ser causada por uma resposta inflamatória do útero, que leva a um acúmulo de fluido como parte do processo inflamatório. O fluido pode conter células inflamatórias, proteínas e bactérias, que contribuem para a inflamação e a infecção uterina. Além disso, outras condições, como retenção de placenta ou outras infecções uterinas, também podem contribuir para a presença de fluido intrauterino em vacas com endometrite. No entanto, é importante ressaltar que nem todas as vacas com endometrite apresentam fluido intrauterino e que a avaliação diagnóstica deve ser realizada de forma individualizada (Kasimanickan et al., 2004; Meira Jr, 2014).

Kasimanickan et al. (2004) compararam a palpação retal, ultrassonografia e citologia uterina (padrão ouro) como métodos de diagnóstico em 228 vacas e concluíram que o diagnóstico baseado exclusivamente na palpação retal foi subjetivo, mas quando comparou com

a avaliação ultrassonográfica ou citologia uterina obteve alta correlação. Já Mateus et al. (2002) verificaram que a detecção de fluido intrauterino pela ultrassonografia correlacionou com a existência de crescimento bacteriano. Todavia, a citologia endometrial e a avaliação ultrassonográfica se mostraram de baixa correlação, isso porque os dois métodos avaliam diferentes parâmetros, onde o primeiro avalia a resposta de defesa celular e o segundo demonstra o próprio mecanismo de defesa do útero. Levando em consideração que a proporção de endometrite não diagnosticada pelo ultrassom pode variar entre 10 e 20 %, dependendo da metodologia utilizada para definir o ponto de corte na contagem de células polimorfonucleares (PMN) no exame citológico (Quintela et al., 2010).

A citologia endometrial é considerada o padrão ouro no diagnóstico das infecções uterinas, isto porque, é possível detectar casos clínicos de endometrite e até mesmo os casos de endometrite subclínica ou citológica (Kasimanickam et al., 2004; Gilbert et al., 2005; Barlund et al., 2008). De acordo com a proporção das células PMN encontradas em uma avaliação citológica, podendo ser obtida de uma vaca saudável, este animal pode apresentar o que chamamos de endometrite citológica ou endometrite subclínica, onde clinicamente não observamos características dedutivas de diagnóstico (Kaufmann et al., 2009).

Ainda assim, existe correlação direta com os aspectos físicos da secreção vaginal em relação aos agentes causadores da endometrite. Exsudado vaginal de aspecto purulento, normalmente está correlacionado a presença dos agentes *Arcanobacterium pyogenes*, *Fusobacterium necrophorum* e *Proteus sp.* (Studer e Morrow, 1978; Willians et al., 2005). Já Willians et al. (2005) constataram que infecções onde estão presentes *A. pyogenes*, *E. coli* e *Manheimia haemolytica*, geralmente possuem características de secreções com odor fétido.

Além dos exames diagnósticos já citados, o diagnóstico da endometrite pode envolver diferentes técnicas, incluindo o Metrichack, a análise de esterase leucocitária e marcadores sanguíneos. O Metrichack é um método de avaliação da consistência e do volume do muco vaginal, que pode indicar o estado de saúde do útero e a presença de infecções uterinas. A análise de esterase leucocitária é uma técnica que avalia a contagem e o tipo de células presentes em amostras uterinas, o que pode indicar a presença de inflamação e/ou infecção uterina. Por sua vez, os marcadores sanguíneos, como a proteína C-reativa (PCR) e as concentrações de diferentes metabólitos no sangue, também podem ser avaliados para detectar a presença de inflamação e estresse metabólico associados à endometrite (Kimura et al., 2002).

2.4. Tratamentos

O tratamento da endometrite, seja ela clínica ou subclínica, parte de princípios que visam fortalecer o sistema de defesa intrauterino e acabar com os agentes patológicos presente, de forma a manter a integridade do tecido endometrial, podendo assim melhorar o reparo tecidual e não ocorrer casos de subfertilidade posteriores (LeBLANC, 2008). Entretanto, a obtenção de prognóstico favorável em vacas de leite depende do estado fisiológico em que o animal se encontra, a sensibilidade dos patógenos aos fármacos utilizados, a disponibilidade desse fármaco no tecido alvo e da quantidade de exsudato intrauterino (Azawi, 2008).

Existem diversos fármacos com diferentes mecanismos de ação que são utilizados no tratamento da endometrite, sendo observado principalmente a prostaglandina $F2\alpha$ ($PGF2\alpha$) e antibióticos, sejam eles de forma parenteral ou local, por meio da infusão uterina, que ainda tem sua eficácia questionada (Azawi, 2008).

Considerando as infecções uterinas, o tratamento mais utilizado é a antibioticoterapia, de acordo com Sheldon e Dobson (2004). Soares (2015) relatou que a oxitetraciclina, um antibiótico do grupo das tetraciclina e atualmente o mais utilizado, apresentou elevada resistência antibacteriana no tratamento de infecções uterinas puerperais. Isso mostra o resultado do uso indiscriminado do fármaco e seus pontos negativos.

Em relação à controvérsia da utilização de fármacos via infusão intrauterina, as justificativas estão embasadas no pH local, na presença de matéria orgânica e principalmente nas possíveis lesões endometriais, pelo fato de alguns veículos desses antibióticos serem altamente irritante, ocasionando inadequada absorção tecidual, bem como o descarte do leite devido aos resíduos de antibiótico. Em contrapartida, a justificativa para utilização local dos antibióticos preza por ação amplificada local, onde é possível obter maiores concentrações e associações medicamentosas (LeBLANC, 2008).

A $PGF2\alpha$ segue o princípio de fortalecimento do sistema de defesa intrauterino, onde é utilizada quando o animal apresenta um Corpo Lúteo (CL) em um dos ovários. Levando em consideração que no período pós-parto o ambiente uterino é favorável ao crescimento bacteriano, e que em condições normais, em poucos dias esses micro-organismos são liberados do útero por meio das contrações do miométrio, que ejeta o conteúdo intrauterino através da cérvix e pela atividade imunológica do útero, a $PGF2\alpha$ se torna um fármaco de eleição no tratamento dos casos de endometrite. Isso porque sua função não está restrita apenas a posterior elevação da concentração de estrógeno ($E2$) circulante em função da luteólise, maior crescimento folicular e aumento da imunidade uterina, mas também ocasionando contrações do

miométrio, visando à eliminação do conteúdo intrauterino, favorecendo assim a ação imunológica do útero no combate a infecção (Paisley et al., 1986). A utilização de anti-inflamatórios não esteroidais pode ser indicada naqueles casos mais graves da doença, visando à analgesia, diminuição da febre.

O teste de sensibilidade aos antimicrobianos (TSA) ou antibiograma é a ferramenta complementar ao tratamento com antibióticos, tendo como objetivo minimizar os efeitos da resistência bacteriana aos antibióticos, o exame permite verificar a sensibilidade ou resistência das bactérias, para utilizar os fármacos de eleição no tratamento de uma infecção (Santos et al., 2012).

2.5. Ozonioterapia

A ozonioterapia, técnica que utiliza o ozônio como agente terapêutico para diversas patologias (Bocci, 1998), vem sendo cada vez mais estudada em diversas vias de aplicação e finalidades distintas como tratamentos alternativos (Guerra et al., 1999), tais como para infecções fúngicas, bacterianas e virais.

A molécula de ozônio (O₃) é um oxidante mais potente do que o oxigênio (O₂), porém se torna instável em altas concentrações e apresenta curta meia vida, de aproximadamente 40 minutos à 20 °C (Merhi et al., 2019). Na medicina é utilizado em uma mistura de 95 a 99 % de oxigênio com 1 a 5 % de ozônio, oriundo de máquinas que o produzem a partir do oxigênio medicinal (Sciorsci et al., 2020).

Devido a sua alta reatividade, o ozônio possui boa resposta no combate a bactérias, fungos, vírus e protozoários, apresentando também ação analgésica e de estímulo do sistema imune (Guerra et al., 1999; Merhi et al., 2019).

Normalmente o ozônio é administrado tanto na forma gasosa quanto dissolvido em soluções, como por exemplo a salina (NaCl a 0,9 %), porém podemos verificar administrações por meio de insuflação retal e uterina, administração de soro intravenoso ozonizada, óleo ozonizado, entre outros (Bhatt; Bhat; Dhama, 2016).

Observando as possíveis aplicações práticas da ozonioterapia na reprodução de ruminantes, Djuricic et al. (2012) demonstraram que a aplicação preventiva de ozônio aumenta os índices reprodutivos de vacas no puerpério, reduzindo o período de serviço. Em ovelhas que apresentaram retenção de placenta, foi comparado o uso de oxitetraciclina intrauterina e de ozônio em spray, sendo verificado resultado igual ou superior no tratamento com ozônio em relação ao antibiótico de eleição (Đuričić et al., 2016).

No entanto, os efeitos positivos oriundos da utilização clínica do ozônio podem ser controversos, principalmente em concentrações mais elevadas, isso porque o grau de acometimento tecidual do endométrio não é totalmente compreendido. Neste contexto, estudos que comprovem a eficiência da utilização da técnica atrelada a viabilidade de aplicação na rotina do manejo reprodutivo dentro das fazendas, é de grande importância.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Ética

Este estudo foi realizado em conformidade com as recomendações da Legislação Brasileira, seguindo aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Viçosa (CEUA/UFV), processo n. 17/2022, no dia 19/07/2022.

3.2. Animais

No presente estudo, foram utilizadas 67 vacas da raça Holandesa-PB em lactação, com idade variando entre 4 e 7 anos, com escore de condição corporal entre 2,5 a 3,5 (escore de 1-5; Dias et al. (2016)) a partir de 21 dias pós-parto e positivas para endometrite em pelo menos um dos parâmetros avaliados. Os animais foram provenientes de fazendas atendidas pelo Programa de Desenvolvimento de Pecuária Leiteira da Universidade Federal de Viçosa (PDPL/PCEPL-UFV) em parceria com o Laboratório de Andrologia e Biotecnologias Aplicadas à Reprodução Animal do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa (DVT/UFV). Os animais foram mantidos confinados em “*Compost Barn*”, com dieta fechada no cocho e balanceada de acordo com o zootecnista responsável, com sal mineral e água de qualidade *ad libitum*. O manejo sanitário empregado foi o mesmo adotado pela fazenda, visando a desvermifugação e as vacinações anuais obrigatórias.

3.3. Histórico

O histórico dos animais foi obtido junto ao banco de dados da fazenda, e pelos profissionais que trabalham no Setor Reprodutivo do PDPL/PCEPL-UFV. Foi produzida individualmente uma ficha para cada animal, contendo: identificação do animal, data de nascimento, data do parto atual e eventuais ocorrências.

3.4. Delineamento experimental

Na identificação e escolha dos animais que comporam a amostra experimental, as fêmeas que apresentaram secreção vaginal purulenta após a 3ª semana ou conteúdo mucopurulento após 21 dias pós-parto, na ausência de sinais sistêmicos, foram considerados com endometrite clínica (Sheldon et al., 2006), bem como os outros que foram positivos a partir de 21 dias pós-parto na avaliação ultrassonográfica e/ou de citologia uterina. Esses animais passaram por avaliação via ultrassonografia modo B, sendo mensurada a espessura do útero, estágio ou fase da atividade ovariana e presença de líquido intrauterino, também foi avaliado o parâmetro físico do líquido intrauterino, o aspecto. Após essas avaliações, os animais foram submetidos à coleta do conteúdo intrauterino por meio de Lavado de Baixo Volume (LBV) para citologia uterina.

Após a confirmação de endometrite, estando no intervalo pós-parto preconizado, os animais foram subdivididos em cinco (05) grupos de tratamentos, sendo eles:

T1:(SF; n=15): Lavado uterino com solução fisiológica;

T2:(SFOz; n=13): Lavado uterino com solução fisiológica ozonizada;

T3:(SFOz+ATBi; n=13): Lavado uterino com solução fisiológica ozonizada associada à antibioticoterapia por infusão uterina;

T4:(SF+ATBi; n=13): Lavado uterino com solução fisiológica associada à antibioticoterapia por infusão uterina;

T5:(ATBi; n=13): Antibioticoterapia por infusão uterina.

Imediatamente após a execução dos tratamentos, iniciou-se o protocolo de indução do estro e ovulação, com duração de 10 dias, sendo a IA no décimo dia.

3.5. Avaliação Ultrassonográfica

Visando a caracterização da endometrite, os animais foram submetidos ao exame ultrassonográfico dos órgãos reprodutivos por via transretal, utilizando transdutor em frequência 7,5 MHz (Mindray® 75L50EAV) acoplado ao ultrassom Mindray® Dp2200. Neste exame, a presença de fluido intrauterino foi classificada em sistema de cruces, sendo uma cruz (+) normalidade e de 2 (++) ou 3 (+++) cruces indicando anormalidade, variando de forma crescente com a quantidade de fluido. Os diâmetros uterinos foram classificados como

negativos ($<3,5$ cm), suspeitos ($3,5 \leq X < 5$ cm) ou positivos (≥ 5 cm) de acordo com o critério proposto por Kasimanickan et al. (2004). Foi avaliada também a função ovariana, classificando os animais em fase estrogênica (ausência de corpo lúteo e maior crescimento folicular), fase progesterônica (presença de corpo lúteo funcional) ou anestro (ausência de corpo lúteo funcional).

3.6. Citologia Uterina

Para as análises da citologia uterina, as amostras foram colhidas por meio do LBV, onde as vacas foram submetidas a sondagem intrauterina, por via transcervical, com o mandril ajustável para sonda Foley nº 22. Posteriormente foi inflado o bulbo da sonda Foley com 20 mL de solução NaCl 0,9 % para fixação da sonda no corpo do útero, sendo logo em seguida retirado o mandril e acoplado ao equipo em Y de duas vias, próprio para o lavado intrauterino em fêmeas bovinas. Em uma via do equipo foi administrado 60 mL de solução NaCl 0,9 %, massageado o útero manualmente por palpação transretal e, recuperado os 60 mL, foram armazenados em 4 tubos Falcon 15 mL. Posteriormente as amostras foram centrifugadas a 400 g por 10 minutos e o sobrenadante descartado de forma a restar 2 mL, sendo destinadas ao Laboratório para realização do exame citológico.

O esfregaço foi corado com o kit Panótica®. As avaliações foram realizadas com auxílio de microscopia e luz (marca Olympus® modelo CX31), realizando a contagem de 200 células, sob aumento de 1000x, para a determinação da porcentagem de células polimorfonucleares (PMN). Antes do início da contagem, foi efetuada varredura de toda lâmina, priorizando a obtenção de uma área com menor sobreposição de células e artefatos. Foi preconizado 5 % de PMN para confirmação da presença de uma resposta inflamatória endometrial naqueles animais que estiveram no período entre 40-60 dias pós-parto, como preconizado por Gilbert et al. (2005). Todos os processamentos dessas amostras foram realizados no Laboratório de Doenças Bacterianas - LDBAC do Setor de Preventiva do Departamento de Veterinária da UFV.

3.7. Parâmetros físicos do exsudato intrauterino

A característica física do exsudado uterino avaliada foi aspecto. Após efetuado o LBV, foi classificado o conteúdo intrauterino em muco turvo (Mt), muco purulento (Mp) purulento (P) e mucosanguinolento, de acordo com Grunert e Gregory (1984). Ao fim do experimento, o resultado da avaliação foi correlacionado com os resultados obtidos no citológico.

3.8. Tratamentos

Devido a limpeza física e local pelo lavado uterino apenas com solução fisiológica (Solução Fisiológica 0,9 % - SF), podendo haver diversos casos de recuperação de endometrite, o grupo controle de animais foi composto pelo tratamento apenas com o lavado uterino a base de SF.

Independente do tratamento dentre aqueles que utilizaram lavado uterino (T1, T2, T3 e T4), todos iniciaram com dois lavado consecutivos com SF, de volume variando de acordo com a avaliação por meio da palpação transretal. Dessa forma, para o tratamento com SFOz, inicialmente foi efetuada as duas lavagens da SF0,9 % e duas lavagens com a SFOz, totalizando 4 lavagens. E no caso do grupo controle, foram efetuadas 4 lavagens.

A solução salina ozonizada (500 mL) foi produzida em campo por meio do processo de micro borbulhamento (máquina OZONE & LIFE®) acoplada em um cilindro de oxigênio médico, para conversão de oxigênio (O₂) em ozônio (O₃). A solução ozonizada foi preparada na concentração de 9,36 ppm, de acordo com o protocolo: 500 mL da SF sob micro borbulhamento por 10 minutos com a máquina OZONE & LIFE® regulada a 56 mg/L de concentração de O₃, ¼ de fluxo de O₂ e com temperatura local variando de 19 a 30 °C (De Paula et al., 2021).

A infusão uterina foi realizada com Metrifim®, antibiótico a base de cloridrato oxitetraciclina à 5,7 % (ATBi). Nos grupos de tratamento (SFOz+ATBi e SF+ATBi) os tratamentos com antibiótico foram associados aos lavados intrauterinos, sendo realizado a infusão imediatamente após os lavados uterinos. Já no grupo de tratamento (ATBi) que foi realizado somente a infusão uterina, não foi realizado nenhum outro procedimento de tratamento a não ser a própria infusão do medicamento de escolha. Para infusão do medicamento no lúmen uterino, foi utilizado um aplicador de sêmen de inseminação artificial acoplado a uma bainha de inseminação artificial, e após a passagem da cérvix e o posicionamento do conjunto no local de deposição da medicação, foi retirado o aplicador de sêmen e mantida a bainha de inseminação, logo em seguida, acoplada a seringa na bainha e injetado o medicamento. Os tratamentos com antibiótico via infusão uterina foram padronizados em 3 gramas de cloridrato de oxitetraciclina por animal, em dose única.

3.9. Inseminação artificial em tempo fixo – IATF

Imediatamente após a realização dos tratamentos, foi iniciado o protocolo de IATF. O protocolo base que foi empregado está esquematizado na Figura 1.

Figura 1 - Esquema do protocolo de Inseminação Artificial em Tempo Fixo

	300UI ecG	
	1mg CE	
2mg BE	500µg CLOP	25mg LEC
IMP4+	IMP4-	IA
D0	D8	D10

BE: benzoato de estradiol; **CE:** cipionato de estradiol; **IMP4+:** inserção do implante intravaginal de liberação lenta de progesterona; **IMP4-:** retirada do implante intravaginal de liberação lenta de progesterona; **CLOP:** cloprostenol (PGF2a); **ecG:** gonadotrofina coriônica equina; **LEC:** lecorelina (GnRH); **IA:** Inseminação Artificial.

3.10. Análises estatísticas

Inicialmente foi realizada estatística descritiva referente a frequência da eficácia de cada tratamento. Posteriormente, por tratar-se de uma resposta dicotômica, empregou-se a análise de Kruskal Wallis para comparação da eficácia entre os tratamentos. Correlação de spearman foi realizada para análise entre os valores obtidos nos métodos de diagnósticos de endometrite, características do muco uterino na primeira inseminação após o tratamento com os tratamentos empregados, número de células polimorfonucleares, atividade ovariana e o diâmetro dos cornos uterinos na ocasião do início do tratamento. Para as análises foi utilizado o programa estatístico XREALSTATS.

4. RESULTADOS

4.1 Eficácia dos tratamentos

Não houve diferença em relação a taxa de concepção após a primeira IATF quanto aos tratamentos utilizados ($P > 0,05$; Tabela 1). No entanto, houve tendência de maior eficácia do grupo ATBi ($n=13$) em relação ao grupo SF ($n=15$; $P=0,099$). Foram avaliados os resultados de concepção após duas inseminações subsequentes a IATF, totalizando três inseminações após os

tratamentos, e não foi verificado diferença nas taxas de prenhes entre os tratamentos ($P>0,05$; Tabela 1).

Tabela 1 - Número animais e taxa de concepção acumulada* nas três inseminações artificiais subsequentes à diferentes tratamentos de endometrite em vacas da raça Holandesa-PB, no pós-parto, em manejo de *Compost barn*

GRUPO	N	TxC_1ª IA N (%)	TxC_2ª IA N (%)	TxC_3ª IA N (%)	TCONC N (%)
SF	15	1 (07)	1 (14,00)	2 (26,67)	4 (27)
SFOz	13	3 (23)	1 (30,77)	0 (30,77)	4 (31)
SFOz+ATBi	13	2 (15)	0 (15,00)	2 (30,77)	4 (31)
SF+ATBi	13	2 (15)	1 (23,07)	0 (23,07)	3 (23)
ATBi	13	4 (31)	0 (31,00)	1 (38,46)	5 (38)
TOTAL	67	12 (17,91)	3 (22,39)	5 (29,85)	20 (29,85)

*($P>0,05$) pelo teste de Kruskal Wallis; SF= Lavado uterino com solução fisiológica; SFOz= Lavado uterino com solução fisiológica ozonizada; SFOz+ATBi= Lavado uterino com solução fisiológica ozonizada associada à antibioticoterapia por infusão uterina; SF+ATBi= Lavado uterino com solução fisiológica associada à antibioticoterapia por infusão uterina; ATBi= Antibioticoterapia por infusão uterina; TxC_1ª IA= Taxa de concepção na primeira inseminação artificial; TxC_2ª IA= Taxa de concepção na segunda inseminação artificial; TxC_3ª IA= Taxa de concepção na terceira inseminação artificial; TCONC= Taxa de concepção final; N(%)= número de animais (percentual em relação ao número de animais inseminados).

Após a IATF, os animais tratados apenas com o lavado uterino com SF, quando comparado o número de animais que não obtiveram cura clínica para a endometrite (gestantes e não gestantes curadas), apresentaram diferenças em relação ao grupo tratado com ATBi, tendo na segunda avaliação, respectivamente, 6 e 0 animais com endometrite ($P<0,01$).

Os tratamentos apresentaram eficiência, obtendo cura clínica de 60 % (SF) à 100 % (SF+ATBi). No entanto, em relação ao grupo de lavado uterino com solução fisiológica, de menor percentagem de animais recuperados, os grupos de SF+ATBi ($P<0,01$) e ATBi ($P<0,04$) foram mais eficientes, como demonstrado na Tabela 2.

Tabela 2 - Número de prenhez, total e percentual de animais curados de endometrites após diferentes tratamentos em vacas da raça Holandesa-PB, no pós-parto, em manejo de *Compost barn*

GRUPO	N	PRENHAS	LIMPOS	TOTAL rec	Porcentagem (%)
SF	15	1	8	9	60 ^b
SFOz	13	3	7	10	77 ^{ab}
SFOz+ATBi	13	2	8	10	77 ^{ab}
SF+ATBi	13	2	11	13	100 ^a
ATBi	13	4	8	12	92 ^a

Valores seguidos por letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si ($P<0,05$) pelo teste de Kruskal Wallis; SF= Lavado uterino com solução fisiológica; SFOz= Lavado uterino com solução fisiológica ozonizada; SFOz+ATBi= Lavado

uterino com solução fisiológica ozonizada associada à antibioticoterapia por infusão uterina; SF+ATBi= Lavado uterino com solução fisiológica associada à antibioticoterapia por infusão uterina; ATBi= Antibioticoterapia por infusão uterina.

Dias em lactação (DEL) interferiu ($P<0,05$) na eficiência dos tratamentos, em relação ao número de animais não curados, para DEL Superior versus DEL Mediano, como apresentado na Tabela 3. Quando comparada a influência do DEL na %PMN, houve diferença ($P<0,05$) apenas entre os grupos “Baixo” (24-64; 21,6 %) versus “Superior” (115-630; 9%).

Tabela 3 - Número de animais e eficiência dos diferentes tratamentos de endometrites, referentes aos dias em lactação (DEL), em vacas da raça Holandesa-PB, no pós-parto, criadas em manejo de *Compost barn*

DEL (DIAS)	N	NÃO CURADOS	EFICIÊNCIA DOS TRATAMENTOS
Baixo (24-64)	36	5	31 (86,11) ^{ab}
Mediano (65-114)	12	0	12 (100,00) ^a
Superior (115-630)	16	5	11 (68,75) ^b

Valores seguidos por letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si ($P<0,05$) pelo teste de Kruskal Wallis.

4.2 Métodos de diagnóstico

Dentre os métodos de diagnósticos utilizados no presente estudo, a percentagem de polimorfonucleares (padrão ouro), apresentou maior relação com a avaliação ultrassonográfica em sistema de cruzes ($r=0,50$), seguido da mensuração do diâmetro uterino na avaliação ultrassonográfica ($r=0,29$) e com a avaliação do aspecto físico do exsudato ($r=0,14$).

Quando avaliado a %PMN por grupo diagnosticado por meio das avaliações ultrassonográficas, foi observado diferença ($P<0,01$) para classificação de duas ($n=50$; $16,12 \pm 21,57$ %) ou três ($n=13$; $44,29 \pm 17,29$) cruzes (Tabela 4). Ao adotar o corte de 5 % para os PMN, classificando-os como positivo ou negativo para endometrite, observou-se diferença ($P<0,01$; $r=0,50$) para $<5\%PMN/>5\%PMN$ versus Cruzes U.S.

No que se refere a condição ovariana no dia da avaliação e coleta de dados, não houve diferença em relação a %PMN no LBV para vacas com corpo lúteo ($n=17$; 14,8 %) ou folículo dominante ($n=18$; 26,9 %).

As classificações dos aspectos físicos na avaliação de campo, apresentou numericamente média aritméticas diferentes para %PMN em MUCO TURVO ($n=29$; 23,87 %), MUCOPURULENTO ($n=3$; 27,16 %), MUCOSANGUINOLENTO ($n=17$; 43,47 %) e

PURULENTO (n=15; 37,80 %). Houve diferença (P<0,05) para o grupo MUCO TURVO, quando comparado com o grupo PURULENTO e MUCOSANGUINOLENTO.

Tabela 4 - Número animais, percentual médio e desvio-padrão de polimorfonucleares em vacas da raça Holandesa-PB, no pós-parto, com endometrites, criadas em manejo de *Compost barn*

US/CLASSES	N	% PMN	DESVIO PADRÃO
++	50	16,12	21,57
+++	13	44,29	17,29

(P<0,05) pelo teste de Kruskal Wallis; US/CLASSES= classificação de endometrite baseada em avaliação ultrassonográfica, ++= linha de alta celularidade na imagem ultrassonográfica, +++= acúmulo de líquido com alta celularidade; % PMN= percentual de polimorfonucleares.

Foi avaliado também se a atividade ovariana interfere na %PMN, segregando os animais positivos na avaliação citológica e que possuíam CL ou FD, não obtendo diferença (P>0,05), embora tenha identificado correlação entre o %PMN versus atividade ovariana (r=0,34). Não houve correlação do DEL e atividade ovariana em todos os animais avaliados (67; CL, FD e ANESTRO) não observando diferença (P>0,05).

4.3 Efeito “FAZENDA”

As fazendas A (n=32), B (n=23) e C (n=12) não apresentaram diferença nos valores de taxa de concepção após o primeiro protocolo de IATF (P>0,05; Tabela 5). Após as 3 inseminações subsequentes ao tratamento e número de animais recuperados pelos tratamentos, houve diferenças (P<0,05; Tabela 6). Apesar de não apresentar diferenças na taxa de concepção após 1ª IA, a fazenda B (Taxa de concepção: 30 %) apresentou tendência em melhor resultado quando comparada com a fazenda A (Taxa de concepção: 13 %; P=0,09; Tabela 5). Embora, não tenha sido observada diferença entre os grupos quando considerado os animais curados (Tabela 5), houve tendência quando comparado a fazenda A com a fazenda C (P=0,058). Quanto à taxa de concepção após as 3 inseminações subsequentes ao tratamento, foi observada diferença que demonstra maior eficiência reprodutiva na fazenda B, quando comparado com as fazendas A (P<0,01) e C (P<0,05; Tabela 6).

Tabela 5 - Número animais tratados, gestantes e total curados e gestantes após a 1ª IA, em vacas da raça Holandesa-PB, no pós-parto, criadas em manejo de *Compost barn*, submetidas a diferentes tratamentos de endometritis

FAZENDAS	ANIMAIS TRATADOS	GESTAÇÃO	CURADOS	CURADOS E GESTANTES (%)
A	32	4 ^a	23 ^a	27 (84) ^a
B	23	7 ^a	15 ^a	22 (96) ^a
C	12	1 ^a	4 ^a	5 (42) ^b

Valores seguidos por letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Kruskal Wallis.

O número de animais recuperados após o tratamento na fazenda C foi inferior aos resultados obtidos nas fazendas A e B ($P < 0,01$; Tabela 5).

Tabela 6 - Número animais tratados, gestantes nas três primeiras inseminações pós-tratamento, total de gestação e taxa de concepção em vacas da raça Holandesa-PB, no pós-parto, criadas em manejo de *Compost barn*, submetidas a diferentes tratamentos de endometritis

FAZENDAS	ANIMAIS	GESTAÇÃO			TOTAL GESTAÇÃO	TAXA CONCEPÇÃO
		1ªIA	2ªIA	3ªIA		
A	32	4 ^a	0 ^a	2 ^a	6	19 ^b
B	23	7 ^a	3 ^a	2 ^a	12	52 ^a
C	12	1 ^a	0 ^a	1 ^a	2	17 ^b

Valores seguidos por letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Kruskal Wallis.

5. DISCUSSÃO

5.1. Tratamentos e cura clínica

Entre os grupos de tratamentos não foi observado diferença no que se refere a taxa de concepção após a IATF como apresentado na Tabela 1, no entanto, foi observado a tendência de melhores resultados quando comparamos o antibiótico via infusão uterina com o lavado uterino por solução fisiológica ($P=0,09$). Ainda em relação à taxa de concepção pós-IATF, a solução fisiológica ozonizada, associada ou não ao antibiótico via infusão uterina, apresentou resultado inferior ao tratamento convencional, SFOz=23 %, SFOz+ATBi=15 % e o tratamento convencional (ATBi) com resultado de 31 %, com valores acima apenas ao grupo com lavado uterino com solução fisiológica (7 %). No entanto, os tratamentos com SFOz obtiveram eficácia semelhante entre os tratamentos convencionais, como verificado por Djuricic et al. (2012), isso porque, a taxa de concepção avaliada individualmente em detrimento a eficácia de cura, possui vários outros fatores diretamente relacionados aos resultados nas atividades de produção leiteira, podendo, dessa forma, se focar na eficácia da cura, a solução fisiológica ozonizada

pode ser uma alternativa de tratamento na busca pela eficiência reprodutiva e o ideal intervalo de parto de 12 meses naqueles animais que apresentaram endometrite puerperal (Marques Júnior, 1993; Horta, 1995; Neves et al., 1999; Kask et al., 2003).

Avaliar somente a taxa de concepção por grupo tratado pode levar a falsas interpretações, visto que a gestação depende de inúmeros fatores, como citado por Neves (1999), ambiente, conforto, nutrição e sanidade. O que justifica a retórica é que, por mais que não tenha sido observado diferença, o grupo SF+ATBi que obteve 100 % dos animais tratados recuperados (Tabela 2), não foi o grupo que numericamente obteve mais animais gestantes (Tabela 1). Diante disso, a avaliação pós-tratamento dos animais para constatação da cura clínica à endometrite é substancial, onde todos os grupos se apresentaram eficientes, obtendo maior eficácia nos grupos tratados com SF+ATBi ($P < 0,01$) e ATBi ($P < 0,04$) quando comparados ao grupo de menor número de animais recuperados, o SF. Isso mostra que a presença do antibiótico foi importante para a resolução clínica da doença, como os resultados obtidos em ovelhas que apresentaram retenção de placenta por ĐURIČIĆ et al. (2016), e que quando associado à solução fisiológica ozonizada, aparentemente, sofre algum efeito inibitório, podendo ser comprovado, que tanto o grupo SFOz quanto o grupo SFOz+ATBi obtiveram 10 animais curados em 13, sendo 77 % de cura clínica, e quando associado somente a SF não ozonizada, saiu de 60 % de animais curados (SF) para 100 % (SF+ATBi). Como apresentado na Tabela 2, o efeito da oxitetraciclina na cura clínica da endometrite, no presente estudo, não corrobora com Soares (2015) que relatou resistência antibacteriana no tratamento de infecções uterinas puerperais com o fármaco.

O DEL demonstrou influência na recuperação clínica dos animais confirmados para endometrite, quando comparado o grupo de DEL mediano *versus* DEL superior, onde os animais de maior DEL, obtiveram mais indivíduos contaminados na segunda avaliação pós-tratamento. Isso levanta a discussão sobre a temática da resistência aos antimicrobianos, visto que, quanto maior o DEL, a probabilidade de tratamentos anteriores mal-sucedidos para a doença é relevante. Apesar do DEL baixo não apresentar diferenças em comparação aos demais grupos avaliados, vacas no pós-parto imediato, podem apresentar maior vascularização endometrial e, associado a involução uterina, a imunidade é superior, provavelmente interferindo na recuperação clínica dos animais após o tratamento, como verificado por Gilbert et al. (2005), que também pode ser comprovado quando o grupo de baixo DEL (21,6 %) apresentou maior percentagem de polimorfonucleares que o grupo de superior DEL (9 %; $P < 0,05$), também justificando maior incidência de endometrite nos animais de DEL superior na segunda avaliação. Conforme relatado por Olson et al. (1986) por mais que os animais de baixo

DEL apresentem maior imunidade uterina, a alta incidência de endometrite no puerpério, pode ser relacionada a contaminação durante o trabalho de parto, a porta de entrada para agentes ambientais ao útero via cérvix aberta, bem como doenças secundárias ao parto, como retenção de placenta e prolapso uterino.

5.2. Comprovação dos métodos de diagnóstico

A percentagem de polimorfonucleares (%PMN) é o padrão ouro de diagnóstico para endometrite, dessa forma, todas as análises de diagnóstico se deram em comparativo com este parâmetro, assim como nos estudos de Kasimanickam et al. (2004); Gilbert et al. (2005); e Barlund et al. (2008).

Diante das avaliações ultrassonográficas, as imagens analisadas são classificadas como negativas ($<3,5$ cm), suspeitas ($3,5 \leq X < 5$ cm) ou positivas (≥ 5 cm) para endometrite como proposto por Kasimanickan et al. (2004), no entanto, estes padrões não são corroborados pelo presente estudo, onde o maior valor para diâmetro uterino foi de 3,02 cm. Apesar da mensuração do diâmetro uterino ter uma correlação com a %PMN ($r=0,29$), o número de partos também influencia diretamente no diâmetro uterino ($r=0,22$), o que pode levar a uma subjetividade na análise.

Na ultrassonografia avaliando a celularidade uterina, as classificações de 2 ou 3 cruces demonstraram ser a mais eficiente quando comparada a %PMN ($r=0,50$), além de ter boa aplicabilidade no campo, corroborando com os resultados de Kasimanickan et al. (2004).

No presente estudo, mesmo na presença dos fatores de dispersão, foi possível verificar diferença ($P < 0,05$) no comparativo entre %PMN versus ++ ou +++ , onde mostrou que quanto maior o acúmulo de líquido intrauterino de alta celularidade, maior foi a presença de PMN na amostra, assim como preconizado por Gilbert et al. (2005).

Os resultados da avaliação do aspecto físico do líquido intrauterino apresentaram baixa correlação com os resultados verificados no exame citológico para vacas com endometrite. No entanto, as diferenças do grupo MUCO TURVO para PURULENTO e MUCOSANGUINOLENTO, podem ser justificadas pela alta celularidade oriunda da infecção em fase aguda e pelo extravasamento de sangue no LBV, respectivamente.

Fisiologicamente, a presença do folículo dominante com produção de estrógeno, caracteriza a fase estrogênica, marcada também pelo aumento da vascularização endometrial e melhora da imunidade uterina, interferindo no exame citológico. Embora no presente estudo não tenha observado diferença na percentagem de polimorfonucleares quando comparadas as

vacas na presença do corpo lúteo *versus* folículo dominante, foi possível observar correlação ($r=0,34$) na presença do FD, onde a %PMN foi superior quando comparada com os animais na presença do CL ativo, produzindo progesterona. O que justifica essa diferença numérica, mas não estatística nas médias obtidas nos diferentes grupos de tratamentos (14,8 - 26,9 %), pode ser o número amostral de apenas 35 animais com CL ou FD, dos 67 animais avaliados. Embora o indicador DEL não tenha apresentado diferenças em relação a atividade ovariana, observou-se que quanto maior DEL, menor a percentagem de polimorfonucleares uterino, podendo estar relacionada a fase da doença, provavelmente nesses casos, a endometrite crônica.

5.3. O efeito “FAZENDA” na cura clínica e taxa de concepção

A fazenda pode impactar diretamente nos resultados da taxa de concepção e animais curados clinicamente, em relação ampla ao manejo. Os resultados obtidos por grupo de tratamento foram randomizados em três novos grupos, na qual o objetivo foi avaliar os resultados da fazenda A, B e C, tendo como pressuposto o manejo. Apesar das fazendas trabalharem no mesmo sistema de confinamento em “Compost barn”, foi observado diferenças nos resultados de taxa de concepção acumulada nas 3 inseminações subsequentes ao tratamento, e na cura clínica final, onde foi considerado curado, os animais gestantes ou sem celularidade anormal na avaliação ultrassonográfica. A fazenda B se mostrou mais eficiente no seu manejo, em relação a taxa de concepção ao final das 3 inseminações, em comparação com as outras fazendas (Tabela 6). Em contrapartida, a fazenda C se mostrou menos eficiente no manejo, em relação ao número de vacas com cura clínica final (curadas e gestantes; Tabela 6) para endometrite na avaliação ginecológica após a IATF, em comparação com as outras fazendas.

Por mais que a fazenda C tenha apresentado menor valor para taxa de concepção ($n=12$; 8 %) na IATF em relação à fazenda A ($n=32$; 13 %), não houve diferença ($P>0,05$) quando comparada a fazenda C versus B, e somente quando comparada a fazenda A versus B ($P=0,09$), possivelmente pelo número amostral significativamente inferior. O que justifica essa variação de resultados nas fazendas em mesmo sistema de confinamento é o manejo no qual o rebanho recebe, onde o “Compost barn” na mesma magnitude que é positivo em relação a ambiência para os animais, é de manejo contrastante, isso por conta de se trabalhar com uma cama “viva”, em fermentação contínua. Dessa forma, um dos fatores que mais impactam diretamente na incidência da mastite em galpões de “Compost barn” é o manejo da cama (Schreiner e Ruegg, 2003; Fávero et al., 2015), bem como Schuenemann et al. (2011) que demonstraram o escore de sujidade na região perineal no momento do parto influenciando a incidência de infecções

uterinas. Além do mais, se o manejo da cama na propriedade não é efetuado de forma correta, a probabilidade de existir problemas no manejo da ordenha, da nutrição e da sanidade, na qual Neves et al. (1999) demonstraram que impactam diretamente na incidência de endometrite, de modo geral é ampliado.

6. CONCLUSÃO

Em conclusão, o tratamento com solução fisiológica ozonizada a 56 mg O₃/L, se apresentou como uma boa alternativa ao tratamento para endometrite, mostrando eficácia semelhante aos tratamentos convencionais, podendo ser empregado em substituição aos antibióticos. Entretanto, o uso da solução fisiológica não associada ao uso de antibióticos ou soluções oxidativas pode apresentar baixa eficácia no tratamento de endometrite. Além disso, apesar do sistema de confinamento ser o “*Compost barn*” em ambas as fazendas trabalhadas no presente estudo, o manejo no qual os rebanhos são submetidos influência de forma significativa na resposta ao tratamento.

7. REFERÊNCIAS

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

BARAŃSKI, W.; PODHALICZ-DZIEGIELEWSKA, M.; ZDUŃCZYK, S.; JANOWSKI, T. The diagnosis and prevalence of subclinical endometritis in cows evaluated by different cytologic thresholds. **Theriogenology**, v. 78, p. 1939-1947, 2012.

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

BARUSELLI, P.S.; GIMENES, L.U.; SALES, J.N.S. Fisiologia reprodutiva de fêmeas taurinas e zebuínas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.31, p.205-211, 2007.

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

BHATT, J.; BHAT, A.R.; DHAMA, K. An overview of ozone therapy in equine - an emerging healthcare solution. **Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences**, v. 4, p. 203–210, 2016.

BÓ, G.A.; BARUSELLI, P.S.; MARTINEZ, M.F. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. **Animal Reproduction Science**, v.78, p.307-326, 2003.

BOCCI, V.; VALACCHI, G.; CORRADESCHI, F.; ALDINUCCI, C.; SILVESTRI, S.; PACCAGNINI, E. Studies on the biological effects of ozone: **Journal Biological Regul Homeost Agents**, v. 12, p.67-75, 1998.

BONNETT, B.N.; MARTIN, S.W.; MEEK, A.H. Associations of clinical findings, bacteriological and histological results of endometrial biopsy with reproductive performance of postpartum dairy cows. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 15, p. 205-220, 1993.

COLAZO, M.G.; MAPLETOFT, R. Fisiología del ciclo estral bovino. **Ciencia Veterinaria**, v. 16, n. 2, p. 31-46, 2017.

CORREA, R.R. Doenças do trato reprodutivo de bovinos leiteiros. **Ourofino Saúde Animal**. 2023.

DE KRUIF, A.; GUNNINK, J.W.; De BOIS, C.H. Diagnosis and treatment of postpartum endometritis in cattle. **Tijdschr Diergeneesk**, v.107, p. 717–725. 1982.

DE PAULA, K.J.S.; URRUCHI, W.M.I.; DE SOUZA FREIRE, M.H. Determinação da concentração de ozônio em diferentes tipos de soluções aquosas para uso na prática clínica. **Global Academic Nursing Journal**, v. 2, p. e64-e64, 2021.

DE SILVA, A.W.M.V.; ANDERSON, G.W.; GWAZDAUSKAS, F.C.; MCGILLIARD, M.L.; LINEWEAVER, J.A. Correlations with estrous behavior and conception in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.64, p.2409-2418, 1981.

DJURICIC, D.; VINCE, S.; ABLONDI, M.; DOBRANIC, T.; SAMARDZIJA, M. Effect of preventive intrauterine ozone application on reproductive efficiency in Holstein cows. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 47, p. 87–91, 2012.

DOMINGOS, J.A.J. **Contribuição para o estudo das endometrites em vacas de leite e o seu diagnóstico por vaginoscopia**. Lisboa, 2009.

ĐURIČIĆ, D.; VALPOTIC, H.; ŽURA ŽAJA, EU.; SAMARDŽIJA, M. Comparison of Intrauterine Antibiotics versus Ozone Medical Use in Sheep with Retained Placenta and Following Obstetric Assistance. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 51, p. 538–540, 2016.

FÁVERO, S.; PORTILHO, F.V.R.; OLIVEIRA, A.C.R.; LANGONI, H.; PANTOJA, J.C.F. Factors associated with mastitis epidemiologic indexes, animal hygiene, and bulk milk bacterial concentrations in dairy herds housed on compost bedding. **Livestock Science**, [S. l.], v. 181, p. 1871–1413, 2015.

FERNANDES, C.A.C. Infecções uterinas em bovinos. **A Hora Veterinária**, v. 21, p. 27-35, 2001.

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

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.

GONZALES, F. **Introdução a endocrinologia reprodutiva veterinária**. Porto Alegre, 2002.

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

GUERRA, X.V.; LIMONTA, Y.N.; CONTRERAS, I.H.; FREYRE, R.L.; RAMÍREZ, A.M.P. Resultados de los costos em ozonoterapia. **In:** Revista Cubana Enfermer. p.104-108. 1999.

HAFEZ, E.S.E. **Reprodução Animal**. 7^a ed.; São Paulo: Manole Ltda, 2004.

HORTA, A.E.M. Fisiologia do puerpério na vaca. In: Jornadas Internacionales de Reproducción Animal, **Anais...** Santander: AERA, 1995. p.73-84. 1995.

IMHOF, S.; LUTERNAUER, M.; HÜSLER, J.; STEINER, A.; HIRSBRUNNER, G. Therapy of retained fetal membranes in cattle: comparison of two treatment protocols. **Animal Reproduction Science**, v. 206, p. 11-16, 2019.

JONES, T.C.; HUNT, R.D.; KING N.W.; NASCIMENTO, F. G. **Patologia Veterinária**. 1^a ed.; Barueri – SP; Ed. Manole Ltda., 2000; p. 1193 - 1197.

KASIMANICKAN, R.; DUFFIELDA, T.F.; FOSTERB, R.A.; GARTLEYA, C.J.; LESLIEA, K.E.; WALTONC, J.S.; JOHNSONA, W.H. Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. **Theriogenology**, v. 62, p. 9–23. 2004.

KASK, K.; KURYKIN, J.; LINDJÄRV, R.; KASK, A.; KINDAHL, H. Assessment of early postpartum reproductive performance in two high estonian dairy herds. **Acta Veterinaria Scandinava**, v.44, p.131-143, 2003.

KAUFMANN, T. B.; DRILLICH, M.; TENHAGEN, BA.; 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.

LANDAETA-HERNÁNDEZ, A.J.; PALOMARES-NAVEDA, R.; SOTO-CASTILLO, G.; ATENCIO, A.; CHASE JR, CC.; CHENOWETH, P.J. Social and breed effects on the expression of a PGF2 α induced oestrus in beef cows. **Reproduction in Domestic Animals**, v.39, p.315-320, 2004.

KIMURA, K.; GOFF, J.P.; KEHRLI JR, M.E.; REINHARDT, T.A. Decreased neutrophil function as a cause of retained placenta in dairy cattle. **Journal Dairy Science**, v.85, p. 544-550, 2002.

LEBLANC, S.J. Special Issue: Production diseases of the transition cow. Postpartum uterine diseases and dairy herd reproductive performance: A review. **Veterinary Journal**; v.176, p.102–114, 2008.

LEWIS, G.S. Health problems of the postpartum cow, uterine health and disorders. **Journal Dairy Science**, v. 80, p. 984–994. 1997.

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

NICIURA, S.C.M. Anatomia e fisiologia da reprodução de fêmeas bovinas. **Embrapa**, 2008.

MARQUES JR, A.P. Fisiologia do puerpério na vaca. **Revista Brasileira Reprodução Animal**. Supl, v.4, p.58-69, 1993.

MARTINS, T.M. Aspectos reprodutivos e produtivos de vacas da raça Holandesa e expressão gênica endometrial de receptores tipo toll e β -defensina 5 após o parto. 2010. 137f. **Dissertação** (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, Belo Horizonte, MG, 2010.

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

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

McDOUGALL, S.; MACAULAY, R.; COMPTON, C. Association between endometritis diagnosis using a novel intravaginal device and reproductive performance in dairy cattle. **Animal Reproduction Science**, v.99, p. 9–23. 2009.

MEIRA JR, E.B.S. **Estudo comparativo entre tratamentos para as endometritis dos graus II e III em bovinos**. Orientador: Lilian Gregory. 2014. 101 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014. Versão eletrônica.

MERHI, Z.; GARG, B.; MOSELEY-LARUE, R.; MOSELEY, AR.; SMITH, AH.; ZHANG, J. Ozone therapy: A potential therapeutic adjunct for improving female reproductive health. **Medical Gas Research**, v. 9, p. 101–105, 2019.

MILLER, H.V.; KIMSEY, P.B.; KENDRICK, J.W. Endometritis of dairy cattle: diagnosis, treatment, and fertility. **Bovine Practical**, v.15, 13–23. 1980.

NEVES, J.P., GONÇALVES, P.B.D.; OLIVEIRA, J.F.C. Fatores que afetam a eficiência reprodutiva na vaca. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. 23:99-105p. 1999.

NORELL, R.J.; PACKHAM, J.H. Antibiotic residues in milk following intrauterine therapy with oxytetracycline. **Journal of Dairy Science**, v.75, p.158, 1992.

OLSON, J.D.; BRETZALAFF, K.N.; MORTIMER, R.G.; BALL, L. The metritis-pyometra complex. In: Morrow DA (Ed.). **Current therapy in theriogenology**. Philadelphia: Saunders, p.227-236. 1986.

PAISLEY, L.G.; MICKELSEN, W.D.; ANDERSON, P.B. Mechanisms and therapy for retained fetal membranes and uterine infections of cows: A review. **Theriogenology**, v. 3, p. 25. 1986.

QUINTANA, M.C.F.; DOMINGUES, I.M.; RIBEIRO, A.R. Uso de óleo ozonizado no tratamento de mastite subclínica em vaca Jersey: Relato de caso. **Pubvet**, v. 13, p. 166, 2019.

QUINTELA, L.A.; BECERRA, J.J.; CAINZOS, J.; PRIETO, A.; DÍAZ, C.; MOURAZOS, N.; FERNÁNDEZ, F.I.; MARTÍNEZ, D.; BARRIO, M.; HERRADÓN, P.G. La citología endometrial en la vaca. Boletín de Anembe, **Journal of the National Association of Spanish Specialists in Bovine Medicine**, p. 16–32. 2010.

RHODES, F.M.; MCDOUGALL, S.; BURKE, C.R.; VERKERK, G.A.; MACMILLAN, K.L. Invited review: Treatment of cows with an extended postpartum anestrous interval. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.1876-1894, 2003.

SANTOS, P.K.T.; SANCHES, IT.; PITTNER, E.; SANCHES, HF. Identificação e perfil antimicrobiano de bactérias isoladas de urina de gestantes atendidas na Irmandade de Santa Casa de Misericórdia de Prudentópolis, Paraná. **Semina**, v.33, p.181-192. 2012.

SANTOS, K.J.G.; SANTOS, A.P.P.; COSTA, M.A.; MONTESINOS, I.S. Biotecnologias reprodutivas e fisiologia reprodutiva da fêmea bovina conhecimento para o sucesso. **Pubvet**, v. 6, 2012.

SCHUENEMANN, G.M.; NIETO, I.; BAS, S.; GALVÃO, K.N.; WORKMAN, J. Dairy calving management: effect of perineal hygiene scores on metritis. **Journal of Dairy Science**, 94:744. 2011.

SCIORSI, R.L.; LILLO, E.; OCCHIOGGROSSO, L.; RIZZO, A. Ozone therapy in veterinary medicine: A review. **Research in Veterinary Science**, v. 130, p. 240–246, 2020.

SILVA, E.I.C. Fisiologia do Ciclo Estral dos Animais Domésticos. **Animal reproduction**, 2021.

SHELDON, I.M.; DOBSON, H. Postpartum uterine health in cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 82, 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. The postpartum uterus. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, Londres, v.20, p. 569-591, 2004.

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

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

SOARES, M.M. **Antibióticos associados ou não ao cloprostenol sódico para tratamento de infecções uterinas puerperais em vacas leiteiras**. Orientador: Carlos Antônio de Carvalho Fernandes. 2015. 49f. Dissertação (Programa de Mestrado em Reprodução, Sanidade e Bem-estar Animal) - UNIFENAS, Alfenas ,2015. Versão eletrônica.

SOARES, P.H.A.; JUNQUEIRA, F.S. Particularidades reprodutivas da fêmea bovina: Revisão. **Pubvet**, v. 13, p. 148, 2018.

STUDER, E., MORROW, D.A. Relationships of post-partum genital tract examination per rectum to endometrial biopsy and uterine culture results. **Journal American Veterinary Medical Association**, v.172, p.489-494, 1978.

THOMÉ, H.E; GUIMARÃES, C.F.; ARRUDA, R.; THOMÉ, A.C.S. Métodos de diagnóstico da resposta inflamatória uterina em vacas. **Revista Acadêmica Ciência Animal**, v. 11, p. 11-16, 2013.

VAN VLIET, J.H.; VAN EERDENBURG, F.J.C.M. Sexual activities and oestrus detection in lactating Holstein cows. **Applied Animal Behaviour Science**, v.50, p.57-69, 1996.

WHITE, F.J.; WETTEMANN, R.P.; LOOPER, M.L.; PRADO, T.M.; MORGAN, G.L. Seasonal effects on estrous behavior and time of ovulation in non-lactating beef cows. **Journal Animal Science**, v.80, p.3053-3059, 2002.

WILLIAMS, E.J.; FISHER, 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.

WILTBANK, M.C.; LOPEZ, H.; SARTORI, R.; SANGSRITAVONG, S.; GÜMEN, A.
Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism.
Theriogenology, v.65, p.17-29, 2006.