

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA
VETERINÁRIA
(PATOLOGIA E CIÊNCIAS VETERINÁRIAS)

DISSERTAÇÃO

**Métodos de Diagnóstico de Endometrite Equina e Aplicação da
Auto-Hemoterapia como Tratamento**

Renata Alpuin Ruy

2014



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
(PATOLOGIA E CIÊNCIAS VETERINÁRIA)**

**MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO DE ENDOMETRITE EQUINA E
APLICAÇÃO DA AUTO-HEMOTERAPIA COMO TRATAMENTO**

RENATA ALPUIN RUY

Sob a Orientação do Professor
Prof. Dr. Julio César Ferraz Jacob

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre Medicina Veterinária**, no Curso de Pós Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Patologia e Ciências Veterinária.

Seropédica, RJ
Fevereiro, 2014

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
(PATOLOGIA E CIÊNCIAS VETERINÁRIA)**

RENATA ALPUIN RUY

Título: MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO DE ENDOMETRITE EQUINA E APLICAÇÃO
DA AUTO-HEMOTERAPIA COMO TRATAMENTO.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Doutor Júlio César Ferraz Jacob (Orientador)
Departamento de Reprodução e Avaliação Animal
IZ- UFRRJ- Seropédica.

Profa. Doutora Vera Lúcia Teixeira de Jesus
Departamento de Reprodução e Avaliação Animal
IZ- UFRRJ- Seropédica.

Prof. Doutor Felipe Zandonadi Brandão
Setor de Reprodução Animal
Faculdade de Veterinária
Universidade Federal Fluminense (UFF)

*Que a gente tenha:
astral bonito,
prece nos lábios,
fé no futuro,
delicadeza nos gestos,
conversa que cura,
cotidiano ajeitado,
firmeza nos passos,
sonhos que salvam.*

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Carlos Maurício Ruy e Inês Alpuin Ruy, pela educação e todo incentivo nessa caminhada, as minhas irmãs Rubiana e Rafaela pelo carinho e apoio em todos os momentos.

Ao Professor Júlio César Ferraz Jacob, meu orientador pelas experiências passadas durante alguns anos de convivência.

Ao meu amigo Jhonnatha Paulo Oliveira, pela paciência e por tudo que me ensinou para poder concluir esse estudo.

A Professora Vera Lúcia Teixeira de Jesus, pela orientação e ensinamentos em boa parte deste trabalho.

As amigas Andressa Guimarães e Juliana Machado pela ajuda e apoio na realização dos hemogramas.

Ao professor Sérgio Gaspar de Campos pela contribuição na realização das culturas fúngicas deste projeto.

A professora Miliane Moreira Soares de Souza e ao Felipe Carlos Dubenczuk pela contribuição da realização dos exames de cultura bacteriológica.

Ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária na Universidade federal do Rio de Janeiro.

Ao Marcos, pelo companheirismo, amizade, paciência nos momentos mais difíceis.

Não se esquecendo de todas as amizades que aqui conquistei, agradeço por deixar compartilhar de suas experiências.

Aos animais, que são razão do meu trabalho.

A todos de perto ou de longe, que de alguma forma contribuíram a realizar esse trabalho.

A todos o meu obrigada!

RESUMO

RUY, Renata Alpuin. **Métodos de diagnóstico de endometrite equina e aplicação da auto-hemoterapia como tratamento.** 2014, 80p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária, Patologia e Ciências Veterinária). Instituto de Veterinária, Departamento de Reprodução e Avaliação Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2014.

Este estudo teve como objetivo avaliar e comparar os métodos de diagnósticos, cultura bacteriológica por *swab*/pinça, *flush* não centrifugado e *flush* centrifugado e a citologia uterina por pinça/escova e *flush* uterino antes e após os tratamentos (auto-hemoterapia e antibióticoterapia). Antes dos tratamentos o crescimento bacteriano pelas técnicas *swab*/pinça, *flush* não centrifugado e *flush* centrifugado foram de 100%, 76,4% e 94,1%, respectivamente ($H=0.91$; $p=0.63$). A frequência total das bactérias foram *Escherichia coli* com 28%, *Corynebacterium* spp e *Serratia marcescens* 14%, *Alcaligenes faecalis* 10%, *Proteus mirabilis* 8%, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus* spp e *Bordetella* spp 6% e com 2% *Moraxella* spp, *Citrobacter freudi*, *Klebsiella oxytoca* e *Enterobacter sakazaki*. Quanto ao tipo de bactéria, sete foram observadas para a pinça e *flush* não centrifugado e 10 para o *flush* centrifugado, ($H=0.56$; $p=0.75$). No pós tratamento o grupo controle apresentou 100% de crescimento bacteriano nos três métodos de cultura. Pela auto-hemoterapia, os métodos *swab*/pinça, *flush* sem centrifugar e *flush* centrifugado apresentou crescimento bacteriano de 100, 80 e 80 % respectivamente ($H=0,86$; $p=0,64$). O grupo da antibióticoterapia, pelos métodos de *swab*/pinça, *flush* não centrifugado e *flush* centrifugado apresentou crescimento bacteriano de 66,66% 50% e 100 % respectivamente ($H=0,86$; $p=0,64$). Os três grupos de tratamentos, não apresentaram diferenças significativas ($H=0.86$; $p=0.64$) no período pós tratamento, dentro das técnicas empregadas. A frequência das bactérias pós tratamento foram, *Corynebacterium* spp e *Klebsiella pneumoniae* 22,85% *Serratia marcescens* e *Alcaligenes faecalis* 14,28%, *Bordetella* spp 11,43%, *Moraxella* spp 8,57% e *Escherichia coli* 5,72%. Pela citologia uterina utilizando a pinça/escova, 100% das éguas avaliadas apresentaram aumento do número de neutrófilos e pelo *flush* uterino centrifugado 52,94%. A média de neutrófilos foi maior para o *flush* uterino centrifugado (5.6 ± 1.6) comparado a citologia com pinça/escova (3.95 ± 0.3), porém não apresentaram diferenças significativas ($U=88.5$; $p=0.23$). O hemograma realizado avaliou os parâmetros de leucometria global, leucometria específica

(neutrófilos), hematócrito e fibrinogênio, através de exames seriados (T0, T6, T24 e T final) e não apresentaram diferenças.

Palavras chave: égua, endometrite, métodos de diagnóstico.

ABSTRACT

RUY , Renata Alquin . **Methods of diagnosis of equine endometritis and implementation of self - hemotherapy as treatment.** 2014,80p. Dissertation (Master in Veterinary Medicine, Pathology and Veterinary Sciences) . Instituto de Veterinária, Departamento de Reprodução e Avaliação Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2014.

The aim of the study was the evaluation and comparison of the diagnostic methods, as bacterial culture swab / tweezers, flush and non-flush centrifuged and uterine cytology clamp/ uterine brush and flush before and after the treatments self hemotherapy and antibiotic therapy. Before the treatments the bacterial growth swab/tweezers, non flush techniques were centrifuged. The flush had 100%, 76.4 % and 94.1%, respectively (H = 0.91, p = 0.63). The total rate of the bacteria *Escherichia coli* was 28 %, *Serratia marcescens* and *Corynebacterium* spp 14 %, *Alcaligenes faecalis* 10 %, *Proteus mirabilis* 8%, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus* spp and *Bordetella* spp 6%, *Moraxella* spp, *Citrobacter freudi*, *Klebsiella oxytoca* and *Enterobacter Sakazaki* 2 %. Regarding the type of bacteria, seven samples were observed with a tweezer, another sample with the non-flush centrifuged and 10 with the flush centrifuged (H = 0:56, p = 0.75). After the post-treatment the control group showed a bacterial growth of 100% for each of the three culture methods. For the self-hemotherapy methods swab/tweezer, flush and non-flush centrifugation a bacterial growth of 100 %, 80 % and 80 % respectively (H = 0.86, p = 0.64) was observed. The group of antibiotic therapy, includes swab/tweezers, flush and non- flush centrifuged methods. In summary they showed a bacterial growth of 66.66 %, 50 % and 100% respectively (H = 0.86, p = 0.64). Three group treatments showed no significant differences (H = 0.86, p = 0.64) within the used techniques. The frequencies of the bacterias, post-treatment, were, *Klebsiella pneumoniae* and *Corynebacterium* spp 22.85%, *Serratia marcescens* and *Alcaligenes faecalis* 14.28%, *Bordetella* spp 11.43%, *Moraxella* spp 8.57% and *Escherichia coli* 5.72%. By using the uterine cytology like the tweezers/brush, 100% evaluated mares showed increased number of neutrophils and the number of centrifuged uterine flush was 52.94% . The average number of neutrophils was higher as the uterine flush centrifugation (5.6 ± 1.6). In comparison with cytology tweezers/ brush (3.95 ± 0.3), but not significantly different (U = 88.5, p = 0:23). The parameters of the blood cell counts were evaluated for global leukocyte counts, specific

leukocyte (neutrophils), hematocrit and fibrinogen in several examinations (T0 , T6 , T24 and T final). All in all no differences could be observed.

Keywords : horse, endometritis, diagnostic methods.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Laudo de cultura bacteriana realizado antes dos tratamentos, pelos métodos de diagnóstico de endometrite equina empregados.	48
Tabela 2. Resultado de cultura bacteriana após os tratamentos, pelos métodos de diagnóstico de endometrite equina empregados.	52
Tabela 3. Resultado do antibiograma antes e após aos tratamentos, pelos métodos de diagnóstico empregados.	55
Tabela 4. Classificação de endometrite e número de neutrófilos pelos métodos de diagnóstico de citologia, pinça/escova e flush uterino, antes e após tratamentos empregados.	60
Tabela 5. Média de Leucometria Global entre os diferentes tempos (T0,T6,T24 e T Final), nos grupos de estudos.	62
Tabela 6. Média de neutrófilos nos diferentes tempos(T0, T6, T24 e T Final), dentro dos grupos.	63
Tabela 7. Média (%) do hematócrito avaliado nos tempos (T0, T6, T24 e T Final).	64
Tabela 8. Valores médios do fibrinogênio nos diferentes tempo (T0, T6, T24 e T Final).	64

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Frequência de crescimento bacteriano pela cultura, realizada por pinça/escova. ..	47
Gráfico 2. Frequência de crescimento bacteriano pela cultura, realizada por <i>flush</i> não centrifugado.	49
Gráfico 3. Frequência de crescimento bacteriano pela cultura realizada por <i>flush</i> centrifugado.	50
Gráfico 4. Média de neutrófilos por campo antes dos tratamentos, pelos métodos de diagnóstico de citologia uterina por escova/pinça e flush uterino.	58
Gráfico 5. Média de neutrófilos por campo após tratamentos nos grupos, controle, auto-hemoterapia e antibióticoterapia, pelos métodos de citologia uterina por pinça/escova e flush uterino.	59
Gráfico 6. Frequência de crescimento fúngico pela cultura, antes dos tratamentos.	61
Gráfico 7. Valor médio de leucometria global do grupo auto-hemoterapia (A) e antibióticoterapia (B), nos diferentes tempos de coleta de sangue.	63

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Imagem fotográfica demonstrando a conformação perineal vulvar normal da espécie equina.....	28
Figura 2. Imagem fotográfica demonstrando a má conformação perineal da espécie equina.	29
Figura 3. Presença de fluido uterino durante o estro.....	30
Figura 4. Delineamento Experimental.....	37
Figura 5. Cronograma de realização da cultura bacteriológica.....	38
Figura 6. Cronograma de coleta de material para citologia endometrial.....	41
Figura 7. Cronograma de coleta de materail do flush uterino.....	42
Figura 8. Materiais para coleta do flush e citologia uterina.....	43
Figura 9. Cronograma de análise da cultura fúngica.....	44

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Zonas de inibição avaliadas pelo diâmetro dos antimicrobianos utilizados.	41
---	----

LISTA DE ABREVIACOES

cm= Centímetro

ml=Mililitro

mm= Milímetro

nm= Nanmetro

PGF2 α = Prostaglandina

PMNs= Polimorfonucleares

TO = Tempo inicial de coleta de sangue

T6 = Tempo de seis horas

T24 = Tempo de vinte e quatro horas

T final = Tempo final da coleta, no ciclo subsequente

rpm= Rotaces por minuto

μ /g = Micrograma

μ /L= Microlitro

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	18
2. REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1 Endometrite Equina	19
2.2 Classificações da Endometrite Equina.....	20
2.2.1 Endometrite persistente pós cobertura	20
2.2.2 Endometrite Infeciosa Crônica (EIC).....	21
2.2.3 Endometrite Crônica Degenerativa (Endometrose)	22
2.2.4 Endometrite causada por Bactérias Sexualmente Transmissíveis.....	22
2.3 Agentes Causadores de Endometrite	23
2.4. Mecanismos de Defesa Uterina da Espécie Equina.....	25
2.4.1 Mecanismos físicos de limpeza uterina.....	25
2.4.2 Mecanismos de Defesa Humoral e Celular	25
2.4.3 Susceptibilidade a Endometrite	26
2.5. Diagnóstico de Endometrite Equina	27
2.5.1 Inspeção.....	28
2.5.2 Exame Ultrassonográfico Uterino.....	29
2.5.3 Citologia Uterina.....	30
2.5.4 Flush Uterino.....	31
2.5.5 Cultura.....	32
2.5.6 Biopsia Uterina.....	33
2.6. Tratamentos de Endometrite Equina.....	33
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	36
3.1 Local e período de execução.....	36
3.2 Animais e Manejo	36

3.3 Exame Ultrassonográfico do Útero.....	37
3.4 Cultura Bacteriológica	37
3.4.1 Procedimento de coleta	37
3.5 Protocolo de Cultura Bacteriológica e antibiograma	39
3.5.1. Isolamento Bacteriano.....	39
3.5.2. Coloração de Gram, Prova do Hidróxido de Potássio (KOH) a 3% e Prova da Catalase	39
3.5.3. Identificação das espécies	39
3.6 Testes de suscetibilidade antimicrobiana.....	40
3.6.1 Preparo do inóculo	40
3.6.2. Difusão em disco simples.....	40
3.6.3 Discos de antimicrobianos	41
3.7 Citologia Endometrial.....	41
3.7.1 Procedimento de coleta	41
3.7.2 Procedimento da análise.....	42
3.8 Flush uterino	42
3.8.2 Cultura Fúngica	44
3.9. Análise Hematológica.....	45
3.9.1 Hematócrito ou volume Globular (%).....	45
3.9.2 Proteínas plasmática e Fibrinogênio	45
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
4.1 Cultura Bacteriológica	46
4.2 Antibiograma	54
4.3 Citologia uterina	57
4.4 Cultura Fúngica.....	61
4.5 Hemograma.....	62

4.5.1 Leucometria global.....	62
4.5.2 Neutrófilos	63
4.5.3 Hematócrito.....	63
4.5.4 Fibrinogênio	64
5. CONCLUSÕES	65
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	66

1. INTRODUÇÃO

O profissional da área de reprodução equina possui como desafio elevar a eficiência reprodutiva de animais de alto valor econômico e ou genético. A infecção uterina é a causa mais importante de redução da fertilidade em éguas (HURTGEN, 2006) que consiste em um processo infeccioso ou não, agudo ou crônico, que acometendo o endométrio, gerando um ambiente uterino inadequado para o conceito, impossibilitando seu desenvolvimento e consequentemente levando a perda embrionária ou aborto.

A infecção endometrial pode ocorrer após o coito, após a parição, devido à má conformação vulvar ocasionando urovagina, pneumovagina ou alguma contaminação durante o exame ou tratamento ginecológico (WINTZER, 1990). A infecção intra-uterina pode ocorrer se houver falhas no mecanismo de defesa auto-higienizante do útero e ou se a patogenicidade ou concentração de microorganismo for elevada (WINTZER, 1990). Os métodos de diagnóstico compreendem exame ginecológico completo, que incluem a ultrassonografia, citologia endometrial, cultura bacteriológica, fungica e biópsia uterina. Outro método utilizado, o flush uterino, no qual se obtêm amostras para a cultura bacteriológica e citologia uterina, é melhor na capacidade de diagnosticar endometrite com base microbiológica quantitativa e achados citológicos, em relação à técnica do *swab* (LEBLANC, MAGSIG, STROMBERG, 2007). O tratamento terapêutico inclui o uso de imunoestimulantes e a aplicação de antimicrobianos por via sistêmica ou por infusões uterinas, drogas ectobólicas.

Como tratamento alternativo a auto-hemoterapia visa estimular a resposta imune do organismo. No presente estudo objetivou-se comparar os resultados da citologia uterina e cultura bacteriológica realizadas através de amostras obtidas por *swab* e *flush* uterino, bem como avaliar a auto-hemoterapia, um método que não é muito estudado em casos de tratamento para endometrite em éguas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Endometrite Equina

A endometrite, uma inflamação do endométrio, aguda ou crônica, infecciosa ou não infecciosa, é a mais importante causa de redução da fertilidade (ASBURY, 1987; HURTGEN, 2006). Além da morte embrionária precoce, devido à alteração do ambiente uterino (BALL et al., 1988), abortamentos e descarte de animais (LAGONI, et al., 1999).

A infecção uterina nas éguas pode ocorrer durante o parto ou logo após ele, em decorrência de pneumovagina ou contaminação durante procedimentos veterinários. Devido a falha no mecanismo de defesa auto-higienizante do útero ou se a patogenicidade e concentração do microorganismo for elevada (WINTZER, 1990).

O lúmen uterino de uma égua fértil normal é bacteriologicamente estéril e tem a capacidade de recuperar-se da contaminação natural ocorrida após o acasalamento ou procedimentos veterinários (JACOB et al., 2002).

Sendo a inflamação induzida primeiramente por bactérias (KOTILAINEN et al., 1994) As células polimorfonucleares (PMNs) tem quimiotaxia pelos espermatozóides, o que sugerem uma resposta inflamatória uterina logo após a cópula ou inseminação artificial, sendo necessária para a limpeza do útero pelo excesso de espermatozóides e plasma seminal (TROEDSON, 2001).

É associada a infecções bacterianas aeróbicas e também causada por infecções anaeróbicas, pneumovagina, acúmulo de urina, de sêmen, infusão intrauterina de substância irritante (RIDLLE et al., 2005), fungos e protozoários (RIBAS, 1998).

A endometrite equina possui algumas classificações como: endometrite aguda (associado a infecções venéreas), endometrite infecciosa crônica, endometrite persistente pós cobertura e endometrose (degenerativa crônica) (WATSON, 2000).

2.2 Classificações da Endometrite Equina

2.2.1 Endometrite persistente pós cobertura

Um processo inflamatório transitório e fisiológico pós-cobertura ocorrem nas éguas, a fim de remover excesso de espermatozóides, plasma seminal e possível contaminantes do útero, com objetivo de tornar o meio adequado para a recepção do embrião no quinto ou sexto dia após a ovulação (LEBLANC et al., 1998).

O sêmen no útero da égua induz uma inflamação fisiológica. Essa endometrite transitória ocorre após a cobertura ou inseminação artificial, a fim de remover os espermatozóides excedentes, plasma seminal e possíveis contaminantes (ZENT et al., 1998; TROEDSSON, 1997; MALOUFI et al. 2002).

Na espécie equina os espermatozóides são depositados no interior do útero, que rapidamente são transportados para as tubas uterinas. Apesar um pequeno número destes chegarem na tuba uterina, onde ocorre a fertilização (TROEDSSON, 1995).

O transporte dos espermatozóides do útero a tuba uterina é completado em quatro horas após a cobertura (BLANCHARD et al., 2003), uma pequena parte dos espermatozóides ejaculado ou inseminado alcançam a tuba uterina (SCOTT; LIU; OVERSTREET, 1995). A inflamação uterina transitória pós cobertura é necessária para limpar o útero do excesso de espermatozóides e debris, com a finalidade de deixar o útero estéril (PYCOCK e ALLEN, 1990).

O útero das éguas responde a presença do sêmen, 30 minutos após a cobertura com o aporte de neutrófilos (KOTILAINEM et al., 1994). O pico da inflamação ocorre 12-14 horas após cobertura (KATILA, 2001; CARD, 2005). A contração miometrial também ajuda na eliminação dos espermatozóides do útero através da cérvix após a cobertura (TROEDSSON, 2006).

Experimentos relataram atrasos na limpeza do líquido acumulado no lúmen uterino após a cobertura (LEBLANC et al., 1994). Este atraso ocorre em éguas susceptíveis, na maioria são éguas mais velhas, devido falhas no mecanismo de defesa (LEBLANC, 2003).

A presença de fluído uterino 48-96 horas após a cobertura, pode ser considerado uma endometrite persistente pós cobertura. Acúmulo de fluído no útero apresenta menor taxa de prenhez e maior taxa de morte embrionária (NEWCOMBE, 1997).

Falha nos mecanismos de defesa da égua, vai promover uma aderência bacteriana no útero, o que vai causar uma infecção bacteriana. Quando há persistência da inflamação, ela passa a ser patológica, chamada de endometrite persistente pós cobertura. O útero se torna incompatível com a sobrevivência do embrião, devido a uma constante liberação de prostaglandinas F2 α (PGF2 α), por causa da inflamação, o corpo lúteo sofre lise e as concentrações de progesteronas diminuem, determinando a falha reprodutiva (LEBLANC, 2003).

É importante entender a diferença entre endometrite fisiológica que é induzida pela cobertura, da endometrite persistente pós-cobertura, que é patológica. A endometrite induzida pela cobertura apresenta descarga vaginal purulenta nas 12 primeiras horas após a cobertura. A endometrite persistente pós cobertura pode ser considerada uma causa importante de infertilidade em éguas susceptíveis (TROEDSSON et al., 2001).

O sêmen de alguns garanhões provoca uma reação inflamatória mais significativa, enquanto que outros, uma inflamação mais branda independente da égua ser susceptível ou não a endometrite persistente pós cobertura (TROEDSSON et al., 2000, TROEDSSON et al., 2002). O plasma seminal é um agente supressor da atividade do sistema complemento e da quimiotaxia pelos PLMNs e fagocitose, agindo como inibidor ou modulador da inflamação uterina (TROEDSSON et al., 2000).

2.2.2 Endometrite Infecciosa Crônica (EIC)

As endometrite infecciosas crônica são infecções oportunistas, persistentes em éguas que têm tendência a contaminação uterina devido a defeitos de conformação perineal, pneumovagina, trauma durante o parto e a perda da contratilidade uterina (LEBLANC et al., 1998).

Normalmente a endometrite infecciosa crônica resulta da contaminação pela biota fecal e genital oportunista, acompanhada de sinais de inflamação como secreção purulenta e acúmulo de líquido no lúmen uterino (BRITO e BARTH, 2003). A citologia uterina apresenta padrão inflamatório e a histopatologia demonstra presença de infiltrados celulares (LEY, 2006).

Geralmente éguas com endometrite infecciosa apresentam a conformação vulvar anormal, mucosa vaginal e cervical hiperêmicas, presença de secreção oriunda da cérvix e na

ultrassonografia observa-se acúmulo de líquido no lúmen uterino (BROWM e BERTONE, 2005).

2.2.3 Endometrite Crônica Degenerativa (Endometrose)

A endometrite crônica degenerativa é uma condição em que ocorrem mudanças degenerativas no endométrio na ausência de inflamação ativa (REED e BAYLY, 2000). Endometrose é um processo progressivo e irreversível e está correlacionado com a idade da égua e pode vir a agravar por agressões frequentes como o coito, infecções ou gestações (RICKETTS e ALONSO, 1991).

Infecções uterinas repetidas ou persistentes podem causar inflamação do endométrio, o pode levar ao desenvolvimento de fibrose periglandular (KENNEY, 1975; GORDON e SARTIN, 1978; CARNEVALE e GINTHER, 1992; CARDARIO et al., 2002).

Além da fibrose, estão presentes acúmulos de linfa, adesão transluminais, formação de divertículos (RICKETTS, 1975). Na fibrose uterina as citocinas TGF- β 1, IL-6 e TNF- α , apresentam variabilidade entre as éguas, sem apresentar diferença significativa na expressão nas éguas com fibrose grave, moderada e as com ausência de fibrose (CADARIO et al., 2002). A fibrose periglandular difusa, independente do seu grau é nociva na capacidade do útero em levar uma gestação a termo (KENNEY, 1978).

Em éguas mais idosas a redução da elasticidade vascular pode resultar na diminuição da perfusão tecidual, hipóxia crônica, ocasionando a produção de citocinas fibrogênica (interleucinas-6 [IL-6], fator de necrose tumoral-alfa [TNF- α], fator de crescimento tecidual-beta [TGF- β]), promovendo a proliferação fibroblástica nos tecidos afetados (LEY, 2006).

Existem alguns tratamentos propostos, como a curetagem química, porém pode não obter sucesso na redução da fibrose ou na condição da fertilidade (BRACHER, 1992; ASBURY e LYLE, 1993; SCHOON et al., 1995).

2.2.4 Endometrite causada por Bactérias Sexualmente Transmissíveis

As infecções sexualmente transmissíveis são causadas pelo garanhão, que dissemina o patógeno entre as éguas, como a *Taylorella equigenitalis*, *Klebsiella pneumoniae* (DIMOCK e EDWARDS, 1928; PLATT; ATHERTON e ORSKOV, 1997) e *Pseudomonas aeruginosas*

(CAUSEY et al., 2006). Os garanhões possuem uma variedade de bactérias no trato genital, que são transferidas para as éguas no momento da cobertura (JACOB et al., 2002).

Muitas bactérias da microbiota natural da vagina são deslocadas para o interior do útero no momento da cópula (HINRICHS et al., 1988). Mais de 80% das éguas são bacteriologicamente positivas em culturas cervicais 24 horas após a cobertura (BRYANS, 1962).

2.3 Agentes Causadores de Endometrite

A etiologia de endometrite na égua é muito variável, podendo ser causada por diferentes microorganismos, por exemplo: *Streptococcus equi*, subsp. *zooepidemicus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* (MORENO et al., 1972; MERKT et al., 1987; LANGONI et al., 1994).

A ação dos microorganismos no útero causa deficiências, o que diminui de forma considerável as chances de uma nova gestação a termo (RICKETTS, 1981; GASTAL et al., 1989). Endometrites bacterianas foram documentadas com relativa frequência por Vaz et al. (1979); Langoni et al. (1999); Watson (2000). As endometrites fúngicas não são tão facilmente diagnosticadas comparados com as bacterianas (PYCOCK, 1999), o cultivo de fungos é mais trabalhoso do que o cultivo de bactérias porque necessita de um tempo maior de incubação (LACAZ; PORTO; MARTINS., 1984).

Langoni et al (1994) realizou um estudo onde colheu 810 *swabs* de éguas, foram isolados *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* (40,6%), *Staphylococcus* sp (23,5%), *Escherichia coli* (12,3%), *Rhodococcus equi* (7,4%) e *Klebsiella pneumoniae* (3,6%). Em que demonstrou maior sensibilidade ao cloranfenicol e gentamicina.

Outro estudo realizado com 15 éguas vazias no fim da estação de monta, demonstrou um crescimento de microorganismos em 11 (73,3%) dos animais. Os microorganismos isolados foram: *Enterobacter* sp (30,8%), *Escherichia coli* (23%), *Streptococcus* sp (15,4%), *Proteus* sp (15,4%), *Klebsiella* sp (7,7%), *Citrobacter* sp (7,7%). Nele demonstrou maior sensibilidade a sulfazotrim (86,0%), enroflorxacina e florfenicol (77,7%), gentamicina e cloranfenicol (69,3%) (JACOB et al., 2002).

A adesão bacteriana é um dos fatores responsável para que ocorra a infecção bacteriana, as adesinas estão presentes na superfície das bactérias e nos receptores da célula do hospedeiro (WITTENBRINK; HOLZLE; BAUMEISTER, 1997). No processo de adesão,

as bactérias se justapõem produzindo uma matriz de polissacarídeos, formando um polímero extracelular, o glicocálix (COSTERTON et al., 1995).

O biofilme produzido por algumas bactérias provoca resistência aos antibióticos e às defesas imunológicas humoral e celular (OLSON et al., 2002). Vários gêneros de bactérias, principalmente *Pseudomonas aeruginosa* secretam biofilme, o que contribui para infecções persistentes (PARKINS; CERI; STOREY, 2001).

As bactérias *Escherichia coli* e *Streptococcus β -hemolítico* produzem fluído intra uterino, que é observado pela ultrassonografia (CAUSEY, 2006). E as infecções causada por *Escherichia coli* secretam biofilme (LEBLANC; MAGSIG; STROMBERG, 2007).

Amostras de secreção uterina cultivado em meio de cultura Agar-sangue e citologia endometrial, isolaram *Candida albicans* em 2,2% (7/317) das amostras e foi isolado em 85,7% (6/7) dos casos pelo exame citológico, o que mostra que poderia ter usado um meio específico seletivo para cultura fungica (LANGONI et al., 1999).

A doença reprodutiva fúngica na égua geralmente é de origem fecal ou da pele. Os principais agentes isolados a partir da cultura de material uterino, são: *Candida* sp e *Aspergillus* sp. Porém, a *Candida albicans* é o agente fúngico que mais acomete o trato reprodutivo da égua, mas existem outros microorganismos causadores de endometrite fungica como o *Actinomyces* sp, *Rhodotorula* sp, *Fusarium* sp, *Penicillium* sp, *Nocardia* sp e *Mucor* sp (PETRITES-MURPHY et al., 1996).

A presença de *Candida albicans* na cultura não significa que estará presente no exame de histologia. Existe a possibilidade de haver contaminação ocasional do endométrio e eliminação espontânea do agente. Em outras situações pode haver invasão mais profunda do fungo devido a filamentação da *Candida* sp. objetivando a necessidade de associar os exames de cultura e histologia (KENNEY, 1978).

O diagnóstico de endometrite fúngica acaba tendo um custo mais elevado, por requerer uso de colorações específicas para identificação das formas fúngicas (CULLING et al., 1985). Um dos motivos é a falta de pesquisa sobre endometrite fungica em animais inférteis, devido à demora do crescimento das culturas fúngicas, e o longo período de tratamento (AMARAL et al., 2007). O prognóstico para a fertilidade de éguas com endometrite micótica é de reservado a desfavorável (PYCOCK, 1999).

2.4. Mecanismos de Defesa Uterina da Espécie Equina

O lúmen uterino de uma égua fértil normal é bacteriologicamente estéril e tem a capacidade de recuperar-se da contaminação natural ocorrida após a cobertura ou procedimentos veterinários (JACOB et al., 2002). A inflamação é uma resposta protetora e complexa que envolve adaptações teciduais, vasos sanguíneos, sangue (componentes líquidos e celulares), tecido conjuntivo, a fim de destruir o agente agressor (CARVALHO, 2004).

2.4.1 Mecanismos físicos de limpeza uterina

Entre os mecanismos físicos que contribuem para a defesa uterina incluem-se o fechamento dos lábios e o posicionamento da vulva (CASLICK, 1937), a contratilidade do miométrio (LEBLANC et al., 1998) e a eficiência da cérvix (MATTOS, 1989), além da produção de muco pelo endométrio (CAUSEY et al., 1997). Deficiência na limpeza do útero no período do estro pode causar endometrite na égua (TROEDSSON e LIU, 1991).

Com o uso da ultrassonografia Ginther e Pierson, (1984), observaram que éguas susceptíveis as endometrites recorrentes retêm uma quantidade significativa de líquido na luz uterina, sugerindo que nestes animais possa estar havendo uma deficiência de contratilidade uterina, sendo este um dos fatores importantes a cronicidade da patologia.

Animais mais velhos e susceptíveis tem uma disfunção mecânica na limpeza do útero o que faz acumular fluídos após a inoculação de bactérias na fase do estro (LEBLANC et al., 1989). A conformação perineal deficiente, a angulação e a forma da vulva, o próprio parto, a prática de exame reprodutivo (LEBLANC; ABSURY; LYLE, 1989) e a contratilidade miometrial (CARD, 2005) contribui para a endometrite.

2.4.2 Mecanismos de Defesa Humoral e Celular

Os mecanismos imunológicos são compostos pelo sistema imune humoral, por algumas classes de imunoglobulinas e pela fagocitose realizada por neutrófilos (MATTOS et al., 2003). O endométrio é considerado parte do sistema imune, por produzir e secretar imunoglobulinas (WIDDERS et al., 1985). Kenney e Khaleel (1975), foram os primeiros a estudar este processo utilizando técnicas de imunodifusão e imunofluorescência, demonstrando a existência de IgA, IgG e IgM na luz do útero.

Éguas com baixa fertilidade possuem um número maior de IgA e IgM no fluido uterino comparado a éguas sadias (BLUE et al., 1982). O complemento é o maior sistema de defesa contra a invasão de microorganismos (CARVALHO, 2004). As opsoninas, especificamente as imunoglobulinas junto o complemento são fundamentais no processo fagocítico, eles aumentam a aderência dos organismos a membrana celular do fagócito (MALSCHITZKY et al., 2007).

O neutrófilo é a célula de defesa mais importante do útero, está presente no lúmen uterino 30 minutos após a cobertura, atingindo o pico 12 horas após (KATILA, 1995; TROEDSSON, 1997). Mediadores pró-inflamatórios no início da inflamação são liberados pelos neutrófilos durante o processo de fagocitose, pelas células do endotélio vascular, por células endometriais lesadas e por macrófagos ativados pela inflamação (MALSCHITZKY et al., 2007).

Os neutrófilos polimorfonucleares (PMNS) ativados liberam a $PGF2\alpha$ pelo metabolismo do ácido aracdônico através da enzima ciclooxigenase. Ela causa contração da musculatura lisa do miométrio e também é mediador inflamatório (TROEDSSON; SCOTT; LIU, 1995).

Para Watson et al. (1987), os neutrófilos sanguíneos e uterinos de éguas susceptíveis têm a menor capacidade migratória e fagocítica, respectivamente, que os de éguas resistentes e os neutrófilos sanguíneos de éguas susceptíveis têm sua função fagocítica inalterada. Produtos tóxicos da atividade bacteriana poderiam estar deprimindo a função dos neutrófilos uterino, assim como defeitos na quimiotaxia e na fagocitose podem resultar em menor capacidade bactericida (ALLEN; PYCOCK, 1989).

A atividade migratória de neutrófilos da corrente sanguínea para os tecidos é essencial no processo de inflamação. A causa de infecções bacterianas resistentes a tratamentos é atribuído a deficiências nessa função migratória, de ingestão e lise intracelular dos neutrófilos (BRENNEIS e HANSCH, 1993). Não há diferença na concentração máxima de neutrófilos entre éguas susceptíveis e as resistentes, porém existe no tempo em que a concentração se mantém elevada, em que nas éguas susceptíveis os neutrófilos permanecem elevados por um período mais longo (KATILA, 1996).

2.4.3 Susceptibilidade a Endometrite

Éguas que apresentam deficiência em eliminar a inflamação do útero, que permanece infectado, deixando um ambiente inadequado para o embrião e acabam desenvolvendo uma endometrite persistente, são classificadas como susceptíveis (LEBLANC; ASBURY; LYLE, 1989; SELLNOW, 2007). Por apresentarem diminuição da contratilidade miometrial, facilita a aderência de bactérias ao endométrio (TROEDSSON; LIU; THURMOND, 1993; LEBLANC et al., 1994).

Outra característica das éguas susceptíveis é a menor liberação de PGF₂ α após a inseminação artificial ou à administração de ocitocina exógena, o que explica a menor capacidade contrátil do útero destes animais (NIKOLAKOPOULOS et al., 2000). Isso permite um acúmulo de fluido no lúmen uterino, por vários dias após a cobertura, com um quadro inflamatório persistente, podendo predispor a infecção bacteriana (LEBLANC, 2003). O acúmulo de fluido prejudica a fagocitose por neutrófilos, levando a acúmulo de óxido nítrico liberado pelos neutrófilos degenerados (TROEDSSON et al., 1993). O óxido nítrico atua reduzindo a contratilidade da musculatura lisa uterina, gerando assim um ciclo vicioso (ALGHAMDI e TROEDSSON, 2002).

A direção das contrações das fibras musculares é diferente entre as éguas susceptíveis e resistentes. Em éguas sadias a contração ocorre da ponta do corno uterino para a cervice, enquanto que nas susceptíveis a contração não é rítmica, podendo se contrair em direção contrária (REITZENSTEIN et al., 2002).

A principal característica relacionada a susceptibilidade é a menor capacidade de limpeza física uterina quando comparadas as éguas resistentes. Éguas susceptíveis apresentam um retardo de duas horas para iniciar a resposta contrátil à presença de espermatozóides e bactérias em relação ao observado em éguas sadias (TROEDSSON et al., 1993).

Éguas resistentes apresentam trato reprodutivo normal, cultura e citologias negativas e biopsia endometrial que se encaixa na classificação I de Kenney (1978), além de conseguirem eliminar a inflamação endometrial em até 48 horas (TROEDSSON, 1997).

2.5. Diagnóstico de Endometrite Equina

O diagnóstico de subfertilidade em éguas torna-se de extrema importância na tentativa de prevenir ou minimizar perdas econômicas (EIGENHEER-MOREIRA et al., 2007). Um exame ginecológico completo é necessário para a detecção da endometrite equina, nele inclui

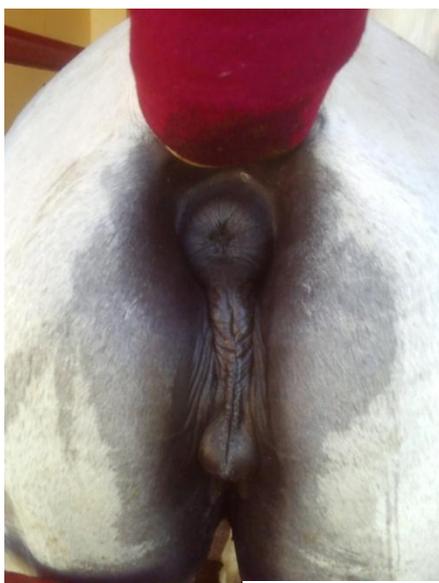
o exame clínico, palpação transretal, exame de ultrassonografia do aparelho reprodutivo, uso do espéculo vaginal, cultura uterina, citologia e a biopsia (RIDDLE; LEBLANC; STROMBERG, 2007).

O histórico dos animais com endometrite mostra alterações no ciclo estral, como a diminuição do ciclo, curtos períodos de diestro. Em outras éguas pode ocorrer um diestro prolongado, anestro devido a baixa atividade folicular também é comum, assim como a presença de corpo lúteo persistente (LEBLANC, 2003).

2.5.1 Inspeção

A avaliação da genitália externa, como a conformação e a angulação dos lábios vulvares, em que qualquer alteração facilitaria a entrada de patógenos no trato reprodutivo externo (CASLICK, 1937; SILVA, 1983). Um estudo realizado com 25 éguas que apresentavam patologias uterinas, após o exame ginecológico, dez animais (40%) apresentaram alteração na conformação vulvar em duas (8%), observou-se corrimento vulvar (RIBAS, 1998).

A conformação perineal pode ser avaliada, conforme mostrado nas figuras 1 e 2. A presença de urovagina e pneumovagina, que predispõem a inflamações uterinas (RIET-CORREA, 2007).



Arquivo pessoal

Figura 1. Imagem fotográfica demonstrando a conformação perineal vulvar normal da espécie equina.



Arquivo pessoal

Figura 2. Imagem fotográfica demonstrando a má conformação perineal da espécie equina.

2.5.2 Exame Ultrassonográfico Uterino

O exame ultrassonográfico tem vantagens como, não ser invasivo, ser uma técnica simples, segura para o animal e o veterinário, além de fornecer um diagnóstico rápido (GINTHER, 1996).

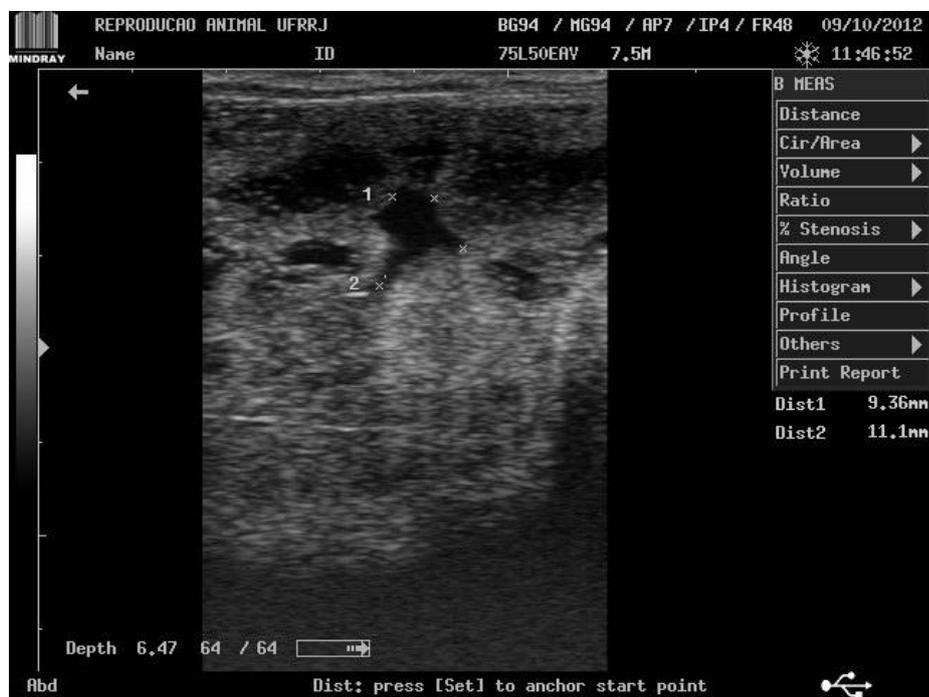
O acúmulo de fluido no útero é um indicativo de égua susceptível (CAUSEY et al., 2006). Durante o estro, ocorre um aumento de secreção endometrial e formação de edema, é comum ocorrer acúmulo de fluido menor ou igual a 3,0mm de diâmetro, que são achados ultrassonográficos normais (BLANCHARD et al., 2003). A presença de fluido uterino (4x10mm), que é observado no final do diestro pela imagem ultrassonográfica é indicativo de endometrite (CURNOW, 1991).

A detecção de dois ou mais centímetro de fluido intrauterino no cio ou no período de seis ou 36 horas pós cobertura também indica que a égua é susceptível a endometrite pós cobertura (BRINSKO et al., 2003; BUCCA et al., 2008).

No exame ultrassonográfico é possível observar um edema uterino associado a um acúmulo de 10 a 20 mm de fluido que se acumula no corpo e nos cornos do útero (BRINSKO et al., 2011). Éguas susceptíveis podem acumular mais que 20 mm de fluido intrauterino durante o estro (BRINSKO et al., 2003).

Éguas que apresentam acúmulo de fluido intrauterino durante o estro (Figura 3) podem ter alguma alteração uterina degenerativa, como angiopatias ou por fatores como: cérvix

fechada que dificulta a drenagem; produção de fluido aumentado, pneumovagina o que faz aumentar o processo inflamatório (LEBLANC, 2010).



Arquivo pessoal

Figura 3. Presença de fluído uterino durante o estro.

2.5.3 Citologia Uterina

A citologia é um método de diagnóstico preferencial para detectar a presença de inflamação uterina, por ter um baixo custo, comparado a cultura uterina (JACOB et al., 2003). É um método utilizado como meio de detecção de endometrite na qual se observa a presença de células inflamatórias (BLANCHARD, 1998).

Quando é identificado neutrófilo na citologia uterina é indicativo absoluto de inflamação (ASBURY; GORMAN; FOSTER, 1984; CAUSEY et al., 2006). É importante considerar os resultados da amostra citológica com quadro clínico da égua, associado ao exame bacteriológico (PIMENTEL et al., 1989).

A presença de linfócitos, macrófagos ou plasmócitos indica um problema crônico. Eosinófilo indica infecções fúngicas ou pneumovagina (DASCANO; LEY; BOWEN, 1997).

Existe uma relação positiva entre culturas positivas e exames citológicos (LAGONI et al., 1994).

Os neutrófilos indicam inflamação ativa, decorrente de monta recente ou exame ginecológico, resultando em citologia positiva transitória. Citologia positiva persistente sem crescimento bacteriano indica caso não infeccioso recidivante, como em pneumo e urovagina. Nos casos de cultura positiva acompanhado de citologia positiva é diagnóstico de infecção uterina. Cultura positiva com citologia negativa, em geral é indicativo de possível contaminação durante o processo de colheita do material (BROWN e BERTONE, 2005).

2.5.4 Flush Uterino

Flushes uterinos têm sido usados para realização de exames microbiológicos e exame citológico do endométrio de égua e representam uma alternativa para swabs endometrial (BALL et al., 1988; PALM et al., 2006).

Ball et al. (1988) demonstraram que o flush uterino melhora a capacidade de diagnosticar endometrite com base na microbiologia quantitativa e achados citológicos em relação a técnica de *swab*. O aumento da frequência de diagnóstico de endometrite com a técnica de *flush* foi mais evidente em éguas subférteis do que normal (LEBLANC, MAGSIG, STROMBERG, 2007).

Pelo método de flush uterino 70% das amostras apresentaram crescimento bacteriano. *Escherichia coli* foi isolada em maior frequência sozinha (27,6%) e em combinação com outro microorganismo (14,6%). *Streptococcus* beta hemolítico foi o segundo mais isolado (20,9% único e 16,7% em combinação com um segundo microorganismo). Os dois organismos foram isolados em 79,8% das culturas positivas no flush (LEBLANC, MAGSIG, STROMBERG, 2007).

Infecções mistas com *Streptococcus* beta hemolítico e *Escherichia coli* foram 2-4 vezes mais comuns no flush comparado a cultura pelo *swabs* (NIELSEN, 2005; RIDDLE et al., 2005). A técnica de *flush* de baixo volume, pode identificar mais organismos patogênicos que a técnica de *swab*, devido ao soro fisiológico entrar em contato com uma maior área de superfície do endométrio (LEBLANC, MAGSIG, STROMBERG, 2007).

2.5.5 Cultura

A cultura possui significado clínico quando está associado com inflamação do endométrio diagnosticado pelo resultado da citologia e ou biópsia, devendo o agente ser potencialmente patogênico para ser levado em consideração. Agentes irritantes como ar (pneumovagina) e urina (urovagina) não estão associados a crescimento bacteriano (RIET-CORREA, 2007).

A interpretação correta das culturas microbiológicas do endométrio da égua requer a consideração de possíveis falsos positivos e falsos negativos. Culturas falsas positivas foram associadas à contaminação do instrumento no meio ambiente, a genitália externa e a vagina (BLANCHARD et al., 1981; RICKETTS, 1981).

O isolamento de um determinado microorganismo não representa definitivamente endometrite, podem ocorrer falso positivos devido a contaminação do ambiente (JACOB et al., 2002; LAGONI et al., 1994).

Por outro lado, culturas falsas negativas foram definidas como amostras do endométrio, sem isolamentos microbiológicos, mas com evidência histológica de endometrite (KNUDSEN, 1964; BAIN, 1966; KENNEY, 1978; RICKETTS e MACKINTOSH, 1987). Culturas falsas negativas podem estar associadas a amostragem inadequada do endométrio ou com o uso de técnicas de cultura aeróbica que não podem recuperar bactérias anaeróbias, vírus ou micoplasma (MOORTHY, 1977; KENNEY, 1978; RICKETTS, 1987).

O uso do *swab* para obter amostra destinada a cultura bacteriológica do útero em combinação com a identificação de neutrófilos no esfregaço citológico, diminuiu consideravelmente o número de éguas tratadas de forma inadequada. Porém nem todas as éguas com endometrite são identificadas com o *swab*, por ele só entrar em contato com uma área de 1-2cm de endométrio diretamente cranial ao colo do útero (LEBLANC, MAGSIG, STROMBERG, 2007). Neilsen (2005), informou que apenas 38 de 84 éguas (45%) com bactérias isoladas a partir de uma biópsia endometrial, tinham bactérias isoladas a partir de uma cultura do útero.

O resultado da cultura tem que ser baseado no microorganismo isolado, no histórico clínico do animal e nos exames ginecológico (DIGBY, 1978).

2.5.6 Biopsia Uterina

Através da técnica de biópsia uterina é possível observar variações histológicas das fases do ciclo estral, na fase progesterônica o epitélio luminal possui altura média ou alta e a densidade glandular é maior. Na fase estrogênica, o epitélio é alto e as glândulas endometriais estão alongadas no sentido do estrato esponjoso para o lúmen. Observam-se alterações inflamatórias e degenerativas, como processos crônicos com depósito de colágeno que leva fibrose. Além disso, podem ser observadas lacunas linfáticas (dilatação de vasos), cistos endometriais, e glândulas císticas. Essas alterações estão relacionadas à idade avançada das éguas e à fibrose endometrial (RIET-CORREA, 2007).

2.6. Tratamentos de Endometrite Equina

A endometrite é de difícil tratamento pelo fato de ser uma doença multifatorial, de inúmeras variáveis associadas com cada égua afetada, não devendo ser tratada com protocolos padronizados (HURTGEN, 2006). Assim, o tratamento é realizado com base na tentativa de minimizar os fatores predisponentes nas éguas em risco.

O tratamento terapêutico das endometrites inclui o uso de imunoestimulantes, no intuito de aumentar a imunidade local, e a aplicação de antimicrobianos por via sistêmica ou por infusões uterinas (ZINHGER, 1996). A seleção dos antimicrobianos a serem utilizados para o tratamento é baseado na prevalência dos microrganismos e na susceptibilidade desses frente aos antimicrobianos (McCUE et al., 1991).

Para escolher um antibiótico ideal para o tratamento de endometrite, é necessário que se confirme que a bactéria presente no útero seja potencialmente patogênica. Para se ter certeza, tem que ser feito o isolamento bacteriano e sua identificação, em caso positivo é feito o antibiograma (DAVIS e ABBIT, 1977). Sempre associar o resultado clínico de presença de crescimento bacteriano em cultura com o quadro clínico e a presença de infertilidade (BETSCH, 1992).

A ocitocina é um agente uterotônico e é utilizado no tratamento de éguas susceptíveis a endometrite por ajudar na limpeza uterina (LEBLANC et al., 1994). Ela estimula a contração uterina e do oviduto (RIGBY et al., 1999). A ocitocina age na contração uterina por se ligar a receptores miometriais, que variam em número de acordo com a fase estral, onde a maior concentração é na fase estrogênica e menor no período pós-ovulatório (RIGBY et al.,

1999; GUTJAHR et al., 2000; VERONESI et al., 2006). O uso de ocitocina no dia da ovulação e no dia posterior não afeta na formação do corpo lúteo, na produção de progesterona e portanto na taxa de prenhes (BRENDENMUEHL, 2002).

O uso de prostaglandina (PGF α) em éguas com endometrite é devido causar uma limpeza física do útero por promover contrações miométriais o que ajuda a eliminar os fluídos inflamatórios (VERONESI et al., 2006). Seu uso após a ovulação pode ser capaz de interferir na formação do corpo lúteo, o que pode afetar a produção de progesterona e a taxa de prenhes. Possui uma vantagem em relação a ocitocina, sua atividade miométrial é de aproximadamente cinco horas e a da ocitocina de 45 minutos (BRENDENMUEHL, 2002; LEBLANC, 2003).

O uso de antiinflamatórios não esteróides (fenilbutazona) em éguas com endometrite persistente pós-cobertura, inibe a síntese de prostaglandinas, o que leva um atraso na limpeza uterina (LEBLANC, 1997). Os antiinflamatórios esteróides sistêmicos (AIES) tem função de metabolismo de mediadores inflamatórios, diminuindo a migração dos neutrófilos para o local da inflamação. Possui uma incapacidade de penetração na região da lesão, devido à uma mudança na conformação da superfície celular junto com a supressão das ações dos neutrófilos e inibição da síntese de mediadores inflamatórios, dificultando a exudação dos fluídos uterinos (ANDRADE, 2002).

A lavagem uterina tem o objetivo de auxiliar a limpeza do órgão, melhorar o fluxo sanguíneo e linfático do útero, diminuir a quantidade de bactérias, fungos e leveduras responsáveis pela contaminação, diluir seus produtos metabólicos, aumentar o aporte de neutrófilos para que eles migrem para os tecidos endometriais promovendo a defesa celular (LEY, 2006).

Existem outros tratamentos alternativos, como o uso de plasma precedido de lavagem uterina em éguas com endometrite pós cobertura, que contribui com opsoninas auxiliando os polimorfonucleares no mecanismo de fagocitose bacteriana. O uso do plasma tem como objetivo, aumentar as imunoglobulinas intrauterinas.

A curetagem uterina é um método seguro e relativamente fácil de ser realizado, tendo um melhor resultado na fase de diestro (LEY, 2006).

Muitos agentes tem sido usado como processo de curetagem química para o tratamento de endometrite na égua. Incluem-se dimetil-sulfóxido (DMSO), o peróxido de hidrogênio (H₂O₂), sulfato de magnésio (MgSO₄), querosene e desinfetantes diluídos (solução iodo-povidine 0,2%).

A eletro-acupuntura também tem sido usada clinicamente para aumentar a contratilidade uterina em éguas com atraso na limpeza uterina (LIU e TROEDSSON, 2008).

A auto-hemoterapia conhecida como terapia do soro, imunoterapia, auto-hemotransfusão ou transfusão de sangue autólogo (SHAKMAN, 2007). O processo consiste na retirada de sangue por punção venosa e sua imediata administração, por via intramuscular ou subcutânea, sendo o doador e o receptor o mesmo indivíduo. Pode ser comparado a uma aplicação de uma vacina autógena, atuando dessa forma na estimulação da resposta autoimune do organismo (LEITE, 2008).

Acredita-se que a auto-hemoterapia promova um estímulo proteico inespecífico e, em casos de doenças inflamatórias crônicas, promova a reativação orgânica. Os produtos da degradação eritrocitária são responsáveis por estimular o sistema imune normal, permitindo a manutenção da homeostasia (SANTIN e BRITO, 2004).

A administração intramuscular de sangue autógeno após cirurgias tem efeito estimulante sobre o sistema retículo-endotelial, bem como o sistema simpático, que aumenta a atividade e resistência dos tecidos (METTENLEITER, 1936).

No caso da papilomatose bovina, quando o organismo do animal absorve o sangue venoso, o sistema imune é ativado e passa a produzir anticorpos contra o papiloma, o que leva à eliminação da enfermidade (LOBATO e BIRGEL, 2000).

A auto-hemoterapia é um método seguro, porém não isento de complicações. Deve ser praticado e indicado através de profissionais habilitados. A terapia sendo supervisionada e praticada por tais profissionais não pode ser proibida, nem se constituir em ato criminoso ou antiético. O que se deve coibir é o uso indiscriminado através da auto aplicação ou da transfusão de sangue por indivíduos inabilitados (OLIVEIRA, 2007).

Os procedimentos das imunoterapias específicas e inespecíficas podem ser aplicados a todos os tipos de patologias, pelo fato de que na maioria das doenças infecciosas, parasitárias, neoplásicas, degenerativas e autoimunes, o sistema imune estar sempre envolvido no desenvolvimento de todo o processo: início, evolução, controle e cura (VERONESI, 1976).

O tratamento de diversas doenças constitui-se principalmente de antibioticoterapia e tratamentos de suporte. O alto custo e os possíveis efeitos colaterais causados pelos antibióticos estimulam pesquisas que culminem com o desenvolvimento de novas técnicas e agentes que possam minimizar tais custos e efeitos indesejáveis (GARCIA, 2008).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Local e período de execução

O experimento foi realizado na Área de Reprodução Animal do Departamento de Reprodução e Avaliação Animal - Instituto de Zootecnia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, e em haras comerciais da região de Seropédica, no Rio de Janeiro, durante estação de monta de 2012/2013, considerando o período entre outubro de 2012 a junho de 2013. A análise laboratorial das amostras foi realizada nos Laboratórios de Bacteriologia e de Micologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ).

3.2 Animais e Manejo

O experimento foi concedido pelo Comitê de Ética, para sua realização. Foram estudadas 17 éguas da raça Mangalarga Machador, com idade entre oito a 18 anos, onde o critério para a égua entrar no estudo foi delas terem sido inseminadas três ou mais vezes sem recuperação embrionária nos casos das doadoras, inseminadas três ou mais vezes sem apresentarem diagnóstico positivo de gestação em éguas matrizes e éguas receptoras que após receberem embriões duas ou três vezes não apresentarem resultado satisfatório, além de terem histórico de repetições de cio.

Foram coletadas amostras para cultura bacteriológica, citologia endometrial, e cultura fúngica respectivamente e amostra de sangue para hemograma. Os exames foram realizados no período do estro (fase estrogênica), pela detecção do edema uterino e devido a maior irrigação sanguínea do endométrio. no ciclo subsequente ao tratamento, era realizado uma nova coleta de materiais.

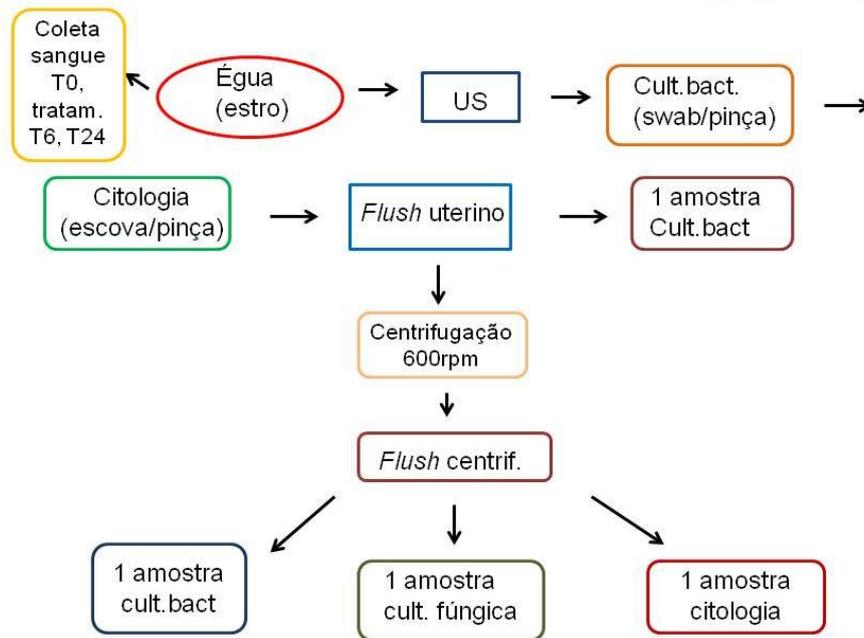


Figura 4. Delineamento Experimental.

Os animais foram divididos aleatoriamente dentro de três grupos:

Grupo Controle: quatro animais, que não receberam nenhum tipo de tratamento;

Grupo Auto-hemoterapia: sete animais receberam 20 ml de sangue autólogo por via intramuscular, uma vez por semana durante 10 semanas consecutivas;

Grupo Antibióticoterapia: seis animais receberam 20 ml de enrofloxacina 10%, por via intramuscular num período de 5 dias consecutivos.

3.3 Exame Ultrassonográfico do Útero

Todos os animais foram avaliados pelo exame ultrassonográfico com um aparelho de ultrasson Sonovet 2000 e transdutor linear de 5 Mhz antes das coletas de material para a cultura bacteriológica e de citologia uterina. A avaliação foi feita em toda a área uterina afim de visualizar sua condição e possíveis acúmulos de fluidos.

3.4 Cultura Bacteriológica

3.4.1 Procedimento de coleta

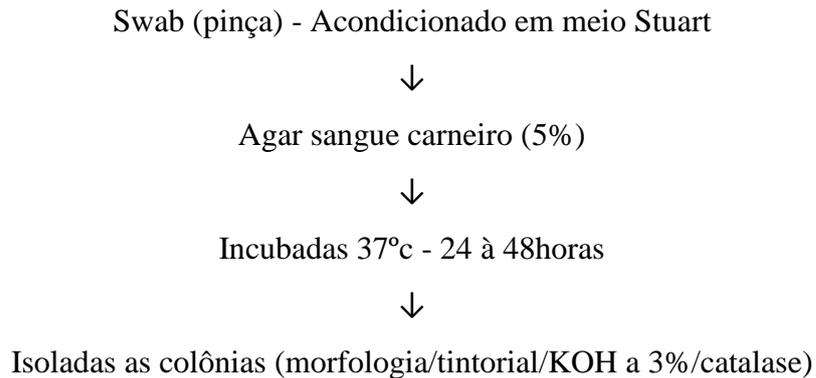


Figura 5. Cronograma da realização da cultura bacteriológica.

Foi utilizado *swab* estéril com haste flexível e de ponta de algodão hidrofílico (BJURSTROM, 1993), aparelho para coleta de citologia, de aço inoxidável (pinça), meio de transporte Stuart para o acondicionamento do *swab* (SANTOS, 2006), luva de palpação descartável, bandagem, água, povidine degermante e papel toalha.

As éguas foram contidas no tronco adequadamente, a cauda foi envolvida com uma bandagem e presa para o alto. Após o reto ser esvaziado (CARD, 2005), a região perineal foi lavada com iodo povidona degermante e secada com papel toalha.

O *swab* que foi acoplado na extremidade do aparelho para coleta de citologia, de aço inoxidável (pinça) foi ocultado para o interior da mesma. A extremidade do aparelho foi protegida pela luva na mão e só foi exposta quando chegou a cérvix (CARD, 2005), ao passar a cérvix o *swab* foi exposto no útero na região do corpo uterino (LAGONI et al., 1999), onde foram realizados movimentos circulares. O *swab* foi removido do útero e novamente protegido pela mão, retirando-o do trato reprodutivo e assepticamente acondicionado no meio Stuart.

As amostras foram devidamente identificadas com o nome, idade, mantidas sob refrigeração e encaminhadas ao Laboratório de Bacteriologia da UFRRJ, para a análise da microbiológica.

3.5 Protocolo de Cultura Bacteriológica e antibiograma

3.5.1. Isolamento Bacteriano

As amostras coletadas através de *swabs* foram submetidas à rotina de identificação que consistiu no isolamento em Ágar Sangue de Carneiro contendo 5% sangue desfibrinado de carneiro (AS). As placas foram incubadas a 37°C (\pm 2°C) por 24 horas, em anaerobiose e aerobiose, apresentando crescimento negativo as placas retornavam a estufa por mais 24 horas, assim o resultado de crescimento bacteriano era confirmado após 48 horas de incubação.

Após o isolamento das colônias, procediam às análises das características morfológicas, sendo realizada a coloração de Gram para avaliação das características morfotintoriais e teste do KOH (3%) para confirmação das mesmas, além do teste da catalase.

3.5.2. Coloração de Gram, Prova do Hidróxido de Potássio (KOH) a 3% e Prova da Catalase

Após a identificação presuntiva das colônias, estas foram submetidas ao método de Gram, para confirmação das suas características morfotintoriais. A prova do hidróxido de potássio foi efetuada através da adição de uma gota de KOH (3%) à uma gota da suspensão bacteriana. A não formação de um gel viscoso indicou um resultado negativo confirmando a prova do Gram, uma vez que todas as bactérias Gram positivas são negativas na prova do KOH a 3%.

O teste da catalase foi realizado através de teste em lâmina. Para tal, foi depositada uma gota da suspensão bacteriana homogênea, à qual adicionava-se uma gota da solução de peróxido de hidrogênio (H₂O₂). A formação de bolhas de O₂ indicava teste positivo. (KONEMAN, 2008).

3.5.3. Identificação das espécies

Após os resultados presuntivos, os isolados foram semeados em meios seletivos e também testados nas provas bioquímicas. Os bastonetes positivos não esporulados foram semeados em Ágar Muller Hinton (AMH) e as provas utilizadas para identificação foram Catalase, Motilidade e Hidrólise da esculina.

Os cocos gram positivos catalase negativo foram identificados diretamente do Agar Sangue em Anaerobiose, com os resultados do CAMP, hidrólise da esculina, Crescimento de meio contendo 6,5% de NaCl.

Os cocos gram positivos catalase positivo foram semeados em Agar Manitol Vermelho de Fenol e analisado o crescimento e fermentação do manitol, após foram identificados com utilização dos testes bioquímicos de fermentação de manitol, maltose e manose e o teste de Voger Proskauer.

A identificação dos bastonetes negativos procedeu primeiramente com a separação dos grupos das enterobactérias dos bastonetes negativos não fermentadores. O teste utilizado para a separação dos grupos foi o meio TSI, meio composto de três açúcares (glicose, sacarose e lactose), e ferro. Após a separação dos grupos, as enterobactérias foram identificadas com os testes de Indol, Vermelho de Metila, Voger Proskauer, Citrato, H₂S, Motilidade, Produção de Gás e fermentação da lactose. Os bastonetes não fermentadores foram identificados conforme Koneman et al., 2008.

3.6 Testes de suscetibilidade antimicrobiana

3.6.1 Preparo do inóculo

Os isolados foram suspensos em caldo BHI, incubados durante 24 horas a uma temperatura de 37°C e diluídos na concentração do tubo 0,5 da escala de Mc Farland, equivalente a $1,5 \times 10^6$ células/mL. Tal concentração foi ajustada através do espectrofotômetro de absorvância, onde a densidade correta de turbidez variou de 0,08 a 0,1 utilizando comprimento de onda de 625nm.

Para comparação e controle dos testes foram utilizadas cepas padrão ATCC 43300 *S. aureus* e ATCC 25922 obtidas junto ao Instituto Nacional de Controle de Qualidade/INCQS/FIOCRUZ.

3.6.2. Difusão em disco simples

A suspensão bacteriana (0,1ml) foi distribuída por toda a superfície das placas contendo Ágar Mueller Hinton (Merck) com o auxílio da alça de Drigalski. Os discos foram depositados sobre a superfície do meio de cultura, já contendo o inóculo. Após incubação por

24 horas a 37⁰C, os diâmetros formados na zona de inibição ao redor do depósito dos fármacos, foram observados e medidos, em milímetros (CLSI, 2012).

3.6.3 Discos de antimicrobianos

No quadro 1 estão listados os antibióticos testados nesse estudo e suas respectivas zonas de inibição de acordo com o CLSI, 2012.

Quadro 1. Zonas de inibição avaliadas pelo diâmetro dos antimicrobianos utilizados.

Antimicrobianos	ZONAS DE INIBIÇÃO (mm)		
	Resistente	Intermediário	Sensível
Estreptomicina (10µg)	≤11	12-14	≥15
Enrofloxacina (10µg)	≤14	15-17	≥18
Gentamicina (10µg)	≤12	13-14	≥15
Norfloxacina (15µg)	≤12	13-16	≥17
Sulfametoxazol-trimetropim (25µg)	≤10	11-15	≥16

3.7 Citologia Endometrial

3.7.1 Procedimento de coleta

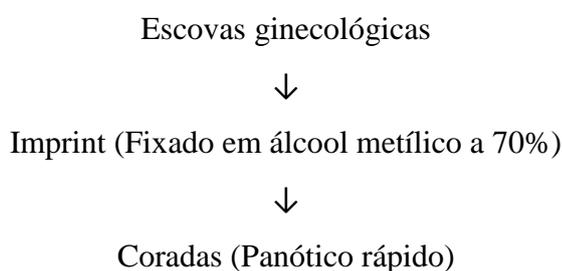


Figura 6. Cronograma de coleta de material para citologia endometrial.

Foram utilizadas escovas ginecológicas "cytobrush" (ALVARENGA; MATTOS, 1991), aparelho para coleta de citologia, de aço inoxidável (pinça), lâmina lisa com borda

fosca, corante Panótico Rápido, microscópio óptico, luva de palpação descartável, bandagem, água, povidine degermante e papel toalha.

O mesmo utilizado anteriormente. Imediatamente após a coleta foi confeccionado, pelo método de imprint, um esfregaço em toda a superfície da lâmina. As lâminas foram identificadas, fixadas em álcool metílico a 70%, e coradas com solução pancrômica (Panótico rápido).

3.7.2 Procedimento da análise

A leitura do esfregaço foi realizada em microscópio óptico com aumento de 40 vezes contando-se pelo menos cinco campos (LAGONI et al., 1999). A classificação segundo a severidade foi realizada de acordo com Riddle, Leblanc e Stromberg (2007), em que de 0 a 2 neutrófilos por campo é considerada citologia normal, de 3 à 5 neutrófilos por campo inflamação moderada e mais de 5 neutrófilo por campo, inflamação severa.

3.8 Flush uterino

3.8.1 Procedimento para a coleta

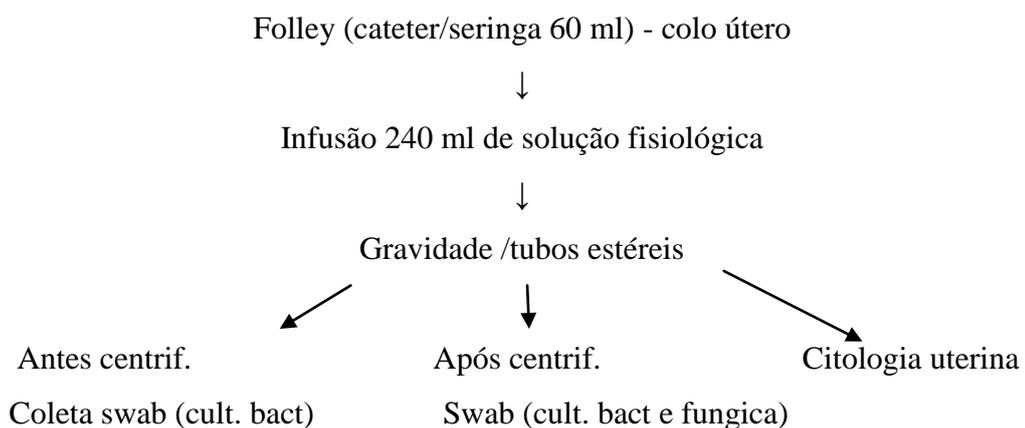


Figura 7. Cronograma de coleta de material do flush uterino.



Arquivo pessoal

Figura 8. Materiais para coleta do flush e citologia uterina.

As éguas foram contidas no tronco e a região perineal higienizada. Em seguida o examinador vestido de luva de palpação invertida, introduziu o cateter *Folley* (Bivona®) no útero (Figura 6). Aproximadamente 12 cm do cateter até ultrapassar o colo do útero (LEBLANC, MAGSISG, STROMBERG, 2007).

Foi infundido 240 ml de solução fisiológica no útero via cateter com utilização da seringa de 60 ml. O útero foi manipulado por palpação retal num período de 30 segundos, para distribuir o fluido ao longo do lúmen uterino (LEBLANC, MAGSISG, STROMBERG, 2007).

O fluido foi drenado por gravidade e acondicionado em tubos estéreis. Foi retirado uma amostra com *swab* antes da centrifugação, para a realização da cultura bacteriológica. As amostras foram centrifugadas a 600 rpm por 10 minutos. O sobrenadante foi descartado, e do pellet restante, retirado uma amostra através do *swab* estéril (LEBLANC, MAGSISG, STROMBERG, 2007), armazenado em meio Stuart para transporte e encaminhado para cultura bacteriológica. Uma segunda amostra do material centrifugado, acondicionado no tubo estéril, para a realização da cultura fúngica. A terceira amostra do centrifugado foi utilizado para a realização da citologia uterina.

3.8.2 Cultura Fúngica

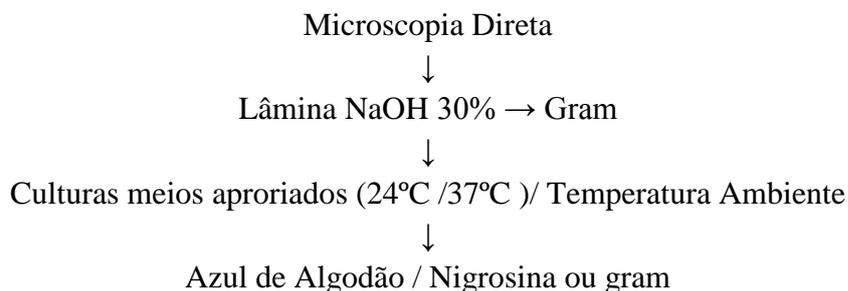


Figura 9. Cronograma de análise da cultura fúngica.

As análises da cultura fúngica seguiram a rotina laboratorial utilizando a microscopia direta, lâmina com NaOH 30%, coradas pelo gram. O isolamento em meio de cultura, pelos protocolos de identificação seguiram as chaves preconizadas por Crous et al. (2009). Os materiais após preparadas as laminas e visualizados a microscopia, foram inoculados em meios de cultura em tubos de ensaio, espalhando-se o material na superfície dos mesmos. Os meios de cultura utilizados foram:

- Dichloran rose bengal chloramphenicol Agar;
- Potato-dextrose chloramphenicol Agar;
- Sabouraud glucose Agar;
- Sabouraud maltose Agar;
- Mycosel Agar;

Em alguns meios de cultura para eliminação de bactérias foram utilizados :

- Cloranfenicol 40 μ /ml;
- Penicilina 20UI/ml + Estreptomicina 40UI/ml;
- Cicloheximida a 0.05%;

Os meios de cultura inoculados em triplicata foram mantidos em temperaturas de 24°C, 37°C e temperatura ambiente. Após desenvolvimento de colônias foram observados os aspectos das mesmas e, preparadas lâminas com azul de algodão, NaOH a 30%, nigrosina ou Gram de acordo com a característica do fungo. Para fungos unicelulares utilizou-se também o auxanograma, assimilação de nitrato, produção de uréase entre outros testes bioquímicos.

3.9. Análise Hematológica

A avaliação hematológica foi realizada em três tempos: antes do tratamento (T0), seis horas após o tratamento (T6) e vinte e quatro horas após do mesmo (T24).

De cada animal foram colhidos 5 ml de sangue, por meio de punção jugular em tubo de colheita a vácuo com anticoagulante EDTA (ácido etilenodiaminotetracético, sal potássico) a 10% (em solução aquosa), para a realização de hemograma, proteínas plasmáticas totais e fibrinogênio. A hematimetria e leucometria total foram realizadas em contador automático POCH 100 e o diferencial leucocitário pelo método imprint, onde foi realizado um esfregaço em toda a superfície da lâmina, fixadas em álcool metílico à 70 % e corados em solução pancrônica (Panótico Rápido) e feita a leitura por microscopia ótica, contando 100 células na borda da lâmina. A determinação da proteína plasmática total foi realizada por meio da técnica de refratometria e o fibrinogênio pela técnica de aquecimento a 56^o C, segundo JAIN (1993).

3.9.1 Hematócrito ou volume Globular (%)

O frasco com sangue e anticoagulante foi homogenizado, e por capilaridade preencheu o tubo capilar (75mm x 1mm). Foi fechada a extremidade seca, em chama de bico de Bunsen e centrifugando o tubo a 1.200 rpm por 5 minutos na microcentrífuga Bio ENG Modelo Eureka I, obtendo-se o resultado em %.

3.9.2 Proteínas plasmática e Fibrinogênio

O plasma obtido pelo hematócrito foi empregado para o exame de concentração de proteínas plasmáticas totais e concentração de fibrinogênio plasmático, utilizando-se o tratamento do plasma inicialmente pelo calor seguida de centrifugação para aferição (SCHALM; JAIN; CARROL, 1975). A diferença da refratometria plasmática e sérica obteve-se o fibrinogênio.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teste não paramétrico de Kruskal-Wallis test foi utilizado para as seguintes análises: cultura bacteriológica utilizando pinça/swab, *flush* não centrifugado e *flush* centrifugado, antes e após nos três grupos de tratamentos (controle, auto-hemoterapia e antibióticoterapia) e para investigar a ocorrência de alterações entre os tempos (T0 a T final) nos dados de hemograma.

Quando apenas duas variáveis foram testadas o teste U de Mann-Whitney foi empregado, sendo este o caso das análises dos fungos antes e após os tratamentos e no caso da utilização da pinça/escova e do *flush* centrifugado na citologia uterina, antes e após o tratamento. Todas as análises foram realizadas através do programa PAST SOFTWARE.

4.1 Cultura Bacteriológica

Antes dos tratamentos (auto-hemoterapia e antibióticoterapia) a porcentagem de crescimento bacteriano para as técnicas swab/pinça, *flush* não centrifugado e *flush* centrifugado foram de 100%, 76,4% e 94,1% respectivamente ($H=0.91$; $p=0.63$).

Este resultado foi diferente ao de Leblanc, Magsisg e Stromberg (2007), que pela técnica de *flush* centrifugado apresentou um resultado de 70%, porém foi utilizado 60 ml para coleta e no presente estudo o volume foi de 240 ml, o que pode explicar a diferença encontrada entre os trabalhos. Essa alta taxa de isolamento bacteriano durante o estro pode ser pelo fato que nessa fase o útero sofre constantes processos de limpeza física, afim de preparar o útero para receber o embrião, a cérvix se dilata com aumento da atividade miométrica no sentido dos cornos para a cérvix, para eliminar contaminantes (KATILA, 1996).

Pela técnica swab/pinça, foram coletadas 17 amostras para cultura bacteriológica, onde observou 100% de crescimento bacteriano, o animal (E15) apresentou crescimento misto de duas bactérias, portanto foram identificados 18 isolamentos bacterianos, dentre elas *Escherichia coli* 27,78%, *Serratia marcescens* 22,23%, *Corynebacterium* spp 16,67%, *Proteus mirabilis* e *Klebsiella pneumoniae* 11,11% cada, *Moraxella* spp e *Citrobacter freudi* 5,5% cada (Gráfico 1).

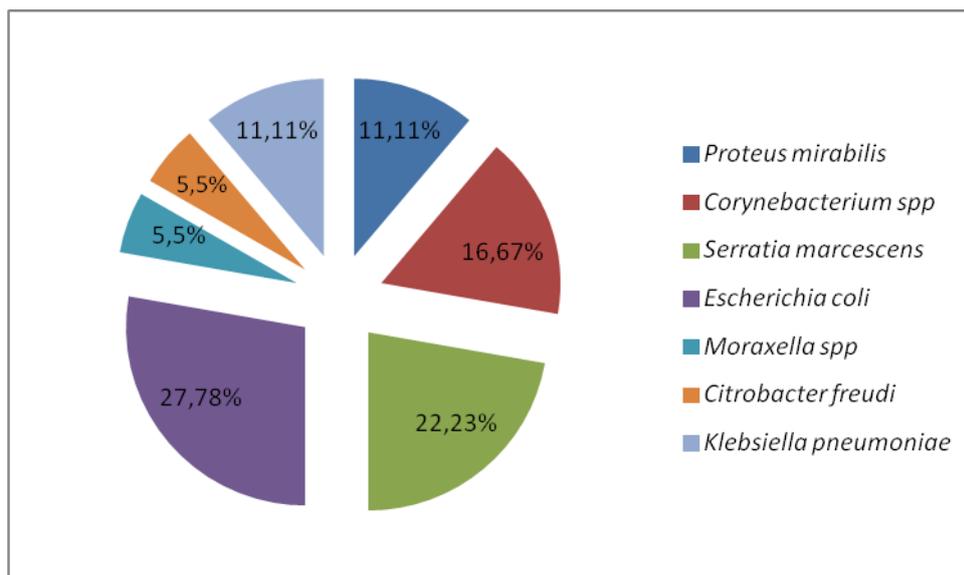


Gráfico 1. Frequência de crescimento bacteriano pela cultura, realizada por pinça/escova.

Um único animal (E15) apresentou crescimento misto de bactérias nas três técnicas, a de *swab*/pinça e *flush* não centrifugado o crescimento foram de *Serratia marcescens* e *Proteus mirabilis* e pela técnica de *flush* centrifugado a combinação foi de *Serratia marcescens*, *Proteus mirabilis* e *Escherichia coli*.(Tabela 1).

Tabela 1. Laudo de cultura bacteriana realizado antes dos tratamentos, pelos métodos de diagnóstico de endometrite equina empregados.

Resultado da cultura Bacteriana			
Animal	Swab/pinça	Flush não centrifugado	Flush centrifugado
E1 controle	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
E2 controle	<i>Corynebacterium spp</i>	<i>Corynebacterium spp</i>	<i>Bordetella spp</i>
E3 controle	<i>Serratia marcescens</i>	<i>Bordetella spp</i>	<i>Serratia marcescens</i>
E4 controle	<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
E5 hemot	<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>
E6 hemot	<i>Moraxella spp</i>	<i>Alcaligenes faecalis</i>	<i>Corynebacterium spp</i>
E7 hemot	<i>Corynebacterium spp</i>	*	<i>Enterobacter sakazaki</i>
E8 hemot	<i>Escherichia coli</i>	<i>Corynebacterium spp</i>	<i>Alcaligenes faecalis</i>
E9 hemot	<i>Serratia marcescens</i>	levedura	levedura
E10 hemot	<i>Escherichia coli</i>	*	<i>Escherichia coli</i>
E11 hemot	<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Streptococcus spp</i>
E12 antib	<i>Corynebacterium spp</i>	<i>Streptococcus spp</i>	<i>Streptococcus spp</i>
E13 antib	<i>Serratia marcescens</i>	*	<i>Corynebacterium spp</i>
E14 antib	<i>Citrobacter freudi</i>	<i>Alcaligenes faecalis</i>	<i>Escherichia coli</i>
E15 antib	<i>Serratia marcescens</i> ; <i>Proteus mirabilis</i>	<i>Serratia marcescens</i> ; <i>Proteus mirabilis</i>	<i>Serratia marcesc.</i> ; <i>Proteus mirab.</i> ; <i>Escherichia coli</i>
E16 antib	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Alcaligenes faecalis</i>	<i>Alcaligenes faecalis</i>
E17 antib	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Bordetella spp</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>

* Sem crescimento bacteriano

Pela técnica de *flush* não centrifugado, das 17 amostras, 13 apresentaram isolamento bacteriano positivos (76,47%), três animais (17,64%) não apresentaram crescimento bacteriano e o animal E9 (5,88%) apresentou crescimento de levedura .

Nesse grupo houve prevalência de crescimento de *Escherichia coli* 22%, *Corynebacterium spp* e *Bordetella spp* 11%, *Alcaligenes faecalis* e sem crescimento bacteriano 16,67%, leveduras, *Streptococcus spp*, *Serratia marcescens* e *Proteus mirabilis* 5,56% (Gráfico 2).

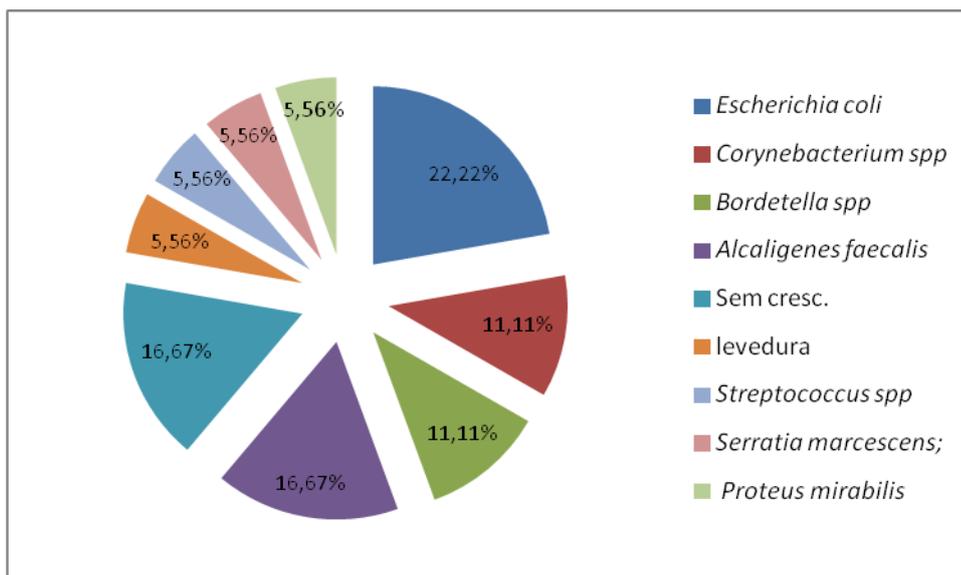


Gráfico 2. Frequência de crescimento bacteriano pela cultura, realizada por *flush* não centrifugado.

Pelo método de diagnóstico *flush* centrifugado das 17 amostras, 16 (94,11%) apresentaram crescimento bacteriano, e uma amostra (5,88%) apresentou crescimento de levedura, porém o animal E15 apresentou crescimento misto com três bactérias diferentes, sendo assim 18 isolamentos bacterianos.

Dentre as bactérias a *Escherichia coli* foi a mais prevalente com 26,31% de crescimento, *Alcaligenes faecalis*, *Corynebacterium spp*, *Streptococcus spp* e *Serratia marcescens* com 10,52%, *Bordetella spp*, *Klebsiella oxytoca*, *Enterobacter sakazaki*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae* e levedura, com 5,26% de crescimento (Gráfico 3).

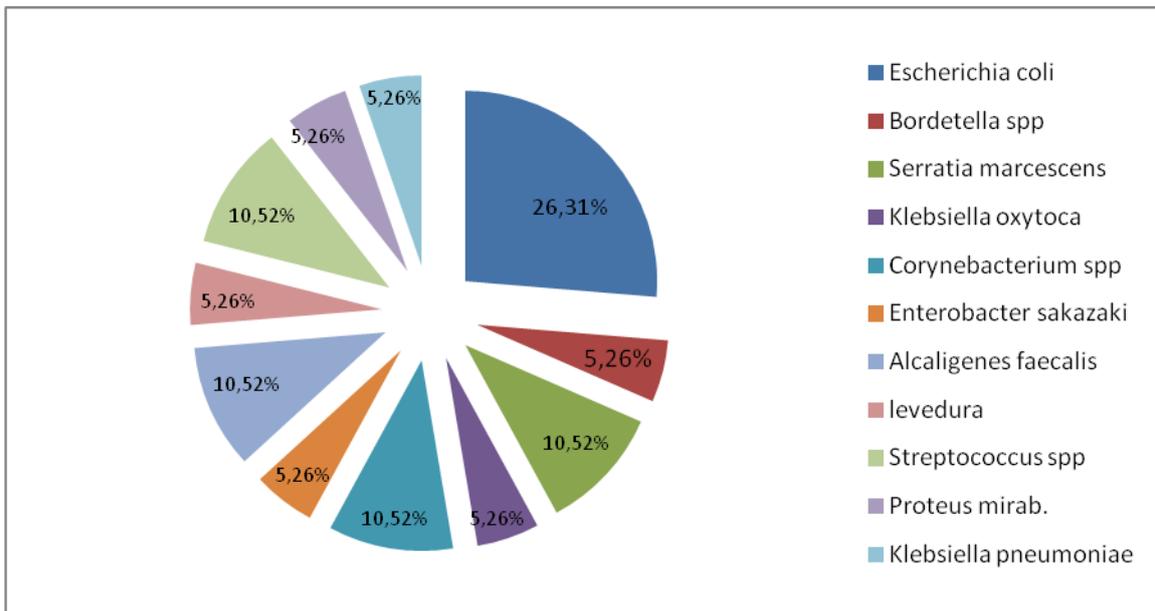


Gráfico 3. Frequência de crescimento bacteriano pela cultura realizada por *flush* centrifugado.

Quanto ao tipo de bactéria, sete foram observadas para a pinça e o *flush* não centrifugado e 10 para o *flush* centrifugado, porém não apresentaram diferenças significativas ($H=0.56$; $p=0.75$). A técnica de *flush* uterino centrifugado pode identificar mais organismos patogênicos quando comparada a técnica de *swab*, devido à solução fisiológica abranger uma maior superfície de contato, em praticamente todo útero (LEBLANC, MAGSISG, STROMBERG, 2007).

No total de 50 isolamento bacteriano pelas três técnicas, as frequências das bactérias foram, *Escherichia coli* com 28%, *Corynebacterium spp* e *Serratia marcescens* 14%, *Alcaligenes faecalis* 10%, *Proteus mirabilis* 8%, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus spp* e *Bordetella spp* com 6% e por fim com 2% *Moraxella spp*, *Citrobacter freudi*, *Klebsiella oxytoca* e *Enterobacter sakazaki*.

O isolamento de *Escherichia coli*, é um dos principais agentes envolvidos na etiologia da endometrite equina (SILVA et al., 1999; GHASEMZADEH-NAVA et al., 2004; AGUIAR et al., 2005), mesmo quando não há alterações inflamatórias significativas (RIDDLE et al., 2007).

Pelo estudo de Oliveira et al.(2010) a *Escherichia coli* (25%) seguida da *Klebsiella spp* (25%) também foi a bactéria mais isolada nos casos de endometrite de acordo com a presença do processo inflamatório ao exame citológico.

Segundo os autores Moreno et al.(1972) e Threlfall & Immegart (2000), o alto número de isolamento de agentes da família *Enterobacteriaceae*, principalmente a *Escherichia coli*, está de acordo com outros estudos da etiologia das endometrites equinas. Sua ocorrência têm sido atribuída a determinados fatores predisponentes, como utilização de instrumental contaminado em exames ginecológicos, manobras ginecológicas inadequadas durante a manipulação em exames ginecológicos e ou durante o parto ou defeitos anatômicos como a urovagina, pneumovagina, que facilitam a contaminação por material fecal que é levado ao trato genital das éguas.

Um estudo realizado por Silva et al. (1999) o principal causador de endometrite é *Streptococcus equi* subs. *zooepidemicus* (25,7%) seguido pela *Escherichia coli* (15,1%), *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus* β hemolítico (9,2%), *Staphylococcus* coagulase negativo (6,3%) e *Pseudomonas aeruginosa* (3,9%) . Segundo Shin et al. (1979) e McCue et al. (1991), esses microrganismos, juntamente com a *Klebsiella pneumoniae*, também encontrada nesse presente trabalho, são os microrganismos mais frequentemente isolados em casos de endometrites de éguas.

Ao contrário de Watson (2000), que observou o *Streptococcus equi* subs. *zooepidemicus* como o microorganismo (66%) mais comum em infecção uterina em éguas. Riddle e Stromberg (2007), observaram *Streptococcus equi* subs *zooepidemicus* em 23% e *Escherichia coli* em 13% das amostras analisadas.

A coleta de material no ciclo subsequente do grupo controle, so foi possível coletar dois animais, pois duas éguas (50%), apresentaram diagnóstico de gestação positivo (Tabela 2). O grupo não recebeu nenhum tipo de tratamento, durante o intervalo das coletas, duas éguas (50%) emprenharam, o que indica que elas podem ser resistentes, ou seja conseguiram eliminar rapidamente a infecção (FARRELY e MURLLANEY, 1964; HURGES e LOY, 1969; KENNEY et al., 1975).

O grupo controle apresentou 100% de crescimento bacteriano nos três métodos de diagnóstico, swab/pinça, *flush* não centrifugado e *flush* centrifugado. Dentro desse grupo houve crescimento de *Moraxella* spp 33,33%, *Alcaligenes faecalis* 33,33%, *Escherichia coli* 16,6%, *Klebsiella pneumoniae* 16,6%.

O animal E1 apresentou crescimento de *Moraxella* spp nas técnicas de swab/pinça e *flush* sem centrifugar, porém na técnica de *flush* centrifugado houve crescimento de *Escherichia coli*. O animal E4 apresentou crescimento de *Klebsiella pneumoniae* na técnica

de swab/pinça, enquanto que pelas técnicas de *flush* sem centrifugar e *flush* centrifugado houve crescimento de *Alcaligenes faecalis*.

Tabela 2. Resultado de cultura bacteriana após os tratamentos, e los métodos de diagnóstico de endometrite equina empregados.

Resultado da cultura Bacteriana			
Animal	Swab/Pinça	Flush não centrifugado	Flush centrifugado
E1 controle	<i>Moraxella</i> spp	<i>Moraxella</i> spp	<i>Escherichia coli</i>
E2 controle	#	#	#
E3 controle	#	#	#
E4 controle	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Alcaligenes faecalis</i>	<i>Alcaligenes faecalis</i>
E5 hemot	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
E6 hemot	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Bordetella</i> spp	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
E7 hemot	#	#	#
E8 hemot	#	#	#
E9 hemot	<i>Alcaligenes faecalis</i>	*	*
E10 hemot	<i>Alcaligenes faecalis</i>	<i>Bordetella</i> spp	<i>Alcaligenes faecalis</i> ; <i>Corynebacterium</i> spp
E11 hemot	<i>Serratia marcescens</i>	<i>Serratia marcescens</i>	<i>Serratia marcescens</i>
E12 antib	*	<i>Moraxella</i> spp	<i>Escherichia coli</i> ; <i>Klebsiella pneumoniae</i>
E13 antib	<i>Corynebacterium</i> spp	*	<i>Corynebacterium</i> spp
E14 antib	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Bordetella</i> spp	<i>Serratia marcescens</i>
E15 antib	*	<i>Bordetella</i> spp	<i>Corynebacterium</i> spp; <i>Serratia marcescens</i>
E16 antib	<i>Corynebacterium</i> spp	*	<i>Corynebacterium</i> spp
E17 antib	<i>Corynebacterium</i> spp	*	<i>Corynebacterium</i> spp

* sem crescimento bacteriano #Gestação

O grupo tratado com auto-hemoterapia das sete éguas so foi possível avaliar cinco animais (71,4%), os animais E7 e E8 (28,6%) ficaram gestante durante o tratamento, não sendo possível coletar o material, o que indica que não havia mais infecção.

Nesse grupo, duas éguas (28,57%) emprenharam durante o tratamento, que foi realizado até o final das 10 aplicações. Por falta de literatura sobre o uso da auto-hemoterapia em tratamento de endometrite, supõem-se, que as éguas podem ter se limpadou ou que houve uma possível melhora do quadro de endometrite. Segundo Santin e Brito (2004), a auto-hemoterapia produz um efeito proteico, e nos casos de doenças inflamatórias crônicas, promova uma reativação orgânica.

Silva (2009) verificou que o uso da auto-hemoterapia em ratos Wistar houve uma reação imunológica no organismo dos ratos, um aumento na quantidade de células de defesa do sistema imune.

O sangue aplicado fora da corrente circulatória, atua como um componente estranho ao organismo. Por ser venoso, apresentar uma baixa concentração de oxigênio e dentro da seringa ele passar por alterações físico-químicas, esses fatores contribuem para sua modificação, tornando-o uma proteína estranha. Essa proteína ativa o sistema mononuclear (macrófagos), presentes em todo organismo (METTENLEITER, 1936; TIZARD, 2002).

O grupo da auto-hemoterapia, dentro dos métodos de diagnóstico, *swab/pinça*, *flush* sem centrifugar e *flush* centrifugado apresentou crescimento bacteriano de 100, 80 e 80 % (H=0,86; p=0,64) .

O grupo apresentou crescimento de *Klebsiella pneumoniae* 35,71%, *Alcaligenes faecalis* e *Serratia marcescens* 21,43%, *Bordetella* spp 14,28% e *Corynebacterium* spp 7,14%.

Nesse grupo os animais E5 e E11 (40%), apresentaram crescimento bacteriano das mesmas bactérias nas diferentes técnicas de diagnóstico. Os outros dois animais, E6 e E10 (40%), apresentaram crescimentos de bactérias diferentes pelas técnica O animal E9 (20%) apresentou crescimento bacteriano apenas na técnica *swab/pinça*, o que pode indicar falso negativo ou as outras duas técnicas não foram sensíveis.

O grupo tratado com antibiótico, dentro dos métodos de *swab/pinça*, *flush* não centrifugado e *flush* centrifugado apresentou crescimento bacteriano de 66,66% 50% e 100 % respectivamente (H=0,86; p=0,64) .

O grupo da antibióticoterapia, pós tratamento apresentou crescimento de *Corynebacterium* spp 46,66%, *Klebsiella pneumoniae*, *Bordetella* spp e *Serratia marcescens* 13,33%, *Escherichia coli* e *Moraxella* spp 6,66%.

Nesse grupo os animais E12, E14 e E15 (50%), apresentaram crescimentos de bactérias diferentes dentro das técnicas empregadas, sendo que o animal E12 apresentou infecção mista por *Escherichia coli* e *Klebsiella penumoniae* na técnica de *flush* centrifugado e o E15 apresentou infecção mista de *Corynebacterium* spp e *Serratia marcescens*, pela mesma técnica. Os outros três animais E13, E16 e E17 (50%) apresentaram crescimento da mesma bactéria nas diferentes técnicas.

No grupo da antibioticoterapia cinco animais (83,33%) não apresentaram crescimento bacteriano em alguma das técnicas, sendo dois animais (33,33%) pela técnica de *swab*/pinça e os outros três (50%) na técnica de *flush* não centrifugado.

Pelas técnicas de *swab*/pinça e *flush* não centrifugado, 100% dos animais apresentaram crescimento de bactérias diferentes, comparando antes e após os tratamentos empregados. A técnica de *flush* centrifugado 76,92% dos animais apresentaram crescimento de bactérias diferentes antes e após o tratamento e 23,08 % apresentaram crescimento da mesma bactérias

No pós tratamento foram isoladas 7 diferentes bactérias pelos 3 métodos de coleta para cultura, nos três grupos avaliados. Nestes métodos, *swab*/pinça, *flush* não centrifugado e *flush* centrifugado apresentaram a mesma porcentagem de crescimento bacteriano, de 71,43 % destas.

No total de 35 isolamentos bacterianos pelas diferentes técnicas após os tratamentos, a frequência das bactérias foram, *Corynebacterium* spp e *Klebsiela pneumoniae* 22,85% *Serratia marcescens* e *Alcaligenes faecalis* 14,28%, *Bordetella* spp 11,43%, *Moraxella* spp 8,57% e *Escherichia coli* 5,72%

Os três grupos de avaliados, controle, auto-hemoterapia e antibioticoterapia, não apresentaram diferenças ($H=0.86$; $p=0.64$) após os tratamentos entre as técnicas empregadas.

4.2 Antibiograma

O antibiograma de cada animal foi realizado utilizando as três amostras da cultura bacteriológica, ou seja uma amostra de cada método, *swab*/pinça, *flush* não centrifugado e *flush* centrifugado, antes e após o tratamento.

Antes do tratamento pelo método de *swab*/pinça foram realizados 18 antibiogramas devido o animal E15 ter apresentado crescimento misto de duas bactérias.

Tabela 3. Resultado do antibiograma antes e após aos tratamentos, pelos métodos de diagnóstico empregados.

Antibióticos	Swab/pinça		Flush não centrif.		Flush centrif.	
	Antes (%)	Pós (%)	Antes (%)	Pós (%)	Antes (%)	Pós (%)
Gentamicina	27,42%	22,5%	25%	28%	25%	28,26%
Norfloxacina	24,2%	22,5%	22,73%	16%	23,33%	21,74%
Enrofloxacina	22,58%	20%	25%	24%	21,66%	21,74%
Sulfametoxazol-trimetropim	17,74%	22,5%	15,91%	24%	21,66%	17,4%
Estreptomicina	8,06%	12,5%	11,36%	8%	8,33%	10,87%
Total	100%	100%	100%	100%	100%	100%

Pelo método de *flush* não centrifugado dos 17 animais, três deles (E7,E10 e E13), não apresentaram crescimento bacteriano e o animal E9 apresentou crescimento de levedura , porém o animal E15 apresentou crescimento misto de duas bactérias, totalizando 14 isolamentos bacterianos.

Pela técnica de *flush* centrifugado o animal E9 apresentou crescimento de levedura portanto não foi realizado o antibiograma e o animal E15 apresentou crescimento misto de três bactérias, portanto foram 18 antibiogramas realizados.

Na segunda coleta de material, que foi realizada no ciclo subseqüente após o tratamento, o antibiograma foi feito em todas as amostras de cultura independente do tratamento ou não (grupo controle). Pela técnica de *swab*/pinça, do total de 17 éguas, quatro éguas ficaram gestantes, não sendo possível realizar a coleta de materiais.

Pela técnica de *flush* não centrifugado, quatro animais (E9,E13, E16 e E17) 30,77%, não apresentaram crescimento bacteriano, realizando assim somente nove (69,23%) antibiogramas.

Na técnica de *flush* centrifugado um animal (E9) não apresentou crescimento bacteriano e três animais apresentaram crescimento misto de duas bactérias, no total foram realizados 15 antibiogramas.

Pelo antibiograma realizado antes do tratamento a Gentamicina apresentou sensibilidade de 28,07% frente as bactérias isoladas pela cultura dentro das três técnicas,

Norfloxacina 24,56%, Enrofloxacina 22,8% Sulfametoxazol-trimetropim 17,54% e Estreptomicina mostrou-se a menos sensível com 7,01%. Porém o teste de susceptibilidade antibióticos nem sempre se correlaciona com a eficácia *in vivo*, quando é aplicado no animal (SILVA et al., 1999).

Parcialmente compatível com Troedsson (2006), que em testes de susceptibilidade aos antimicrobianos, a amicacina e gentamicina seguida pela ampicilina e cloranfenicol revelaram maior ação frente aos microorganismos isolados do útero de égua, porém não foi testado enrofloxacina.

Segundo o estudo de Aguiar et al.(2005) pelo teste de sensibilidade microbiana *in vitro*, frente as bactérias isoladas no útero de éguas foram, Norfloxacina 77%, Ampicilina 72,3%, Gentamicina 63,5%, Cefalexina 46,5%, Sulfadiazina-trimetropim 42,5%, Eritromicina 51,5%, Penicilina 35%, Tetraciclina 32,0% e Estreptomicina que foi o menos sensível 18,7%, compatível com esse presente estudo.

A bactéria *Serratia marcescens* foi mais sensível a Gentamicina 33,33%, seguida por Enrofloxacina e Norfloxacina 25% e Sulfametoxazol-trimetropim 16,66%. A *Klebsiella pneumoniae* apresentou sensibilidade frente a Gentamicina 75%. *Proteus mirabilis* foi sensível Enrofloxacina, Gentamicina e Norfloxacina 27,27% e Estreptomicina 18,8%. *Alcaligenes faecalis* apresentou sensibilidade frente aos antibióticos Enrofloxacina 37,5%, Gentamicina e Sulfametoxazol-trimetropim 25% e Norfloxacina 12,5%.

A *Escherichia coli* apresentou maior sensibilidade aos quatro antibióticos com a mesma frequência, Enrofloxacina, Gentamicina, Norfloxacina e Sulfametoxazol-trimetropim 22,22% e o menos sensível foi a Estreptomicina. *Corynebacterium* spp apresentou sensibilidade a Enrofloxacina, gentamicina e Sulfametoxazol-trimetropim 25% e Estreptomicina e Norfloxacina 12,5%. *Citrobacter freudi* apresentou sensibilidade a Gentamicina(50%) e a Gentamicina (50%) e a *Bordetella* spp apresentou sensibilidade somente gentamicina (100%).

O antibiótico mais resistente frente as bactérias isoladas no grupo da antibioticoterapia nesse estudo, foi a Estreptomicina 35,5%, não sendo indicado seu uso. Esse resultado foi semelhante ao de Aguiar et al. (2005).

Num total de 90 amostras de cultura bacteriológica realizada durante o estudo, 10 amostras (11,11%) não houve crescimento bacteriano, quatro amostras (4,4%) apresentaram crescimento misto e 2 amostras(2,2%) apresentaram crescimento de leveduras.

O não crescimento bacteriano pela cultura, não elimina a possibilidade de a égua apresentar um quadro de endometrite (SILVA et al. 1999). Segundo Ricketts (1981) e Zingher, (1996) a endometrite pode ser do tipo estéril ou estar sendo produzida por um pequeno número de bactérias que não seja possível o seu isolamento. O que também pode acontecer é a má preservação dos swabs, que pode ressecar ou o uso de meios inadequados para o transporte.

4.3 Citologia uterina

O exame ginecológico associado ao histórico reprodutivo, palpação retal e ultrasonografia, identificou as 17 éguas estudadas com endometrite nas diferentes classificações.

No exame de citologia uterina utilizando a pinça/escova, as 17 (100%) éguas avaliadas apresentaram aumento do número de neutrófilos, 15 (88,27%) apresentaram endometrite moderada e duas (11,73%) endometrite severa. A média de neutrófilo por campo foi de 3,95 ($\pm 0,3$).

Em um estudo feito por Ribas (1998) onde foram avaliadas 25 éguas com histórico de subfertilidade, em que 88% das éguas foram diagnosticadas com inflamação. Riddle, Leblanc e Stromberg (2007) observaram quadro de inflamação pela citologia em 19,9% das éguas avaliadas sem seleção prévia de histórico reprodutivo.

Na citologia realizada pelo *flush* uterino centrifugado, nove éguas (52,94%) apresentaram aumento do número de neutrófilos, sendo que cinco animais (29,41%) apresentaram endometrite moderada e apenas quatro (23,53%) animais apresentaram endometrite severa, cinco animais (29,41%) apresentaram citologia normal, ou seja, até dois neutrófilos por campo, três éguas, (17,65%) , apresentaram pouca celularidade na contagem microscópica.

Esse resultado foi diferente ao de Leblanc, Magsisg, Stromberg (2007), que pela citologia por *flush* uterino centrifugado, os neutrófilos estavam presentes em apenas 26% dos esfregaços citológicos, porém foi utilizado apenas 60 ml para o *flush*. Enquanto que no presente trabalho foi utilizado 240 ml, o que pode influenciar no resultado obtido em relação ao número de neutrófilos.

A média de neutrófilos (Gráfico 4) foi maior para o *flush* uterino centrifugado 5.6 (± 1.6) comparado a citologia com pinça e escova ginecológica (3.95 \pm 0.3), porém não

apresentaram diferenças (U=88.5; p=0.23). Nesse estudo apesar de não apresentarem diferença significativa quanto ao número de neutrófilos, a técnica de pinça/escova apresentou aumento do número de neutrófilos em 100% (17/17) das éguas, enquanto que o flush centrifugado foi de 52,9% (9/17).

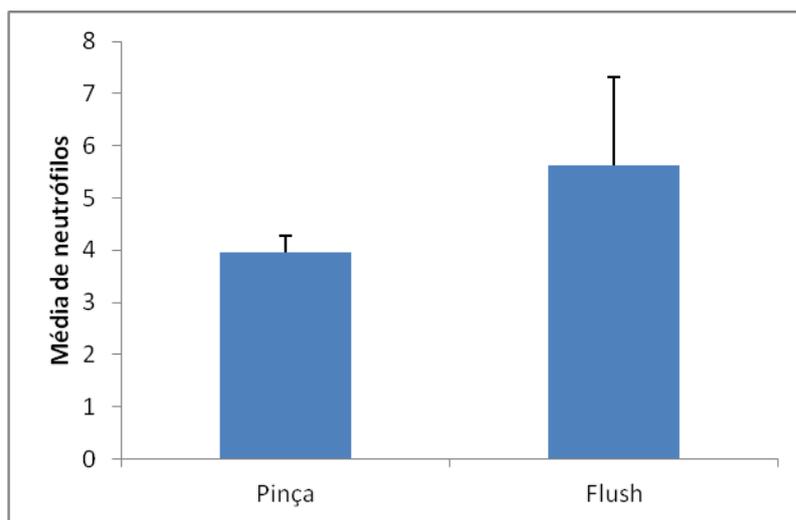


Gráfico 4.Média de neutrófilos por campo antes dos tratamentos, pelos métodos de diagnóstico de citologia uterina por escova/pinça e flush uterino.

A segunda coleta de material, que foi realizada no ciclo subsequente após o tratamento, pelo método de citologia uterina realizada por escova ginecológica, o grupo controle apresentou média de neutrófilos de 3,2 (\pm 0,2) por campo (Gráfico 5). Nesse mesmo grupo o animal E1, apresentou melhora no quadro, passando de endometrite severa para endometrite moderada e o animal E4 permaneceu na mesma condição de endometrite moderada

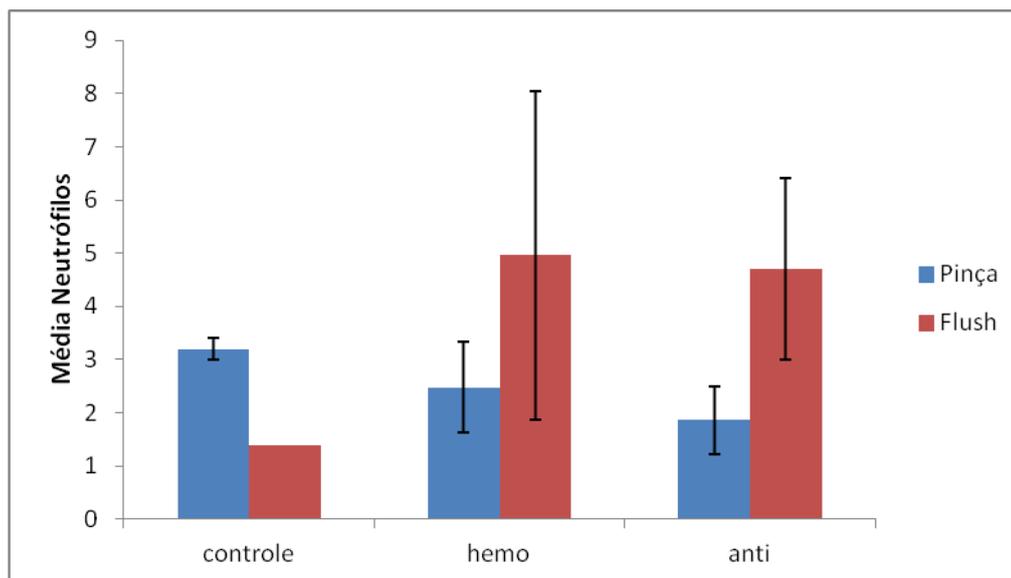


Gráfico 5. Média de neutrófilos por campo após tratamentos nos grupos, controle, auto-hemoterapia e antibióticoterapia, pelos métodos de citologia uterina por pinça/escova e flush uterino.

No grupo tratado com auto-hemoterapia a média de neutrófilo por campo em microscopia, foi de 2,48 ($\pm 0,85$). Nesse grupo, as éguas E7 e E8 (28,57%) engravidaram, não sendo possível coletar material, as éguas E5, E9 e E10 (42,85%), apresentaram melhora da condição de endometrite, dois animais E6 e E11 (28,57%), permaneceram na condição de endometrite moderada (Tabela 4).

O grupo tratado com antibiótico (Enrofloxacina 10%) apresentou número médio de 1,86 ($\pm 0,6$) neutrófilo por campo em microscopia. Das seis éguas tratadas com antibiótico cinco (83,33%) apresentaram melhora da condição de endometrite moderada a citologia normal. Apenas o animal E17 (16,65%) evoluiu do quadro de endometrite moderada à endometrite severa.

Seguindo as classificações de Riddle, Leblanc e Stromberg (2007 em que 0-2 neutrófilos por campo é considerado citologia normal, de 3-5 endometrite moderada e acima de 5 neutrófilos por campo severa, foi observado que os grupos tratados com auto-hemoterapia e antibiótico apresentaram resultados compatíveis a citologia normal, apontando um resultado positivo aos tratamentos realizados.

Isso pode ser justificado porque cinco éguas tratadas com antibiótico (83,33%) apresentaram melhora significativa da condição de endometrite moderada a citologia normal, mostrando um resultado positivo do tratamento.

Tabela 4. Classificação de endometrite e número de neutrófilos pelos métodos de diagnóstico de citologia, pinça/escova e flush uterino, antes e após tratamentos empregados.

Animal	Citologia uterina pinça/escova				Citologia <i>flush</i> uterino			
	Antes tratam. Classif. endo.	Nº Neutrófilos	Após trata. Classif. endo.	Nº Neutrófilos	Antes trata. Classif. endo.	Nº Neutrófilos	Após trata. Classif. endo.	Nº Neutrófilos
E1controle	severa	6,4	moderada	3,0	moderada	3	*	*
E2controle	moderada	3,0	#	#	moderada	3	#	#
E3controle	moderada	3,2	#	#	normal	1,8	#	#
E4controle	moderada	3	moderada	3,4	normal	1,4	normal	1,4
E5 hemo	moderada	3,6	normal	0,4	normal	1,6	normal	0,6
E6 hemo	moderada	3,4	moderada	4,,8	severa	6,1	moderada	3
E7 hemo	moderada	3	#	#	moderada	3	#	#
E8 hemo	moderada	3	#	#	*	*	#	#
E9 hemo	severa	7,8	normal	1,4	severa	21,6	normal	2
E10 hemo	moderada	3,2	normal	1,6	*	*	normal	2
E11 hemo	moderada	4,8	moderada	4,2	severa	9,8	severa	17,2
E12 antib	moderada	4	normal	0,8	moderada	4,2	*	*
E13 antib	moderada	3,4	normal	1,4	*	*	*	*
E14 antib	moderada	4,2	normal	1,6	severa	17,2	*	*
E15 antib	moderada	3	normal	1,2	normal	1,8	*	*
E16 antib	moderada	3,4	normal	1,2	normal	1,4	moderada	3
E17antib	moderada	4,8	severa	5	moderada	3	severa	6,4

* Pouca celularidade # Gestação

Na segunda coleta de material, pelo método de citologia uterina utilizando o método de *flush* uterino centrifugado, o grupo controle apresentou um número de 1,4 neutrófilos por campo, representado apenas pelo animal E4. Esse valor baixo se da por conta, de que nesse grupo os animais E2 e E3 apresentaram diagnóstico de gestação positivo, não sendo possível a coleta de material. E o animal E1 apresentou pouca celularidade na contagem da lâmina.

O grupo tratado com auto-hemoterapia, apresentou média de neutrófilos de 4,96 (\pm 3,08) por campo. O animal E6 (14,28%), passou da condição de endometrite severa, para moderada, o animal E9 (14,28%), apresentou melhora, passando da condição de endometrite severa para citologia normal, o que sugere um efeito da aplicação da auto-hemoterapia ou a própria égua conseguiu se limpar. Dois animais (28,57%) apresentaram diagnóstico de gestação positivo o que pode indicar uma melhora do quadro clínico de endometrite, o animal E5 (14,28%) permaneceu na condição de citologia normal, o animal E10 (14,28%) que antes do tratamento apresentava pouca celularidade na lâmina, após o tratamento apresentou

citologia normal e por fim apenas um animal, E11 (14,28%) permaneceu na condição de endometrite severa, sem apresentar melhora do quadro.

O grupo tratado com antibiótico apresentou média 4,7(± 1,7) neutrófilo por campo,. Nesse grupo os animais E12, E13, E14 e E15 (66,66%) apresentaram pouca celularidade na leitura da lâmina e apenas dois animais, E16 e E17 (33,33%) apresentou piora no quadro de endometrite.

Após tratamento, pelo método de citologia uterina *flush* centrifugado, os grupos de tratamentos e o controle, não apresentaram diferenças (H=1.41; p=0.41). Porém apresentou média de neutrófilos maior que a técnica de pinça/escova, sugerindo ser uma técnica mais eficaz para detectar neutrófilos compatível ao estudo feito por Leblanc, Magsisg, Stromberg, (2007).

4.4 Cultura Fúngica

A cultura fúngica foi realizada em todos os animais antes e após o tratamento, porém dois animais (E9 e E12) apresentaram infecção mista de dois agentes, o crescimento fúngico foi observado em nove animais (52,94%)

Dentre os agentes fúngicos houve prevalência de *Rhodotorula* spp 26%, *Geotrichum candidum* e *Clodosporium* spp 11%, *Basideobolus ranarum* e *Prothotheca* 5% (Gráfico 6).

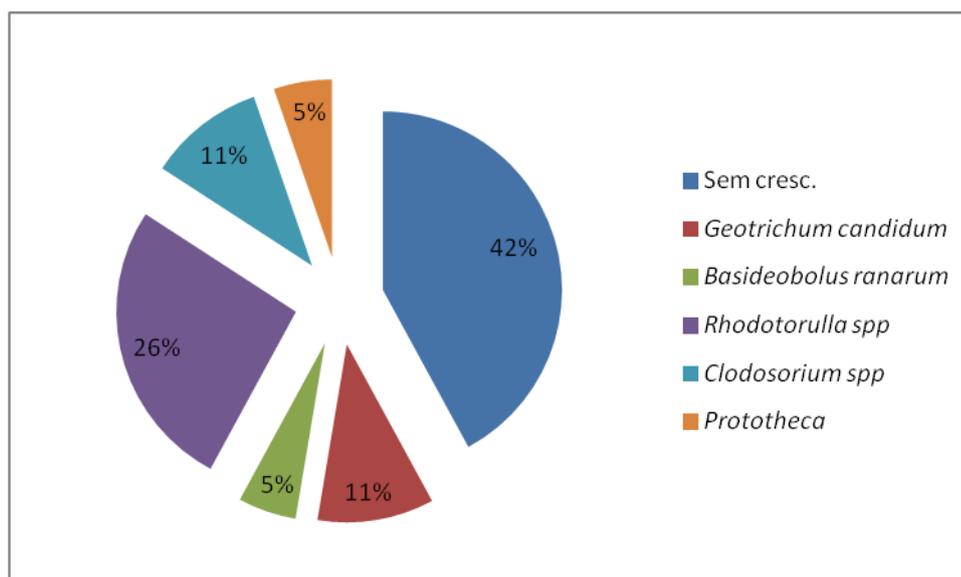


Gráfico 6. Frequência de crescimento fúngico pela cultura, antes dos tratamentos.

A segunda etapa de coleta de materiais para os exames foi realizada após o tratamento, porém não foi realizado nenhum tratamento específico antifúngico, as análises de cultura foram realizadas para saber se havia alguma infecção por estes.

Na segunda coleta de material, realizada no ciclo subsequente após tratamento, dos 17 animais, quatro ficaram prenhas (23,52%), não sendo possível coletar material, restando 13 amostras, das quais, 10 não apresentaram crescimento fúngico (76,92%) e três amostras apresentaram crescimento de *Rodotorulla* spp (23,08%), uma em cada grupo de tratamento. A cultura fúngica não apresentou diferenças antes e após os tratamentos (U=10; p=0.21).

Como não foi encontrado *Candida albicans*, que é mais patogênica, a maioria das éguas conseguiram eliminar a infecção fúngica.

4.5 Hemograma

4.5.1 Leucometria global

A leucometria global teve como objetivo avaliar se houve um aumento significativo da série branca responsável pela imunidade do animal (Tabela 5).

Tabela 5. Média de Leucometria Global entre os diferentes tempos (T0,T6,T24 e T Final), nos grupos de estudos.

Grupo	T0	T6	T24	T Final
Controle	11075 μ /L	-	-	8800 μ /L (p=0,69)
Auto-hemoterapia	9700 μ /L	10814,29 μ /L	10857,14 μ /L	9080 μ /L (p=0.541)
Antibióticoterapia	8733,33 μ /L	11333,33 μ /L	10050 μ /L	8783,33 μ /L(p=0.347)

O valor médio de leucócitos totais no equino é de 5400-14500 μ /L (FELDMAN; ZINKL; JAIN 2000). Somente o grupo controle foram coletadas duas amostras de sangue, T0, no momento da coleta dos outros exames e T final, que foi no ciclo subsequente, (segunda etapa de coleta de materiais) não havendo necessidade de realizar as outras, porque não recebeu nenhum tipo de tratamento (Gráfico 7).

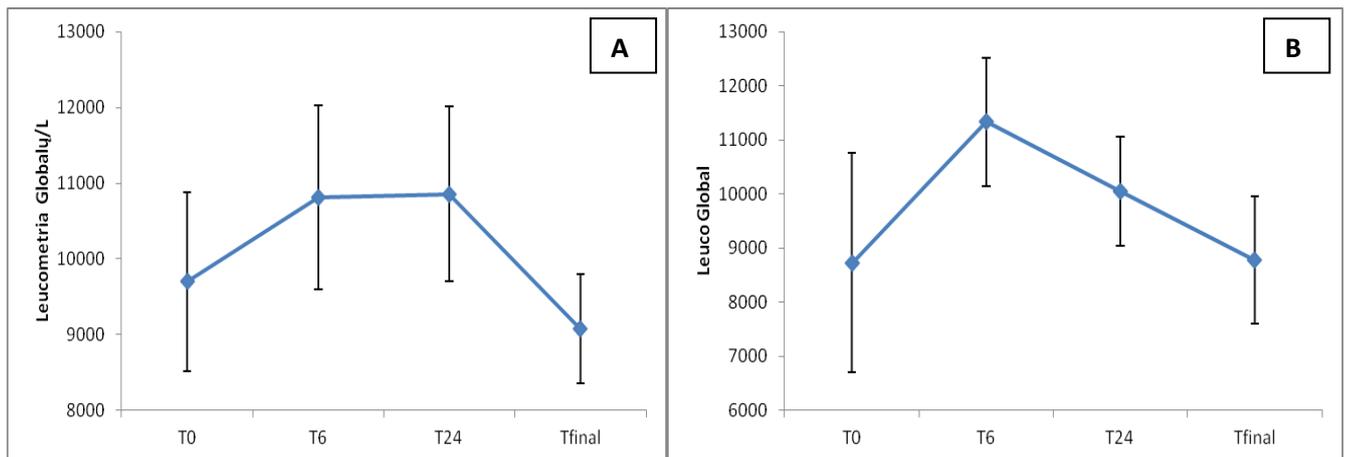


Gráfico 7. Valor médio de leucometria global do grupo auto-hemoterapia (A) e antibióticoterapia (B), nos diferentes tempos de coleta de sangue.

4.5.2 Neutrófilos

Os neutrófilos indicam inflamação ativa, o valor médio de neutrófilos nos equinos é de 2260-8580 μ /L, os valores de neutrófilos encontrados dentro dos grupos nos diferentes tempos foram demonstrados na tabela seguinte (Tabela 6).

Tabela 6. Média de neutrófilos nos diferentes tempos(T0, T6, T24 e T Final), dentro dos grupos.

Grupos	T0	T6	T24	T Final
Controle	7044 μ /L	-	-	3981,53 μ /L(p=0.245)
Auto-hemoterapia	5338,713 μ /L	5991,853 μ /L	6164,283 μ /L	534,63 μ /L(p=0.809)
Antibióticoterapia	5716,3 μ /L	7114,6 μ /L	608753 μ /L	5085,83 μ /L(p=0.420)

4.5.3 Hematócrito

Foi realizada a avaliação do hematócrito nos diferentes tempos (Tabela 7), a média do equino é 32-53 (%) (FELDMAN; ZINKL; JAIN, 2000).

Tabela 7. Média (%) do hematócrito avaliado nos tempos (T0, T6, T24 e T Final).

Grupos	T0 (%)	T6 (%)	T24 (%)	T Final (%)
Controle	32,5	-	-	32,5 (p=0.245)
Auto-hemoterapia	31	34,4	34	33,2(p=0.413)
Antibióticoterapia	34,5	34,6	33,5	32,8(p=0.988)

4.5.4 Fibrinogênio

O fibrinogênio é uma importante glicoproteína de fase aguda, produzida em maior quantidade pelo fígado na presença de afecções inflamatórias (AUER et al., 1989; COTRAN et al., 1989; MILLS et al., 1998) e infecciosas (MCSHERRY et al., 1970; SCHALM, 1970).

Foi realizada a avaliação do hematócrito nos diferentes tempos (Tabela 8), no equino o valor médio do fibrinogênio é de 100-400 mg/dL(FELDMAN; ZINKL; JAIN, 2000). Entretanto, uma concentração de 500 a 600 mg dL⁻¹ pode ser decorrente de processo inflamatório em fase aguda, enquanto valor igual ou superior a 1.000 mg dL⁻¹ indica inflamação em estágio mais avançado e de pior prognóstico (CAMPBELL et al., 1981).

Tabela 8. Valores médios do fibrinogênio nos diferentes tempo (T0, T6, T24 e T Final).

Grupos	T0	T6	T24	T Final
Controle	400 mg/dL	-	-	300mg/dL(p=0.220)
Auto-hemoterapia	342,8mg/dL	342,8mg/dL	471,4mg/dL	280mg/dL(p=0.543)
Antibióticoterapia	283,3mg/dL	383,3mg/dL	416,6mg/dL	316,6mg/dL(p=0.531)

A contagem de leucócitos (total e diferencial), neutrófilos(μ /L) , hematócrito (%) e fibrinogênio não apresentaram aumento significativos entre os tempos (T0, T6, T24 e T final).Os valores que não aumentaram significativamente nesse estudo, pode ser justificado pelo tempo de coletas do sangue, que não se mostrou significativo, talvez outra metodologia empregada apresentariam algum resultado relevante.

5. CONCLUSÕES

- A técnica de cultura bacteriológica *flush* centrifugado conseguiu isolar um número maior de diferentes bactérias comparado as outras técnicas, tendendo a ser uma técnica de eleição para isolamento bacteriano, principalmente para diagnóstico em éguas com endometrite severa.
- A citologia uterina realizada pelo *flush* centrifugado apresentou maior número de neutrófilos, mas a realizada por pinça/escova diagnosticou maior número de éguas com endometrite.
- Em relação ao antibiograma realizado, a Gentamicina apresentou melhor sensibilidade, sendo indicado o antibiótico de eleição nos casos de endometrite e de maior resistência foi a Estreptomicina, não sendo indicado nesses casos.
- Foi possível associar os tratamentos de auto-hemoterapia e antibióticoterapia, ara o tratamento de endometrite, visto que os dois diminuíram o número de neutrófilos pós-tratamento.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, D.M.; RIBEIRO, M.G.; UENO, T.E.; JUNIOR, G.N.; PAES, A.C.; MEGID, J.; LISTONI, F.J.P. Etiologia e sensibilidade in vitro de microorganismos aeróbicos isolados de endometrite equina. *Arquivo Instituto Biológico*, v. 72, n. 1, p. 107-109, 2005.

ALGHAMDI, A.S; TROEDSSON, M.H.T. Concentration of nitric oxide in uterine secretion from mares susceptible and resistant to chronic post-breeding endometritis. *Theriogenology*, v.58, p.445-448, 2002.

ALLEN, W.R. EQUINE ENDOMETRITIS: an up date on recent findings and treatment. In: EQUINE PRACTITIONERS GROUP CONGRESS, 1994. [S.1]. Proceedings...[S.1]: [sn], 1994. Não paginado.

ALLEN, W.E.; PYCOCK, J.F. Current views on the pathogenesis of bacterial endometritis in mares. *The Veterinary Record*, v.125, n.9, p.298-301, 1989.

ALVARENGA, M.A.A.; MATTOS, M.C.F.I de. Eficiência da escova ginecológica "Cytobrush" na colheita de material endometrial de éguas. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.42(1), p.67-8, Fev.1991.

ALVARENGA, M. A. ; PASTORELLO, M. . Comparação entre a eficiência da escova ginecológica e swab de algodão na coleta de material endometrial de éguas. In: I Congresso Brasileiro de Medicina Equina, São Paulo- SP, Ars Veterinária, 1994.

AMARAL, M.G.; PIMENTEL, C.A.; MEIREILES, M.; FIALA, S.M.; SCHRAM, R.; XAVIER, E.G.; MENDONÇA, M. Endometrite Equina, Fungos e Bactéria. *Arch. Zootecnia*, v.56(216), p.875-884, 2007.

ANDRADE, M.M.J. Antiinflamatórios Esteroidais. In: Sinosa, H.S. Farmacologia aplicada a medicina veterinária. 3ªed. Rio de Janeiro, Guanabara-Koogan, 2002, p.240-250.

ASBURY, A.C.; GORMAN, N.T.; FOSTER, G.W. Uterine defense mechanisms in the mare serum opsonins affecting phagocytosis of *Streptococcus zooepidemicus* by equine neutrophils. *Theriogenology*, v.21, n.2., 375-385, Fev. 1984.

- ASBURY, A.C. Failure of uterine defense mechanism. In: CURRENT therapy equine medicine. Philadelphia: W.B. Saunders, p.508-511, 1987.
- ASBURY, A.C.; LYLE, S.K. Infections causes of infertility. In: MCKINNON, A.O.; VOSS, J.L. Equine Reroduction. Boston: Blackwell, p. 338-391, 1993
- AUER, D.E N.G .J.C; THOMPSON, H.L; INGLIS S & SEAWRIGHT A.A. Acute phase response in horses: changes in plasma cation concentrations after localised tissue injury. The Veterinary Record, v.124, p.235-239, 1989.
- BAIN, A.M. The role of infection in infertility in the Thoroughbred mare. Vet. Rec. v.7 8 p.168-173, 1966.
- BALL, B.A.; SHIN, S.J.; PATTEN, W.H.; LEIN, D.H.; WOODS, G.L. Use of a low-volume uterine flush for microbiologic and cytologic examination of the mare's endometrium. *Theriogenology*, v.29, p.1269-83, 1988.
- BARRELET. A. How to: Obtain and interpret endometrial citology samples. UK. Proceedings of the 48th British Equine Veterinary Association Congress BEVA, 2009.
- BETSCH, J.M. Diagnostic de l'infertilité d'origine cervico-utérine chez la jument. Recueil de Médecine Vétérinaire: Spécial Reproduction des Equidés. v.168(11/12), p.1011-1027, 1992.
- BLANCHARD, T.L.; GARCIA, M.C.; HURTGEN, J.P.; KENNEY, R.M. Comparison of two techniques for obtaining endometrial bacteriologic cultures in the mare. *Theriogenology*, v.16, p.85-93,1981.
- BLANCHARD, T.L.; VARNER, DICKSON, SHUMACHER, Manual of Equine Reproduction. United States of America: Mosby – Year Book, v. 5, p.54-58, 133-134, 1998.
- BLANCHARD, T.L; VARNER, D.D.; SCHUMACHER, J.; LOVE, C.; BRINSKO, S.; RIGBY, S.; Endometritis. *Manual of Equine Reroduction*, Mosby, p.59-63, 2º edição, p.59-63, 2003.
- BLUE, M.G et al. Studies an the comosition and antibacterial activity of uterine fluid from mares. *Journal Reprouction. Fertility*, Supplement, v.32, p. 143-149, 1982.
- BRACHER, V. Treatment of CDE; Chemical curettage with irritant solutions. Proc. J.P. Hughes International Workshop on Equine endometritis, Equine Vet. J., v.25, p.187, 1992.

BRENDEMUEHL, J.P. Effect of Oxytocin and PGF₂ α on Luteal Formation, Function, and Pregnancy Rates in Mares. *Theriogenology*, v.58, p623-626, 2002.

BRENNEIS, H.; HANSCH, G. Granulozytenfunktiosstorungen: Formen und Diagnostik. *Dtsch Med. Wsch.*, v.18, p1117-1129, 1993.

BRINSKO, S.. et al. A pratical method for recognizing mares susceptible to post-breeding endometritis. In: ANNUEL CONVECION AMERICAN ASSOCIATION EQUINE PRACTITIONES, Lexington [s.n], v.49, p.363-365, 2003

BRINSKO, S.; VARNER, D.D.; SHUMACHER, J.; LOVE, C.C.; HINKICHS.K.; HARTIMAN,D. Endometritis In: *Manual of Equine Reproduction*. 3^o Ed, Elsevier, p.73-84, , 2011.

BRITO, L.F.C.; BARTH, A.D. Endometritis in mares. *Large Animal Veterinary, Rounds*, v.3, n.9, 2003. Disonível em:

<<http://www.canadianveterinarians.net/laroud>> Acesso em 21 de junho de 2012.

BROWN, C.M.; BERTONE, J.J. Consulta Veterinária em 5 minutos: Espécie Equina. ed., São Paulo: editora Manole, 2005.

BRYANS, J.T. Research on bacterial diseases of horses. Lectures for Stud Managers' Course, Lexington, Kentucky, p.153-160, 1962.

BUCCA, S.; CARLI, A.; BUCKLEY, T.; DOLCI, G.; FOGARTY, V. The use of dexametasone administered to mares at breeding time in the modulation of persistent mating induced endometritis. *Theriogenology*, v.70, p. 1093-1100, 2008.

CAMPBELL, M.D; BELLAMY, J.E.C & SEARCY G.P (1981). Determination of plasma fibrinogen concentration in the horse. *American Journal of Veterinary Research*, v.42, p.100-104, 1981.

CARD, C. Post-breeding inflamation and endometrial citology in mares. *Theriogenology*, v.64, n.3, p.580-588, Aug. 2005.

CARDÁRIO, M.E.; LOSINO, L.; GIGUERE, S.; AGUILAR, J.; JACK, T.J.; MACHEPHERSON, M.; FITZPATRICK, C.; UHL, E.W. Uterine exression of fibrogenic cytokines in the mare. *Theriogenology*, v.58, p.449-452, 2002.

- CARNEVALE, E.M.; GINTHER, O.J. Relationships of age to uterine function and reproductive efficiency in mares. *Theriogenology*, v.37, n.5, p.1101-1115, May 1992.
- CARVALHO, J.C.T. Fitoterápico Anti-inflamatórios: aspectos químicos, farmacológicos e aplicações terapêuticas. Ribeirão Preto: Tecmedd, 2004, p.408.
- CASLICK, E.A. The vulva and the vulvo-vaginal orifice and its relation to genital health of the Thoroughbred mare. *Connell Veterinarian*, v.27, p.178-187, 1937.
- CAUSEY, R.C.; GINN, P.S.; LEBLANC, M.M. Mucus production of the equine endometrium: effect of cycle stage and susceptibility to equine endometritis. I. Intl. Konferenz über Endometritis - Endometrose beim Pferd. *Pferdeheilkunde*, v.1395, p.543, 1997.
- CAUSEY, R.C.; WEBER, J.A.; EMMANS, E.E.; STEPHENSON, L.A. HOMOLA, A.D. KNAPP, K.R. et al. The equine immune response to *Streptococcus equi* subspecies *zooepidemicus* during uterine infection. *Vet. Rec.*, v. 172, p. 248-257, 2006.
- COLLINS, S.M. Study of the incidence of cervical and uterine infection in thoroughbred mares in Ireland. *Vet. Rec.*, v.76, p.673-675, 1964.
- COTRAN, R.S.; KUMAR, V.; ROBBINS, S.L. Robbins pathologic basis of disease, 4th ed. Philadelphia, Saunders. 1989, 1200p.
- COSTERTON, J.W.; LEWANDOWSKI, Z.; CALDWELL, D.E.; KORBER, D.R.; LAPPINSCOTT, H.M. Microbial films. *Annu Revista Microbiology*, v.49, p.711-745, 1995.
- CROUS, P.W; VERKLEY,G.J.M; GROENEWALD, J.Z & SAMSON, FUNGAL BIODIVERSITY, R.A CBS, Fungal Biodiversity Center, Netherlands, Manual Series, ISBN 978-90-70351-77-9, ISSN 1879-6877, 2009.
- CULLING, C.F.A.; ALLISON, R.T. and BARR, W.T 1985. Cellular Pathology Technique. fourth edition. Vancouver, Canada: Butterworth & Co. Ltd., 1985, 219-222p.
- CURNOW, E.M. Ultrasonography of the mares uterus. *Equine Vet. Educ. Suffolk*, v.3, n.4, p.333-339, 1991.

DESCANIO, J.; LEY, W.B.; BOWEN, J.B. How to perform and interpret uterine cytology, 1997. Disponível em: <http://www.ivis.org/proceedings /AAEP/1993Q_DASCANIO.pdf>. Acesso em 14 dez. 2013.

DAVIS, L.E.; ABBIT, B. Clinical pharmacology of antibacterial drugs in the uterus of the mare. *Journal of the American Veterinary Medicine Association*, v.170(2), p.204-207, 1977.

DIGBY, N.J.W. Studies of endometrial cytology in mares. *Equine Vet J.*, v.10, p.167-70, 1978.

DIMOCK, W.V.; EDWARDS, P.R.; The pathology and Bacteriology of the reproductive organs of mares in relation to sterility. *KY Agric. Exper. Stat. Bulletin*, n.286, p. 157-237, 1928.

DUNCAN, J.R.; PRASSE, K.W.; MAHAFFEY, E.A. *Veterinary laboratory medicine: clinical pathology*. 3 ed. Ames: Iowa State University press, 1994. 300 p.

EIGENHEER-MOREIRA, J.F. et al. Estudo comparativo de éguas repetidoras ou não de cio através da avaliação histológica do endométrio e das concentrações plasmáticas de progesterona. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. Rio de Janeiro, v.27 n.12, p. 506-512, 2007.

FARRELY, B.T.; MULLANEY, M.A. Cervical and uterine infestation in thoroughbred mares. *Irish Veterinary Journal* v.18, p.201-212, 1964.

FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. *Schalm's Veterinary Hematology*. 5.ed. Philadelphia: Williams & Wilkins, 2000. 1344p.

GARCIA, C.A.; STANZIOLA, L.; OLIVEIRA, O.M.; SILVA, R.A.; CABARATI, L.U.; ANJOS, L.C.T.; CUBAS, J.P.C. Eficiência da ozonioterapia na recuperação de lesões cutâneas em equino. 35º COMBRAVET Congresso de Medicina Veterinária, Gramado, Rio Grande do Sul, 2008.

GASTAL, E.L.; HENRY, M.; NASCIMENTO, F. Influência das alterações uterinas e tubáricas na taxa de fertilização de éguas. *Revista Brasileira Reprodução Animal*, (Suplemento) v. 13, p. 171, 1989.

GHASEMZADEH-NAVA, H.; GHASEMI, F.; TAJIK, P.; SHIRAZI, A. A review of mare endometritis in Iran. *J. Eq. Vet. Sci.*, v. 24, n. 5, p. 188- 192, 2004.

GINTHER, O.J. Reproductive biology of the mare. Cross Plains, Equiservices, 1996, 276p.

GINTHER, O.J.; PIERSON, R.A. Ultrasonic anatomy and pathology of the equine uterus. *Theriogenology*, v.21, 1984, p.505 -15.

GOMES, Marcelo Carvalho. **Microbiota vaginal de cabras nas fases do proestro, pós cópula e pós-parto.** 2006. 29p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Veterinária) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2006.

GORDON, J.R.; SARTIN, E.J. Endometrial biopsies as an aid to diagnosis and prognosis in equine Med. and Surg, v.2, p.328-336, 1978.

HAINES, G.R, et al. Serum concentrations and pharmacokinetics of enrofloxacin after intravenous and intragastric administration to mares. *Can. J. Vet. Res*, Ottawa, v.64, n.3, p.171-177, Jul, 2002.

HINRICHS, K., CUMMINGS, M.R., SERTICH, P.L., KENNEY, R.M. Clinical significance of aerobic bacterial flora of the uterus, vagina, vestibule, and clitoral fossa of clinically normal mares. *J. Am. Vet. Med. Ass.* v.193, p.72-75, 1988.

HUGHES, J.P.; LOY, R.G. Investigation on the effect of intrauterine inoculations of *Streptococcus zooepidemicus* in the mare. *American Association of Equine Practitioners*, p.289-292, 1969.

HURTGEN, J.P. Pathogenesis and treatment of endometritis in the mare: A review. *Theriogenology*, v.66, p.560-566, 2006.

JACOB, J.C.F.; JESUS, V.L.T.; BARBOSA, H.P.; ZIMMERMAN, M.F.; SILVA, A.G.; MELO, M.O. Susceptibilidade antimicrobiana de swab uterino e da fossa clitoriana de éguas com subfertilidade. *Revista Universidade Rural, série Ciências da Vida*, v.22, n.2, p.109-114, 2002.

JACOB, J.C.F.; JESUS, V.L.T.; GOMES, A.; ZIMMERMAN, M.; PALHANO, H.B. Citologia x Bacteriologia uterina: métodos complementares para diagnóstico da endometrite equina. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.27, n.3, 2003.

- JAIN, N.C. Essentials of Veterinary Hematology. Philadelphia: Lea & Febiger, 417p, 1993.
- KATILA, T. Onset and duration of uterine inflammatory response of mares after insemination with fresh semen. *Biology Reproduction. Mono*, v.1, p.515-17, 1995.
- KATILA, T. Uterine defence mechanisms in the mare. *Animal Reproduction Science*, v.42, p.197-204, 1996.
- KATILA, T. Sperm-uterine interation; a review. *Animal Reproduction Science*, Amsterdam, v.68, p.267-172, 2001.
- KENNEY, R.M. Cyclic and pathologic changes of the mare endometrium as detected by biopsy, with a note on early embryonic death. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* v.72, p.241-262, 1978.
- KENNEY, R.N.; KHALEEL, S.A. Bacteriostatic activity of mares uterus: A progress report on immunoglobulins. *Journal Reproduction Fertility, Supplement*, v.23, p.357-58, 1975.
- KENNEY, R.N.; BERGMAN, R.V.; COOPER, W.L.; WORSER, G.W. Minimal contamination techniques for breeding mares: techniques and preliminary findings. In: Annual Con. of Asso. of Equine Praticiones, v.21, 1975. p. 237-336.
- KNUDSEN, O. Endometrial cytology as a diagnostic aid in mares. *Cornell Vet.* v.54, .415-422, 1964.
- KONEMAM, E.W. Diagnóstico Microbiológico. Texto e Atlas colorido. 6º ed., Editora Guanabara Koogan, 2008.
- KOTILAIMEN, T; HUHTINEN, M; KATILA, T. Sperm-induced leukocytosis in the equine uterus. *Theriogenology*, v.41, p. 629-636, 1994.
- LACAZ, C.S.; PORTO, E.; MARTINS, J.E.C. Micologia Médica: fungos actinomicetos e algas de interesse médico, 7º ed. São Paulo: Sarvier, 1984, 479p.
- LAGONI, H.; ALVARENGA, M.A.; PAPA, F.O.; SAKAMOTO, C.; SIMON, J.J.; LISTONI, J.F.P.; CARREIRA, E.L.C. Estudo microbiológico e citológico do trato genital de éguas. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.46, p. 623-636, 1994.
- LAGONI, H.; AIVARENGA, M.A.; PAPA, F.O.; LUCHEIS, S.B.; LUVIZOTO, M.C.R.; SAKAMOTO, C.; LISTONI, F.J.P. Participação de bactérias aeróbicas, microaerófilas e

anaeróbicas na endometrite equina. *Ver. Brasileira Reprodução Animal*, v.23, n.1, p.44-51, Jan-Mar. 1999.

LEBLANC, M.M. Effects of oxytocin, prostaglandin and phenylbutazone on uterine clearance of radiocolloid. *Praxis der Tierheilkunde, Stuttgart*, v.13, n.5, p. 483-485, 1997.

LEBLANC, M.M. Persistent mating induced endometrites in the mares: pathogenesis, diagnosis and treatment. International Veterinary Information Service, Ithaca, New York, USA, 2003.

LEBLANC, M.M. Advances in the Diagnosis and Treatment of Chronic Infectious and Post-Mating-Induced Endometrites in the Mare. *Reprod Dom Anim.*, v.45, p. 21-27, 2010.

LEBLANC, M.M.; MAGSIG, J.; STROMBERG, A.J. Use of low-volume uterine flush for diagnosing endometritis in chronically infertile mares. *Theriogenology* v.68, p. 403-412, 2007.

LEBLANC, M.M.; ASBURY, A.C.; LYLE, S.K; Uterine clearance mechanisms during the early postovulatory period in mares. *American Journal of Veterinary Research*, v.50(6), p.864-867, 1989.

LEBLANC, M.M.; ASBURY, A.C.; RATHWELL, A.C.; PACCAMONTI, D.L. The effect of intrauterine infusion of ticarcilin disodium one hour post-coitus in ductively, v. 11(10), p.33-38, 1989.

LEBLANC, M.M.; NEUWIRTH, L.; ASBURY, A.C.; MAURAGIS, D.; KLAPSTEIN, E.; TRAN, T. Scintigraph measurement of the uterine clearance in normal mares and mares with recurrent endometrits. *Equine Vet J*, v.26:109-113, 1994.

LEBLANC, M. M.; NEUWIRTH, L.; JONES, L.; CAGE, C.; MAURAGIS, D. Differences in uterine position of reproductively normal mares and those with delayed uterine clearance detected by scintigraphy. *Theriogenology*. v. 50, p.49-54, 1998.

LEITE, F.D. Auto-hemoterapia, Intervenção do Estado e Bioética. *Rev. Assoc. Med. Bras*, v.54. n°2, São Paulo, 2008.

- LEY, W.B. Reprodução em Éguas para Veterinários de Equinos. 1^a ed., São Paulo: Editora Roca, 2006. 220p.
- LIU, I.K.M.; TROEDSSON, M.H.T. The diagnosis and treatment of endometritis in the mare: Yesterday and today. *Theriogenology*, v.70, p.415-20, 2008.
- LOBATO, Z.; BIRGEL, J.R.E. Verrugas atrapalham a produção. *Produtor Parmalat*, n.37, p.36-39, mar.2000.
- MALOUFI, F.; PIERSON, R.; OTTO, S.; BALL, C.; CARD. Mares susceptible or resistant to endometritis have similar endometrial echographic and inflammatory cell reactions at 96 hours after infusion with frozen semen and extender. In: roceeding of the Annual Convection oh the American Association of Equine Practioners, v.48, .51-57, 2002.
- MALSCHITZKY, E.; JOBIM, M.I.M.; MATTOS, R.C.; GREGORY, R.M. Endometrite na égua, novos conceitos, *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.31, n.1, .17-26, 2007.
- MATTOS, R.C. Manejo Reprodutivo da Égua. In.: Taranto, J.R. Sangue e Raça. Rio de Janeiro, RJ. Ed. Index Ltda, 1989. p. 69-81.
- MATTOS, R.C.; MALSCHITZKY, E.; JOBIM, M.T.I.M. Endometrite na égua. *Revista Brasileira Rerodução Animal*, v.27, n.2, p.150-157, 2003.
- McCUE, P.M. et al. Antimicrobial susceptibility patterns for equine endometrial isolates. *California Veterinarian*, v.1-2, p.23-26, 1991.
- MERKT, H.; WOCKENER, A.; HEILKEN BRINKER, T. Mikrobielle untersuchung in der stutengynakologic. *Prakt. Tierazt*.
- METTENLEITER, M.M. Autohemotransfusion in Preveting Postoperative Lung Complications. *The American Journal of Sugery*, v.2, 321-326, 1936.
- MILLS, P.C.; AUER D,E.; KRAMER, H.; BARRY, D & NG JC. Effects of inflammation-associated acute-phase response on hepatic and renal indices in the horse. *Australian Veterinary Journal*, v.76, p.187-194, 1998.
- MOORTHY, A.R.S.; SPADBROW, P.B.; EISLER, M.E.D. Isolation of Mycoplasmas from the genital tract of horses. *Aus. Vet. J* -5 3: 167-169, 1977.

MORENO, G.; BOTTINO, J.A.; MÓS, E.N.; MIGUEL, O. Infecções genitais de éguas puro sangue inglês. Inquérito bacteriológico. *Biológico*, São Paulo, v.37, n.1, p.8-12, 1972.

NIELSEN J. M. Endometritis in the mare: a diagnostic study comparing cultures from swab and biopsy. *Theriogenology*, 64:510–8, 2005.

NIKOLAKOPOULOS, E.; KINDHAL, H.; GILBERTI, C.L.; GOODE.; WATSON, E.D. Release of Oxytocin and Prostaglandin F₂ α around teasing, natural service and associated in the mare. *Animal Reproduction Science*, v.63, p. 89-99, 2000.

NEWCOMBE, J.R. The effect of the incidence and depth of intra-uterine fluid in early dioestrus on pregnancy rate in mares. *Pferdeheilkunde*, v.13, p.545, 1997.

OLIVEIRA, J.R, J.O. Prática Hospitalar. Ano IX, n. 51, mai/jun, 2007.

OLIVEIRA I.B.; PEIXOTO, R.M.; SILVA, D.R.; JUNIOR, J.W.P.; OLIVEIRA, A.A.F.; MOTA, R.A. Análise comparativa entre o exame citológico e microbiológico no diagnóstico de endometrite equina. *Veterinária e Zootecnia*. 2010 mar, v.17(1), p.43-46.

OLSON, M.E, et al. Biofilme bacteria: formation and comparative susceptibility to antibiotics. *Can. J. Vet. Res.*, Ottawa, v.66, n.2, p.86-92, Apr. 2002.

PALM, F.; WALTER, I.; BUDIK, S.; AURICH, C. Influence of different semen extenders and seminal plasma on the inflammatory response of the endometrium in estrous mares. *Theriogenology*, v. 94 p.286–9, 2006.

PARKINS, M.D.; CERI, H.; STOREY, D.G. *Pseudomonas aeruginosa* Gaca, a factor in multihost virulence, is also essential for biofilm formation. *Mol. Microbiol. Oxford*, v.40, n.5, p.1215-1226, Jun, 2001.

PETRITES-MURPHY, M.B. et al. Equine cryptococcal endometritis and placentitis with neonatal cryptococcal pneumonia. **Journal Veterinary Diagnostic Investigation**, v.8, p.383-386, 1996.

PIMENTEL, C.A.; SANTOS, P.F.M.; ALVES, A.M.; HAMMES, A.M. Biópsia endometrial em equinos. In: Laboratório Regional de Diagnósticos. Doenças diagnosticadas no ano de 1989. Pelotas, UFPEL, 1989, p.47-49.

PLATT, H.; ARTHERTON, J.C.; ORSKON, I. Klebsiella and enterobacter organisms isolated from horses. J.Hyg, London, v.77, n.3, p.401-408, Dec. 1977.

PYCOCK, J.F. Management of the problem-breeding mare. In: Proceedings of the Annual Meeting Society Theriogenology; 1999, Nashville. Nashville: The Society for *Theriogenology*, p.79-89, 1999

PYCOCK, J. F.; ALLEN, W.E. Inflammatory components in uterine fluid from mares with experimentally induced bacterial endometritis. Equine Vet. J., London, v.22, n.6, .422-425, Nov.1990.

REED, S.M.; BAYLY, W.M. Medicina Interna Equina. Editora Guanabara koogan 2000.

REITZENSTEIN, M.; CALLAHAN, M.A.; HANSEN,P.; LEBLANC, M.M. Aberrations in uterine contractile patterns in mares with delayed uterine clearance after administration of detomidine and oxytocin. Theriogenology, v.58, p.887-898, 2002.

RIBAS, J.A.S. **Incidência de endometrites fúngicas em éguas (*Equus caballus*) no Estado do Rio de Janeiro**. 1998. 80f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal Fluminense, Niterói, 1998.

RICKETTS, S.W.; The Technique and clinical, Application of Endometrial Biopsy in the Mare. Eq. Vet. J, v.7, p.102-1-7,1975.

RICKETTS, S.W. Bacteriological examination of the mare's cervix: Techniques and interpretation of results. Vet. Rec. v.108, p.46-5, 1981.

RICKETTS, S.W.; MACKINTOSH, M.E. Role of anaerobic bacteria in equine endometritis. Journal Reproduction Fertility. Supplement v.35, p.343-351, 1987.

RICKETTS, S.W.; ALONSO, S. The effect of age and parity on the development of equine chronic endometrial disease. equine Vet. J. v.23, p.189-192, 1991.

RIDDLE, W.T.; LEBLANC, M.M.; STROMBERG, A.J. Relationships between uterine culture, cytology and pregnancy rates in Thoroughbred practice. *Theriogenology*, Los Altos, v.68, n.3, p.395-402, 2007.

RIDDLE, W.T.; LEBLANC, M.M.; PIERCE, S.W.; STROMBERG, A.J. Relationships between pregnancy rates, uterine cytology and culture results in a Thoroughbred practice in central Kentucky. In: Proceedings of the 50th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners; 2005. p. 51–4.

RIET-CORREA, F. Doença de Ruminantes e Eqüídeos. v2, 3ª ed., Santa Maria: Editora Varela, 2007, 467-476p.

SANTIN, A.P.; BRITO, L.A.B. *Ciência Animal Brasileira*, v.5, n.1, p.39-45, jan/mar.2004.

SCHOON, H.A.; SCHOON, D.; KOTTER, B.; RUNGE, A.; KING, E. Zur Paterogenese um Prognose de Endometrose de Stud. In: Dtsch. Vet. Med. Gesellschaft Bricht des 21. Kongresse der DGV, Bad Naueim, p. 273-282, 1995.

SANTOS, A.G. **Avaliação da microbiota vaginal de cadelas usando como diagnóstico o isolamento microbiológico e a colpocitologia.** Tese de mestrado, U.F.R.RJ, 2006.

SCOT, M.A.; LIU, I.K.M.; OVERSTREET, J.W. Sperm transport to the oviducts. Abnormalities and their clinical implications. *Proc. Am. Assoc. Equine Pract.*, [S.1], V.41, p.1-2, 1995.

SHAKMAN, S.H. Autohemoterapia: a picada mágica? [Citado em 6 de jul, 2007]. Disponível em :

[http://paginas.terra.com.br/saude/autohemoterapia/AUTHOHEMOTHERAPY THE MAGIC SHOT Stuart Shakman.pdf](http://paginas.terra.com.br/saude/autohemoterapia/AUTHOHEMOTHERAPY%20THE%20MAGIC%20SHOT%20Stuat%20Shakman.pdf).

SCHALM, O.W.; JAIN, N.C.; CARROLL, W.J. *Veterinary hematology*. 3rd ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 1975, 807p.

SELLOW, L. Immunotherapy in broodmares. 2007. Disponível em < [http://www.thehorse.com/View Article.aspx. ID=8814](http://www.thehorse.com/View%20Article.aspx?ID=8814)>. Acesso em 08 jan 2013.

SHIN, S.J.; LEIN, D.H.; ARONSON, A.L.; NUSBAUM, S.R. The bacteriological culture of equine uterine contents, in-vitro sensitivity of organisms isolated and interpretation. *Journal Reproduction Fertility*. Supplement, v.27 p.307–15, 1979.

SILVA, C. A.M. Uma nova técnica para correção cirúrgica de pneumovagina na égua. *Turf e Fomento* v.23(4), p.247-248, 1983.

SILVA, N.; BRAGA, C.E.; COSTA, G.M.; LOBATO, F.C.F. Isolamento e teste de susceptibilidade a antimicrobianos de bactérias em infecções uterinas de éguas. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 51,n.3, p.213-216, 1999.

SILVA, C. H.; SOUZA, L. J.; PAPA-MARTINS, M. Avaliação dos efeitos da autohemoterapia sobre a cicatrização e presença de leucócitos séricos em ratos wistar. *Revista Eletrônica de Enfermagem do UNIEURO REEUNI, Brasília*, v.2, n.1, p. 39-57, jan/abr, 2009.

THRELFALL, W.R. & IMMEGART, H.M. Doença uterina e tratamento. In: REED, S.M. & BAYLY, W.M. (Eds.). *Medicina interna eqüina*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000, p.666-671.

TROEDSSON, M.H.T. Uterine response to semen deposition in the mare. In: ANNUAL MEETING OF SOCIETY FOR THERIOGENOLOGY, San Antonio. Proceeding.. San Antonio :[s.n], 1995. p.130-134.

TROEDSSON, M. H. T. Therapeutic considerations for mating-induced endometritis. *Pferdeheilkund*, v. 13, p. 516-520, 1997.

TROEDSSON, M.H.T. Uterine clearance and resistance to persistent endometritis in the mare. *Theriogenology*, v.52, p.461-471, 1999.

TROEDSSON, M.H. Breeding-induced endometritis in mares. *Vet. Clin. North Am. Equine Pract.*, Philadelphia, v.22, n.3, p.705-712, Dec. 2006.

TROEDSSON, M.H.T.; LIU, I.K.M. Uterine clearance of non-antigenic markers in response to a bacterial challenge in mares potentially susceptible and resistant to chronic uterine infections. *Journal of Reproduction and Fertility, Supplement*, v.44, p.283-288, 1991.

TROEDSSON, M.H.T.; WISTROM, A.O.G.; LIU, I.K.M.; ING, M.; PASCOE, J.; THURMOND, M. Registration of myometrial activity using multiple site electrography in cyclic mares. *Journal of Reproduction and Fertility*, v.99, p.299-306, 1993.

TROEDSSON, M.H.T.; SCOTT, M.A.; LIU, I.K.M. Comparative treatment of mares susceptible to chronic uterine infection. *American Journal of Veterinary Research*, v.56(4), p.468-472, 1995

TROEDSSON, M.H.T.; LEE, C.S.; FRANKLIN, R.; CRABO, B.G; Post-breeding uterine inflammation: the role of seminal plasma. *Journal of Reroduction and Fertility*, v.56 (*Suplementum*), p.314-349, 2000.

TROEDSSON, M.H.T.; LOSET, K.; ALGHAMDI, A.M.; DAHMS, B.; CRABO, B.G. Interaction between equine semen and endometrium: the inflamatory response to semen. *Animal Reproduction Science*, dec 3, v.68 (3-4), p.273-278, 2001.

TROEDSSON, M.H.T.; ALGHAMD, A.S.; MATTISEM, J.E. Equine Seminal plasma protects the fertility of spermatozoa in an inflamed uterine environment. *Theriogenology*, v.58(2), p.453-456, 2002.

VAZ, A.K.; RISCH, A.L.C.; BRENDLER, R.1979. Infecções genitais em éguas na região de Bagé, RS. *Turf & Fomento*, março/abril, p.102-103, 1979.

VERONESI, R. Imunoterapia: o impacto médico do século. *Revista Medicina de Hoje*, v.3, p.31-37, 1976.

VERONESI, M.C.; CARLUCIO, A.; KINDHAL, H.; FAUSTINI, M.; BATTOCCHIO, M.; CEIROLI, F. Oxitocin-induced PGF2 α release in mares with and without pos-breeding delayed uterine clearance. *Journal Veterinary Medicine*, v.53, p. 259-262, 2006.

WATSON, E.D.; Post-breeding endometritis in the mare. *Animal Reproduction Science*, v. 60, p.221-232, 2000.

WATSON, E.D.; STOKES, C.R.; BOURNE, F.J. Cellular and humoral defence mechanisms in mares susceptible and resistant to persistent endometritis. *Veterinary Immunology and Immunopathology* v.16(2), p.107-121, 1987.

WIDDERS, P.R.; WARNERS, S.; HUNTINGTON, P.J. Immunisation of mares to control endometritis caused by *Streptococcus zoepidemicus*. *Reseach in Veterinary Science* v.58, p.75-81, 1985.

WINTZER, H. J.. Doenças dos Equinos, 1a edição, Editora Manole LTDA, São Paulo - SP, p. 173 - 176, 1990.

ZINGHER, A.C. Effects of immunostimulation with *Propionibacterium acnes* (EQSTIM) in mares cytologically positive for endometritis. *J. Equine Vet. Sci.*, v.16, p.100-103,1996.

ZENT, W.W.; TROEDSSON, M.H.T.; XUE, J.L. Postbreeding uterine fluid accumulation in a normal population of Thoroughbred mares; a field study. *Proceedings Society of Theriogenology*, Baltimore, 78-79, 1998.

WITTENBRINK, M.M.; HOLZLE, L.; BAUMEISTER, A.K. Mechanisms of bacterial pathogenesis in equine endometritis. I. Intl. Konferenz uber Endometritis. Endometrose beim ferd. *Pferdeheilkunde.*, v.13(5), p.450-452, 1997.