

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA ANIMAL: EQUINOS**

**RELAÇÃO ENTRE O FLUIDO UTERINO E CITOLOGIA ENDOMETRIAL
NA ÉGUA COMO INDICATIVO DE SAÚDE REPRODUTIVA**

EMÍLIO VIEGAS CÁSSERES DE BORBA

PORTO ALEGRE

2011

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA ANIMAL: EQUINOS

RELAÇÃO ENTRE O FLUIDO UTERINO E CITOLOGIA ENDOMETRIAL
NA ÉGUA COMO INDICATIVO DE SAÚDE REPRODUTIVA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Animal: Equinos, da Faculdade de Veterinária da UFRGS como requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias.

Orientadora: Prof^ª Dra. Adriana Pires Neves

Co-orientadora: Prof^ª Dra. Sandra Mara da Encarnação Fiala

EMÍLIO VIEGAS CÁSSERES DE BORBA

PORTO ALEGRE

2011

CIP - Catalogação na Publicação

VIEGAS CÂSSERES DE BORBA, EMÍLIO
RELAÇÃO ENTRE O FLUIDO UTERINO E CITOLOGIA
ENDOMETRIAL NA ÉGUA COMO INDICATIVO DE SAÚDE
REPRODUTIVA / EMÍLIO VIEGAS CÂSSERES DE BORBA. --
2012.
40 f.

Orientadora: Prof^a Dra. Adriana Pires Neves.
Coorientadora: Prof^a Dra. Sandra Mara da
Encarnação Fiala.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária,
Programa de Pós-Graduação em Medicina Animal: Equinos,
Porto Alegre, BR-RS, 2012.

1. endometrite . 2. éguas . 3. inflamação. I.
Pires Neves, Prof^a Dra. Adriana , orient. II.
Encarnação Fiala, Prof^a Dra. Sandra Mara da,
coorient. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os
dados fornecidos pelo(a) autor(a).

EMÍLIO VIEGAS CÁSSERES DE BORBA

**RELAÇÃO ENTRE O FLUIDO UTERINO E CITOLOGIA ENDOMETRIAL
NA ÉGUA COMO INDICATIVO DE SAÚDE REPRODUTIVA**

APROVADO POR:

Prof^{ta}. Dra. Adriana Pires Neves

Dra. Caroline Antoniazzi Wolf

Prof. Dr. Eduardo Malschitzky

Prof^{ta}. Dra. Karin Erica Brass

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a meu avô Altair Job de Borba (*in memoriam*).

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus por me dar tudo que tenho.

Agradeço a meus pais, meus melhores amigos, em todas as horas.

Agradeço a meu irmão, Ramiro.

Agradeço a minhas avós, sem elas com certeza eu não teria alcançado este momento também.

A minha namorada, Fernanda Mógia Pedra pelo companheirismo e amizade.

Agradeço a meus colegas de trabalho Dr. Ulisses, Dr. Carlos e toda a equipe do Haras Bagé do Sul pela grande amizade e apoio com este trabalho.

Agradeço a meus amigos de eternas viagens pra Porto Alegre, Jonas Flores e Liana Salles, foram muitas horas juntos.

Agradeço a minha Co-Orientadora Sandra Fiala.

E por final, agradeço a minha Orientadora deste trabalho, minha amiga e grande motivadora, Prof^ª Dra. Adriana Pires Neves e Prof. Dr. Sérgio Ivan dos Santos, com sua grande contribuição estatística a este trabalho. Muito obrigado mesmo.

RESUMO

A endometrite é uma patologia frequente em éguas com eficiência reprodutiva reduzida. A citologia endometrial é um método diagnóstico importante para uma avaliação completa da saúde reprodutiva da égua. Da mesma maneira, o exame de ultrassom para detectar fluido no lúmen uterino, tem sido útil para identificar éguas com problema de limpeza uterina. Os objetivos do presente trabalho foram comparar a avaliação ultrassonográfica à avaliação citológica no diagnóstico da inflamação. Foram utilizadas 100 éguas cíclicas, de 3 e 25 anos de idade. As éguas eram examinadas por palpação retal e ultrassonografia a intervalos máximos de 24 horas, com objetivo de avaliar o crescimento folicular e presença de fluido intrauterino. De todas as éguas com folículo maior de 36 mm, e sintomas de estro aptas a serem cobertas, foi colhida uma amostra para citologia endometrial com o auxílio de espéculo e escova cervical. A área de acúmulo de fluido uterino, quando, foi medida utilizando o ultrassom. Caso a altura desta área fosse maior ou igual a 10 mm, era considerado acúmulo de fluido intrauterino. Os dados foram analisados pelo teste Qui-quadrado. Das éguas com fluido uterino antes da cobertura, 14 (14%) apresentaram citologia endometrial positiva, e 6 (6%) tiveram exame negativo. Das éguas que não tinham fluido endometrial, 38 (38%) foram positivas na citologia endometrial, enquanto 42 (42%) das éguas sem líquido no lúmen uterino tiveram citologia negativa ($X^2 = 4,013$). Os 2 métodos utilizados para diagnóstico de endometrite na égua foram discrepantes. A ocorrência de éguas com citologia positiva, sem mostrar acúmulo de fluido intra uterino, sugere que o método de citologia endometrial é mais sensível do que o exame de ultrassom. A presença de FIU com citologia endometrial negativa é atribuída ao edema fisiológico, já que as éguas eram examinadas durante o estro.

Palavras-chave: endometrite – éguas - inflamação.

ABSTRACT

Endometritis is a common pathology in horses with reduced reproductive efficiency. The endometrial cytology is an important diagnostic method for a complete evaluation of the mares reproductive health. Likewise the ultrasound examination to detect fluid in the uterine lumen has been useful to identify mares with uterine cleaning problem. The aim of this study was to compare the ultrasonographic evaluation to cytological diagnosis of inflammation. 100 cyclic mares were used, with age range between 3 and 25 years old. Were examined by rectal palpation and ultrasonography at intervals of 24 hours between one examination and another in order to evaluate follicular growth and presence of intrauterine fluid. Of all the mares with follicles greater than 36 mm and symptoms of estrus able to be covered an endometrial cytology sample was taken and cervical brush. The area of uterine fluid accumulation if any was measured using ultrasound. If the height of this area was greater than 10 mm would be considered accumulation of intrauterine fluid. Data were analyzed by the Chi-square test. Mares with uterine fluid before mating 14 (14%) had positive endometrial cytology and 6 (6%) had negative test. Of the mares that had no endometrial fluid 38 (38%) were positive in endometrial cytology, while 42 (42%) mares without fluid in the uterine lumen had negative cytology ($X^2 = 4,013$). It was concluded that the two methods used for diagnosis of endometritis in the mare were discrepant. The occurrence of mares with positive cytology, but without showing accumulation of IUF, suggests that the method of endometrial cytology is more accurate than ultrasound examination. In the case of the presence of endometrial cytology with IUF negative, can be credited to physiological edema, since the mares were examined during estrus.

Keywords: endometritis – mares - inflammation.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Citologia endometrial de éguas com ou sem fluido endometrial antes da cobertura.....	26
Tabela 2: Distribuição por idade das éguas e frequência de aparecimento em grupos, quanto ao acúmulo de líquido pré-cobertura e citologia endometrial positiva	26
Tabela 3: Distribuição por idades das éguas, quanto a citologia e ultrassonografia, associado com prenhez.....	27
Tabela 4: Relação entre ângulo vulvar, idade das éguas por grupos, citologia endometrial e ultrassonografia	27
Tabela 5: Relação entre citologia e ultrassonografia negativa em relação à prenhez	28
Tabela 6: Relação entre citologia e ultrassonografia positiva em relação à prenhez. ...	28
Tabela 7: Relação entre Prenhez, citologia e ultrassonografia.....	40

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Presença de fluido intrauterino pré cobertura.....	16
Figura 2: Equipamento utilizado para as coletas.....	25

LISTA DE ABREVIATURAS

Cito- citologia

FLU- Fluido no lumen uterino

Há- hectares

IgG- imunoglobulina G

IgM- imunoglobulina M

IUF- intrauterine fluid

mm- milímetros

n- número

Pgf2a- Prostaglandina 2a

PMN's- polimorfos-nucleares

PSC- puro sangue de corrida

PVPI- iodo polivinil pirrolidona

subp- sub-espécie

US- ultrassom

x- vezes

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	12
1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
1.1 Endometrite.....	14
1.2 Causas da endometrite.....	18
1.3 Mecanismos de defesa uterina	19
1.3.1 Mecanismos de defesa celulares.....	19
1.3.2 Mecanismos de defesa humoral	20
1.3.3 Mecanismos de defesa física.....	20
1.4 Diagnóstico da endometrite	21
1.4.1 Inspeção	21
1.4.2 Palpação.....	21
1.4.3 Ultrassonografia	21
1.4.4 Citologia e bacteriologia.....	22
2 MATERIAL E MÉTODOS	24
2.1 Local	24
2.2 Animais.....	24
2.3 Coleta de material	24
3 RESULTADOS	26
4 DISCUSSÃO	29
CONCLUSÃO.....	31
REFERÊNCIAS.....	32
APÊNDICE	39

INTRODUÇÃO

A criação de equinos cada vez mais vem se expandindo mundialmente. A espécie equina é considerada como a de pior eficiência reprodutiva dentre as espécies domésticas (MERKT *et al.*, 1979; VOSS, 1984). Exige-se aprimoramento sobre as tecnologias que estão a disposição para que dela se faça o melhor uso possível. No Brasil a raça Puro Sangue de Corrida hoje em dia, possui um rebanho com 3.827 éguas reprodutoras e 235 garanhões, atingindo uma produção de 2922 animais. O número estimado de animais em atividade turfística ou na reprodução é de 36.000. Atualmente o Brasil conta com cerca de 890 criadores em atividade na raça PSC divididos em avulsos - aqueles que não possuem local próprio e criam em local de terceiros - e criadores de haras - aqueles que possuem espaço físico e estrutura adequados (IFHA, 2011).

A endometrite é uma patologia frequente em éguas o que acaba por diminuir a sua eficiência reprodutiva. A citologia endometrial é um método diagnóstico importante para avaliação completa da saúde reprodutiva da égua. O primeiro a descrever a técnica para exame de citologia endometrial foi Knudsen (1964). É uma ferramenta valiosa para se determinar a ocorrência de um evento inflamatório no útero. A citologia endometrial não substitui o exame histopatológico de uma biópsia endometrial, porém, pode ser útil quando se necessita de uma decisão rápida entre cobrir, inseminar a égua, ou não. Este fato faz da citologia endometrial um procedimento padrão na reprodução equina (PINTO, 2009). A citologia é um método mais sensível que o exame bacteriológico ao diagnóstico da inflamação endometrial, pois todas as éguas com endometrite clínica devem apresentar o citológico positivo (MATTOS *et al.*, 1984). Os mesmos autores encontraram uma correlação entre achados citológicos e taxa de fertilidade, pois, de 206 éguas submetidas à inseminação artificial, apenas 5% das éguas com citologia positiva emprenharam.

Da mesma maneira, o exame de ultrassom para detectar fluido no lúmen uterino, tem sido útil para identificar éguas com deficiência de limpeza uterina, e é a técnica considerada mais útil na prática diária (LeBLANC, 2010). A causa do acúmulo de fluido intrauterino é incerta; presume-se que seja resultado da produção excessiva de muco, ou reduzida limpeza devido a contratilidade uterina insuficiente, ou problemas de reabsorção dos vasos linfáticos. Poderia ser uma associação dos três fatores (SERTISH, 2007).

A presença de fluido no lúmen uterino antes da cobertura na égua sugere susceptibilidade à endometrite persistente (PYCOCK & NEWCOMBE, 1996; MALOUFI *et al.*, 2002; BRINSKO *et al.*, 2003). O fluido intrauterino é normalmente estéril, porém pode agir como um meio de cultura para bactérias que penetrem o trato genital feminino durante a cobertura ou inseminação, podendo ter também ação espermicida (MCKINNON *et al.*, 1993). A reação inflamatória fisiológica ao sêmen, serve para a limpeza uterina e outros contaminantes, como por exemplo, bactérias, e restos celulares. Éguas resistentes a endometrite conseguem se limpar antes do 5º ou 6º dia após a ovulação, assim aumentando as taxas de prenhez (ZENT *et al.*, 1998).

O objetivo deste trabalho foi comparar o uso da citologia endometrial e da ultrassonografia no diagnóstico de endometrites em éguas quanto a sensibilidade no diagnóstico.

1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 Endometrite

A endometrite tem sido apontada como a maior causa de infertilidade nas éguas (BRINSKO *et al.*, 2011). Endometrite é uma patologia frequentemente encontrada em éguas com baixa eficiência reprodutiva (PINTO, 2009). O útero das éguas é constantemente exposto a uma variedade de microorganismos durante o momento da cobertura ou na inseminação artificial (KOTILAINEN, 1994; TROEDSSON, 1995). A deposição do sêmen no útero das éguas induz um grau de inflamação fisiológico. Esta é a chamada endometrite transitória, que ocorre após a cobertura, e serve para que haja a remoção dos espermatozóides excedentes, plasmas seminais e contaminantes que acabam adentrando o útero (ZENT *et al.*, 1998; TROEDSSON, 1997; HEMBERG, 2004; MALOUFI, 2002). Éguas que conseguem se limpar apenas com seus mecanismos físicos após a cobertura, possuem uma boa fertilidade, já as éguas que não conseguem fazer esta limpeza pós cobertura, inseminação ou ainda pós parto, podem desenvolver endometrite pós cobertura ou ainda endometrite aguda. Se não tratada, poderá se tornar crônica (LeBLANC, 2010). O primeiro passo a se fazer para se obter sucesso no tratamento da endometrite é justamente descobrir a causa, ou as causas, partindo assim para o tratamento mais indicado para cada caso (LEY, 1994, LeBLANC, 2010).

Nas éguas, os espermatozóides são depositados diretamente no útero, sendo então rapidamente transportados para as tubas uterinas. No entanto, apenas um pequeno número de espermatozóides chegará ao local de fertilização no oviduto (TROEDSSON, 1995). A maior parte do ejaculado permanece no útero e é eliminada por contrações uterinas e uma resposta inflamatória uterina aguda. Éguas resistentes à endometrite conseguem expulsar “debris” em até 24 a 36 horas pós-cobertura (TROEDSSON *et al.*, 1998).

Passados 30 minutos do momento da cobertura, o útero das éguas já responde a presença do sêmen, enviando um aporte de neutrófilos (KOTILAINEN *et al.*, 1994). Segundo Troedsson *et al.* (1998), esta resposta imediata visa eliminação do excesso de espermatozóides mortos ou defeituosos.

Se a inflamação se prolongar, pode ser altamente prejudicial para o endométrio, o que caracteriza as éguas suscetíveis (SCOTT, LIU, 1995; ZENT *et al.*, 1998; FIORATTI, 2010). As éguas susceptíveis têm em comum, como idade avançada,

histórico de falha reprodutiva em várias temporadas, histórico de episódios anteriores de endometrite e de perdas gestacionais (TROEDSSON, 1997). Segundo Pycock *et al.* (1997), é importante saber o histórico reprodutivo das éguas, para assim, classificá-las como susceptíveis ou resistentes.

A limpeza uterina quando ocorre de forma deficiente, acarretará uma endometrite crônica. Éguas resistentes possuem mecanismos de defesa uterinos funcionando corretamente, e são capazes de superar a contaminação intra-uterina e atenuar a resposta inflamatória dentro de um curto período de tempo. As éguas susceptíveis são propensas a endometrite crônica pós-cobertura, pois não possuem mecanismos de defesa uterina tão eficiente quanto às resistentes (LeBLANC, 2009). As alterações na atividade miometrial parecem ser o defeito primário, entretanto, outras patologias, tais como lacunas linfáticas, angiopatias e fibrose periglandular (endometrose) contribuem para a doença (WATSON, 1988; ZENT, 1998).

Alguns tratamentos clássicos para endometrite incluem lavagens uterinas, administração de drogas ecbólicas e infusões de antibiótico intrauterino. Porém estas terapias não são suficientes em alguns casos de endometrite. O uso de esteróides aumenta as taxas de prenhez em éguas com infertilidade crônica. O uso de mucolíticos reduz a produção de muco por parte do endométrio (LeBLANC, 2010).

Éguas reprodutivamente sadias respondem à contaminação uterina com uma resposta inflamatória transitória que inclui a ativação de mecanismos de defesa humorais ou mediada por anticorpos, recrutamento de células polimorfonucleares (PMNs) para fagocitose, liberação de prostaglandinas e aumento da contratilidade uterina para livrar mecanicamente o útero dos conteúdos luminiais (BRINSKO *et al.*, 2011). A endometrite induzida pela cobertura é uma das maiores causas de infertilidade em éguas mais velhas pós-cobertura (FIORATTI, 2010). Estas éguas se caracterizam pela incapacidade de eliminar o processo inflamatório intrauterino, em até 48 horas pós-cobertura (TROEDSSON, 1997).

Éguas pluríparas com idade acima de 14 anos, são éguas que comumente apresentam problemas de endometrite, visto que sua conformação perineal é pobre. Estas éguas tendem a apresentar acúmulo de fluido nos cornos uterinos, enquanto em éguas mais jovens este acúmulo se faz cranialmente à cervix. A palpação com o auxílio da ultrassonografia destes animais 12 a 36 horas pós cobertura, auxilia o diagnóstico associado com o histórico clínico destes animais (LeBLANC, 2009, BRINSKO *et al.*, 2011). Uma causa possível da presença de neutrófilos no útero das éguas é a

pneumovagina, produção excessiva de muco por parte do endométrio e o sêmen m(LeBLANC, 2010). Em éguas resistentes, o útero está protegido através da barreira vulvar, do vestíbulo, vagina e cérvix, enquanto éguas susceptíveis possuem falha em alguma destas barreiras (HEMBERG *et al.*, 2004). A idade e o número de partos estão diretamente relacionados com a susceptibilidade de éguas a endometrite (HUGHES e LOY, 1969).

O acúmulo de fluido intrauterino durante o estro pode ocorrer por fatores (fig. 1), como: o colo estar fechado, dificultando a drenagem; produção de fluido aumentada pela inflamação crônica; ou refluxo de urina para o útero aumentando o processo inflamatório. Alterações uterinas degenerativas como angiopatias também podem contribuir para o este problema (LeBLANC, 2010).



Figura 1: Presença de fluido intrauterino pré cobertura

Segundo Bucca *et al.* (2008), uma simples dose de dexametasona administrada antes ou depois da cobertura, diminui o processo inflamatório intra-uterino, assim, aumentando as taxas de prenhez em éguas sabidamente com acúmulo de fluido intrauterino. Para se obter maior sucesso, tratar as éguas com lavagens uterinas, drogas ecbólicas e antibiótico terapia intrauterina pós-cobertura.

Normalmente nas propriedades, não é feito um exame citológico preventivo do animal, assim sendo, após a cobertura, quando esta égua já apresenta acúmulo de líquido intrauterino, é que o clínico vai realmente investigar a causa do problema, desta

forma, fica um pouco mais difícil de solucioná-lo. Isto acarretará em perdas econômicas e de tempo (BRINSKO *et al.*, 2003).

Em éguas resistentes à endometrite, pode haver um pequeno acúmulo de fluido intrauterino durante o cio. No exame ultrassonográfico pré-cobertura, se evidencia entre o edema uterino um acúmulo de 10 a 20 mm de fluido, podendo aparecer no corpo do útero como nos cornos (BRINSKO *et al.*, 2011). Em contrapartida, éguas susceptíveis, tendem a acumular mais que 2 cm de fluido intrauterino durante o estro (BRINSKO *et al.*, 2003).

Atualmente, a presença de mais de 2 centímetros de fluido uterino, durante a fase de estro, tem sido considerada como o fator principal para a detecção precoce e animais considerados susceptíveis à endometrite persistente pós-cobertura (EPPC) (BUCCA *et al.*, 2008; BRINSKO *et al.*, 2003). Entretanto, segundo Adams *et al.* (1987), acúmulo de fluido de até 10mm já deveria ser levado em conta. Éguas PSC, com fluido intrauterino no 2º e 3º dia de cio, possuem 1,4 vezes mais chances de terem mais do que 5 neutrófilos/400x na citologia do que os animais que não possuíam fluido algum. De qualquer modo, a presença do fluido, durante os dias de cio, nem sempre está associada com endometrite bacteriana. (LEBLANC, 2010; BURLESON *et al.*, 2010).

O isolamento de um patógeno através da cultura de amostra uterina, e a égua que apresenta mais do que 2 neutrófilos/(400x) citologia positiva, já seria suficiente para o diagnóstico de endometrite (RIDDLE *et al.*, 2007).

As éguas a serem cobertas devem passar por um exame reprodutivo que deve consistir de uma avaliação da conformação vulvar da égua, palpação retal, ultrassonografia, exame vaginal através de espéculo, e exame cervical manual (LEBLANC, 2008). Em éguas com boa conformação vulvar, o útero é protegido, através da vulva, do vestíbulo, da vagina e da cérvix. Qualquer deficiência em uma destas estruturas é um fator predisponente a infecções uterinas na égua. Mudanças na conformação da vulva predispõem a égua a infecções uterinas. Há uma forte relação entre boa conformação vulvar com exames citológicos negativos de éguas e mais, com a concepção destas éguas (HEMBERG *et al.*, 2004). Já a coaptação incompleta dos lábios vulvares predispõe a égua a infecção uterina sub-clínica. A pneumovagina é uma importante causa de problemas reprodutivos na égua (CASLICK, 1937). Alterações na conformação vulvar das éguas predispõem estas a infecções uterinas (HEMBERG *et al.*, 2004). Após a ovulação a cérvix se fecha e então, o sistema linfático se torna o grande responsável pela drenagem do processo inflamatório uterino (LeBLANC *et al.*, 1995).

O estrógeno possui importante função na limpeza física uterina, promovendo a abertura da cérvix e facilitando a eliminação de fluidos do útero (MATTOS, 1989).

Diagnósticos laboratoriais são geralmente determinados a partir dos achados do exame e incluem a cultura bacteriana e citologia do útero, biópsia de endométrio e ou avaliação endoscópica do lúmen uterino (LeBLANC, 2008).

Em éguas, ovelhas e vacas, o útero é mais susceptível a infecções bacterianas, durante períodos em que há grande concentração de progesterona do que quando há concentrações elevadas de estrógenos. Mesmo sob a influência da progesterona, deficiências nos mecanismos de defesas celulares e humoral já foram descritas (HAWK *et al.*, 1961; HANK *et al.*, 1964; GANJAM *et al.*, 1984).

A patologia pode ser um pouco difícil de diagnosticar por causa de seus sinais clínicos. Ultrassonografia e achados laboratoriais possuem uma variedade grande quanto aos patógenos uterinos. Alguns microorganismos são associados com a presença de neutrófilos no lúmen uterino e a presença de fluido neste, enquanto que outros estão associados apenas alguns “debris” na amostra citológica (LEBLANC, 2010). Nas endometrites se pode perceber a presença de secreções no fundo de saco vaginal, cérvix relaxada, aberta e hiperêmica e mucosa vaginal também com hiperemia (MATTOS, 1989).

1.2 Causas da endometrite

A endometrite na égua pode ser dividida em: endometrite aguda, endometrite crônica ou ainda em endometrite persistente pós-cobertura (LeBLANC, 2010).

A etiologia é bastante variável podendo ser causada por diferentes microorganismos como, por exemplo, *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* e entre outros (MORENO *et al.*, 1972; MERKT *et al.*, 1987; LANGONI *et al.*, 1994). Os principais agentes causadores das endometrites bacterianas são: *Escherichia coli*, *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*, *Staphylococcus aureus*, e *Pseudomonas aeruginosa* (RICKETTS, 1981). Em estudo realizado por Merkt e Von Leppel (1970), com 1500 amostras cervicais de éguas PSC obtidos durante três anos (1966-1969), foi encontrado uma grande prevalência de *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*.

O *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*, é uma bactéria aeróbica responsável por aproximadamente 65% dos casos de endometrite bacteriana, enquanto que

Escherichia coli, *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa* representam aproximadamente 10% (BRITO & BARTH, 2003).

O sistema imune responde de diferentes formas a diferentes tipos de agressões. *Escherichia coli* adere-se à superfície endotelial assim dificultando sua remoção por parte do organismo. O *Streptococcus* por sua vez estimula a produção de exudato interferindo na fagocitose dos neutrófilos enquanto que o *Pseudomonas aeruginosa* e alguns fungos produzem um biofilme que os torna resistentes a antibióticos e a defesa celular e humoral resultando em endometrites crônicas após o uso prolongado de antibióticos (COSTERTON *et al.*, 1995; DONLAN, COSTERTON, 2002; OTTO, 2006).

1.3 Mecanismos de defesa uterina

1.3.1 Mecanismos de defesa celulares

Bactérias, sêmen e proteínas estranhas, produzem uma infiltração muito rápida de neutrófilos dentro do útero. O mecanismo de defesa celular, através dos PMN's principalmente os neutrófilos, possui grande função na fagocitose e eliminação deste material estranho de dentro do útero (BOWEN *et al.*, 1987; LIU, 1986).

Intensas investigações sobre os mecanismos de defesas uterinos nas éguas foram realizadas (ASBURY, 1984). A fagocitose, pelos PMNs foi julgada prejudicada em éguas susceptíveis a endometrites bacterianas recorrentes. Este fato não se deve a alguma disfunção dos PMNs em si, mas é resultado do efeito negativo que as secreções uterinas têm sobre a fagocitose (TROEDSSON, 1992). A principal célula de defesa uterina é o neutrófilo, e, após duas horas da exposição do útero a algum agente agressor, este já se encontra presente no lúmen uterino (WILLIAMSON *et al.*, 1983).

A quimiotaxia é outra função importante dos neutrófilos (TROEDSSON, 1993). Dentre as células de defesa, os neutrófilos são os mais importantes, estando já presentes no útero 30 minutos após a cobertura e assim, atingindo o pico da inflamação em 12 horas (TROEDSSON, 1997).

O número de neutrófilos coletados do útero após 24 horas da inseminação foi menor do que os números observados em coletas realizadas após 4 horas demonstrando o início da resolução da inflamação que normalmente encontra-se encerrada em 48 horas (KATILA, 1995).

1.3.2 Mecanismos de defesa humoral

O endométrio foi considerado por Widders *et al.* (1985) como parte do sistema imune de mucosas, pela sua capacidade de produzir e secretar imunoglobulinas.

Na espécie equina, a IgA corresponde de 1 a 8% da totalidade de imunoglobulinas circulantes. Contudo existem outros tipos, como IgG, IgM. A IgA possui grande presença intrauterina correspondendo de 40 a 58%. Isto mostra que, éguas com baixa fertilidade possuem significativamente mais imunoglobulinas IgA e IgG nos seus fluidos uterinos do que éguas normais (BLUE *et al.*, 1982). Também foi determinado que a concentração total de imunoglobulinas IgG no fluido intrauterino das éguas, é maior em éguas no diestro do que no estro segundo Liu *et al.* (1986). Uma diminuição da concentração de imunoglobulinas uterinas, provavelmente não é fator significativo na incapacidade das éguas para resolver uma infecção bacteriana (LIU, 1986; VARNER, 1990).

1.3.3 Mecanismos de defesa física

Associado às defesas humorais e celulares, o útero das éguas consegue se manter livre dos patógenos através de barreiras físicas, como por exemplo a vulva (CASLICK, 1937; PASCOE, 1979), a cérvix (LEBLANC *et al.*, 1995) e a prega vestíbulo-vaginal (HINRICHS *et al.*, 1988).

A contratilidade do miométrio é outro importante mecanismo de eliminação de subprodutos inflamatórios e limpeza uterina pós-cobertura (LeBLANC *et al.*, 1994). Em um estudo utilizando a cintilografia, a resposta uterina à agressão do sêmen é tão rápida que, em éguas sadias, metade do radiocolóide infundido no útero, associado a colônias de *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*, foi eliminado nos primeiros 30 minutos após a inoculação, enquanto que éguas susceptíveis não eliminaram praticamente nada durante este período (LEBLANC *et al.*, 1994). A produção de muco por parte do endométrio, a circulação sanguínea e linfática, são fatores contribuintes para a defesa uterina (CAUSEY *et al.*, 1997).

As contrações miometriais, que são essenciais para a limpeza uterina através da cérvix ou dos vasos linfáticos, ocorre através da inflamação pela liberação de PGF_{2a}. Éguas susceptíveis apresentam contrações miometriais deficientes, o que resulta em uma limpeza uterina insuficiente, assim sendo, como consequência o desenvolvimento

da condição patológica (TROEDSSON *et al.*, 2001). A conformação perineal é fator importante também como barreira física. Éguas pluríparas com idade avançada podem ter relaxamento do suporte estrutural uterino, o que resulta em um útero pendular dificultando ainda mais a drenagem dos fluidos uterinos pela cérvix (LEBLANC *et al.*, 1998).

1.4 Diagnóstico da endometrite

1.4.1 Inspeção

A conformação perineal das éguas e sua integridade assim como ângulo e tônus da vulva em relação ao ânus, é muito importante como primeira visualização, visto que uma boa conformação impedirá problemas subsequentes como, por exemplo, a pneumovagina (RICKETTS, 2008).

A inspeção da genitália externa é de suma importância para os exames seguintes. Através da inspeção podemos avaliar a condição de conformação vulvar e coaptação dos lábios vulvares (CASLICK, 1937; SILVA, 1983). Malschitsky, 1998, cita que muitas vezes a presença de secreção mucopurulenta na comissura ventral da vulva, região perineal e pelos da cauda, indicariam algum problema do trato genital feminino.

1.4.2 Palpação

Durante o estro o útero apresenta-se com tônus reduzido, suas pregas endometriais normalmente bem definidas, visto ao ultrassom (RICKETTS, 2008). A palpação dos ovários nos auxiliará para determinarmos a fase do ciclo estral do animal, visto que durante o estro, os mecanismos de defesa celular e anticorpos do endométrio são mais eficientes (WATSON, 1988). Pela palpação retal, também é possível observar a contratilidade uterina, no estro, o útero se apresenta aumentado de volume devido ao edema inflamatório (NEELY, 1983; HUGHES & LOY, 1975)

1.4.3 Ultrassonografia

A ultrassonografia é uma ferramenta importante para o diagnóstico de endometrite em éguas, principalmente em casos de endometrite persistente pós-

cobertura, com o diagnóstico feito exclusivamente com a detecção do fluido uterino examinando o animal até 24 horas pós-cobertura (LeBLANC, 2010). Leblanc (2003), também demonstrou que o acúmulo de líquido intrauterino durante o diestro está associado à endometrite.

A presença de dois ou mais centímetros de fluido intrauterino durante o cio ou seis a 36 horas pós-cobertura é um bom indicativo que a égua é susceptível a endometrite pós cobertura (BRINSKO *et al.*, 2003; BUCCA *et al.*, 2008). Adams *et al.* (1987) demonstraram que um escore de até 10mm de fluido na ultrassonografia já seria indicativo de endometrite.

Segundo Mckinnon *et al.* (1988); Pycock e Newcombe (1996), o acúmulo de fluido intrauterino durante o período de ovulação está altamente associado a diminuição nas taxas de prenhes.

1.4.4 Citologia e bacteriologia

O swab endometrial nos primeiros dois dias de cio é um dos métodos mais comuns, usados para a identificação de éguas com endometrite, porém, um estudo desenvolvido na Dinamarca, mostrou, que nem todos os patógenos são identificados (LEBLANC, 2009). Nielsen (2005) verificou que apenas 38 de 84 éguas (45%) que tiveram isolamento de bactérias da superfície de uma biópsia endometrial, tiveram bactérias isoladas de swab cervical. A citologia endometrial identificou quase 28 vezes mais éguas com endometrite do que a cultura bacteriológica em uma grande clínica de cavalos PSC no Kentucky (ZENT *et al.*, 1998). A cultura bacteriana do endométrio de éguas tem sido usada como meio de diagnóstico, desde 1920 para diagnosticar endometrite, mas a interpretação dos resultados positivos da cultura nem sempre é fácil. Em casos de infecções, as bactérias mais encontradas são: *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*, *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes* e *Proteus* spp (BARRELET, 2009).

A técnica da citologia endometrial foi descrita pela primeira vez por Knudsen em 1964. Muitos profissionais não usam o método da citologia rotineiramente, pois não estão familiarizados com a técnica, não obtém resultados consistentes e ainda, tem dificuldades na identificação dos diferentes tipos de células (DASCANIO, 1997). A técnica consiste na observação do esfregaço anteriormente obtido, ao microscópio óptico na tentativa de encontrar leucócitos polimorfonucleares (MATTOS *et al.*, 1984).

Muitos pesquisadores divergem ainda quanto à quantidade, de polimorfonucleares e a presença de endometrite (BETSCH, 1992). Estes só são encontrados na presença de um processo inflamatório (RICKETTS e WINGFIELD-DIGBY, 1982; MATTOS *et al.*, 1984). Já Couto e Hughes (1985), sugerem que para ser indicativo de infecção, a lâmina deve contar uma quantidade maior ou igual a 3% de neutrófilos sobre o número total de células presentes.

A presença de mais de um ou dois PMNs por cinco campos do microscópio, há ai sim indicativos de resposta inflamatória. Segundo Ley (1981) e Knudsen (1964). A presença predominante de linfócitos, eosinófilos e macrófagos na citologia endometrial sugerem uma resposta inflamatória crônica (BOWEN, 1987). Por outro lado, a ausência de células inflamatórias no exame citológico do endométrio, além de indicar um endométrio sadio, não deverá apresentar nenhum crescimento bacteriano em caso de cultura do material (MÉDICI, 1991).

Segundo Ricketts (1999), quando houvesse a presença de 0,5% de PMN do total de células da amostra, esta seria positiva para endometrite. Um mínimo de 200 células era contado em cada amostra.

A citologia junto com a biópsia endometrial são duas técnicas extremamente importantes para o diagnóstico da endometrite, porém a citologia não é indicada em casos de processos inflamatórios crônicos ou fibróticos do endométrio. Neste caso, a biópsia seria a técnica mais indicada (BRUM MÉDICI, 1991; REISWIG, 1993).

A prática do exame citológico buscando se descobrir a boa ou má saúde reprodutiva das éguas, tem se tornado prática corriqueira no trabalho a campo, por ser um método relativamente fácil (REISWIG *et al.*, 1993; DASCANIO *et al.*, 1997). O exame citológico indica se a égua tem o processo inflamatório, porém não nos permite afirmar a etiologia (KNUDSEN, 1964).

A presença de fluido uterino 48-96 horas após a cobertura pode ser considerado como um parâmetro diagnóstico de endometrite pós-cobertura. Embora na maioria das vezes, este líquido não seja de origem inflamatória, este indica que a égua apresenta alguma deficiência em sua capacidade de limpeza física (BRINSKO *et al.*, 2003). Éguas com acúmulo de fluido neste momento apresentam taxa de prenhes significativamente menores e maiores taxas de morte embrionária (NEWCOMBE, 1997). É importante que no momento da coleta da amostra citológica, a coleta de material para avaliação dos resultados, levando em consideração o quadro clínico da égua esteja associada a ele o exame bacteriológico também. (PIMENTEL *et al.*, 1989).

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local

O trabalho foi realizado em um criatório de cavalos Puro Sangue de Corrida, no município de Aceguá (latitude 31°52'00''S; longitude 54°09'00''W), Rio Grande do Sul, Brasil durante as temporadas de monta de 2009/2010 e 2010/2011. O local possui 904 ha, sendo 450ha utilizados para a criação de cavalos. A propriedade desenvolve o ciclo completo da criação de cavalos, ou seja, acompanhamento desde a gestação, parto, criação, recria, e posteriormente, doma e iniciação de treinamento dos animais. Possui em média 400 cabeças, com 150 éguas e quatro garanhões.

2.2 Animais

Durante o trabalho, foram utilizadas 100 éguas cíclicas, na faixa etária de 3 a 25 anos de idade. Por não se ter um histórico prévio das éguas incluídas neste estudo, foram coletadas amostra de éguas resistentes e as susceptíveis à endometrite. Um critério de exclusão usado a coleta, era de éguas no cio do potro, visto que a grande maioria delas apresentaria resultado positivo à presença de PMNs.

Dividiu-se os animais em 3 grupos, sendo estes: o primeiro grupo com éguas de 3 a 8 anos, o segundo grupo com éguas de 9 a 14 anos e o terceiro grupo com animais com idade acima de 14 anos.

2.3 Coleta de material

As éguas foram examinadas por palpação retal e ultrassonografia, a intervalos máximos de 24 horas entre um exame e outro, com objetivo de avaliar o crescimento folicular, grau de edema uterino e presença de fluido intrauterino. De todas as éguas com sintomas de estro aptas a serem cobertas, era colhida uma amostra para citologia endometrial com o auxílio de espéculo e escova cervical, de acordo com Alvarenga e Mattos (1990). A área de acúmulo de fluido uterino, caso existente, era medida utilizando o ultrassom. Caso a altura desta área fosse superior 10mm, este achado era considerado acúmulo de fluido intrauterino (ADAMS *et al.*, 1987). Exames ginecológicos com o auxílio de um espéculo eram realizados antes da coleta da amostra,

buscando avaliar a prega vestíbulo vulvar, vagina, e cérvix. Antes da coleta do material, as éguas eram colocadas em um tronco acessório, assim sendo, feita a higienização da genitália, visando evitar a contaminação da amostra. A cauda do animal era envolta com faixa de borracha, e a assepsia era feita com solução de PVPI e água corrente. Posterior a isto era realizado o procedimento de coleta do material através da escova cervical. Com o auxílio do espelho de Polansky o colo uterino (fig. 2), e era fixado com a pinça de Albrechtsen. A pinça de Merkt contendo a escova era introduzida realizando dois giros para a esquerda e mais dois giros para a direita, buscando o máximo de contato possível com a mucosa uterina. Após este procedimento, o equipamento era retirado. A escova era rolada sobre a lâmina, corada com corante Panótico¹ para posterior análise. A avaliação da lâmina era realizada conforme descrito por Mattos *et al.*, (1984). As lâminas eram visualizadas por três pessoas, assim sendo, obtendo o resultado mais fidedigno possível. Após a coleta do material citológico, as éguas eram então encaminhadas para a cobertura, todas em monta direta. Os animais avaliados voltavam a novo exame no dia posterior à coleta, a fim de checar ovulação e assim sendo, marcar exame de diagnóstico gestacional em 15 dias. No momento da coleta, era medido o ângulo vulvar das éguas, utilizando o vulvomêtro de Pascoe (1979).



Figura 2: Equipamento utilizado para as coletas

¹ Panótico Rápido- Laborclin Produtos para Laboratório Ltda. R. Casemiro de Abreu 521. Pinhais. PR

3 RESULTADOS

Os resultados da ultrassonografia e citologia endometrial estão expressos na Tabela 1:

Tabela 1: Citologia endometrial de éguas com ou sem fluido endometrial antes da cobertura

	Fluido intrauterino			
	Presente		Ausente	
Citologia endometrial	n	%	n	%
Positiva	14 ^a	14	38 ^a	38
Negativa	6 ^b	6	42 ^b	42

Letras diferentes indicam diferença significativa: a e b, $X^2 = 26.72$ ($p < 0.001$)

Fonte: Primária (2012)

Observa-se diferença significativa entre os tratamentos. Éguas sem fluido intrauterino apresentaram citologia positiva em 38% dos casos, enquanto que éguas, sem fluido e citologia negativa, apresentaram 42% dos achados.

Nas Tabelas 2 e 3, são apresentados os resultados relativos a distribuição por idade das éguas e frequência de aparecimento em grupos, quanto ao acúmulo de líquido pré-cobertura e citologia endometrial positiva e distribuição por idades das éguas, quanto a citologia e ultrassonografia, associado com prenhez.

Tabela 2: Distribuição por idade das éguas e frequência de aparecimento em grupos, quanto ao acúmulo de líquido pré-cobertura e citologia endometrial positiva

Idade (grupos)	Frequência	Frequência de éguas com fluido endometrial pré cobertura	Frequência de éguas com citologia positiva
3 a 8 anos	33	5(15,15)	17 (51,51)
9 a 14 anos	53	9(16,98)	26(49,06)
mais de 14 anos	14	7(50)	8 (57,14)

N: 100

Fonte: Primária (2012)

Nesta segunda tabela, o grupo de animais com idade acima de 14 anos, acusaram a presença de fluido endometrial em 50% das éguas analisadas nesta tabela, em

compensação éguas do grupo 3 a 8 anos e éguas do grupo 9 a 14 anos, apresentaram porcentagens bem inferior.

Tabela 3: Distribuição por idades das éguas, quanto a citologia e ultrassonografia, associado com prenhez

Idade	Cito +/ US +	Cito -/ US-	Cito + e US + sem prenhez	Cito -/ US - sem prenhez
3 a 8 anos	3	13	3	4
9 a 14 anos	6	24	3	9
Mais de 14 anos	5	4	1	2
	N: 14	N: 41	N: 7	N: 15

Fonte: Primária (2012)

Em relação à tabela 3, o que chama a atenção é justamente as cinco éguas do grupo de mais de 14 anos, que apresentaram citologia e ultrassonografia positiva. Destas, apenas uma égua não emprenhou. É importante salientar, que o grupo de mais de 14 anos, é um grupo de animais que recebe um acompanhamento mais próximo, visto que é nesta fase em que começam a apresentar problemas reprodutivos. Estas éguas recebiam tratamento pré e pós-cobertura, aumentando suas taxas de concepção.

Tabela 4: Relação entre ângulo vulvar, idade das éguas por grupos, citologia endometrial e ultrassonografia

ÂNGULO	IDADE		
	3 A 8	9 A 14	MAIS DE 14
0	3	15	1
5	15	23	3
10	7	12	6
15	2	9	4
25	1	0	2

ÂNGULO	CITO	US	Concordam
0	3	2	0
5	21	9	4
10	12	7	2
15	9	6	1
25	2	1	1

Fonte: Primária (2012)

Tabela 5: Relação entre citologia e ultrassonografia negativa em relação à prenhez

Diagnóstico	Prenhez Positiva	Prenhez Negativa
Citologia Negativa	37	12
Ultrassom Negativo	44	18
Total	81	30

Fonte: Primária (2012)

Tabela 6: Relação entre citologia e ultrassonografia positiva em relação à prenhez.

Diagnóstico	Prenhez Positiva	Prenhez Negativa
Citologia Positivo	32	19
Ultrassom Positivo	37	13
Total	69	32

Fonte: Primária (2012)

4 DISCUSSÃO

A citologia endometrial foi descrita primeiramente por Knudsen (1965). Desde então, vários pesquisadores desenvolveram diferentes métodos para obtenção deste tipo de amostra. O mais corrente é a utilização de swab ginecológico através de espelho vaginal (MATTOS *et al.*, 1984). Ball *et al.* (1988), propuseram a técnica da citologia através de lavagens uterinas de baixo volume através de um cateter. Mais recentemente, Alvarenga e Mattos (1991), utilizaram a escova ginecológica (“Cytobrush”). A escova é acoplada em uma haste de aço inoxidável e introduzida no útero da égua. Quando examinadas as amostras, estas conseguiram identificar as características citológicas de cada fase do ciclo da égua. Em trabalho comparativo entre as técnicas de coleta, Waelchli *et al.* (1992) concluíram que a contaminação das amostras foi maior com a técnica de lavado do que com a utilização do espelho vaginal e cefanete para obtenção da amostra. Em uma avaliação comparativa visando apenas ao aspecto qualitativo da amostra, Camozzato *et al.* (2008) verificaram que a técnica de Alvarenga e Mattos (1991) foi mais eficiente em obter amostra, em 100% dos casos em que as éguas apresentavam inflamação ao ultrassom. Baseado nestes achados, neste estudo foi utilizado à técnica de Alvarenga e Mattos (1991).

Os resultados obtidos na comparação entre os exames citológico e ultrassonográfico foram similares a trabalho previamente realizado por Camozzato *et al.* (2008) com 20 éguas, onde em 35,7% das éguas que não tinham líquido na ultrassonografia, a citologia foi positiva. Langoni *et al.* (1994), demonstraram que a chance de se obter exame citológico positivo associado ao exame microbiológico também positivo foi 4,13 vezes maior do que a chance de se ter um resultado de citologia negativo e bacteriológico positivo, ou seja, o resultado é de grande valia correlacionando com a bacteriologia. Neste trabalho, observou-se que éguas do grupo de três a oito anos e as éguas de nove a 14 anos, obtiveram respectivamente 15,15% e 16,98% de fluído endometrial pré-cobertura.

A presença de fluído intrauterino maior que dois cm no exame ultrassonográfico durante o cio, é um grande indicativo de éguas susceptíveis a endometrite induzida pela cobertura (BRINSKO *et al.*, 2011). Neste experimento foi usado como base de media de fluido intrauterino a presença de 1 cm, de acordo com Adams *et al.* (1987), visando à maior confiabilidade dos resultados. Neste trabalho, foi constatada trinta e sete éguas com FIU pré cobertura, que vieram a ficar prenhas, porem vale lembrar, que se

trabalhou com rebanho comercial, assim sendo, os animais eram tratados pré e pós cobertura. O mesmo se deve a relação entre prenhez e citologia, ou seja, 32 éguas que eram positivas no exame citológico pré cobertura, confirmaram prenhez aos 14 dias de gestação.

Hemberg *et al.* (2004), investigou a relação entre a citologia endometrial com éguas de três grupos, sendo estes: o 1º éguas sem vulvoplastias anteriores, o 2º com vulvoplastia e o 3º não suturadas após o parto. Houve uma relação direta entre a situação vulvar e o resultado da citologia, ou seja, 81% das éguas do 1º grupo possuíam citologia negativa, enquanto que éguas do grupo 3º possuíam apenas 46% de negatividade. Como conclusão, os resultados indicaram que uma vulva de pouca coaptação predispõe a uma inflamação endometrial. Neste trabalho foi avaliada relação ângulo-vulvar, com citologia endometrial (ver Tabela 4). Se dividiu os animais em tres grupos, sendo o primeiro grupo de éguas de 3 a 8 anos, o segundo de 9 a 14 anos e o terceiro, éguas com mais de 15 anos. O que se percebeu, foi que éguas com inclinação de 5º possuíam mais alterações endometriais nos exames citológicos, e também, nesta inclinação, égua do segundo grupo-etário, foram as que mais possuíam PMN. Provavelmente no grupo de éguas mais velhas, não se observou o mesmo resultado porque neste grupo encontram-se éguas as quais se deu maior atenção nos tratamentos e estado nutricional, grupo este com “n” bastante inferior aos outros grupos. Além disso, nesta faixa etária, as éguas problemas costumam ser descartadas do haras.

Éguas PSC com fluido intrauterino no 2º ou 3º dia de estro são 1,4 vezes mais propensas a ter mais de 5 neutrófilos por campo de 400x em lâminas de citologia do que aquelas sem inflamação ou com grau leve. Neste trabalho, foi usado, a técnica de Mattos *et al.* (1984) para a avaliação das lâminas.

Nielsen (2005) comenta que as éguas podem ter citologias positivas e apresentarem culturas negativas, ou vice versa. Em recente trabalho, mostrou-se que as duas situações citadas associadas com endometrite, possuem um decréscimo nas taxas de prenhes.

Éguas que apresentam fluido intrauterino durante o cio, não necessariamente sempre estarão associadas com endometrites produzidas por bactérias (LeBLANC, 2010).

O acúmulo de fluido intrauterino durante o período de ovulação esta associado a diminuição nas taxas de prenhez, segundo Barbacini *et al.* (2003).

CONCLUSÃO

Conclui-se que:

- O exame citológico se mostrou rápido, fácil e eficaz quando necessário para se tomar decisões urgentes.
- O exame citológico se mostrou mais sensível do que a ultrassonografia.
- Éguas da faixa etária acima de 14 anos, mostraram taxas de prenhez menores do que a outras categorias.
- A porcentagem de prenhez comparativa entre as éguas que tiveram exame citológico positivo, se mostrou superior em relação às diagnosticadas através da ultrassonografia.

REFERÊNCIAS

- ALVARENGA, M.A.; MATTOS, M.C.F.I., Eficiência da escova ginecológica “Cytobrush” na colheita de material endometrial em éguas. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, vol. 42, p.67-68, 1991.
- ASBURY, A.C. Uterine Defense Mechanisms in the Mare: The Use of Intrauterine Plasma in the Management of Endometritis. **Theriogenology**, v. 21, 387-393, 1984.
- BARBACINI S, NECCHI D, ZAVAGLIA G, SQUIERES EL, Retrospective study on the incidence of post insemination uterine fluid in mares inseminated with frozen/thawed sêmen. **J Equine Vet Sci** v. 23, 493-496, 2003.
- BARRELET. A. How to: Obtain and interpret endometrial cytology 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 juement. *Recueil de Médecine Vétérinaire: Spécial Reproduction dès Equidés.*, v. 168(11/12), p.1011-1027, 1992.
- BLUE, M.G. *et al.* Studies on the Composition and Antibacterial Activity of Uterine Fluid from Mares. **J. Reprod. Fertil. Suppl.** v. 32: 143-149: 1982.
- BOWEN, J.M *et al.* Dynamic Changes Which Accompany Acute and Chronic Uterine Infections in the Mare. **J. Reprod. Fertil. Suppl.** v.35: 675-677, 1987.
- BRINSKO, S.P.; RIGBY, S.L.; VARNER, D.D.; BLANCHARD, T.L. A practical method for recognizing mares susceptible to post breeding endometritis. In: **Proceedings of the 49 th Ann. Conv. Am. Assoc. Equine Pract.**, 363–365, 2003.
- BRINSKO, S.P.; VARNER, D.D.; SHUMACHER. J.; LOVE, C.C.; HINKICHS. K.; HARTMAN. D. **Manual of Equine Reproduction**. 3. ed. Elsevier, 2011.
- BRITO, L.F.C.; BARTH, A.D. **Endometritis in mares**. Large Animal Veterinary Rounds, , v. 3, n. 9, 2003. Disponível em:
<<http://www.canadianveterinarians.net/laround>> Acesso em 25 de abril, 2008.

BRUM, M. E. *et al.* Considerations on the Use of Ancillary Diagnostic Aids in the Diagnosis of Endometritis Due to Infection in Mares. **J. Reprod. Fertil. Suppl.**, v. 44, 700-703, 1991.

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

BURLESON, M.D.; LEBLANC, M.M.; RIDDLE, W.T.; HENDRICKS, K.E.M.; Endometrial microbial isolates are associated with different ultrasonographic and endometrial cytology findings in Thoroughbred mares. **Proceedings Internacional Symposium on Equine Reproduction**, 2010.

CASLICK, E. A. The vulva and the vulvo-vaginal orifice and its relation to genital health of the Thoroughbred mare. **Cornell Vet**, 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 uber Endometritis- Endometrose beim Pferd. **Pferdeheilkunde.**, v.13(5), p.543, 1997.

COSTERTON JW; LEWANDOWSKI Z; CALDWELL DE; KORBER DR; LAPPIN-SCOTT HM,: Microbial biofilms. **Annu Rev. Microbiol** v. 49, 711-745, 1995.

COUTO, M.A.; HUGHES, J.P. Technique and interpretation of cervical and endometrial cytology in the mare. **Journal of Equine Veterinary Science.**, v.4, p.265-273, 1985.

DASCANIO, J. *et al.* How to Perform and Interpret Uterine Cytology- **AAEP/PROCEEDINGS.**, Vol. 43, 1997.

DONLAN R.M., COSTERTON J.W.,: Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. **Cli Microbiol Rev.** v. 15, 167-193, 2002.

FIORATTI, E.G. **Efeito dos anti-inflamatórios esteróides na reação inflamatória e na fertilidade de éguas normais e susceptíveis à endometrite persistentes pós inseminação artificial.** 2010.

FREEMAN, K.P. *et al.* Mycotic Infections of the Equine Uterus. **Eq. Pract.**, v. 8, 34-42, 1986.

GANJAM, V.K; MCLEOD, C.; KLESIUS, P.H.; WASHBURN, S. M.; KWAPIE, R.; BROWN, B. and FAZELI, M. H. Effect of ovarian hormones on the phagocytic response of ovariectomized mares. **J. Repro. Fert.** v.32, 169-174, 1984.

HAWK, H.W.; BRINSFIELD, T.H.; TURNER, G.D.; WHITMORE, G.W.; NORCROSS, M. A. Effect of ovarian status on induced acute inflammatory responses in cattle uteri. **Am. J. Vet.**, v. 25, 362-366, 1964.

HAWK, H.W.; TURNER, G.D. and SYKES, J.F. Variation in the inflammatory response and bactericidal activity of the sheep uterus during the oestrus cycle. **Am. J. Vet. Res.** v.22, 689-692, 1961.

HEMBERG, E.; LUNDEHEIM, N.; EINARSSON, S. Retrospective Study on Vulvar Conformation in Relation to Endometrial Cytology and Fertility in Thoroughbred Mares. **J. Vet. Med. A**, v. 52, 474-477, 2005.

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 Assoc**, v. 193, p. 72-75, 1988.

HUGHES, J.P.; LOY, R.G. The relation of infection to infertility in the mare and stallion. **Equine Veterinary Journal.**, v.7, p.155-159, 1975.

KATILA, T. Onset and duration of uterine inflammation response of mares with fresh semen. **Biol Reprod Mono**, n.1, p.515-517, 1995.

KENNEY, R.M.; GANJAM, V.R. Selected Pathological Changes of the Mare Endometrium as Detected by Biopsy with a Note on Early Embryonic Death. **JAVMA**, 172:241-262, 1978.

KNUDSEN, O. Endometrial Cytology as a Diagnostic Aid In Mares. **Cornell Vet.**, v. 54, 415-422, 1964.

KOTILAINEN, T.; HUHTINEN, M.; KATILA, T. Sperm-induced leukocytosis in the equine uterus. **Theriogenology.**, v. 41, 629-636, 1994.

LANGONI, 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. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.46, n.6, p.623-636, 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.

LEBLANC, M.M.; JOHNSON, R.D.; CALDERWOOD, M.B.; VALDERRAMA, C. Lymphatic clearance of india ink in reproductively normal mares and mares susceptible to endometritis. **Biol Reprod Mono**, n.1, p. 501-506, 1995.

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

LEBLANC, M.M. Delay in uterine clearance or chronic endometritis- Which does the mare have and how should it be treated? **WEVA**, 2009.

LEBLANC, M.M. *et al.* Identification and opsonic activity of immunoglobulins recognizing *Streptococcus zooepidemicus* antigens in uterine fluids of mares. **J.Reprod.Fert.Suppl.** v.44, p. 289-296, 1991.

LEBLANC, M.M. *et al.* Tranquilization Affects Intrauterine Pressure in Mares. Administered Oxytocin **AAEP PROCEEDINGS**, 9 Vol. 44, 1998

LEBLANC, M.M. Persistent mating-induced endometritis. In ROBINSON, N.E. Current therapy in equine medicine. Philadelphia: **Sauders**, p. 234-237, 2003.

LEBLANC, M.M. **The Chronically Infertile Mare**. Disponível em: <<http://www.ivis.org/proceedings/aaep/2008/LeBlanc/chapter.asp>> Acesso em: 2008.

LEY, W.B. **Endometrial Cytology in the Mare. Master of Science Thesis**. Texas: A&M University, College Station, August 1981.

LIU, I.K. Met. CHEUNG, A.T.W. Immunoglobulin and Neutrophil Defense Against Uterine Infection in Mares Resistant And Susceptible to Chronic Endometritis. A Review. **JAVMA**, 189: 700-702, 1986.

MALOUFI, F. *et al.* **Mares Susceptible or Resistant to Endometritis Have Similar Endometrial Echographic and Inflammatory Cell Reactions at 96 Hours After Infusion with Frozen Semen and Extender**, 2002.

MALOUFI, F.; PIERSON, R.; OTTO, S.; BALL, C.; CARD, C.E. Mare susceptible or resistant to endometritis have similar endometrial echographic and inflammatory cell reactions at 96 hours after infusion with frozen semen and extender. In: **Proceedings of the 48th Annual Conv American Association Equine Practitioners.**, 51-57, 2002.

MALSCHITZKY, E. **Efeito de diferentes tratamentos pós-cobertura na fertilidade de éguas Puro-Sangue de Corrida**. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias). Faculdade de Veterinária, UFRGS, Porto Alegre, RS, 1998.

MATTOS, R.C. Manejo Reprodutivo da Égua. In: TARANTO, J.R. **Sangue e Raça**. Rio de Janeiro: Índex Ltda., p. 69-81, 1989.

MATTOS, R.C; MATTOS, A.L.G; GUNZEL, A.R; KLUG, E. Citologia endometrial na égua como método de diagnóstico auxiliar e complementar. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v. 8(2), p. 83-90, 1984.

McKINNON AO; SQUIRES EL; HARRISON LA; BLACH EL, SHIDELES RK.: Ultrasonographic studies on the reproductive tract of mares after parturition: effect of involution and uterine fluid on pregnancy rates in mares with normal and delayed first postpartum ovulatory cycles. **J Am Vet Med Assoc** 192, 350-353, 1988.

MERKT, H.; JACOBS, O.; KLUB, E.; AUKES, E. An analysis of stallion fertility RATES foals born alive) from the breeding documents of the Landgestut Celle over a 158- year period. **Journal of Reproduction and Fertility**,. **Supplement** v.27, p.73-77, 1979.

MERKT, H.; VON LEPPEL, J.F. Die Entnahme von proben fur die bakteriologische Untersuchung des Genitalsekretes der Sute, ihre Beurteilung sowie Behandlungshinweise. **Deutsch Tierärztliche Wochenschrift.**, v. 77(19), p. 489-528, 1970.

MERKT, H.; WOCKENER, A.; HEILKENBRINKER, T. Mikrobielle untersuchung in der stutengynakologic. **Prakt. Tierarzt.**, v. 68, p.5-12, 1987.

MORENO, G.; BOTTINO, J.A.; MÓS, E.N.; ISEY, T. **Infecções genitais de éguas puro sangue inglês por *Cândida albicans***. São Paulo: *Biológico*, v. 34, n. 5, p. 115-117, 1968.

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

NEELY, D.P. Evaluation and therapy of genital disease in the mare. In: NEELY, D.P.; LIU, I.K.M.; HILLMAN, R.B. **Equine Reproduction. Lawrenceville, Veterinary Learning Systems**, p.40-56, 1982.

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.

NIELSEN, M.J. Endometritis in the mare: A diagnostic study comparing cultures from swab and biopsy. **Theriogenology**. v. 64, 510-518, 2005.

OTTO M.; Bacterial evasion of antimicrobial peptides by biofilm formation. **Curr Top Microbiol Immunol**. v.306, 251-258, 2006.

PASCOE, D.R., Observations on the length and angle of declination of the vulva and its relation to fertility in the mare. **J. Reprod. Fert. Suppl**. V. 27, p.299-305, 1979.

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, p. 47-49, 1989.

PINTO, C.R.F. Diseases of the uterus. In. ROBINSON, N.E.; SPRAYBERRY, K.A.(Eds) *Current Therapy in Equine Medicine 6*. **Sauders**, St Louis, USA, p. 769-776, 2009.

PYCOCK, J.F.; NEWCOMBE, J.R. The relationship between intraluminal uterine fluid, endometritis and pregnancy rate in the mare. **Equine Pract.**, v.18, 19-22, 1996.

PYCOCK, J.F.; PACCAMONTI, D.; JONKER, J.; NEWCOMBE, J.; VAN DER WEIJDEN, G.; TAVERNE, M. Can mares be classified as resistant or susceptible to recurrent endometritis? I. Intl. Konferenz uber Endometritis- Endometrose beim Pferd. **Pferdeheilkunde.**, v. 13(5), p. 431-436, 1997.

REISWIG, J.D., THRELLFALL, I W.R., ROSOL, T.J. A comparison of endometrial biopsy, culture and cytology during oestrus and dioestrus in the horse. **Equine Vet J**; 25:240-1, 1993.

REISWIG, J.D. *et al.* A Comparison of Endometrial Biopsy, Culture and Cytology During Oestrus and Dioestrus in the Horse. **Eq. Vet. J.**, 25:240-241, 1993.

RICKETTS, S.W Management of the infertile/subfertile mare. **Weva Proceedings of the 10th International Congress of World Equine Veterinary Association**. 244-256, 2008.

RICKETTS, S.W. Bacteriological Examinations of the Mare's Cervix: Techniques and Interpretations of Results. **Vet. Rec.**, 108: 46-51, 1981.

RICKETTS, S.W. The treatment of equine endometritis in studfarm practice. **Pferdeheilkunde**, v.6, 58-93, 1999.

RICKETTS, S.W.: The Technique and Clinical Application of Endometrial Biopsy in the Mare. **Eq. Vet. J.** v.7, 102-107, 1975.

RICKETTS, S.W.; YOUNG, A.; MÉDICI, E.B. **Equine Reproduction Uterine and clitoral cultures Chapter.** v.27, 234-245, 1999.

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

SCOTT, M.A.; LIU, I.K.M.; OVERSTREET, J.W. Sperm transport to the oviducts: Abnormalities and their clinical implications. In: **Proceedings Am Assoc Equine Pract.** v.41:1-2, 1995.

SERTISH, P.L. In: SAMPER, J., PYCOCK, J., MCKINNON, A.O. **Current Therapy in Equine Reproduction.** Intrauterine Diagnostic Procedures Saunders, St Louis, USA, p. 36-43, 2007.

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

TROEDSSEN, M.H.T.; Liu, I.K.M.; PMN Functions in Normal and Susceptible Mares. **Eq. Vet. J.** 1992, 25: 184-193.

TROEDSSON MHT, IRWIN K.M. LIU, MARK THURMOND, Function of Uterine and Blood-Derived Polymorphonuclear Neutrophils in Mares Susceptible and Resistant to Chronic Uterine Infection: Phagocytosis and Chemotaxis. **BIOLOGY OF REPRODUCTION** v.49, 507-514, 1993.

TROEDSSON MHT, Liu IKM, Crabo BG. Sperm transport and survival in the mare: a review. **Theriogenology**, v. 50, p. 807-818, 1998.

TROEDSSON MHT. Uterine response to semen deposition in the mare. In: **Proceedings Ann Meeting Soc Theriogenol.**, p. 130-135, 1995.

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

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

VARNER, D.D.; Blanchard, T.L. An Update on Uterine Defense Mechanisms in the Mare. **J.Eq. Vet. Sci.**, v.10: 169-174, 1990.

VOSS, J.L. Intrauterine infections in mares. In: Symposium on Mare Infertility. **Proceedings Las Vegas, Western States Veterinary Conference.** p.5-7, 1984.

W.B.LEY. **Current thoughts on the diagnosis and treatment of acute endometritis in mares.** EQUINE PRACTICE/ VETERINARY MEDICINE. 1994.

WATSON ED. Uterine defence mechanisms in mares resistant and susceptible to persistent endometritis: a review. **Equino Vet J,** v. 20, 397-400, 1988.

WATSON, E.D Uterine defense mechanisms in mares resistant and susceptible to persistent endometritis: a review. **Equine Veterinary Journal** v. 20(6), p.397-400, 1988.

WATSON, E.D.; STOKES, C.R.; BOURNE, F.J. Influence of administration of ovarian steroids on the function of neutrophils isolated from the blood and uterus of ovariectomized mares. **Journal of Endocrinology.** v. 112(3), p.443-448, 1987.

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

WILLIAMSON, P.; DUNNING, A.; O'CONNOR, J. & PENHALE, W.J. Immunoglobulin level, protein concentrations and alkaline phosphatase activity in uterine flushings from mares with endometritis. **Theriogenology** v. 19, 441-449, 1983.

ZENT W.W *et al.* **Postbreeding Uterine Fluid Accumulation in a Normal Population of Thoroughbred Mares.** v. 44, 1998.

APÊNDICE

APÊNDICE A - RELAÇÃO ENTRE PREENHEZ, CITOLOGIA E ULTRASSONOGRAFIA

Tabela 7: Relação entre Preenhez, citologia e ultrassonografia

	Citologia Positiva	Citologia Negativa	Ultrassom Positivo	Ultrassom Negativo	Total de Tratamentos
Prenhez Positiva	32	37	25	44	138
Prenhez Negativa	19	12	13	18	62
Total	51	49	38	62	200

Fonte: Primária (2012)

Durante o trabalho, foram usados animais de rebanho comercial, assim sendo, algumas éguas recebiam tratamentos pré e pós cobertura, o que explica alguns resultados da tabela a cima, como por exemplo, 32 éguas que obtiveram citologia positiva, encontraram-se prenhas.