

Diagnóstico e Tratamento da Endometrite na Égua



INÊS BESSA DE CARVALHO, HELENA GUIMARÃES, MADALENA CARDOSO,
GUILHERMINA PIAS, CAROLINA SILVA, SARA CONCEIÇÃO,
JORDANA SENA LOPES, SANDRA BRANCO, CRISTINA QUEIROGA, ELISA BETTENCOURT

ÉVORA 2022

Ficha Técnica:

Título: Diagnóstico e Tratamento da Endometrite na Égua

Edição: Universidade de Évora

Autores: Inês Bessa de Carvalho, Helena Guimarães; Madalena Cardoso,
Guilhermina Pias, Carolina Silva, Sara Conceição, Jordana Sena Lopes,
Sandra Branco, Cristina Queiroga, Elisa Bettencourt

Fotografia da Capa: Helena Guimarães

Impressão: Diana Gráfica
50 Exemplares

Depósito Legal 510908/23

ISBN: 978-972-778-299-4

I INTRODUÇÃO	2
II FATORES DE RISCO: SUSCETIBILIDADE	3
<i>Barreiras anatômicas</i>	3
<i>Resposta inflamatória fisiológica</i>	4
III CLASSIFICAÇÃO DA ENDOMETRITE	5
IV DIAGNÓSTICO	6
<i>História reprodutiva</i>	7
<i>Exame clínico</i>	7
<i>Espéculo vaginal</i>	8
<i>Palpação transretal e ecografia</i>	9
<i>Obtenção de amostras para exame citológico, microbiológico e histopatológico</i>	12
<i>Avaliação da citologia</i>	17
<i>Cultura microbiana</i>	20
<i>Histopatologia</i>	24
V TRATAMENTO E MANEIO DA ÉGUA COM ENDOMETRITE	25
<i>Lavagem uterina</i>	25
<i>Fármacos ecbólicos</i>	27
<i>Dilatação cervical</i>	28
<i>Antimicrobianos</i>	28
<i>Antifúngicos</i>	30
<i>Infusão intrauterina de antissépticos, mucolíticos e agentes quelantes</i>	31
<i>Imunomoduladores</i>	32
<i>Terapia hormonal</i>	34
VI CONCLUSÃO	34
VII BIBLIOGRAFIA	35

I INTRODUÇÃO

A endometrite é uma das principais causas de infertilidade na égua, sendo uma preocupação importante para criadores e médicos veterinários que trabalham em reprodução equina. Em termos práticos, denominamos por endometrite qualquer inflamação uterina já que, na égua, a maioria dos casos envolve apenas o endométrio.

A endometrite pode classificar-se em aguda ou crónica, no que respeita à apresentação clínica, podendo também ser caracterizada de acordo com o momento em que ocorre (pós-parto, pós-cobrição) assim como pela sua origem (bacteriana, fúngica).

A existência de uma resposta inflamatória do útero após a inseminação artificial/cobrição natural, é um processo fisiológico normal, que se resolve nas primeiras 48 horas em éguas saudáveis. No entanto, algumas éguas, denominadas de “suscetíveis a endometrite”, podem prolongar esta resposta inflamatória, seja por excessiva resposta imunológica, seja por incapacidade de eliminar o conteúdo inflamatório, levando frequentemente a infeções secundárias.

Neste pequeno Manual Prático pretende-se dar uma visão geral e prática dos vários aspetos que se prendem com o estudo da endometrite na égua, nomeadamente no que concerne a fatores etiológicos e a maior ou menor suscetibilidade, ao diagnóstico e avaliação da égua com endometrite e às várias abordagens de tratamento.

II FATORES DE RISCO: SUSCETIBILIDADE

O aparelho reprodutor da égua possui vários mecanismos de defesa, que permitem manter a homeostasia e, deste modo, impedir o desenvolvimento de doença. Estes mecanismos incluem barreiras anatômicas e mecanismos de defesa humoral e celular.

O conhecimento destes mecanismos é fundamental na avaliação da égua com endometrite, já que, a sua ineficiência pode levar ao desenvolvimento de doença inflamatória/infecciosa.

Barreiras anatômicas

Do ponto de vista prático, o aparelho reprodutor tem mecanismos de defesa que se prendem com a própria anatomia da égua e que são consideradas barreiras físicas à entrada de agentes patogénicos: a vulva, o esfíncter vestibulo-vaginal e a cérvix. A contração uterina funciona também como uma barreira física, na medida em que contribui para eliminar os agentes contaminantes e produtos da respetiva resposta inflamatória. Determinadas conformações anatômicas poderão aumentar a suscetibilidade de uma égua a endometrite.

A **vulva** é a abertura externa do trato reprodutor feminino. Uma correta conformação vulvar deverá englobar uma boa coaptação dos lábios vulvares, com o eixo longo da comissura vulvar disposto na vertical. Uma comissura vulvar intacta é a primeira barreira física de proteção vaginal e uterina. Os lábios da vulva podem ser separados cuidadosamente para averiguar se a égua tem esta barreira íntegra. Adicionalmente, o períneo deve estar íntegro e o ânus alinhado com estas estruturas, sem estar afundado, uma vez que este afundamento predispõe a égua a uma excessiva contaminação vulvar durante a defecação. A conformação perineal pode ser classificada pelo índice de *Caslick* ($IC = \text{altura da vulva} \times \text{ângulo de inclinação com a vertical}$), sendo que uma boa conformação requer que pelo menos 80% da abertura vulvar esteja situada abaixo do assoalho pélvico, com não mais que 4 cm acima deste e uma inclinação com a vertical de não mais que 10 graus (figura 1).

A prega **vestíbulo-vaginal** encontra-se na junção do vestíbulo e vagina, formada por músculos constritores da vulva e vagina que circundam esta área, permite minimizar a entrada de material exógeno no trato reprodutivo tubular superior. No caso de incompetência vestibulo-vaginal, esta ação resulta na aspiração de ar (ouvindo-se um ruído de sucção).

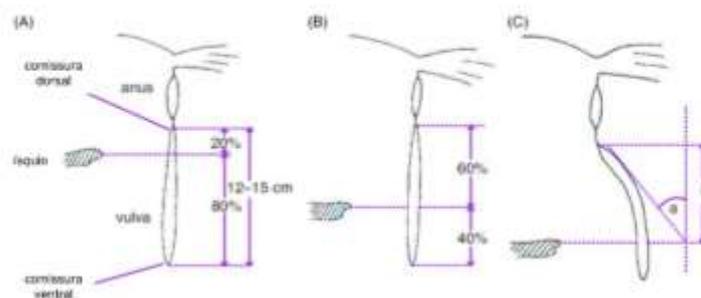


Figura 1 Índice de Caslick. A) tipo I boa conformação perineal, $IC < 50$; $b = 2-3$ cm; B) tipo II reduzida conformação perineal, $IC > 50$, $b = 6-7$ cm, $\alpha < 10-20^\circ$; C) tipo III má conformação perineal, $IC > 30^\circ$ (adaptado de Morrel, 2015)

A **cérvix** é a estrutura mais caudal do útero, sendo um órgão dinâmico na égua. Esta estrutura é revestida por células secretoras, que produzem ora um muco fluido que funciona como lubrificante durante o estro, ora um muco espesso que oclui o orifício cervical durante o diestro e gestação, tornando-o menos permeável a bactérias e material exógeno. A cérvix tem, também, uma capacidade constritora importante durante o diestro e gestação, contribuindo, uma vez mais, como importante barreira à contaminação uterina. De forma oposta, expande e fica uma estrutura flácida durante o estro, para acomodar o pênis do garanhão, e no parto, para permitir a passagem do poldro no canal de parto.

Resposta inflamatória fisiológica

Após a inseminação / cobrição ocorre uma resposta inflamatória transiente e fisiológica, que atua como um mecanismo de limpeza do útero, removendo material excessivo do lúmen uterino (espermatozoides, plasma seminal e contaminantes exógenos), previamente à chegada do embrião ao útero (que ocorre cerca de 5,5 dias após a ovulação). Esta resposta inclui a ativação de mecanismos de defesa humoral e mediados por anticorpos, o recrutamento de neutrófilos para fagocitose de bactérias, a liberação de prostaglandina e consequente aumento da contractilidade uterina para expulsão mecânica do conteúdo uterino. Após a chegada de bactérias ao útero, dá-se um aumento da permeabilidade vascular e o influxo de proteínas séricas e neutrófilos no lúmen uterino. As bactérias são opsonizadas e fagocitadas por neutrófilos. O fator crítico na defesa uterina, face à infecção, é a remoção física rápida deste conteúdo (*clearance* uterina). O conteúdo uterino é, fisiologicamente, eliminado por contrações uterinas promovidas pela liberação de prostaglandina e ocitocina e, 48 horas após a inseminação, já não se deteta a presença de líquido uterino ecograficamente. Este processo de

limpeza física pode ser comprometido por defeitos anatômicos, como útero pendular ou cérvix incompetente, ou por alterações degenerativas, tais como linfangiectasia ou contractilidade uterina diminuída. Uma vez que a cérvix fecha, em diestro, a drenagem linfática é responsável pela drenagem de líquido e células inflamatórias do lúmen uterino.

A boa atuação da resposta inflamatória transiente confere às éguas resistência a endometrite persistente. Em contraste, éguas propensas à manutenção de endometrite pós cobrição, maioritariamente por falha na *clearance* uterina, são denominadas éguas suscetíveis.

III CLASSIFICAÇÃO DA ENDOMETRITE

Quando se considera a existência de endometrite patológica, esta pode ser classificada como endometrite persistente pós-cobrição, endometrite bacteriana ou fúngica e endometrite crónica. De modo resumido, esta afeção pode ser caracterizada pelo momento em que ocorre, patogénese e pelos fatores condicionantes da sua ocorrência.

Endometrite persistente pós cobrição: ocorre após inseminação artificial ou cobrição natural. Após cobrição há uma resposta inflamatória fisiológica (normal e transitória) à presença de sémen no útero, que tem como objetivo a remoção do excesso de sémen e/ou bactérias. Nas éguas suscetíveis à endometrite pós cobrição, a inflamação persiste por mais de 48 horas. As éguas suscetíveis são geralmente éguas mais velhas, com alterações anatômicas, congénitas ou adquiridas, que diminuem os mecanismos de proteção uterina, bem como, éguas com alterações degenerativas do endométrio, as quais apresentam uma resposta insuficiente à contaminação uterina.

Endometrite bacteriana e/ou fúngica: ocorre por transmissão venérea ou contaminação por microrganismos oportunistas durante a cobrição ou manipulação reprodutiva. Os principais agentes microbianos venéreos são *Taylorella equigenitalis* (responsável pela Metrite Contagiosa Equina), *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella pneumoniae* tipo 1, 2 e 5. No que concerne os microrganismos oportunistas são bactérias, principalmente *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*, fungos e leveduras, que podem atuar de forma isolada ou em sinergia (tabela 1). Os fatores de virulência dos agentes microbianos, nomeadamente a capacidade de indução de inflamação, a adesão bacteriana ao epitélio, a resistência à fagocitose ou a formação de biofilme, aumentam a capacidade de agressão face aos mecanismos de defesa uterinos, os quais muitas vezes se apresentam diminuídos por ação da própria atividade microbiana.

Endometrite crónica: pode ocorrer associada a inflamação persistente ou a alterações degenerativas. Pode surgir associada a infeção recorrente, por exemplo associada a má conformação anatômica facilitando a contaminação recorrente do útero. O influxo contínuo de

células inflamatórias conduz a fibrose progressiva, severa e irreversível que prejudica a função endometrial. A persistência de linfócitos e outras células inflamatórias no endométrio promove alterações degenerativas crônicas, tais como fibrose periglandular e perivascular. A endometrite crônica ocorre assim, sobretudo em éguas mais velhas e com maior número de partos ou com má conformação anatômica.

Tabela 1 Bactérias e fungos frequentemente isolados em útero de éguas com endometrite (adaptado de Canisso, I., Segabinazzi, L., & Fedorka, C. (2020). Persistent Breeding-Induced Endometritis in Mares—A Multifaceted Challenge: From Clinical Aspects to Immunopathogenesis and Pathobiology. Int. J. Mol. Sci 21, doi:10.3390/ijms21041432)

	MICROORGANISMO	SUPERFAMÍLIA	CARACTERÍSTICAS
BACTÉRIAS	<i>Streptococcus zooepidemicus</i>	<i>Lactobacillales</i>	Gram positivo, anaeróbio /aeróbio facultativo; agente oportunista; potencialmente contaminante
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Enterobacterales</i>	Gram negativo, anaeróbio facultativo; agente oportunista
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonadales</i>	Gram negativo, aeróbio; transmissão venérea
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Enterobacterales</i>	Gram negativo, anaeróbio facultativo; agente oportunista, transmissão venérea
	<i>Staphylococcus</i> spp.	<i>Bacillales</i>	Gram positivo, anaeróbio facultativo; agente oportunista
	<i>Taylorella equigenitalis</i>	<i>Burkholderiales</i>	Gram negativo, microaerófilo; transmissão venérea, causa endometrite purulenta severa. Agente da metrite contagiosa equina
	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Enterobacterales</i>	Gram negativo, anaeróbio facultativo; agente oportunista
	<i>Proteus</i> spp.	<i>Enterobacterales</i>	Gram negativo, anaeróbio facultativo; agente oportunista
FUNGOS	<i>Candida</i> spp.	<i>Saccharomycetales</i>	Levedura, 58–69% das endometrites fúngicas
	<i>Aspergillus</i> spp.	<i>Eurotiales</i>	Bolor com hifas septadas, 25–26% das endometrites fúngicas.
	<i>Mucor</i> spp.	<i>Mucorales</i>	Bolor com hifas não septadas, 5–12% das endometrites fúngicas

IV DIAGNÓSTICO

O diagnóstico é feito através da história reprodutiva, exame clínico, ecografia, citologia, cultura microbiana e análise histopatológica. O diagnóstico correto e consequente tratamento são essenciais para maximizar a saúde uterina e minimizar o impacto económico da doença na

indústria equestre. A combinação de métodos de diagnóstico diferentes aumenta o grau de confiança, especialmente quando relacionados com os resultados de histopatologia.

História reprodutiva

Deve ser recolhida, sempre que possível, toda a informação relativa à história reprodutiva da égua: estado reprodutivo atual (primípara ou múltipara, se ficou, ou não, gestante no ano anterior), número de ciclos seguidos e duração do ciclo, número de vezes que foi coberta/inseminada na época corrente, número de garanhões utilizados, tipo e qualidade do sémen. No âmbito da endometrite, são as éguas múltiparas, que não ficaram gestantes ou com mais idade, as que mais frequentemente são diagnosticadas com este problema, embora, na realidade possa surgir em qualquer égua reprodutora. A existência de ciclos éstricos mais curtos, não associados ao período de transição, é característica da existência de doença inflamatória uterina.

Exame clínico

O exame clínico revela-se uma ferramenta essencial para obtenção de informação relativa ao estado geral da égua e identificação de alguma condição/predisposição/doença que possa interferir no seu desempenho reprodutivo. Além do exame físico de estado geral, importa aferir a conformação da genitália externa e a eventual presença de corrimento vaginal. Para tal, a égua deve ser contida no tronco e a cauda elevada para permitir boa visualização e em segurança, o que permitirá avaliar a égua sequencialmente, realizando o exame físico do estado geral e o exame específico do sistema reprodutor, que exigem desde logo a contenção do animal (figura 2).



Figura 2 Contenção da égua para exame do sistema reprodutor

A avaliação da genitália externa é imprescindível, devendo-se avaliar a conformação da vulva, períneo e ânus. Uma correta conformação vulvar deverá englobar o bom encerramento dos lábios vulvares, enquanto primeira barreira física de proteção do exterior. A pressão digital na comissura vulvar é um bom método de avaliação. A conformação perineal pode ser classificada pelo índice de *Caslick* (figura 1). A má conformação perineal e / ou vulvar está associada a maior risco de infecção vaginal e uterina, uma vez que permite a entrada de ar, acumulação de urina ou matéria fecal na vagina. A má coaptação vulvar (figura 3A) é mais frequente em éguas mais velhas e múltiparas, podendo observar-se também o afundamento do ânus, com um mau índice de *Caslick* (figura 3B).

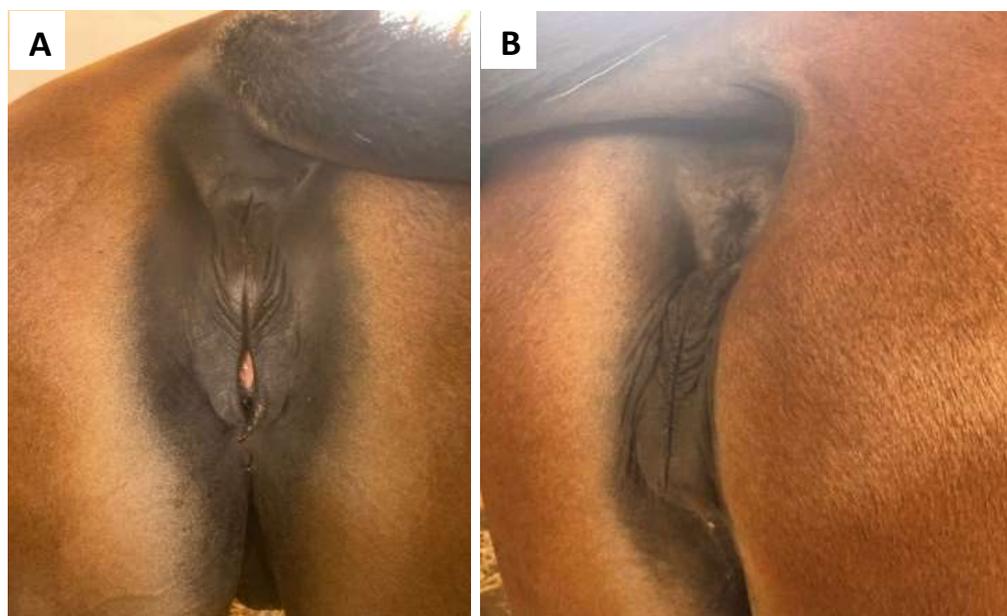


Figura 3 Má coaptação vulvar (A); má conformação perineal com afundamento do ânus (B)

A presença de corrimento vaginal ou exsudado na comissura ventral da vulva são sinais externos de infecção. No entanto, são raramente observados aquando de uma infecção ligeira.

Espéculo vaginal

O espéculo vaginal permite examinar o vestibulo, a vagina e o orifício cervical externo, e deve ser avaliado e interpretado conforme a fase do ciclo éstrico em que a égua se encontra. Durante o diestro, a cérvix apresenta-se seca e fechada, com a mucosa pálida e em posição dorsal na cavidade vaginal. Durante o estro, a cérvix encontra-se edematosa e relaxada, com a mucosa hiperémica e uma posição próxima do assoalho vaginal. O material necessário e descrição do procedimento de avaliação com espéculo vaginal encontra-se descrito na tabela 2.

Tabela 2 Material e descrição do procedimento para avaliação da égua com vaginoscópio

MATERIAL	PROCEDIMENTO
Solução antisséptica (por exemplo: solução de clorexidina)	1. A égua é contida no tronco, com a cauda envolta numa ligadura e elevada 2. Removem-se as fezes da ampola rectal e faz-se a assepsia da genitália externa com uma solução antisséptica 3. Introduce-se gentilmente o espéculo vaginal, com a ajuda de gel lubrificante estéril, no sentido ventrodorsal 4. Com a ajuda de uma fonte de luz, é possível examinar o vestíbulo, vagina e o orifício cervical externo
Espéculo vaginal reutilizável ou descartável	
Gel lubrificante estéril	
Fonte de luz	

A vantagem do espéculo de metal reutilizável é permitir afastar mais a vulva e vestíbulo. Achados clínicos indicadores de endometrite incluem congestão exagerada (indicadora de presença de inflamação), corrimento purulento (figura 4) e presença de urina e / ou detritos celulares na vagina anterior. Massajar o útero *per rectum* pode promover a expulsão de corrimento pela cérvix.

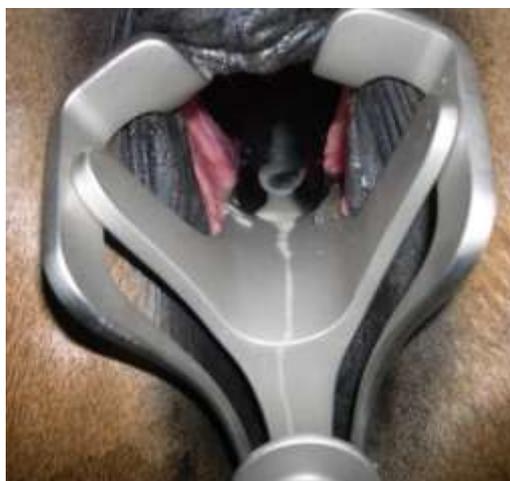


Figura 4 Corrimento purulento observado aquando da colocação de espéculo vaginal

Palpação transretal e ecografia

O exame ecográfico, realizado através de palpação transretal, faz-se utilizando uma sonda linear transretal. A sonda deve ser sempre movida lentamente e podem ser obtidas imagens dos cornos uterinos em plano transversal e do corpo uterino e da cérvix em plano longitudinal (figura 5). A tabela 3 indica o material e descrição do procedimento.

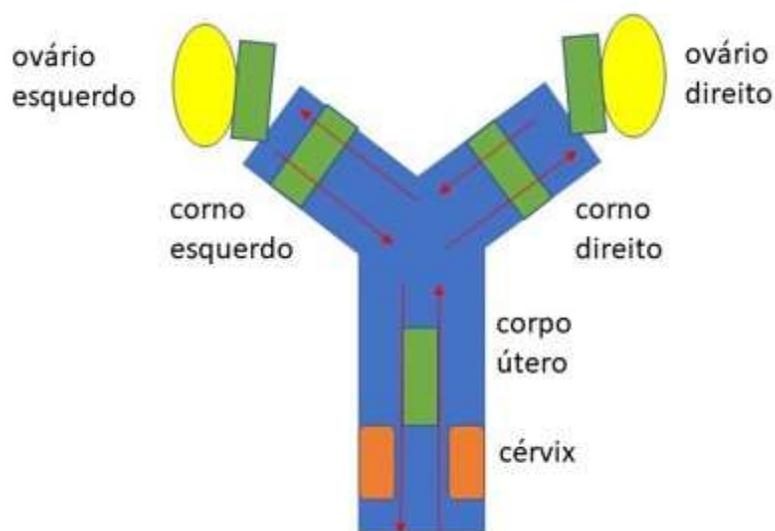


Figura 5 Esquema representativo do exame ecográfico do sistema reprodutor da égua

Tabela 3 Material e procedimento para avaliação ecográfica do trato reprodutivo da égua

MATERIAL	PROCEDIMENTO
Luvas de palpação transrectal Gel lubrificante Ecógrafo com sonda linear transrectal.	<ol style="list-style-type: none"> 1. A égua é contida no tronco e a cauda envolta em ligadura e afastada do ânus 2. Removem-se as fezes da ampola rectal e identificam-se as estruturas por palpação 3. Lubrifica-se a sonda com gel e introduz-se a sonda 4. O exame deve ser feito de forma sistemática: início na cérvix, seguindo o corpo uterino até à bifurcação, corno uterino e ovário esquerdo, recuando novamente até à bifurcação e avançando para o corno uterino e ovário direito (figura 5).

No exame ecográfico do sistema reprodutor da égua é fundamental a avaliação do grau de edema uterino (figura 6).

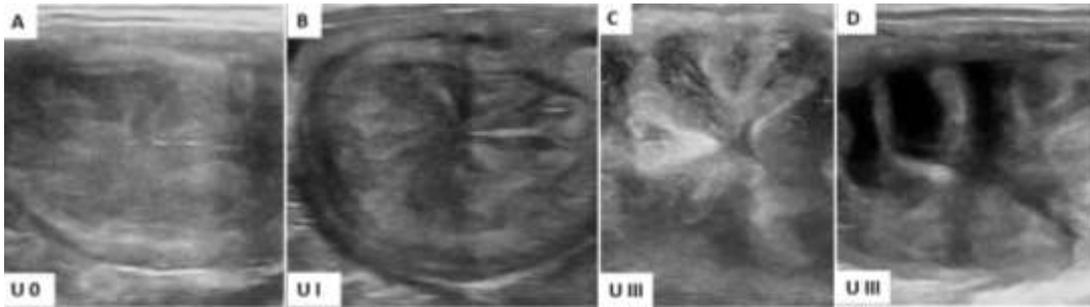


Figura 6 Classificação do edema uterino em escala de 0-3. Grau 0: sem edema; grau 1: edema ligeiro; grau 2: edema moderado com aumento da espessura das pregas endometriais; grau 3: edema acentuado com pregas endometriais distendidas

Os graus de edema uterino variam em função da fase do ciclo éstrico, de 0 (em diestro, figura 6A) até 2 (figura 6C) - 3 (figura 6D) em estro. Regra geral nas 24 horas que antecedem a ovulação o edema uterino reduz cerca de 1 grau, sendo geralmente de grau 1 (figura 6B) perto da ovulação. Para alguns autores o grau 3 de edema (figura 6D) é considerado como patológico. O exame ecográfico permite igualmente avaliar a presença, quantidade e ecogenicidade do líquido uterino (figura 7). A classificação em relação a volume e ecogenicidade (tabelas 4 e 5) deve ser correlacionada com o aspeto macroscópico do líquido, após lavagem uterina, bem como com os dados da citologia.

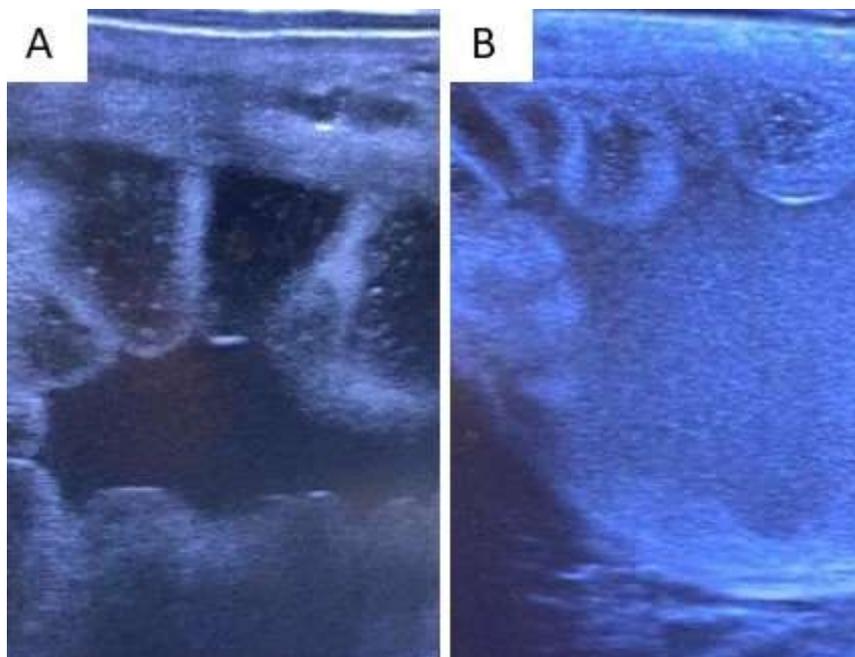


Figura 7 Imagem ecográfica de útero com conteúdo intrauterino: A volume grau 2 e ecogenicidade grau II; B volume grau 4 ecogenicidade grau I

Tabela 4 Classificação do aspeto ecogénico do fluido uterino (adaptada de McCue, 2014b).

ASPETO ECOGRÁFICO /ASPETO MACROSCÓPICO	GRAU
Anecogénico (negro) / líquido límpido	IV
Algumas partículas ecogénicas (acinzentado escuro) / turvo com sedimento	III
Moderadamente ecogénico (cinzento claro) / leitoso	II
Altamente ecogénico (branco)/ espesso e cremoso	I

Tabela 5 Classificação do volume do fluido uterino (adaptada de McCue, 2014b).

CLASSIFICAÇÃO	GRAU
Sem fluido	0
Vestigial (<1 cm de diâmetro)	1
Pequeno volume (1-2 cm de diâmetro)	2
Volume moderado ((2,1-5 cm de diâmetro)	3
Grande volume (> 5 cm de diâmetro)	4

Obtenção de amostras para exame citológico, microbiológico e histopatológico

As amostras para exame citológico e cultura microbiana podem ser obtidas por zaragatoa uterina, lavagem uterina de baixo volume e biópsia uterina. Para avaliação histopatológica deve realizar-se biópsia uterina. Idealmente, a recolha de amostras é efetuada no início do estro para citologia e cultura microbiana. As amostras de histopatologia podem ser recolhidas em qualquer fase do ciclo éstrico, devendo ser identificada a fase correspondente já que existem alterações morfológicas em função da mesma. Recomenda-se, no entanto, que a biópsia seja feita em diestro. O material necessário e descrição dos procedimentos para recolha de amostras podem ser consultados na tabela 6.

O envio de amostras para cultura microbiológica pode ser feito enviando diretamente a parte final da zaragatoa, na própria bacia da zaragatoa devidamente fechada ou em tubo *Falcon* esterilizado. Neste caso, na medida em que não se envia em meio de transporte, é fundamental que a amostra seja processada em menos de 24 horas. Pode também ser utilizado meio de cultura para o transporte, sendo o mais frequente o meio de *Stuart*.

Tabela 6 Material e procedimentos para recolha de amostras para exame citológico, cultura microbiana e análise histopatológica

MATERIAL	PROCEDIMENTOS
Luvas de palpação rectal esterilizadas e não-esterilizadas	<ol style="list-style-type: none"> 1. A égua é contida no tronco com a cauda envolta numa ligadura e elevada 2. Removem-se as fezes da ampola rectal faz-se a assepsia da genitália externa com uma solução antisséptica 3. Utilizam-se luvas esterilizadas para guiar a passagem pela cérvix, através de palpação vaginal, ou utiliza-se o vaginoscópio, com fonte de luz, para identificação do orifício cervical externo <p><u>Zaragatoa uterina</u>: deve permanecer pelo menos 20 segundos em contacto com o endométrio</p> <p><u>Lavagem uterina de baixo volume</u>: a amostra é recolhida por gravidade, podendo administrar-se ocitocina no final da lavagem para facilitar a recolha.</p> <p><u>Biópsia</u>: a pinça introduz-se fechada na mão por via vaginal e, de seguida, por palpação transrectal, localiza-se a pinça de biópsia no corpo uterino. A recolha é geralmente efetuada num dos cornos uterinos perto da bifurcação, empurrando a parede do útero para a pinça através da palpação transrectal. Depois de fechada, retira-se a pinça.</p>
Gel lubrificante de palpação rectal e gel estéril	
Zaragatoa uterina com dupla bainha	
Sonda de lavagem uterina com <i>cuff</i> (idealmente) + 250 a 500 mL de soro estéril	
Pinça de biópsia	

No caso da cultura microbiológica, a amostra, obtida por zaragatoa e/ou biópsia, deve ser processada antes das restantes análises, devendo ser inoculada no meio de cultura em ambiente controlado (câmara de fluxo laminar vertical). No caso da lavagem uterina, o líquido recolhido da lavagem é dividido em duas ou mais partes, sem que ocorra contaminação, sendo uma das partes destinada a cultura microbiana. Para análise citológica, deve realizar-se o esfregaço o mais rapidamente possível e o mesmo deve ser seco ao ar e corado com coloração do tipo Giemsa.

Para análise histopatológica, o fragmento colhido é fixado em formol a 10% (v/v) e enviado para um Laboratório de Anatomia Patológica Veterinária. Como referido, antes de se fixar pode ser utilizado para obtenção das amostras para cultura microbiológica e análise citológica, devendo realizar-se um esfregaço por aposição.

A preparação da égua e material necessário são semelhantes (tabela 6) qualquer que seja o método de recolha e implicam: 1) contenção da égua em tronco com a cauda envolta numa

ligadura e elevada; 2) remoção das fezes e avaliação da fase do ciclo éstrico por ecografia reprodutiva; 3) preparação da zona perineal de forma asséptica com solução iodada ou de clorexidina; 4) utilização de luvas esterilizadas ou de vaginoscópio com fonte de luz para identificação do orifício cervical externo; 5) utilização de gel lubrificante estéril.

Recolha de amostras por zaragatoa uterina

A recolha de amostras por zaragatoa é um dos métodos mais utilizado, pela facilidade de execução e por permitir enviar amostras diretamente para cultura microbiológica, sem necessidade de processar em câmara de fluxo laminar. Isto é possível devido ao facto das zaragatoas uterinas terem uma dupla bainha (figura 8), que permite, não só que não haja contaminação aquando da entrada na vagina e cérvix, mas também ser utilizada para envio direto para o laboratório, sem meio de transporte, desde que possa ser processada em 24-48 horas. A zaragatoa deve permanecer pelo menos 20 segundos em contacto com o endométrio.



Figura 8 Zaragatoa uterina com dupla bainha

A principal desvantagem é a maior possibilidade de ocorrerem falsos negativos na cultura microbiológica, pois a zaragatoa apenas contacta com uma área focal da superfície do endométrio. Além da zaragatoa tradicional (figura 9), pode utilizar-se uma zaragatoa em escova (*cytobrush*; figura 10) que produz amostras com maior celularidade para análise citológica e, consequentemente, é mais representativa. Para realização de análise microbiológica a sensibilidade é semelhante com ambos os métodos.



Figura 9 Zaragatoa uterina após exteriorização



Figura 10 Zaragatoa em escova (cytobrush) após exteriorização

Recolha de amostra por lavagem uterina de baixo volume

Este procedimento implica a infusão de solução salina estéril (250-500 mL) através de sonda de lavagem, idealmente cateter de *Foley* (figura 11). Após infusão, a solução é recolhida por gravidade, separada em dois tubos de *Falcon* de 45 mL, sendo, tradicionalmente, centrifugada durante 10 minutos a 600 g. Na experiência prática dos autores, verifica-se que centrifugação a 900 g não altera a morfologia celular e permite obter um sedimento mais abundante, o que facilita a avaliação da citologia.

Esta técnica permite avaliar uma maior área de superfície do endométrio, logo é considerada mais representativa do ambiente uterino para cultura microbiológica do útero, sendo a cultura, geralmente feita a partir do sedimento. Pode, no entanto, gerar falsos positivos, pois apesar do cateter ser introduzido envolvido por luva estéril, não tem dupla proteção. Em situações de baixa celularidade pode subestimar o grau de inflamação. Apesar de não ser esta a experiência dos autores pode ocorrer rotura da membrana celular na centrifugação alterando a interpretação da citologia. A centrifugação e realização do esfregaço deve ser feita o mais rapidamente possível para evitar a degradação associada ao tempo de permanência das células no líquido. A citologia deve ser fixada e corada, o mais rapidamente possível, de modo a minimizar a degradação celular, devendo ser protegida de poeiras e outros detritos, que, ao sujar a lamina, podem dificultar a visualização do esfregaço.



Figura 11 Lavagem uterina de baixo volume. A recolha do líquido de lavagem por gravidade. B Demonstração da colocação do cateter de Foley e balão insuflado (seta). C Centrifugação em tubos de Falcon

Biópsia uterina

Esta técnica é considerada a técnica de eleição para a avaliação do útero da égua. Permite a obtenção de amostra para cultura microbiológica e citologia, bem como a avaliação do fragmento por histopatologia. A biópsia é um procedimento indolor, na medida em que não existem nociceptores ao nível do endométrio. A pinça de biópsia é inserida protegida pela mão do operador, sendo que, após passagem da cérvix, é localizada por palpação transretal. O local ideal para a realização da biópsia é a zona da bifurcação dos cornos uterinos (figura 12), sendo, atualmente, a obtenção de um único fragmento considerada suficiente. O fragmento de biópsia pode ser utilizado para cultura ou ser colocado em meio de enriquecimento. O esfregaço para exame citológico é obtido por aposição do fragmento na lamina e, só posteriormente deve ser colocado em formol a 10% para análise histopatológica.



Figura 12 Local de realização da biópsia na bifurcação dos cornos uterinos

Avaliação da citologia

A citologia é uma das ferramentas de diagnóstico mais utilizada, permitindo caracterizar a inflamação uterina, bem como, em algumas situações, identificar a presença de fungos e leveduras. A presença de bactérias fagocitadas nas células inflamatórias é, por si só, um indicador de infecção (figura 13). É relevante a indicação da fase do ciclo éstrico em que se obteve a amostra, de modo a permitir uma correta interpretação da citologia, já que a presença de células inflamatórias é fisiológica nas 12-48 horas após a cobertura ou inseminação. Neste sentido, é necessária uma avaliação conjunta e cuidada dos parâmetros citológicos, exame clínico e da cultura bacteriana para validação dos resultados obtidos. De um modo geral, considera-se que a presença de mais do que 5% de polimorfonucleares neutrófilos (PMN) por campo, relativamente ao total de células, numa ampliação, de 1000x, está associada a inflamação. É importante também comparar com outros parâmetros citológicos: natureza do fundo da lâmina (mucoso, limpo), a integridade celular (se existem imagens de lise celular, fragmentos celulares ou alterações degenerativas), a presença de outras células inflamatórias (como eosinófilos, figura 14; ou monócitos) e o ratio neutrófilos / células do endométrio (figura 15 e 16). A presença de outras células inflamatórias, que não PMN, é sugestiva de inflamação crónica.

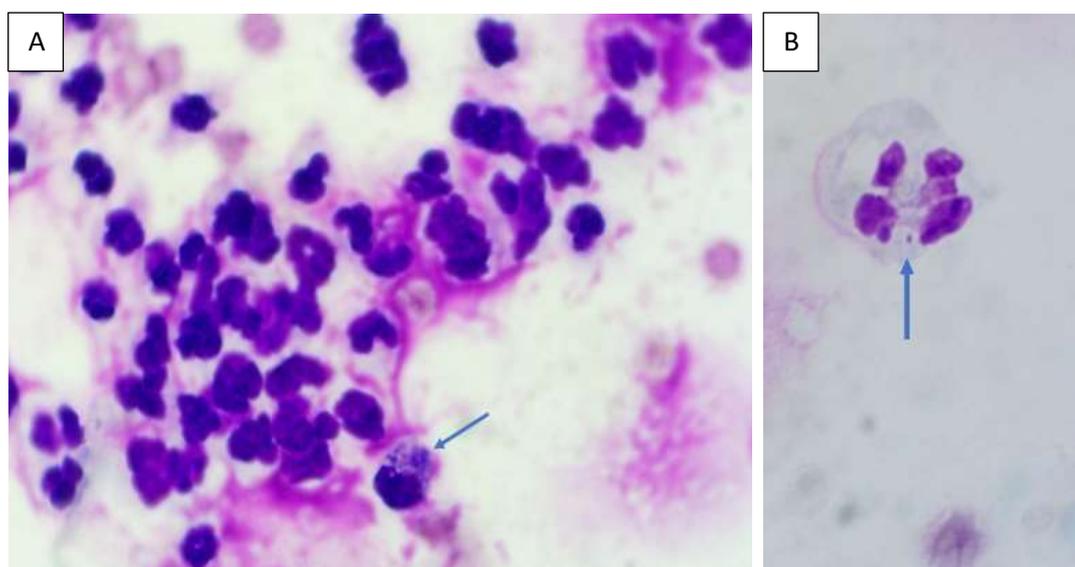


Figura 13 Citologia do endométrio onde se pode observar a presença de bactérias (seta) fagocitadas no citoplasma de polimorfonucleares neutrófilos (A ampliação 400x; B ampliação de 1000 coloração Giemsa)

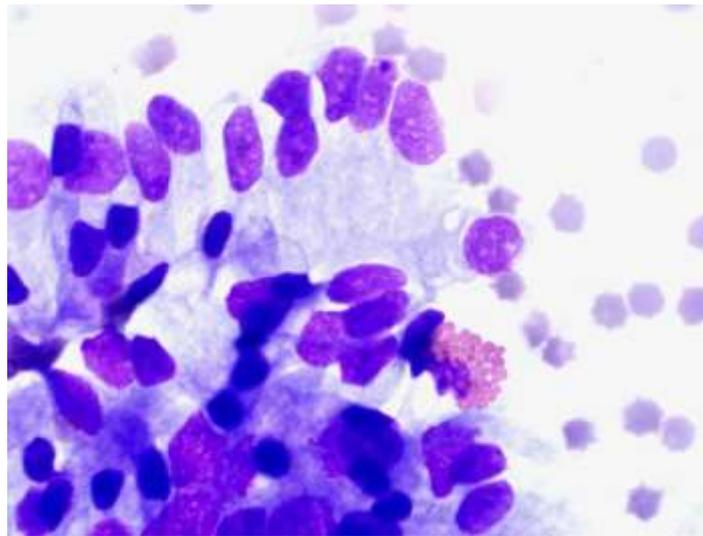


Figura 14 Presença de eosinófilo em citologia de endométrio (ampliação 400x coloração Giemsa)

De forma detalhada, os parâmetros avaliados para diagnóstico de endometrite são os seguintes:

Presença de PMN

A equipa da Universidade de Évora, seguindo a recomendação de vários autores, considera a observação no mínimo de 100 células, avaliando-se a % de PMN em relação ao número de células do epitélio uterino. Considera-se assim: <5% PMN: **ausência de inflamação** (figura 15); 5-15% PMN: **inflamação ligeira**; 15-30% PMN: **inflamação moderada** (figura 16) e >30% PMN: **inflamação severa**

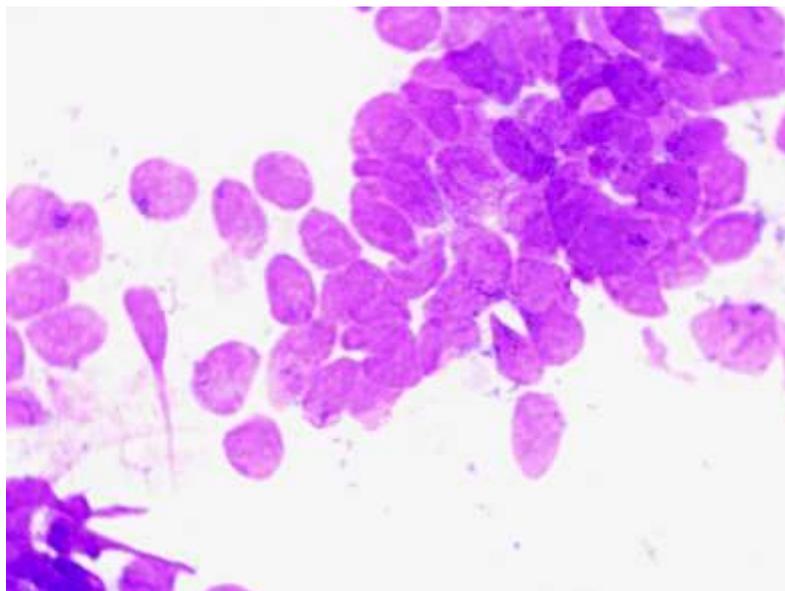


Figura 15 Citologia do endométrio sem sinais de inflamação; presença de polimorfonucleares neutrófilos inferior a 5% (ampliação 400x coloração Giemsa)

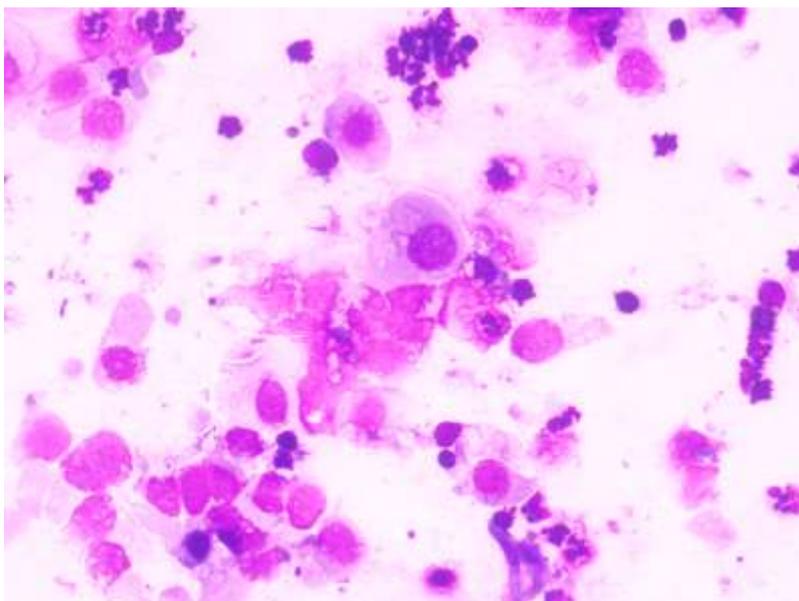


Figura 16 Citologia do endométrio com inflamação moderada com presença de 15 a 30 % de polimorfonucleares neutrófilos (ampliação 400x coloração Giemsa)

Presença de bactérias, fungos ou leveduras

Considerando a presença de bactérias no citoplasma das células inflamatórias fagocitárias, existem 5 graus de afeção: grau 1: ausência de bactérias em 30 campos; grau 2: 1 bactéria em 30 campos; grau 3: 1 bactéria em 10 campos; grau 4: 2-10 bactérias por campo; grau 5: 11-50 bactérias por campo. A mesma classificação se atribui à presença de fungos e leveduras, sendo imprescindível a avaliação com ampliação de 1000 X.

Presença de detritos celulares / fragmentos celulares / muco:

A classificação baseia-se na percentagem presente em um campo de ampliação de 1000x: grau 1: <25%; grau 2: > 25% e <50%; grau 3: >50% e < 75% e grau 4: >75% (figura 17). Os graus 3 e 4 são sugestivos de presença de endometrite, possivelmente de etiologia bacteriana.

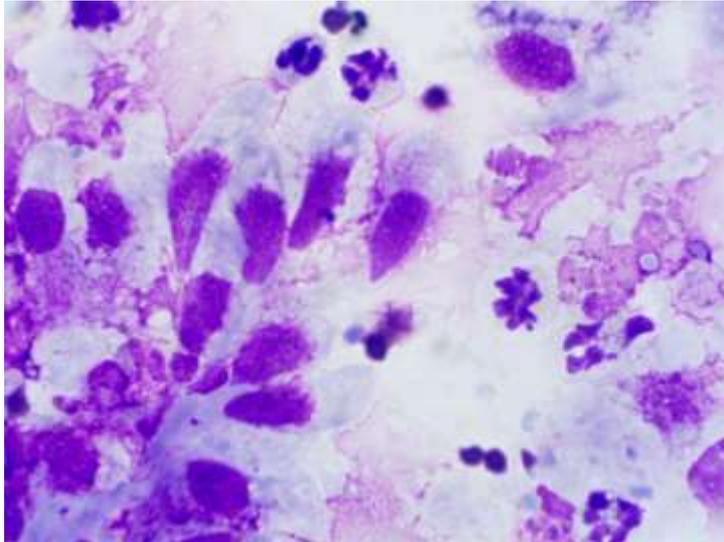


Figura 17 Presença de mais do que 75% de detritos, fragmento celulares e muco em citologia de endométrio de égua (ampliação 1000x coloração Giemsa)

Cultura microbiana

A cultura microbiana pode ser feita a partir da zaragatoa, sedimento após centrifugação do fluido de lavagem uterina ou diretamente através do fragmento de biópsia.

Regra geral utiliza-se uma ansa estéril (figura 18) e faz-se sempre em câmara de fluxo laminar vertical.

A cultura microbiológica tem como objetivo identificar o microrganismo implicado na infeção. Os principais agentes infecciosos incluem aeróbios (*Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* (cápsula 1, 2 e 5), *Streptococcus zooepidemicus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*), microaerofílico (*Taylorella equigenitalis*), anaeróbios e fungos (*Candida* spp., *Aspergillus* spp.).

Podem estar presentes mais do que um microrganismo, mas, culturas mistas com mais de 3 microrganismos devem ser suspeitas de contaminação. A existência de crescimento intenso nas primeiras 24-48 horas ou o crescimento exuberante de uma só espécie são mais significativos.



Figura 18 Cultura utilizando ansa estéril em câmara de fluxo laminar vertical

A interpretação dos dados da cultura deve ser sempre associada aos resultados de uma citologia e sinais clínicos, se existentes. Regra geral utiliza-se como meio de cultura agar sangue (AS) e agar MacConkey (MC). O crescimento diferenciado nestes dois meios e o aspeto das colónias permite uma identificação presuntiva dos microrganismos envolvidos.

Assim, em AS pode observar-se o crescimento de *Staphylococcus* e *Streptococcus*, os quais não crescem em MC (figura 19). As colónias de *Streptococcus* são de crescimento mais lento do que as colónias de *Staphylococcus*. Podem também distinguir-se as colónias de *Staphylococcus* das de *Streptococcus* pelo tamanho e aspeto das mesmas.

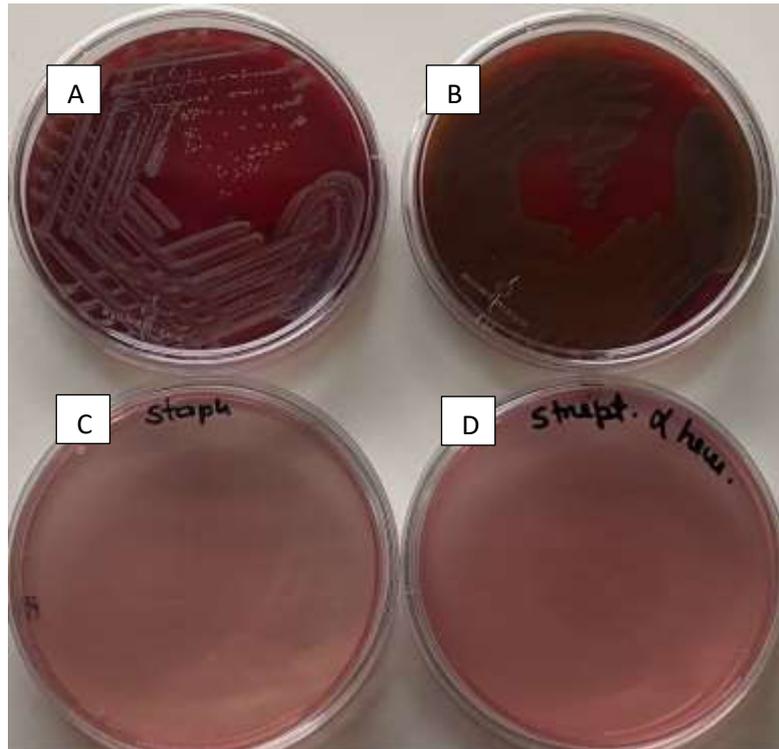


Figura 19 Placas de cultura de agar sangue (A e B) e de agar MacConkey (C e D) onde se pode observar o crescimento de *Staphylococcus* (A) e *Streptococcus alfa hemolítico* (B) no meio de agar sangue e a ausência de crescimento em meio de agar MacConkey (C e D)

As colónias de *Streptococcus* são menores, podendo observar-se, ou não, hemólise, alfa hemólise através de um halo esverdeado em volta das colónias (figura 20), ou beta-hemólise que forma um halo transparente. As colónias de *Staphylococcus* são maiores, podem ou não ser hemolíticas, sendo bem definido o halo de beta hemólise envolvente (figura 21). A *Escherichia coli*, cresce em ambos os meios, AS e MC e as colónias em AS são colónias grandes e de aspeto mucóide. Regra geral são não hemolíticas, apesar de poder ocorrer hemólise em algumas estirpes de *E. coli* (figura 22).

Num estudo realizado na Universidade de Évora os microrganismos mais frequentemente encontrados, após cultura a partir de lavagem uterina de égua em cio, pré inseminação, foram a *Escherichia coli*, o *Staphylococcus xylosum* e o *Streptococcus equi* subsp. *zooepidermicus*, como pode observar-se no gráfico 1.

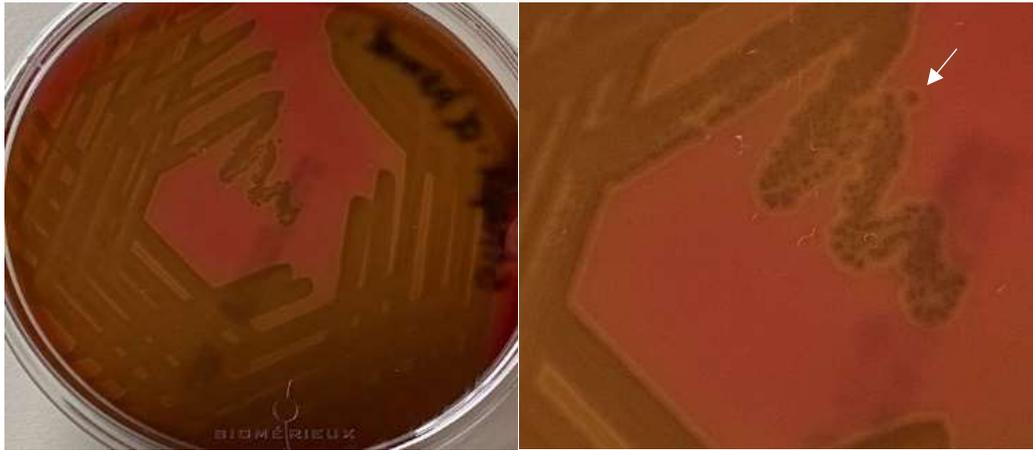


Figura 20 Placa de cultura em agar sangue, onde se pode observar o crescimento de colónias de *Streptococcus alfa hemolítico*. A seta indica halo de hemólise esverdeado.

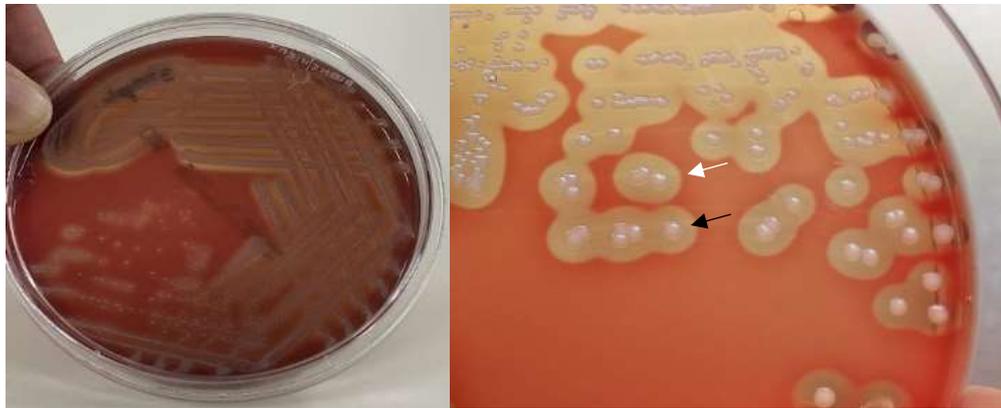


Figura 21 Placa com agar sangue com cultura de *Staphylococcus beta hemolítico*. A seta branca indica o halo hemolítico e a seta preta as colónias.

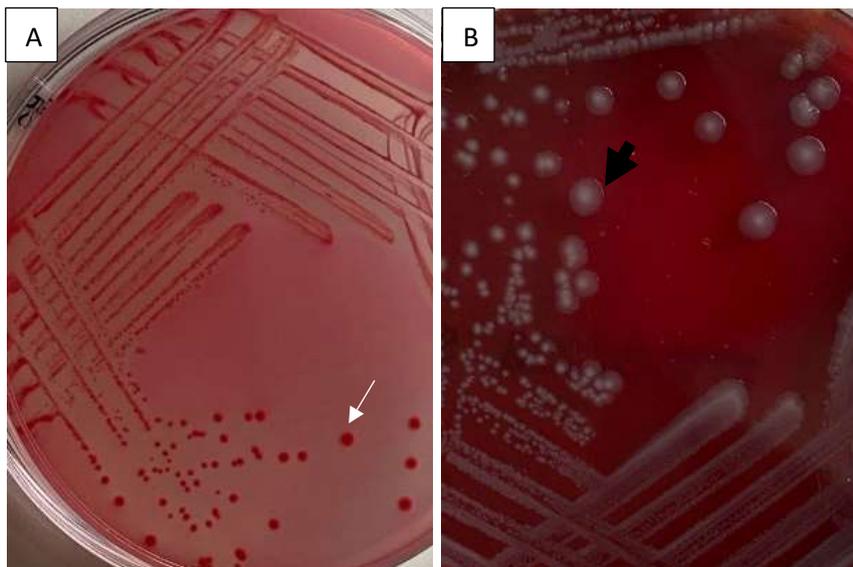


Figura 22 Cultura positiva de *Escherichia coli* em agar MacConkey (A) e agar sangue (B). A seta branca indica uma colónia de *Escherichia coli* e a seta preta o aspeto mucoide das colónias em Agar Sangue

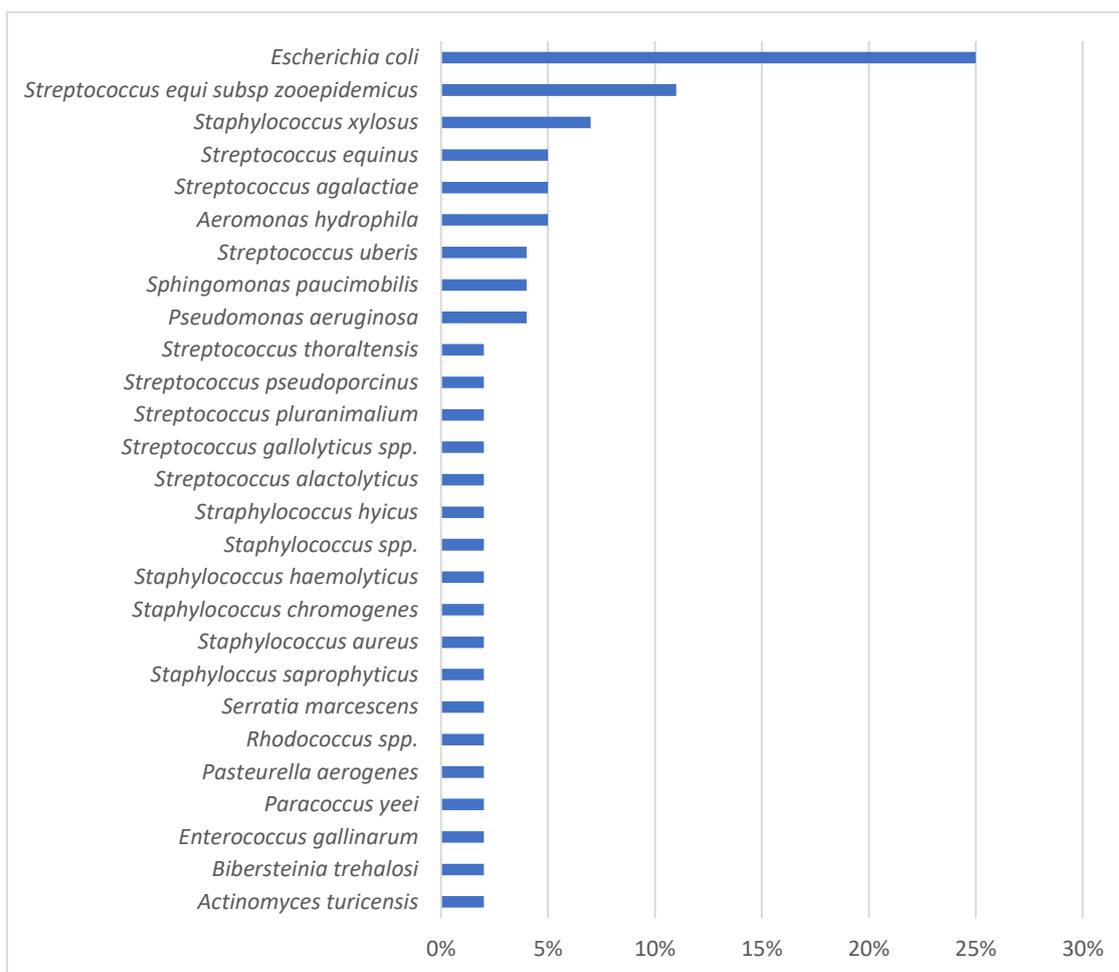


Gráfico 1 Distribuição percentual das bactérias identificadas após cultura microbiana de lavados uterinos de éguas em estro

O teste de sensibilidade aos antimicrobianos (TSA) pode ser realizado, sendo frequentemente incluídos a ampicilina, penicilina, gentamicina, polimixina B e cefalosporinas. No estudo da Universidade de Évora a maioria das bactérias de Gram positivo foram sensíveis aos três antimicrobianos: tetraciclina, ceftiofur e enrofloxacina. No que concerne as bactérias de Gram negativo, mais de 90% dos isolados foram sensíveis a ceftiofur e a gentamicina e cerca de 60% foram sensíveis a enrofloxacina.

Histopatologia

O exame histopatológico permite detetar a infiltração de neutrófilos no endométrio. É considerado o teste mais sensível (“*Gold standard*”) para diagnóstico de endometrite, sendo indispensável na avaliação e classificação da endometrite crónica. Após o corte histológico, os fragmentos são classificados utilizando como critérios: edema da mucosa, presença de PMN (a

sua presença na fase de diestro é sempre indicativa de inflamação aguda), morfologia glandular (atrofia, dilatação quística e necrose), fibrose, dilatação dos vasos linfáticos da mucosa e presença de outras células inflamatórias (macrófagos, linfócitos e plasmócitos). Classifica-se o endométrio em quatro grupos, de acordo com as alterações presentes, relacionando-se estas alterações com a probabilidade de parto de um poldro viável (Kenney, 1989):

I – Endométrio praticamente normal: muito raras células inflamatórias, sem alterações glandulares, sem fibrose periglandular ou dilatação linfática. Com 80-90% de probabilidade de nascimento de poldro viável.

IIA – Inflamação ligeira a moderada com presenças de células inflamatórias dispersas na mucosa, ligeira a moderada atrofia glandular, presença de ligeira dilatação linfática e fibrose ligeira. Com 50-80% de probabilidade de nascimento de poldro viável.

IIB – Inflamação moderada a severa com presença difusa de células inflamatórias na mucosa, dilatação quística glandular, moderada a severa dilatação linfática e fibrose moderada. Com 10-50% de probabilidade de nascimento de poldro viável.

III – Inflamação severa bem evidente e difusa, alterações degenerativas ou necróticas das glândulas, dilatação linfática severa, fibrose periglandular severa. Com <10% de probabilidade de nascimento de poldro viável.

V TRATAMENTO E MANEIO DA ÉGUA COM ENDOMETRITE

O tratamento da endometrite aplica-se sobretudo na fase aguda da doença. No entanto, há algumas medidas terapêuticas ou de resolução cirúrgica que podem ser aplicadas preventivamente, reduzindo a possibilidade de infeções recorrentes e, conseqüentemente, do desenvolvimento de endometrite bacteriana e crónica. Os objetivos do tratamento visam melhorar os mecanismos de defesa uterina, neutralizar bactérias e controlar a inflamação.

Lavagem uterina

A lavagem uterina é uma importante ferramenta terapêutica, que permite a remoção de microrganismos, *debrítos celulares*, células inflamatórias e outros mediadores, como enzimas proteolíticas. Adicionalmente, estimula a contractilidade uterina promovendo a *clearance* mecânica do útero e estimula a chamada de neutrófilos e opsoninas, através da irritação mecânica do endométrio, aumentando a resposta do útero à contaminação bacteriana.

A lavagem uterina deve ser realizada em todas as éguas com mais de 2 cm de fluido uterino (grau 3 a 4 em volume) ou em éguas com conteúdo uterino muito ecogénico (ecogeneidade I a II). Éguas com várias inseminações/cobrições que não ficaram gestantes podem também ter

indicação para lavagem uterina. O material e descrição do procedimento podem rever-se na tabela 7. Na figura 23 pode observar-se o resultado de uma lavagem uterina, sendo de realçar a diferença entre o aspeto macroscópico entre o primeiro e o terceiro litro de lavagem recolhido. Ocasionalmente, realiza-se uma massagem uterina *per rectum* para distribuir a solução no lúmen uterino e estimular a contractilidade uterina. As soluções de lavagem mais frequentemente utilizadas são solução de NaCl a 0,9% ou Lactato de Ringer (LR). Podem ainda ser-lhes adicionado antissépticos (por exemplo iodopovidona ou clorexidina), mucolíticos (por exemplo N-acetilcisteína) ou outros aditivos, como vinagre no caso de endometrites fúngicas. Apesar da utilização dos agentes antissépticos ser muitas vezes comum na prática clínica, é ainda incerto qual o seu impacto no microbioma uterino e no endométrio.

Tabela 7 Material e procedimento de lavagem uterina na égua

MATERIAL	
Solução antisséptica (por exemplo: solução de clorexidina)	<ol style="list-style-type: none"> 1. A égua é contida no tronco com a cauda envolta numa ligadura e elevada 2. Removem-se as fezes da ampola rectal faz-se a assepsia da genitália externa com uma solução antisséptica 3. Introduce-se a sonda de lavagem uterina protegida pela mão com luva estéril, com a ajuda de gel lubrificante estéril, até à cérvix. Após a sonda passar pela cérvix e insufla-se o <i>cuff</i> 4. Instila-se a solução de lavagem por gravidade a através do sistema de lavagem uterino, mínimo 1 L e máximo 4 L, regra geral até que o líquido recolhido seja límpido 5. Administra-se ocitocina/PGF_{2α} para promover a expulsão de todo o líquido uterino remanescente
Luva de palpação rectal esterilizada	
Gel lubrificante estéril	
Sistema de lavagem uterina (idealmente com <i>cuff</i> para facilitar a sua retenção no útero);	
Solução para a lavagem uterina (NaCl a 0,9% ou LR) tépida.	

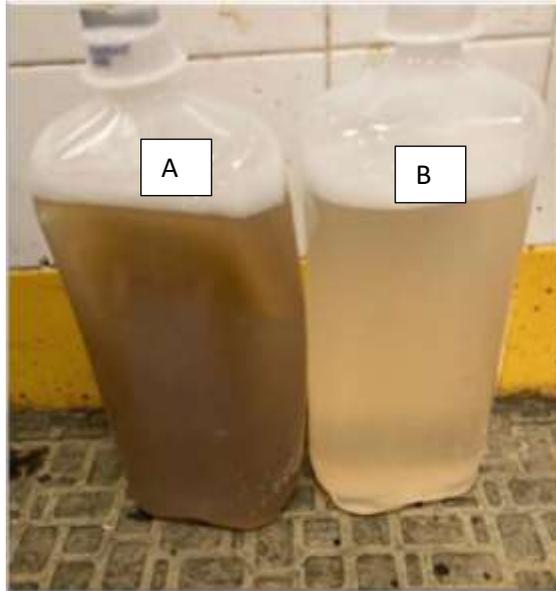


Figura 23 Líquido recolhido após lavagem uterina. Em A pode observar-se o aspeto turvo do primeiro litro de lavagem em B a menor turvação ao fim do terceiro litro de lavagem

As éguas com líquido uterino pré-inseminação/cobrição podem ser lavadas com Lactato de Ringer, até 1 hora antes do procedimento. Também a partir de 4 horas após a cobrição/inseminação, a lavagem uterina não apresenta efeitos deletérios na fertilidade. De facto, está provado que a combinação de lavagem uterina e infusão de antimicrobianos a partir das 4 horas após a inseminação/cobrição aumenta as taxas de gestação em éguas suscetíveis a endometrite persistente após a cobrição. Se necessário podem realizar-se lavagens uterinas até aos 4-5 dias após a ovulação.

Fármacos ecbólicos

Os agentes ecbólicos uterinos, como a ocitocina e o cloprostenol, estimulam a contração uterina, promovendo a expulsão de todo o líquido uterino, pela cérvix aberta ou por drenagem linfática. A sua administração é frequentemente realizada enquanto tratamento adjuvante da lavagem uterina.

Podem também ser utilizados isoladamente, sendo indicados quando existe uma acumulação menor de líquido intrauterino (< 2cm, grau 1-2) e de baixa ecogenecidade (III-IV) antes ou depois da inseminação/cobrição.

A ocitocina (doses de 10-25 UI, por via endovenosa ou intramuscular) é efetiva a promover a contractilidade uterina durante aproximadamente 30 minutos a 1 hora, o que resulta na rápida remoção do líquido uterino. Pode ser administrada diversas vezes no mesmo dia, mas pensa-se que um intervalo entre administrações inferior a 4 a 6 horas induz contrações espasmódicas (ao

invés de cíclicas) que não contribuem para a eliminação do fluido uterino. O cloprostenol, um análogo sintético da prostaglandina F 2 alfa (PGF₂α), promove contrações uterinas mais fracas, mas mais prolongadas, durante cerca de 2 a 4 horas, sendo particularmente útil em éguas com má drenagem linfática. Apesar do corpo lúteo só ser sensível à indução da luteólise 5 dias pós ovulação, a administração de cloprostenol após 12 horas da ovulação está associada a diminuição dos níveis séricos de progesterona. Neste sentido, a utilização de cloprostenol (250 µg intramuscular) é limitada ao período pré ovulatório e, dependendo dos autores, até 12 horas após a ovulação. De referir que alguns estudos relatam taxas de gestação 50% mais baixas em éguas tratadas com cloprostenol, no próprio dia da ovulação ou no seguinte, pelo que a sua utilização nesta fase é controversa. Éguas que estejam a ser tratadas com anti-inflamatórios não esteroides, como a fenilbutazona, devem ser tratadas exclusivamente com ocitocina. A administração de ecbólicos uterinos após a ovulação só pode ser realizada 4 horas após a inseminação, pois pode afetar a fertilidade, porventura porque o sémen é expelido do útero antes de aceder ao oviduto.

Dilatação cervical

Em éguas cuja cérvix não dilata corretamente, a expulsão do líquido intrauterino encontra-se dificultada. Isto ocorre particularmente em éguas primíparas, mais velhas, ou em éguas com fibrose cervical, decorrente, por exemplo, de um parto distócico. Nesses casos, a cérvix pode ser dilatada manualmente ou ser-lhe aplicada topicamente misoprostol, análogo da prostaglandina E1 (PGE1), uma vez ao dia, no orifício cervical externo (1-2 mg amolecidos num pequeno volume de solução salina estéril, cerca de 3 mL, ou em gel lubrificante estéril, 2-4 mL de gel). A utilização destas substâncias promove o amolecimento e a dilatação da cérvix, o que facilita a *clearance* mecânica do útero. Adicionalmente, a administração sistémica de cloprostenol, auxilia a drenagem linfática nestas éguas através das contrações contínuas (em oposição à ocitocina, como referido anteriormente na secção “medicamentos ecbólicos”).

Antimicrobianos

Os antimicrobianos, vulgarmente chamados antibióticos, embora nem todos sejam verdadeiros antibióticos, são necessários para tratamento de endometrites bacterianas na égua. Idealmente, o antibiótico utilizado deve ser escolhido com base nos resultados de uma cultura microbiana e teste de sensibilidade aos antibióticos, para evitar a crescente problemática da resistência aos antimicrobianos. Os antimicrobianos mais frequentemente utilizados no tratamento das infeções uterinas e respetivas doses estão resumidos na tabela 8.

Tabela 8 Principais antimicrobianos utilizados no tratamento de infecções uterinas em éguas

ANTIBIÓTICO	DOSE	OBSERVAÇÕES
Penicilina (sais de Na⁺ ou K⁺)	<u>Intrauterina (IU):</u> 5 000 000 UI, q12-24h diluídos em ≥35 ml de solução salina <u>Sistêmica:</u> 22 000 UI/kg IM q12h	Muito eficaz para <i>Streptococcus</i> spp; econômica.
Sulfato de Gentamicina	<u>IU:</u> -2g cada 24h tamponada com bicarbonato de sódio (8,4%) <u>Sistêmica:</u> 6,6 mg/kg IV q24h	Muito eficaz; não irritante se tamponada com bicarbonato de sódio e solução salina.
Ticarcilina	<u>IU:</u> 1 - 3 g diluídos em ≥60 ml de solução salina <u>Sistêmica:</u> 50 mg/kg IV q6h	Eficaz para <i>Pseudomonas</i> ; não utilizar para <i>Klebsiella</i> .
Ticarcilina com ácido clavulâmico	<u>IU:</u> 3 – 6 g	Largo espectro de atividade contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas; permite a aumentar o espectro de ação para bactérias produtoras de enzima β-lactamase.
Sulfato de Amicacina	<u>IU:</u> 1 – 2 g tamponada com bicarbonato de sódio <u>Sistêmica:</u> 15 mg/kg IV q24h	Eficaz em <i>Pseudomonas</i> , <i>Klebsiella</i> e organismos Gram-negativos persistentes.
Ceftiofur sódico	<u>IU:</u> 1-2g q24h <u>Sistêmica:</u> 2 mg/kg IV ou IM q12-24h	Cefalosporina de terceira geração; largo espectro de atividade contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas; usado empiricamente uma vez por dia por via intramuscular ou em infusão intrauterina.
Cefazolina sódica	<u>IU:</u> 1 g <u>Sistêmica:</u> 20 mg/kg IM ou IV q8h	Cefalosporina de primeira geração; Largo espectro de atividade contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas; usado empiricamente uma vez por dia por via intramuscular por 2-3 semanas.
Sulfato de Kanamicina	<u>IU:</u> 1 g	Tóxico para o sêmen, não utilizar próximo da cobrição / IA.
Polimixina B	<u>IU:</u> 1 000 000 UI q24h diluídos em ≥35ml de solução salina <u>Sistêmica:</u> 3000 – 6000 UI/kg em 1L de fluidos IV q8-12h	Eficaz contra bactérias Gram-negativas, em particular <i>Pseudomonas</i> .

O tratamento da endometrite com um antibiótico apropriado, administrado diretamente no útero, por 3 a 5 dias durante o estro é, também, uma prática comum. A infusão intrauterina minimiza o impacto sistêmico do fármaco, bem como a dose total necessária, e é mais eficaz a atingir doses terapêuticas do que a administração sistêmica, que necessitaria de administrações mais frequentes para atingir os mesmos níveis. No entanto, antibióticos sistêmicos podem também atingir concentrações mínimas inibitórias no trato genital e são úteis pois não estão sujeitos às condições adversas do lúmen uterino, não provocam reação local no endométrio, a sua administração não está associada ao risco de introdução de bactérias no útero e a duração do tratamento não é condicionada pelo estro. A aplicação de antibioterapia intrauterina deve, idealmente, ser precedida de lavagem uterina pois a presença de líquido uterino pode inativar

o antibiótico ou diluí-lo para uma concentração subterapêutica. Nestes casos, a lavagem uterina é frequentemente seguida da administração de agentes ecbólicos, sendo importante ter atenção a duração de ação dos mesmos. Assim, após administração de ocitocina deve esperar-se cerca de 1 hora para administrar tratamento intrauterino e após administração de clorprostenol deve espera-se cerca de 4 horas. Nem todos os antimicrobianos sistêmicos podem ser administrados por via intrauterina diretamente. Alguns antimicrobianos têm um pH muito ácido ou alcalino, podendo irritar o endométrio, se não forem previamente tamponados para uma solução mais neutra.

Por exemplo, os aminoglicosídeos, como a gentamicina, têm um pH ácido, mas, quando associados a uma solução tampão de bicarbonato de sódio, resultam numa irritação mínima do endométrio, sem que haja a alteração da eficácia terapêutica. Por oposição, a enrofloxacina tem um pH alcalino, mas perde eficácia quando tamponada para um pH neutro, pelo que a sua administração intrauterina não é possível, devendo, quando necessário, ser administrada por via sistêmica.

Antifúngicos

O tratamento de endometrites fúngicas carece, ainda, de estudos adicionais, sendo que, a farmacocinética e farmacodinâmica dos antifúngicos no trato reprodutor não está bem elucidada. O tratamento inicial deve visar a correção de fatores predisponentes (como a má conformação perineal ou a infusão continuada de antibióticos) em associação com lavagens uterinas e o uso de ecbólicos. A tabela 9 resume os antifúngicos geralmente utilizados.

Tabela 9: Principais substâncias e indicações terapêuticas para endometrites fúngicas. (In: Brinsko, S., Blanchard, T., Varner, D., Schumacher, J., Love, C., Hinrichs, K., & Hartman, D. (2011). Manual of Equine Reproduction. Mosby Elsevier.).

Classe	Antifúngico	Dose	Observações
Polienos	Anfotericina B	200 mg diluídos em 100-250 mL de água estéril	Infeções por <i>Aspergillus</i> , <i>Candida</i> , <i>Histoplasma</i> ou <i>Mucor</i> .
	Nistatina	500 000 U diluídos em 100-250 mL de água estéril	Infeções por leveduras como a <i>Candida albicans</i> ; agitar vigorosamente antes da infusão.
Imidazóis	Clotrimazol	700 mg diluídos em 40 mL de água estéril	Infeções por leveduras (<i>Candida</i> spp.).
	Miconazol	200 mg diluídos em 40-60 mL de água estéril	Infeções por leveduras (<i>Candida</i> spp.); já utilizado em endometrites fúngicas SID durante 10 dias eficazmente.
Triazol	Fluconazol	100 mg	Antifúngico sintético para endometrites por fungos ou leveduras (<i>Candida</i> spp.); ajustar pH para 7 se necessário

Infusão intrauterina de antissépticos, mucolíticos e agentes quelantes

A aplicação de qualquer um destes compostos deve ser ponderada, uma vez que, são substâncias irritantes para os tecidos, o que pode promover aderências no lúmen genital. Contudo, a sua utilização justifica-se quando as infeções não respondem positivamente à lavagem uterina e infusão de antibióticos. Apesar de ser muitas vezes considerada como um último recurso, deve ser equacionada, como alternativa à utilização de antibioterapia, de modo a reduzir a utilização de antimicrobianos.

A infusão de antissépticos, como a iodopovidona (infusão de 500 mL de solução a 0,2%) promove uma resposta inflamatória marcada que, após resolvida, está descrita como estando associada a maior taxa de gestação no ciclo éstrico seguinte. A iodopovidona é também utilizada para tratar infeções por fungos ou leveduras. Apesar de não ser o tratamento mais recomendado, em termos práticos pode ser uma alternativa a campo, quando não há solução estéril disponível, sendo por exemplo útil no período pós-parto (30-40 mL de iodopovidona para cerca de 4 litros de água morna e 34g de NaCl).

A menor eficácia dos antimicrobianos está muitas vezes associada à sua degradação nos exsudados uterinos ou a produção de biofilme pelos microrganismos. Além disso, a produção excessiva de muco pelo endométrio pode causar infertilidade, ao retardar a passagem dos espermatozoides para o oviduto, resultando em acumulação de fluido e provocando irritação no epitélio. O tratamento com um mucolítico pode ajudar a remover o muco e aumentar a eficácia do antibiótico. As substâncias mucolíticas mais frequentemente utilizadas são o dimetilsulfóxido (DMSO), querosene e N-acetilcisteína (ACE). Adicionalmente, o DMSO e o querosene são substâncias irritantes para o endométrio que provocam curetagem química através da necrose endometrial.

O DMSO (infusão a 30% (v/v)) está associada ao aumento da taxa de gestação, mas também a melhoria da classificação histopatológica da biópsia uterina. Já a utilização do querosene é controversa e carece de mais estudos. Pensa-se que atua por destruição do epitélio e remoção de secreções nas glândulas quísticas, e, dada a rápida regeneração do epitélio, aumenta as taxas de gestação logo no ciclo éstrico seguinte ao do tratamento. A sua utilização é defendida em éguas cronicamente infetadas com bactérias Gram negativas, fungos ou leveduras. Está recomendado deixar a solução atuar no útero por 5-10 minutos e de seguida realizar-se uma lavagem uterina e aplicação de emoliente. Apesar dos resultados, aparentemente promissores, a aplicação de querosene, se equacionada, deve ser feita de modo extremamente cuidadoso, pois é irritante para a mucosa, pelo que se contactar com a cérvix ou vagina, pode provocar reações exacerbadas nas éguas. Os autores não têm experiência na aplicação deste produto.

A ACE é um agente mucolítico que destrói as ligações entre polímeros da mucina, logo reduz a viscosidade do muco. A sua infusão antes da cobertura/inseminação melhora as taxas de gestação, sendo especulado que a ACE estimula também o transporte de sémen no útero de éguas com secreções mucosas viscosas.

Agentes quelantes, como o EDTA-tris (ácido etilenodiaminotetracético) alteram a permeabilidade da parede celular das bactérias. São especialmente interessantes em infeções com agentes patogénicos que produzem biofilme, como é o caso de *Pseudomonas*, para o qual o seu uso é recomendado (1,2 g NaEDTA + 6,05g Tris em 1 litro de solução). Estas substâncias requerem contacto direto com a parede celular para funcionarem, pelo que, o volume necessário para infusão depende do tamanho do útero. Geralmente recomenda-se entre 250 a 500 ml. Além do referido, têm uma atividade sinérgica quando adicionados a infusões uterinas de antimicrobianos, como penicilina, oxitetraciclina, neomicina, amicacina, miconazol e itraconazol.

Outras infusões (plasma, colostro, lactoferrina) têm sido alvo de diversos estudos, mas, carecem de resultados consistentes para utilização na prática clínica. O plasma rico em plaquetas (PRP) tem ação anti-inflamatória, pois suprime a resposta de proteínas inflamatórias, além de conter péptidos antimicrobianos com efeito bactericida, comprovado em algumas das bactérias que originam endometrites, como *Staphylococcus aureus* e *E. coli*. Alguns estudos demonstraram que a infusão intrauterina de PRP diminui a resposta inflamatória endometrial e aumenta a taxa de gestação. O colostro, fonte de imunoglobulinas, foi também indicado para o tratamento de endometrite infecciosa. No entanto, a sua eficácia é questionável pois, aparentemente, o útero de éguas suscetíveis a endometrite não é deficiente em imunoglobulinas. Por fim, importa referir que ambas as infusões devem ser autólogas para minimizar o risco de incompatibilidade imunológica e de transmissão de agentes infecciosos.

Imunomoduladores

Os tratamentos que modulem ou mesmo suprimam a resposta imune são utilizados para reduzir a inflamação registada após a cobertura/inflamação. A imunomodulação pode ajudar a restaurar a homeostasia, ao reduzir a produção de citocinas pró-inflamatórias, aumentando a taxa de gestação.

A administração de corticosteróides, como a dexametasona e a prednisolona, reduz a resposta inflamatória de éguas suscetíveis a endometrite e é uma prática comum. Está estudado que, após o uso de dexametasona, se verifica uma redução de citocinas pró-inflamatórias e supressão de mediadores de inflamação bem como um aumento nas interleuquinas anti-inflamatórias. No entanto, a utilização repetida pode suprimir a hormona luteinizante e diminuir

a taxa de ovulação. Adicionalmente, como os esteroides bloqueiam as vias de inflamação da cicloxigenase e a 5-lipoxigenase, o que bloqueia a produção de leucotrieno B, um quimiotático dos neutrófilos, pode tornar as éguas mais suscetíveis a infecção bacteriana. Assim, as candidatas à utilização de esteroides devem ser bem selecionadas, pois o uso indevido de corticosteroides em éguas com endometrite bacteriana pode exacerbar a infecção. Ecograficamente, as éguas tratadas com corticosteroides apresentam diminuição do grau de edema uterino e redução do volume do fluido intrauterino, frequentemente com menor ecogenecidade.

O uso de anti-inflamatórios não esteroides (AINE's), como a flunixin meglumina ou a fenilbutazona, em éguas com endometrite, é controverso, pois estes diminuem a produção de prostaglandina e, potencialmente, a contratilidade do miométrio, com impacto na *clearance* uterina. No entanto, a sua combinação com ocitocina provou promover a *clearance* uterina, reduzir a infiltração de neutrófilos e diminuir a expressão endometrial de COX-2 em éguas suscetíveis. A utilização de AINE's seletivos para a COX-2, como o firocoxib, pode ser uma alternativa importante. A utilização de outros moduladores já foi estudada, com o propósito de melhorar as taxas de gestação em éguas com predisposição ao desenvolvimento de endometrite, no entanto, é necessário o desenvolvimento de estudos adicionais. Vários exemplos podem ser dados deste tipo de moduladores nomeadamente o extrato de *Mycobacterium phleil* como tratamento na endometrite causada por *S. zooepidemicus*, o qual produz uma resposta imune humoral com diminuição da expressão de citocinas pró-inflamatórias; o *Propionibacterium acnes* em éguas com endometrite persistente, que ativa uma resposta celular não específica com ativação dos macrófagos e libertação de citocinas; e os antiparasitários, como o levamisol, em séries de 3 ou mais tratamentos e mebendazol (tabela 10).

Tabela 10: Imunomoduladores e dose utilizada

IMUNOMODULADOR	DOSE	OBSERVAÇÕES
Levamisol	2 mg/Kg cada 24 horas por séries de 3 dias com pausa intercalar	Efeito adverso: possibilidade de reação anafilática severa ou cólica
Mebendazol	2mg/kg cada 24 horas por séries de 3 dias com pausa intercalar	Efeitos adversos raros
Propionibacterium acnes	4 mL por 454 kg peso vivo, IV	Administrado nos dias 1, 2 e 7 após diagnóstico
Extrato de Mycobacterium phlei		Administrado endovenoso ou em infusão uterina
Corticosteróides	Prednisolona: 0,1 mg/kg Dexametasona: 50 mg, IV	Dose única de prednisolona concomitante à administração de gonadotrofina coriônica humana (hCG) resultou numa melhoria das taxas de gestação; dexametasona momento da cobrição reduziu a resposta inflamatória e aumentou a taxa de gestação.

Terapia hormonal

As éguas sob influência de estrogénios têm maior facilidade de eliminar infeções uterinas do que éguas sob influência da progesterona. Dada a vantagem do estro sobre o diestro, uma abordagem lógica de tratamento é aumentar o tempo que uma égua está em estro. Numa égua cíclica, isto pode ser alcançado pela administração exógena de PGF_{2α}, 5 a 6 dias após a ovulação, de forma a reduzir a duração do diestro. A administração exógena de estrogénios não está aprovada para uso em equinos na Europa, nem está estudado o seu potencial efeito no tratamento de endometrite. Idealmente, éguas suscetíveis a endometrite, devem ser inseminadas com sémen de elevada fertilidade e apenas uma vez por ciclo, de modo a diminuir o estímulo inflamatório para o endométrio. Desta forma, a utilização de indutores de ovulação é também encorajada, com vista a diminuir o tempo em que o sémen se encontra *in útero*.

VI CONCLUSÃO

A abordagem da égua com endometrite implica em primeiro lugar uma avaliação clínica do animal e dos fatores predisponentes do desenvolvimento de doença. O conhecimento dos vários meios de diagnóstico implica a adequada utilização dos vários métodos de recolha de amostras, bem com a interpretação correta dos resultados obtidos. Apesar de existirem muitas alternativas de tratamento, algumas das abordagens carecem ainda de mais estudos de modo a poderem ser utilizadas em segurança.

VII BIBLIOGRAFIA

- Alvarenga, M., & Segabinazzi, L. (2018). Application of Misoprostol as a Treatment of Unexplained Infertility in Mares. *J. Equine Vet. Sci.* 71, 46-50.
- Amorim, M., Khan, F., Chenier, T., Scholtz, E., & Hayes, M. (2020). Analysis of the uterine flush fluid proteome of healthy mares and mares with endometritis or fibrotic endometrial degeneration. *Reproduction, Fertility and Development*.
- Arlas, T., Wolf, C., Petrucci, B., Estanislau, J., Gregory, R., Jobim, M., & Mattos, R. (2015). Proteomics of endometrial fluid after dexamethasone treatment in mares susceptible to endometritis. *Theriogenology* 84, 617-623.
- Bastos, H., Camozzato, G., Martinez, M., Vital, C., Vidigal, P., Barros, E., . . . Mattos, R. (2018). Early Embryo Development in Mares: Proteomics of Uterine Fluid. *Journal of Equine Veterinary Science* 66, 186-187.
- Bohn, A., Ferris, R., & McCue, P. (2014). Comparison of equine endometrial cytology samples collected with uterine swab, uterine brush, and low-volume lavage from healthy mares. *Vet Clin Pathol* 43/4, 594-600.
- Brinsko, S., Blanchard, T., Varner, D., Schumacher, J., Love, C., Hinrichs, K., & Hartman, D. (2011). *Manual of Equine Reproduction*. Mosby Elsevier.
- Canisso, I., Segabinazzi, L., & Fedorka, C. (2020). Persistent Breeding-Induced Endometritis in Mares—A Multifaceted Challenge: From Clinical Aspects to Immunopathogenesis and Pathobiology. *Int. J. Mol. Sci* 21, doi:10.3390/ijms21041432 .
- Canisso, I., Stewart, J., & Coutinho da Silva, M. (2016). Endometritis: Managing Persistent Post-Breeding Endometritis. *Vet Clin Equine* 32, 465-480.
- Diel de Amorim, M., Gartley, C., Foster, R., Hill, A., Scholtz, E., Hayes, A., & Chenier, T. (2015). Comparison of clinical signs, endometrial culture, endometrial cytology, uterine low volume lavage, and uterine biopsy, and combinations in the diagnosis of Equine Endometritis. *Journal of Equine Science*, doi: 10.1016/j.jevs.2015.10.012.
- Davies Morel, M. C. G. (2015). Equine reproductive physiology breeding and stud management: 4th edition. *Equine Reproductive Physiology Breeding and Stud Management: 4th Edition* (pp. 1–428). CABI International.
- Brinsko, S. P., Blanchard, T. L., Varner, D. D., Schumacher, J., & Love, C. C. (2010). *Manual of equine reproduction*. Elsevier Health Sciences.

- & D. Hartman, Manual of equine reproduction (pp. 73-84). Missouri: Mosby Elsevier.
- Galvão, K., Bicalho, R., & Jeon, S. (2019). Symposium review: The uterine microbiome associated with the development of uterine disease in dairy cows. *J. Dairy Science* 102, 11786-17106.
- Heil, B., Paccamonti, D., & Sones, J. (2019). Role for the mammalian female reproductive tract microbiome in pregnancy outcomes. *Physiol Genomics* 51, 390-399.
- Jones, E. (2017). *Characterization of the equine microbiome during late gestation and the early postpartum period, and at various times during the estrous cycle in mares being bred with raw or extended semen*. Kansas State University: Thesis for Master of Science.
- LeBlanc, M. (2010). Advances in the diagnosis and treatment of chronic infectious and post-mating-induced endometritis in the mare. *Reprod Dom Anim* 45 (Suppl. 2), 21-27; doi: 10.1111/j.1439-0531.2010.01634.x.
- LeBlanc, M. (2010). Advances in the Diagnosis and Treatment of Chronic Infectious and Post-Mating-Induced Endometritis in the Mare. *Reprod Dom Anim* 45 (Suppl.2), 21-27.
- LeBlanc, M., & Causey, R. (2009). Clinical and subclinical endometritis in the mare: both threats to fertility. *Reprod Dom Anim* 44 (Suppl. 3), 10-22; doi: 10.1111/j.1439-0531.2009.01485.x.
- LeBlanc, M., Magsig, J., & Stromberg, A. (2007). Use of a low-volume uterine flush for diagnosing endometritis in chronically infertile mares. *Theriogenology* 68, 403-412.
- McCue, M., & Causey, R. (2009). Clinical and subclinical endometritis in the mare: both threats to fertility. *Repro Dom Anim* 44 (Suppl. 3), 10-22.
- McCue, P. (2014). Ultrasound evaluation of the non-pregnant mare. In J. Dascanio, & P. McCue, *Equine Reproductive Procedures, first edition* (pp. 26-31). John Wiley & Sons.
- McCue, P. (n.d.). Endometrial Biopsy. *Equine Reproduction Laboratory, Colorado State University*.
- Morris, L., McCue, P., & Aurich, C. (2020). Equine endometritis: a review of challenges and new approaches. *Reproduction*, 160(5), 95-110. <https://doi.org/10.1530/REP-19-0478>.
- Nielsen, J., Nielsen, F., & Petersen, M. (2012). Diagnosis of equine endometritis - Microbiology, cytology and histology of endometrial biopsies and the correlation to fertility. *Pferdeheilkunde* 28, 8-13.

Pasolini, M., Del Prete, C., Fabbri, S., & Auletta, L. (2016). Endometritis and Infertility in the Mare - The Challenge in Equine Breeding Industry - A review. *Genital Infections and Infertility*, 285-328.

Sathe, S., Leiken, A., & Plummer, P. (2017). Metagenomic sequencing of the uterine microbial environment during estrus and early pregnancy in mares. *Clinical Theriogenology* 9, 453.

Wolf, C., Maslchitzky, E., Gregory, R., Jobim, M., & Mattos, R. (2012). Effect of corticotherapy on proteomics of endometrial fluid from mares susceptible to persistent postbreeding endometritis. *Theriogenology* 77, 1351-1359.

Woodward, E., & Troedsson, M. (2015). Inflammatory mechanisms of endometritis. *Equine Veterinary Journal* 47, 384-389.

Projeto ALT20-03-0246-FEDER-000055 EQUI MAIS
cofinanciado pelo Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional (FEDER)
através do “Programa Operacional Regional Alentejo 2020”

Cofinanciado por:

