

**UFRRJ**

**INSTITUTO DE VETERINÁRIA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA  
(PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS)**

**TESE**

**Vascularização Uterina Através da Ultrassonografia Color Doppler em  
Éguas com Endometrite Bacteriana Induzida Submetidas a Tratamento**

**Marcus André Ferreira Sá**

**2017**



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

**VASCULARIZAÇÃO UTERINA ATRAVÉS DA ULTRASSONOGRAFIA  
COLOR DOPPLER EM ÉGUAS COM ENDOMETRITE BACTERIANA  
INDUZIDA SUBMETIDAS A TRATAMENTO**

**MARCUS ANDRÉ FERREIRA SÁ**

*Sob a orientação do professor*  
**Júlio César Ferraz Jacob**

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária (Patologia e Ciências Clínicas).

Seropédica  
Agosto de 2017

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S111v Sá, Marcus André Ferreira, 1985-  
Vascularização Uterina Através da Ultrassonografia  
Color Doppler em Éguas com Endometrite Bacteriana  
Induzida Submetidas a Tratamento / Marcus André  
Ferreira Sá. - 2017.  
74 f.: il.

Orientador: Júlio César Ferraz Jacob.  
Tese(Doutorado). -- Universidade Federal Rural do Rio  
de Janeiro, Programa de Pós Graduação em Medicina  
Veterinária (Patologia e Ciências Clínicas), 2017.

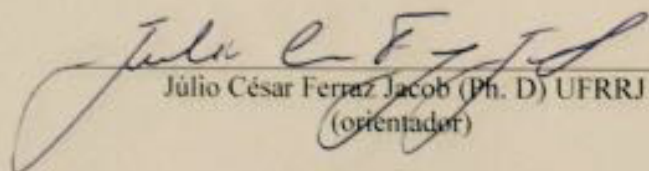
1. Reprodução Equina. 2. Endometrite. 3.  
Ultrassonografia modo Doppler. 4. Exames  
complementares. 5. Tratamento. I. Jacob, Júlio César  
Ferraz , 1945-, orient. II Universidade Federal Rural  
do Rio de Janeiro. Programa de Pós Graduação em  
Medicina Veterinária (Patologia e Ciências Clínicas)  
III. Título.

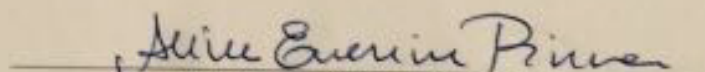
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

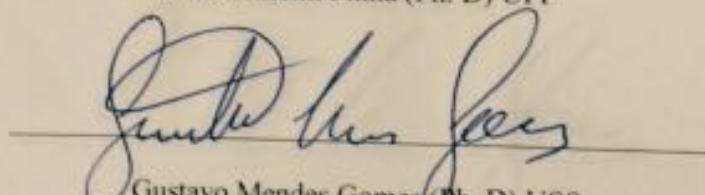
MARCUS ANDRÉ FERREIRA SÁ

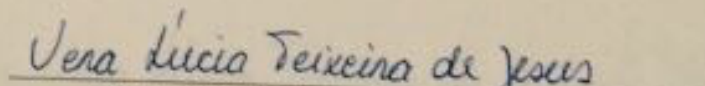
Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciências, no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de Concentração em Ciências Clínicas.

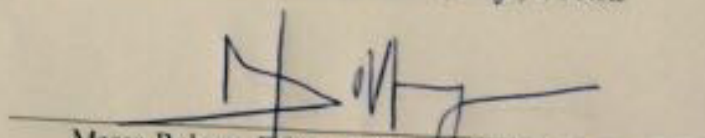
TESE APROVADA EM 23/08/2017

  
Júlio César Ferraz Jacob (Ph. D) UFRRJ  
(orientador)

  
Aline Emerim Pinna (Ph. D) UFF

  
Gustavo Mendes Gomes (Ph. D) USS

  
Vera Lúcia Teixeira de Jesus (Ph. D) UFRRJ

  
Marco Roberto Bourg de Mello (Ph. D) UFRRJ

## **DEDICATÓRIA**

*Dedico esta obra à minha filha, Manuela,  
Que me faz enxergar a vida de outra maneira.*

## **AGRADECIMENTOS**

*Agradecimento à Deus pela minha vida, saúde, força, família e me mostrar o caminho a trilhar.*

*Aos meus pais por todos os ensinamentos, carinho, dedicação e apoio que me deram condições de chegar até aqui. Ao meu irmão que sempre foi um grande companheiro e esteve ao lado por toda vida. Sem eles não teria conseguido.*

*À minha companheira, amada e amiga esposa Mariana Pimenta, que soube ter a paciência e sabedoria necessária para me apoiar nesta jornada, possibilitando que eu chegasse até aqui. Ainda me presenteou durante este percurso com o bem mais precioso que um homem pode ter em sua vida, uma jóia chamada Manuela.*

*Aos amigos que me acompanharam neste longo caminho de Doutorado e aos que por qualquer motivo não puderam estar presentes. Toda forma de apoio foi importante, seja perto ou distante!*

*Ao grande professor e orientador Dr. Júlio Jacob, pelos anos de convívio, aprendizado e pela oportunidade de chegar até aqui.*

*Aos professores da Área de Reprodução Animal, Três, Vera e Marco, verdadeiros exemplos a serem seguidos.*

*A todos os funcionários da Área de Reprodução Animal, em especial Zico, Zezinho e Reneu, que os anos fizeram se tornar grandes amigos.*

## RESUMO

SÁ, Marcus André Ferreira. **Vascularização uterina através da ultrassonografia color doppler em éguas com endometrite bacteriana induzida submetidas a tratamento.** 2017. 63f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária, Patologia e Ciências Clínicas). Instituto de Veterinária. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2017.

Os objetivos do presente estudo foram caracterizar através da ultrassonografia color Doppler a perfusão vascular endometrial de éguas com endometrite bacteriana e submetidas a tratamento fitoterápico. Para tanto, foram utilizadas 20 éguas mestiça e Mangalarga Marchador livres de endometrite. O programa ImageJ 1.46r<sup>®</sup> foi utilizado para avaliação das imagens. Adicionalmente, a perfusão vascular subjetiva do útero foi estimada levando-se em consideração o percentual de sinais Doppler coloridos presentes no mesométrio, miométrio e endométrio, em corte longitudinal do corpo uterino e transversal dos cornos uterinos. Etapa 1. Todas as éguas (n=20) foram submetidas a inoculação intrauterina com cepa de *Escherichia coli* proveniente de útero equino. As sessões de ultrassonografia color Doppler foram realizadas em M0 (momento imediatamente anterior à inoculação intrauterina) e M1 (24 horas após a inoculação intrauterina). Etapa 2. Os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos: grupo experimental 1 (n=10) e grupo experimental 2 (n=10) com solução fitoterápica Fitoclean<sup>®</sup> (Organnact Saúde Animal, Curitiba, Paraná, Brasil). Em ambos os grupos, os exames de cultura uterina, antibiograma, citologia endometrial e ultrassonografia modo B e color Doppler foram realizados nos momentos T1 (imediatamente antes de iniciar o tratamento), T2 (24h após o tratamento) e T3 (48h após o tratamento). Etapa 3. As éguas em que foram identificados agentes patogênicos nas amostras coletadas durante a etapa 2, foram submetidas à antibioticoterapia por infusão intrauterina utilizando Gentamicina. Sete dias após a realização da antibioticoterapia, foi realizado novo exame de ultrassonografia color Doppler. Para análise estatística, foi aplicado o teste de Tukey, teste t de Student e Anova para comparação das médias obtidas nos diferentes períodos e Qui Quadrado para avaliação do efeito do fitoterápico. Etapa 1. Verificou-se que os valores médios de vascularização no momento M1 foram significativamente superiores aos obtidos em M0 para as três partes do útero (P<0,05). Houve crescimento bacteriano em todas as amostras coletadas. Etapa 2. O valor médio de vascularização no momento T1 em ambos os grupos foi significativamente superior (P<0,05) aos obtidos nos momentos 2 e 3. No momento T1, observou-se aumento significativo no segmento 1, enquanto que em T2 observou-se uma redução significativa neste segmento. Etapa 3. De acordo com os resultados obtidos nos exames de cultura e antibiograma realizados após o término da etapa 2, 13 éguas (65%, 13/20) foram submetidas a antibioticoterapia através de infusão intrauterina com Gentamicina. Após este tratamento, a vascularização observada apresentou grande redução em comparação ao momento M1. Diante destes resultados, concluiu-se que nas condições deste estudo foi possível utilizar a ultrassonografia modo Color Doppler como método diagnóstico para a endometrite bacteriana; não foi possível correlacionar resultados obtidos através da ultrassonografia color Doppler com os achados nos exames tradicionais para diagnóstico da endometrite.

**Palavras-chave:** Ultrassonografia Doppler. Endometrite. *Escherichia coli*. Métodos Diagnósticos. Perfusão.

## ABSTRACT

SÁ, Marcus André Ferreira. **Characterization of uterine vascularization using color Doppler in equine endometritis**. 2017. 63f. Thesis (Doctorate in Veterinary Medicine, Pathology and Clinical Sciences). Instituto de Veterinária. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2017.

Objectives of this study were to characterize the endometrial vascular perfusion of mares with bacterial endometritis using color Doppler ultrasonography and submitted to phytotherapeutic treatment. 19 crossbred and Mangalarga Marchador mares without endometritis were used. ImageJ 1.46r<sup>®</sup> was applied to evaluate the images. Additionally, subjective vascular uterine perfusion was estimated analyzing the percentage of color Doppler signals present in the mesometrial, myometrium and endometrium, in longitudinal section of the uterine body and transverse section of the uterine horns. Step 1. The mares (n=20) were submitted to intrauterine inoculation with *Escherichia coli* cepa from the equine uterus. The color Doppler ultrasound sessions were performed in M0 (moment immediately prior to intrauterine inoculation) and M1 (24 hours after intrauterine inoculation). Step 2. The animals were divided into two groups: control group (n=10) and treated group (n=10) using phytotherapeutic solution Fitoclean<sup>®</sup> (Organnact Animal Health, Curitiba, Paraná, Brazil). Both groups, color Doppler ultrasonography was performed at time T1 (immediately before starting treatment), T2 (24h after treatment) and T3 (48h after treatment). Step 3. Mares in which pathogens were identified in the samples collected during stage 2 were submitted to antibiotic therapy by intrauterine infusion using Gentamicin. Seven days after the antibiotic therapy, a new color Doppler ultrasound examination was performed. For statistical analysis, the Tukey test, t Student and Anova test was applied to compare the means obtained in the different periods and Chi Square were applied to evaluation of phytotherapeutic effect. Step 1. It was found that the mean values of vascularization were no moment ( $P<0.05$ ). Bacterial growth was observed in all samples collected. Step 2. The mean value of vascularization at time T1 in both groups was significantly higher ( $P<0.05$ ) than the obtained at moments 2 and 3. At the time T1, we observed a significant increase in portion 1, while T2 showed a significant decreasing in this portion. Step 3. According to the results obtained in the culture and antibiogram examinations performed during the step 2, 13 mares (65%, 13/20) were submitted to antibiotic therapy through intrauterine infusion with Gentamicin. After that treatment, the vascularization observed decreased related to M1. With these results, we can conclude that in these conditions is possible the use of color Doppler ultrasonography as a method for bacterial endometritis; It was not possible to correlate results obtained by color Doppler ultrasonography with the traditional findings for the diagnosis of endometritis.

**Keywords:** Doppler ultrasonography. Endometritis. *Escherichia coli*. Diagnostic methods. Perfusion.



## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1.** Número de pixels e intensidade média obtida em éguas nos momentos M0 e M1. Página 30

**Tabela 2.** Perfusão vascular endometrial subjetiva média obtida em éguas nos momentos M0 e M1. Página 30.

**Tabela 3.** Resultados da cultura, citologia endometrial e ultrassonografia modo B realizados nas éguas 24 horas após a inoculação intrauterina com *Escherichia coli*. Página 31.

**Tabela 4.** Perfusão vascular endometrial subjetiva das quatro éguas do experimento em que não foi possível detectar endometrite nos exames realizados (citologia uterina ou ultrassonografia modo B). Página 33.

**Tabela 5.** Espécies bacterianas isoladas nas amostras endometriais das éguas 24 horas após a inoculação intrauterina com *Escherichia coli*. Página 34.

**Tabela 6.** Área dos pixels e intensidade de cor obtidos das análises das imagens de útero, cornos esquerdo e direito nos momentos A, B e C dos grupos experimentais 1 e 2 através da avaliação utilizando ImageJ 1.46r<sup>®</sup>. Página 36.

**Tabela 7.** Perfusão vascular endometrial média subjetiva de útero, cornos esquerdo e direito nos momentos A, B e C dos Grupos 1 e 2. Página 37.

**Tabela 8.** Resultados da cultura, citologia endometrial e ultrassonografia modo B realizados nos momentos A (imediatamente anterior ao tratamento), B (24h após o tratamento) e C (48h após o tratamento) dos grupos 1 e 2. Página 38.

**Tabela 9.** Comparação da perfusão vascular endometrial média de éguas antes da inoculação (M0), submetidas ao tratamento com Fitoclean<sup>®</sup> (G1C) e após tratamento com Gentamicina (MPA). Página 40.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

**Figura 1:** Vascularização do sistema reprodutivo da égua. Página 3.

**Quadro 1:** Descrição do número de neutrófilos por campo com correspondente inflamação por amostras coletadas por escova citológica/*swab*. Página 13.

**Quadro 2:** Taxa de nascimento de potros de acordo com a biópsia endometrial. Página 16.

**Quadro 3:** Antibióticos comumente usados para o tratamento de endometrite em éguas. Página 18.

**Figura 2.** Representação esquemática dos diferentes segmentos uterinos como foram considerados neste experimento. Página 27.

**Figura 3.** Exame ultrassonográfico modo color Doppler em corte transversal de corno uterino de éguas sem e com endometrite. Exemplos de imagens representativas da avaliação subjetiva da perfusão vascular uterina, em um escore de classificação em porcentagem. Fonte: Arquivo pessoal. Página 28.

## LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS

Arg - L-arginina;

AIEs – anti-inflamatórios esteroides;

AINEs – anti-inflamatórios não esteroides;

AU - artéria uterina;

BFV - volume do fluxo sanguíneo total;

BHI – meio de cultivo de infusão de cérebro e coração

c - velocidade de propagação do som no tecido;

CL - corpo lúteo;

DMSO - dimetil-sulfóxido;

DNA – ácido desoxiribonucleico

D -1 - um dia antes da ovulação;

D -3 – três dias antes da ovulação;

D -4 – quatro dias antes da ovulação;

D0 – primeiro dia da formação de folículo hemorrágico anovulatório ou dia da ovulação;

D2 – dois dias após a ovulação;

E2 – estrógeno;

EDV - diastólica final;

eFSH - Hormônio Folículo Estimulante equinos;

eLH - Hormônio Luteinizante equino;

EPE - Extrato de Pituitária Equina;

EPPC - endometrite persistente pós cobertura

f0 - frequência incidente;

fD - frequência Doppler;

HAF - folículos hemorrágicos anovulatórios;

hCG - Gonadotrofina Coriônica humana;

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> - peróxido de hidrogênio;

IA - inseminação artificial;

IM – intramuscular;

IV – intravenosa;

ISDN - Dinitrato de Isosorbida;

MgSO<sub>4</sub> - sulfato de magnésio;

MPA – momento pós antibioticoterapia;

MN - monta natural;

ON - Óxido nítrico;

OMS - Organização Mundial de Saúde;

P4 – progesterona;

PCR-RT - transcriptase reversa seguida de Reação em Cadeia de Polimerase

IP – Índice de Pulsatilidade

PRL - Plasma Rico em Leucócitos;

PRP - Plasma Rico em Plaquetas;

PSV - velocidade do pico sistólico;

PVU - perfusão vascular uterina;

IR – Índice de resistência;

VMM - velocidade máxima média;

TNF<sub>α</sub> - fator de necrose tumoral alfa;

TE - transferência dos embriões;

UI - unidades internacionais;

VO – via oral;

VOL - volume de fluxo sanguíneo;

θ - ângulo formado entre o feixe ultrassônico e a direção do fluxo;

v - velocidade do fluxo.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	3
2.1 Vascularização do Sistema Reprodutor de Éguas .....	3
2.2 Ultrassonografia Doppler .....	4
2.3 Avaliação Uterina Através da Ultrassonografia Doppler .....	6
2.3.1 Aplicação do Doppler na endometrite equina .....	10
2.4 Endometrite Equina .....	11
2.4.1 Métodos diagnósticos .....	13
2.4.1.1 Citologia endometrial .....	13
2.4.1.2 Cultura uterina e antibiograma .....	14
2.4.1.3 Biópsia endometrial .....	15
2.4.2 Tratamentos .....	16
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	22
3.1 Objetivo Geral .....	22
3.2 Objetivos Específicos .....	22
<b>4 HIPÓTESE</b> .....	23
<b>5 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	24
5.1 Local e Período de Realização.....	24
5.2 Animais.....	24
5.3 Delineamento Experimental .....	24
5.4 Cultura Bacteriana e Antibiograma .....	25
5.5 Citologia Endometrial .....	26
5.6 Ultrassonografia Color Doppler .....	27
5.7 Preparo da Cepa de <i>Escherichia coli</i> e Inoculação Intrauterina.....	28
5.8 Análise Estatística .....	29
<b>6 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	30
<b>7 CONCLUSÕES</b> .....	42
<b>8 REFERÊNCIAS</b> .....	43
<b>9 ANEXOS</b> .....	57





## 1 INTRODUÇÃO

---

A ultrassonografia transretal modo B (em escala de cinza) revolucionou o diagnóstico e monitoramento de eventos reprodutivos, seja patológico ou fisiológico, em equinos, bem como em outras espécies. Atualmente, a ultrassonografia modo Doppler tem sido utilizada para acompanhar e avaliar a vascularização do trato reprodutivo de fêmeas equinas. Trata-se de uma tecnologia emergente na Medicina Veterinária que visa avaliação da perfusão vascular diretamente no local de interesse. Com grande capacidade para aumentar o potencial diagnóstico e preditivo com diversas finalidades, seja a campo ou em pesquisa. Esta técnica fornece informações em tempo real sobre a arquitetura vascular e os aspectos hemodinâmicos dos vasos em diversos órgãos, possibilitando determinar a presença, a direção e o tipo de fluxo sanguíneo (CARVALHO et al., 2008).

Durante a última década, a ultrassonografia Doppler se tornou o método utilizado para avaliação do fluxo sanguíneo do trato reprodutivo de mulheres, sendo agora utilizada para avaliação na Medicina Veterinária. Dessa forma, estudos envolvendo sua aplicação estão sendo realizados visando ampliar o conhecimento fisiológico e em enfermidades do trato reprodutivo equino. A capacidade como ferramenta diagnóstica da Ultrassonografia modo color Doppler ainda não está completamente elucidada, o que requer estudos detalhados para que possa ser considerada como tal.

O útero, por ser o local de desenvolvimento do conceito, necessita de um exame criterioso, especialmente quando se trata de endometrite, o que pode afetar de forma determinante o estabelecimento da gestação. Até o presente momento, os exames complementares mais utilizados para avaliação e detecção de alterações uterinas na espécie equina têm sido o citológico, histológico, ultrassonográfico convencional e cultura endometrial e antibiograma.

A endometrite é a principal causa de queda de fertilidade em éguas e vem sendo estudada visando obter melhores índices reprodutivos em fêmeas que apresentam esta enfermidade. A melhora dos índices de gestação dessas éguas necessita da detecção precoce através do exame ginecológico (palpação retal, ultrassonografia e/ou citologia endometrial) e da oportuna intervenção para solucionar a inflamação endometrial persistente.

Ao longo dos anos, diversos tratamentos já foram descritos visando contornar a endometrite, tais como: lavado uterino, administrações de agentes ecbólicos, antibióticos, infusões intrauterina, imunomoduladores e, mais recentemente, vem sendo testado o Plasma



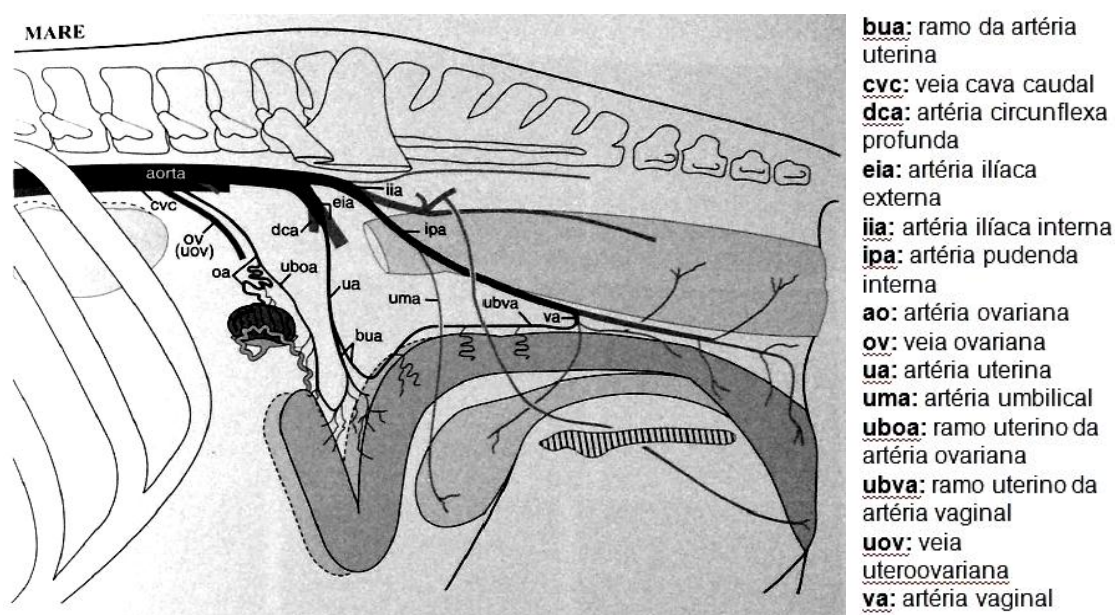
Rico em Plaquetas (PRP), Plasma Rico em Leucócitos (PRL), dentre outros. Os resultados variam de acordo com a etiologia da endometrite, intensidade da infecção e idade da égua em tratamento. Entretanto, devido ao poder cicatrizante que apresentam, alguns fitoterápicos são utilizados a campo empiricamente para tratamento das endometrite equinas.

Através do emprego da ultrassonografia color Doppler, aliados aos demais exames ginecológicos tradicionais, pode ser possível avaliar de forma fidedigna o efeito da endometrite sobre a vascularização do útero equino.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Vascularização do Sistema Reprodutor de Éguas

A irrigação sanguínea do útero ocorre principalmente pela artéria uterina através do ligamento largo. A artéria uterina é um ramo da artéria ilíaca externa, que se originou na artéria aorta abdominal. Além disso, o ramo uterino da artéria ovariana e o ramo uterino da artéria vaginal também contribuem para a vascularização do útero (Figura 1). Estas três artérias apresentam comunicação entre si e sua extensão varia entre os indivíduos (GINTHER, 2007a).



**Figura 1.** Vascularização do sistema reprodutivo da égua. Fonte: Adaptado de Ginther (2007a).

A artéria ovariana se apresenta como um ramo da artéria aorta abdominal, enquanto a artéria vaginal se origina da artéria pudenda interna, um ramo da artéria ilíaca interna. O ramo uterino da artéria ovariana fornece suprimento sanguíneo para as extremidades dos cornos uterinos, enquanto o ramo uterino da artéria vaginal irriga a cérvix e corpo uterino (GINTHER, 2007a).

A artéria uterina, por sua vez, se divide em ramos cranial e caudal. O primeiro é menor e supre a tuba uterina e a porção cranial dos cornos uterinos, sofrendo anastomose com o ramo caudal da artéria uterina e o ramo uterino da artéria ovariana. O ramo caudal supre a porção caudal dos cornos uterinos e forma anastomoses com o ramo uterino da artéria vaginal.

Os ramos cranial e caudal do útero cursam ao longo da borda antimesometrial e originam numerosas ramificações arteriais tortuosas, que percorrem transversalmente ao longo das faces lateral e medial dos cornos uterinos (GINTHER, 2007a).

## **2.2 Ultrassonografia Doppler**

Na medicina humana, a ultrassonografia modo Doppler vem sendo utilizada para monitorar gestação de alto risco, visto que alguns eventos, como a hipertensão arterial materna, as enterocolites fetais, o desenvolvimento intrauterino retardado e a morte perinatal, são correlacionados com aumento da resistência vascular fetal e uteroplacentária (BARBOSA; SILVA, 2012). Em medicina veterinária, foi utilizado em vacas por Acosta et al. (2003) visando avaliar o fluxo sanguíneo em folículos, bem como em equinos (ACOSTA; BEG; GINTHER, 2004). Em ambos os trabalhos, a ultrassonografia Doppler demonstrou evidente diferença na vascularização da parede de folículos ovulatórios em comparação a folículos atresícos. Além disso, essa ferramenta de avaliação é capaz de fornecer não apenas informações atuais da estrutura, bem como é capaz de prever condições futuras, como o potencial de dominância de um folículo ou ainda sua capacidade ovulatória (GINTHER, 2007a).

Esta técnica se baseia no efeito Doppler, caracterizada por alterações nas frequências das ondas emitidas ou refletidas por um objeto em movimento em relação a um observador estático (GINTHER; UTT, 2004). Durante a ultrassonografia, as hemácias são consideradas os corpos refletoras em movimento e o transdutor corresponde ao observador. Deste modo, conforme a velocidade e a direção das hemácias se alteram, as imagens ultrassonográficas apresentam cores e tonalidades diferentes (VERMILLON, 1997). A ultrassonografia Doppler envolve duas modalidades, o Doppler colorido e o espectral, com diferentes avaliações da área de interesse (GINTHER, 2007a).

A ultrassonografia Doppler colorido pode ser utilizada para avaliar a hemodinâmica diretamente do tecido alvo, como endométrio, parede folicular e corpo lúteo (OUSEY et al., 2012; ABDELNABY et al., 2016; LEMES et al., 2015). Cada sinal obtido passa por um processamento isolado que é codificado por cores em relação ao sentido do movimento e da velocidade de cada ponto analisado. Sobre a imagem em modo B é apresentada uma outra imagem, colorida, que representa um mapeamento dos elementos móveis em relação à intensidade e ao sentido do movimento (KAWAKAMA et al., 1993).

No Doppler colorido, a imagem apresenta diferentes colorações que são

caracterizadas como o fluxo em direção ao transdutor (tons de vermelho) e em sentido contrário (tons de azul), não sendo representações de fluxo sanguíneo venoso ou arterial. O Doppler colorido é subdividido em dois modos distintos: Color-flow e Power-flow. O modo Color-flow clássico representa a perfusão vascular da estrutura em duas cores: vermelho e azul, que indicam o sentido das hemácias em relação ao transdutor. O vermelho corresponde ao fluxo sanguíneo que se desloca em direção ao transdutor, enquanto o azul indica afastamento. Tonalidades escuras e claras são velocidades lentas e rápidas, respectivamente (GINTHER e UTT, 2004; GINTHER, 2007a).

O modo Power flow é uma inovação recente do Color flow. Inicialmente, utilizava-se uma escala graduada em uma única cor, o laranja, independente da direção do fluxo sanguíneo. No entanto, equipamentos recentes de ultrassonografia Doppler têm apresentado o modo Power flow também graduado em duas cores, de acordo com o sentido do fluxo. A intensidade da cor neste modo varia de acordo com a potência do sinal (GINTHER; UTT, 2004; GINTHER, 2007a). Este exame apresenta aumento na sensibilidade de três a cinco vezes em relação ao exame convencional, proporcionando assim a avaliação de vasos sanguíneos com diâmetro menor ou fluxo sanguíneo mais fraco, sendo as características de vascularização representadas em imagens coloridas de uma única coloração, independente da direção do fluxo sanguíneo (GINTHER; UTT, 2004).

Em relação aos exames utilizando o Doppler colorido, a vascularização pode ser graduada através da quantificação do número e tamanho dos pontos ou áreas coloridas (avaliação objetiva), bem como pode ser realizada a avaliação por escores (1 a 4, por exemplo, indicando vascularização mínima e máxima; avaliação subjetiva). A grande vantagem deste tipo de avaliação é a estimativa das características vasculares diretamente em uma estrutura. Ou seja, a avaliação pode ser direcionada especificamente a uma área, possibilitando avaliação sistemática do local desejado, em vez de avaliar apenas um foco (por exemplo, apenas um vaso sanguíneo durante o espectral). Além disso, muitas vezes, devido ao movimento de vísceras e/ou do próprio animal, a manutenção do cursor nos exames em modo espectral é prejudicada, tornando sua realização mais difícil e demorada. As principais desvantagens deste tipo de exame são a utilização de imagens selecionadas e não o exame em tempo real (no caso da análise objetiva) ou a subjetividade na atribuição de escore entre avaliadores (análises subjetivas) (GINTHER; UTT, 2004; GINTHER, 2007a).

No modo espectral ou pulsado, as informações obtidas a partir do fluxo sanguíneo

em função do tempo são transformadas em um gráfico, denominado espectro, onde o eixo horizontal representa o tempo e o eixo vertical a frequência de deslocamento Doppler. Neste gráfico, a linha de base horizontal representa o fluxo zero, o fluxo em direção ao transdutor é representado acima da linha de base e abaixo desta linha é demonstrado o fluxo em direção oposta (SZATMÁRI et al., 2001; CARVALHO et al., 2008). O modo espectral fornece valores exatos de velocidades do fluxo sanguíneo e índices Doppler teciduais (GINTHER; MATTHEW, 2004).

O modo espectral analisa quantitativamente o fluxo sanguíneo de um vaso específico por meio da utilização de um cursor (gate) centralizado no lúmen da artéria escolhida, em uma imagem modo B ou Doppler colorido. As alterações de frequência e amplitude são exibidas no gráfico, na forma de ondas, representando cada uma um ciclo cardíaco. É neste modo que são exibidos os valores das velocidades no pico sistólico (VPS), diastólica final (DF) e velocidade máxima média (VMM), ao longo de um ciclo cardíaco, além dos índices Doppler de resistência (IR) e pulsatilidade (IP). Estes últimos são frequentemente utilizados por expressarem uma relação negativa com a perfusão vascular do tecido ou órgão suprido pela artéria avaliada (GINTHER, 2007a).

A adequada mensuração das velocidades de fluxo sanguíneo é dependente da correta angulação entre o transdutor e o respectivo vaso (ângulo de insonância). Alterações no ângulo de insonância podem ter efeitos drásticos sobre os valores absolutos das velocidades de fluxo sanguíneo de um vaso (GINTHER, 2007a). Entretanto, as artérias presentes no mesométrio, ovários e útero apresentam grande tortuosidade, fazendo com que a determinação deste ângulo para estes vasos seja praticamente impossível. Para contornar esta dificuldade, são utilizados para análise somente os índices de resistência e pulsatilidade (RI e PI), que não sofrem interferência do ângulo Doppler. Sendo assim, são indicados para a avaliação da hemodinâmica do útero e vasos anexos (SILVA et al., 2005; FERREIRA et al., 2010). IR e IP arterial apresentam correlação negativa com a perfusão vascular do tecido irrigado pelo mesmo, ou seja, quanto menor IR e IP maior será a perfusão vascular no tecido suprido por aquele vaso (GINTHER, 2007a).

### **2.3 Avaliação Uterina Através da Ultrassonografia Doppler**

Segundo Ferreira et al. (2008), o modo Power flow permite a avaliação de vasos de pequeno calibre e tortuosos, numerosos no trato reprodutivo de grandes animais. Já o modo

espectral é considerado inadequado devido aos sinais Doppler no endométrio (SILVA et al., 2005). Dessa forma, a obtenção de índices de fluxo sanguíneo e de velocidades arterial do mesométrio têm sido utilizados como um método indireto na avaliação de perfusão sanguínea e velocidades arterial do mesométrio (SILVA et al., 2005; GINTHER, 2007a; FERREIRA et al., 2008).

Ao longo do ciclo estral, o útero sofre alterações fisiológicas reguladas pelos hormônios esteroidais, estrógeno (E2) e progesterona (P4), e por complexas interações entre fatores de crescimento locais secretados pelo útero. As alterações decorrentes do hormônio predominante em cada fase do ciclo podem ser capazes de modificar a hemodinâmica do trato reprodutivo. Entretanto, poucos estudos foram conduzidos até o momento visando caracterizar este fluxo sanguíneo na égua durante todo o ciclo estral. Canesin (2013) desenvolveu estudo utilizando 12 éguas não gestantes, acompanhadas diariamente durante o período interovulatório. Dentre outros objetivos propostos pelo autor, pretendeu-se correlacionar as concentrações plasmáticas dos hormônios esteroidais nesta fase à perfusão vascular uterina (PVU), índice de pulsatilidade (PI) e índice de resistência (RI) no endométrio, miométrio e mesométrio. Durante o diestro, o PI apresentou correlações lineares com a PVU ( $p < 0,05$ ), o RI apresentou tendência a correlação linear ( $p = 0,06$ ) com o PI e com a PVU, enquanto o edema uterino apresentou correlação linear com os níveis plasmáticos de E2 e apenas tendência à correlação linear com as concentrações plasmáticas de P4. Com a queda abrupta nas concentrações plasmáticas de P4 no momento da luteólise, notou-se um aumento na PVU. Durante o estro, o autor relatou não haver correlação dos índices Doppler com a PVU. A vasodilatação característica durante o estro influenciou o padrão vascular, gerando uma diferença deste entre as duas fases do ciclo estral. Desta forma, houve dificuldade em manter no estro o mesmo padrão de avaliação da PVU utilizado no diestro, prejudicando a avaliação subjetiva da PVU no estro. A partir destas considerações, Canesin (2013) concluiu que o ovário em que o corpo lúteo e o folículo pré-ovulatório estão localizados não interfere na perfusão vascular dos cornos uterinos de éguas não gestantes. A avaliação subjetiva da perfusão vascular do útero, por meio da análise de vasos endometriais, miometriais e mesometriais é capaz de prever com acurácia a resistência vascular dos mesmos e, conseqüentemente, a perfusão vascular uterina durante o diestro. Ao passo que, no estro, uma padronização desta técnica ainda se faz necessária.

A pobre perfusão sanguínea do trato reprodutivo vem sendo associada à

subfertilidade ou infertilidade em éguas, podendo causar deficiências em sinalização hormonal, contratilidade uterina, placentação e interação materno-fetal (LEBLANC et al., 2009; OUSEY et al., 2012). Em mulheres, demonstrou-se que o baixo fluxo sanguíneo nas artérias uterina e ovariana durante a fase luteal está associada a infertilidade (RAZIK et al., 2015). Estudos visando verificar a influência da perfusão uterina em programas humanos de fertilização *in vitro* e ICSI (Injeção Intracitoplasmática de Espermatozoides) observaram que baixos valores de PI e RI antes ou até cinco dias após a transferência dos embriões (TE) podem prever a gestação (CHIEN et al., 2004; TÜRKÇAPAR et al., 2010).

Visando contornar a baixa perfusão sanguínea em órgãos do trato reprodutivo, alguns anticoagulantes e vasodilatadores tem sido utilizados em mulheres. Em Medicina Veterinária, Zoller et al. (2016) utilizaram diferentes doses (30mg, 60mg e placebo) de Dinitrato de Isosorbida (ISDN) em éguas gestantes e cíclicas. ISDN possui ação semelhante ao Óxido Nítrico (ON), potente relaxante da musculatura que compõe o endotélio vascular. A ultrassonografia color Doppler foi utilizada para determinação de PI e RI. A média da combinação de PI e RI das artérias uterinas e ovarianas foram menores nas éguas em que se administrou 30 mg ou 60 mg de ISDN em comparação ao grupo em que se utilizou o placebo. A resistência na artéria ovariana também foi menor em éguas gestantes tratadas com ISDN. ISDN aumentou a perfusão uterina e do ovário ipsilateral ao CL em éguas cíclicas. Em éguas gestantes, 60 mg ISDN aumentou o fluxo sanguíneo ovariano somente.

Cistos endometriais tem sido correlacionados à disfunção vascular local em éguas, caracterizando-se como enfermidade uterina de alta incidência na espécie e importância clínica (STANTON et al., 2004; YANG; CHO, 2007). Schoon et al. (1999) sugeriram que o fluxo sanguíneo uterino pode contribuir para a formação dos cistos como resultados da inadequada drenagem devido ao pobre retorno venoso e angiogênese de arteríolas. Posteriormente, foi comprovado que éguas com cistos endometriais apresentam reduzida perfusão vascular uterina e uma correlação positiva entre o tamanho do cisto e a disfunção na hemodinâmica uterina (FERREIRA et al., 2008).

Processo degenerativo uterino, caracterizado pela intensificação das disfunções vasculares e aumento na severidade de fibrose endometrial e periglandular, provavelmente se deve a grande distensão uterina ao longo da gestação e regressão pós-parto. Entretanto, de acordo com Ferreira et al. (2008), éguas nulíparas apresentam um aumento progressivo na incidência de cistos uterinos com o avanço da idade. Os cistos endometriais se localizam

principalmente na base dos cornos uterinos, o que possivelmente compromete o contato entre embrião e endométrio após o cessar da mobilidade embrionária e, posteriormente, o adequado desenvolvimento do concepto (FERREIRA, 2012).

A Gonadotrofina Coriônica humana (hCG) pode influenciar as condições uterinas. Alguns estudos mostraram que o hCG apresentou efeito sobre a vascularização uterina em outras espécies: suínos (ZIECIK et al., 1986), ratas (HERMSTEINER et al., 1999) e mulheres (JAUNIAUX et al., 1992). Devido ao uso rotineiro na espécie equina como agente indutor de ovulação e influência sobre as características uterinas de éguas receptoras de embrião no dia da transferência (FLEURY et al., 2007), postulou-se que a vascularização uterina também pudesse ser influenciada pelo uso do hCG. Entretanto, não houve efeito sobre a vascularização uterina (ALONSO et al., 2014), bem como sobre os índices da artéria uterina (YILMAZ et al., 2014).

Mudanças na hemodinâmica do trato reprodutivo durante a gestação inicial já foram descritas tanto em humanos como em equinos. Em humanos, a receptividade do endométrio, a implantação e o desenvolvimento do embrião são dependentes da adequada irrigação uterina (CHIEN et al., 2004). Em éguas, para comparar a vascularização dos cornos uterinos direito e esquerdo de animais cíclicos e em gestações iniciais, Bollwein et al. (2003) observaram que nos dias 11 e 15 a 29 de gestação valores médios da velocidade do fluxo sanguíneo foram maior e RI menor em ambos os cornos uterinos das éguas gestantes em comparação das éguas cíclicas. Sendo assim, os autores afirmaram haver aumento no fluxo sanguíneo das artérias e que a redução do RI representou resistência reduzida ao fluxo sanguíneo na vascularização distal ao ponto de acesso durante a segunda semana de gestação em comparação às éguas cíclicas. Posteriormente, Bollwein et al. (2004) investigaram o fluxo sanguíneo em ambas as artérias uterinas (ipsilateral e contralateral ao concepto) a cada quatro semanas desde a segunda semana até o momento do parto. Foi observada regressão altamente significativa ( $P < 0,0001$ ) nas médias de RI de acordo com a semana de gestação, chegando a apresentar valores inferiores à metade dos registrados inicialmente ( $0:89 \pm 0:01$  a  $0:39 \pm 0:03$ ). O volume de fluxo sanguíneo (VOL) nos cornos uterinos ipsi e contralateral aumentou significativamente ( $P < 0,0001$ ) de acordo com a semana a partir da metade da gestação, de  $69 \pm 37$  a  $27.467 \pm 8851$  ml/min. Os autores relataram ser adequado o uso da técnica de ultrassonografia Doppler para avaliação da perfusão uterina durante a gestação.

Entretanto, nos estudos de Bollwein et al. (2003; 2004) não foi determinada se a



fixação embrionária ou a mudança na localização do conceito ocorreram em associação a alterações transitórias da perfusão vascular uterina. Silva et al. (2005) conduziram estudo que demonstraram que as alterações transitórias na perfusão vascular acompanham a mobilidade e a fixação da vesícula embrionária. Houve aumento gradual no volume do fluxo sanguíneo em ambos os cornos uterinos durante a fase de mobilidade embrionária e maior velocidade no fluxo sanguíneo no corno uterino de fixação do conceito em relação ao lado oposto, a partir do dia da fixação embrionária. Além disso, os autores verificaram nas éguas gestantes que o corno uterino que continha o embrião apresentou maior vascularização entre os dias 10 e 12, sendo maior também do que no corno uterino contralateral nos dias 12 a 15.

A degeneração do endométrio equino decorrente da idade avançada pode contribuir para a má perfusão uterina, levando ao desenvolvimento placentário comprometido, crescimento fetal retardado e potros de éguas idosas apresentando menor peso ao nascimento em comparação ao de éguas jovens (WILSHER; ALLEN, 2003). Baseando-se nesse conhecimento prévio, Ousey et al. (2012) desenvolveram experimento em que o fluxo sanguíneo da artéria uterina (AU) e outros índices Doppler (volume do fluxo sanguíneo total – BFV -, velocidade do pico sistólico – PSV - e índice de resistência) foram utilizados durante a gestação de éguas Puro Sangue para comparar o desenvolvimento placentário e fetal em éguas jovens e idosas. Não foi encontrada diferença nos índices avaliados. Éguas jovens e idosas apresentaram alterações hemodinâmicas de alta resistência transitória, baixo fluxo sanguíneo com baixa resistência, sistema de alto fluxo de acordo com o progresso da gestação e o momento de tais alterações associadas à angiogênese placentária e crescimento fetal exponencial durante o início e o final da gestação, respectivamente. Os autores afirmaram que a semelhança nos índices Doppler entre os grupos de éguas idosas e jovens reflete ausência de alterações patológicas severas na vascularização endometrial e tecido glandular das éguas idosas.

### *2.3.1 Aplicação do Doppler na endometrite equina*

A resposta uterina pós-cobertura leva ao estabelecimento de uma endometrite transitória que tem como objetivo eliminar do trato reprodutivo feminino o sêmen excedente, debris celulares e possíveis agentes contaminantes (TROEDSSON, 1999). Durante três ciclos estrais, Bollwein; Sowade; Stolla (2003b) utilizaram o fluxo sanguíneo uterino (através da velocidade máxima média - VMM) para avaliar o efeito da infusão de diluidor de sêmen,

plasma seminal ou sêmen. Entretanto, a infusão com diluidor não apresentou efeito no fluxo sanguíneo uterino. Após uma hora de infusão do plasma seminal ou sêmen houve aumento dos valores de VMM em ambas as artérias uterinas. Os autores concluíram que as alterações na perfusão endometrial após a infusão intrauterina podem ser associada à inflamação e componentes vasodilatadores presentes no plasma seminal.

Em equinos, tradicionalmente, o procedimento de inseminação artificial (IA) ocorre através da deposição do sêmen no corpo do útero. Entretanto, pode ser realizada no ápice do corno uterino visando o uso de dose inseminante reduzida. Araújo (2014) avaliou a resposta inflamatória uterina frente aos diferentes locais de deposição do sêmen (corpo do útero e ápice do corno uterino). A avaliação ultrassonográfica do útero foi realizada através do modo Doppler espectral (PI e RI) e do modo Doppler colorido (subjetivamente, com escores de 1 a 4). Os valores de RI e PI identificados pós IA foram similares nas artérias mesometriais ipsilaterais à ovulação ( $0,756 \pm 0,574$  e  $1,401 \pm 0,449$ , respectivamente) quando comparados às artérias mesometriais contralaterais à ovulação ( $0,761 \pm 0,522$  e  $1,455 \pm 0,396$ , respectivamente). Os valores de RI e PI também foram similares nas artérias uterinas ipsilaterais à ovulação ( $0,871 \pm 0,575$  e  $2,268 \pm 0,417$ , respectivamente) quando comparados às artérias uterinas contralaterais à ovulação ( $0,865 \pm 0,522$  e  $2,279 \pm 0,428$ , respectivamente). Somente foi observado aumento de RI e PI nas artérias uterinas 24 horas após a inseminação. Os escores de vascularização dos cornos uterinos foram semelhantes entre os grupos (corpo uterino e ápice do corno uterino). O autor concluiu que houve redução da vascularização uterina 24 horas após o momento da IA, independente da técnica utilizada.

Inicialmente, estudo com uso da ultrassonografia Doppler como método complementar para diagnóstico da endometrite foi desenvolvido por Pereira et al. (2014). Os autores afirmaram que foi possível observar que todas as éguas apresentaram aumento da vascularização, refletido pelo aumento no número de pixels coloridos observados no tecido uterino, indicando aumento da irrigação sanguínea. Todas as sete éguas avaliadas apresentaram valores alterados dos índices PI e RI. Ou seja, detectou-se aumento da velocidade e do fluxo sanguíneo, e, conseqüentemente, diminuição da resistência da parede vascular. Os autores relataram que o modo Doppler foi uma ferramenta válida para o diagnóstico complementar da endometrite bacteriana, pois permitiu avaliação mais precisa da condição da perfusão vascular do endométrio e foi capaz de confirmar a presença da inflamação pela observação das alterações vasculares.

Não foi possível localizar na literatura atual trabalhos que utilizem a ultrassonografia modo Doppler para avaliação do efeito do tratamento às endometrites.

## **2.4 Endometrite Equina**

As infecções uterinas são reconhecidas como as maiores causas de redução da fertilidade em éguas. A endometrite equina é tema recorrente em grande parte das pesquisas como a causa mais frequente de subfertilidade, seja naquelas que apresentam ciclo estral normal, mas não concebem, ou que apresentam ciclo estral normal e concebem, mas depois sofrem a morte embrionária precoce (PASOLINI et al., 2016).

A endometrite transitória pós-cobertura é uma resposta inflamatória local necessária para remover o excesso de espermatozoides e bactérias introduzidos no útero (TROEDSSON, 2006). Em éguas saudáveis, a endometrite é eliminada em 36 a 48 horas, deixando o útero livre de inflamação (LEBLANC, 2003). Não há qualquer alteração hematológica nos parâmetros inflamatórios, limitando-se a uma inflamação local (TUPPITS et al., 2014).

Éguas que apresentam incapacidade em promover a limpeza uterina e remoção de subprodutos de inseminação ou parto podem desenvolver endometrite. As perdas podem ser percebidas quando há falha na concepção, abortos, desenvolvimento de placentite ou metrite pós parto. Diversos fatores da égua e dos microrganismos contribuem para a patogênese da endometrite. Idade, conformação perineal, limpeza uterina e competência cervical podem diferenciar os indivíduos. Animais susceptíveis à endometrite, incapazes de limpar subprodutos inflamatórios, detritos pós parto ou do acasalamento são denominadas “suscetíveis”. Em contraste, “resistentes” são aquelas que realizam eliminação rápida de contaminantes do útero e, conseqüentemente, não são propensas à infecção uterina. A endometrite também pode ser influenciada pelo patógeno agressor e pela resposta imunológica subsequente a ele (LEBLANC; CAUSEY, 2009; LEBLANC, 2010).

A endometrite pode ser de difícil identificação pois seus sinais clínicos, ultrassonografia e achados laboratoriais podem variar bastante entre as enfermidades uterinas. Alguns microrganismos estão associados com o influxo de neutrófilos e fluido no lúmen uterino enquanto outros estão associados com grande quantidade de debris celulares em amostras citológicas. Identificar a causa pode exigir mais do que um swab endometrial. A endometrite na égua pode ser dividida em infecciosa aguda, infecciosa crônica (endometrose) ou persistente pós-cobertura (LEBLANC, 2010).

### 2.4.1 Métodos diagnósticos

Historicamente, o diagnóstico de problemas de infertilidade em éguas através de amostras uterinas foi inicialmente descrito há quase 100 anos na Alemanha e Kentucky (USA) (SCHIEBEL, 1920; DIMOCKS e SNYDER, 1923).

#### 2.4.1.1 CITOLOGIA UTERINA

O exame citológico do útero deve ser sempre realizado em conjunto a cultura uterina. Segundo LeBlanc (2010), cultura e citologia são técnicas comuns para o diagnóstico de endometrite através da detecção de patógenos uterinos e células inflamatórias (neutrófilos), respectivamente. Às vezes, éguas podem ter resultado positivo na citologia com cultura uterina negativa e vice versa. Patógenos que estão associados com fluido uterino provavelmente têm mais neutrófilos na citologia enquanto patógenos não associados com fluido uterino tendem a ser negativos para neutrófilos na citologia. Esses resultados indicam que nem todos os patógenos induzem neutrofilia aguda e sustenta o achado que o fluido uterino indica uma inflamação aguda e não necessariamente uma infecção bacteriana.

Esta avaliação citológica envolve a coleta e a interpretação das células do endométrio e do lúmen uterino. É um método rápido e barato para detectar a presença da endometrite equina (DASCANIO e FERRIS, 2014) (quadro 1).

**Quadro 1.** Descrição do número de neutrófilos por campo com correspondente inflamação por amostras coletadas por escova citológica/swab.

<b>Número de neutrófilos por campo</b>	<b>Classificação</b>
<i>0 a raro</i>	Normal
<i>1 – 2</i>	Inflamação leve
<i>3 – 5</i>	Inflamação moderada
<i>&gt; 5</i>	Inflamação severa

Fonte: Adaptado de Dascanio e Ferris (2014).

Para a precisa interpretação das amostras citológicas é necessário elevado número de células bem preservadas de representativa superfície endometrial (COCCHIA et al., 2012). A citologia uterina pode ser realizada utilizando um “swab” de algodão, escova citológica, lavado uterino com baixo volume ou através da recuperação de fluido intrauterino usando uma pipeta de inseminação artificial (CANISSO; STEWART; COUTINHO DA SILVA, 2016). A colheita de amostras celulares utilizando a escova citológica combinada a

bacteriologia reduziu a incidência de resultados falso negativo em estudo desenvolvido por Overbeck; Witte; Heuwieser (2011). A escova citológica proporciona amostras com celularidade de melhor qualidade e mínimos artefatos de coleta comparado a amostras coletadas utilizando *swab*, bem como apresentou maior sensibilidade para identificar inflamação uterina (DEFONTIS; VAILLANCOURT; GRAND, 2011; OVERBECK; WITTE; HEUWIESER, 2011; BOHN; FERRIS; MCCUE, 2014). Sendo assim, a escova se torna a técnica preferida em relação ao “swab” de algodão para diagnósticos rotineiros de endometrite (CANISSO et al., 2016).

A avaliação da citologia endometrial revelou que resultados  $\geq 1\%$  de células polimorfonucleares por campo e/ou cultura de bactéria isolada foi associada a reduzida taxa de potros nascidos vivos. Estes resultados apresentaram alta especificidade (0,94), o que significa que éguas com diagnóstico negativo são muito propensas a produzir potros vivos; mas baixa sensibilidade (0,08), o que representa que a égua com diagnóstico positivo pode ainda produzir cria viva, mas com menor probabilidade que éguas sem sinal de endometrite (MOREL; LAWLOR; NASH, 2013).

Existem situações em que a citologia endometrial pode apresentar-se sem células inflamatórias e ainda assim a infecção estar presente. Incluem-se infecções isoladas, profundamente localizadas ou em início de curso. Na presença de *Escherichia coli* é mais comum apresentar citologia normal do que na presença de *Streptococcus equi* subespécie *zoopedidemics* (DASCANIO e FERRIS, 2014).

#### 2.4.1.2. CULTURA UTERINA E ANTIBIOGRAMA

A cultura bacteriana pode fornecer informações sobre o diagnóstico de endometrite infecciosa ou não, como o crescimento bacteriano associado a reduzida taxa de gestação (RIDDLE; LEBLANC; STROMBERG, 2007; MOREL; LAWLOR; NASH, 2013). Entretanto, resultados falso positivo e falso negativo podem ser oriundos de coletas inadequadas (CANISSO et al., 2016).

Um dos métodos mais utilizados para coleta é o *swab* protegido, de baixo custo, seguro e de fácil utilização. O lavado uterino representa uma alternativa para este tipo de coleta com sensibilidade e especificidade estimada em 0,71 e 0,86, respectivamente (LEBLANC; MAGSIG; STROMBERG, 2007), apesar de pouco utilizado na rotina clínica. Christoffersen et al. (2015) descreveram a utilização da técnica com lavado uterino, descrevendo a sensibilidade (0,75) e especificidade (0,72) semelhantes.

O lavado uterino de baixo volume pode ser utilizado em “éguas problemas” visando obter amostra mais representativa do lúmen uterino (LEBLANC; MAGSIG; STROMBERG, 2007). Entretanto, é frequente elevado número de artefatos celulares (como lesão ou ruptura celular) associados ao processo de centrifugação em comparação as amostras obtidas utilizando *swab* uterino ou escova citológica (FERRIS, 2016).

Segundo Ferris (2016), as bactérias mais comuns cultivadas do útero equino e conhecidas por sua patogenicidade são: *Streptococcus b-hemolytic*, *Streptococcus Equi subspecies zooepidemicus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens* e *Klebsiella pneumoniae*. Segundo o mesmo autor, algumas apresentam patogenicidade questionável, como *Bordetella bronchiseptica*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus* e outras espécies de *Serratia sp*, *Corynebacterium sp*, *Enterobacter sp*, *Bacillus sp*, *Pasteurella sp*, entre outras.

O teste de sensibilidade ao antibiótico pode ser realizado facilmente através da seleção simples de colônia através do método Kirby-Bauer, que utiliza Ágar Mueller Hinton e aplicação do antibiótico diretamente sobre a superfície do meio de cultura. Após 18 a 24 horas de cultivo, a zona de inibição bacteriana pode ser medida e a sensibilidade ou resistência para cada antibiótico. Este método permite ser utilizado na prática clínica com os antibióticos mais comuns de sua rotina (FERRIS, 2016).

#### 2.5.1.3. BIÓPSIA ENDOMETRIAL

Técnica utilizada para avaliação da condição uterina, detecção de doenças uterinas e como indicador da capacidade da égua de conduzir uma gestação a termo. O material coletado pode ser usado para cultura microbiológica, avaliação citológica e detecção de DNA microbiano usando a técnica de transcriptase reversa seguida de Reação em Cadeia de Polimerase (PCR-RT) (MCCUE, 2014).

Com os “dentes” na posição fechada, a pinça de biópsia é passada manualmente através do vestíbulo, vagina e cérvix até o interior do lúmen uterino. Neste momento, a mão é removida do trato reprodutivo e posicionada pelo reto no sítio onde será coletado o material. O endométrio é pressionado firmemente entre os “dentes” da pinça, fechado e o tecido é excisado e removido. O tecido deve ser imediatamente imerso em solução de Bouin (FERRIS, 2016).

A presença de células polimorfonucleares no epitélio luminal e no estrato compacto do endométrio durante a avaliação histológica são indicativos de inflação/ infecção (CANISSO et al., 2016). Kenney e Doig (1986) estabeleceram sistema de escore na qual as éguas foram classificadas em quatro categorias de acordo com as alterações observadas (agudas a crônicas) na histopatologia do endométrio (quadro 2).

**Quadro 2.** Taxa de nascimento de potros de acordo com a biópsia endometrial. (Continua)

<b>Categoria</b>	<b>Grau de alteração endometrial</b>	<b>Taxa de nascimento esperada (%)</b>
<i>I</i>	Ausente	80 – 90
<i>IIa</i>	Leve	50 – 80
<i>IIb</i>	Moderada	10 – 50
<i>III</i>	Severa	< 10

Fonte: Adaptado de Kenney e Doig<sup>1</sup> (1986 *apud* MCCUE, 2014).

Utilizando este sistema de classificação, pode-se prever a capacidade da égua de conduzir a gestação à termo, mas não determina suas chances de se tornar gestante (WAELCHI, 1990; NIELSEN; NIELSEN; PETERSEN, 2012).

Cultura de biópsia endometrial tem resultado no aumento da sensibilidade (0,82) comparado com o *swab* protegido (0,34). No caso de cultura endometrial positiva, observou-se menor incidência de citologia endometrial negativa oriunda de biópsia (3%) do que *swab* protegido (26%) (NIELSEN et al., 2010). Esses dados sugerem que a bactéria pode estar presente em região profunda nas glândulas do endométrio e não na superfície do endométrio (FERRIS, 2016).

### **2.5.2 Tratamentos**

A endometrite é de difícil tratamento pelo fato de ser uma doença multifatorial, de inúmeras variáveis associadas com cada égua afetada, não devendo ser tratada com protocolos padronizados (HURTGEN, 2006). Sendo assim, são exemplos de tratamentos preconizados para evitar ou contornar a endometrite: correção cirúrgica de defeitos anatômicos como conformação perineal e vulvar anormais, lacerações cervicais e reto vestibulares; terapias pós cobertura ou inseminação artificial para proporcionar um ambiente uterino favorável ao desenvolvimento da prenhez; lavagens uterinas; administração de drogas ecbólicas;

<sup>1</sup> KENNEY, R.M.; DOIG, P.A. Equine endometrial biopsy. Current therapy in theriogenology. Philadelphia: WB Saunders; p. 723–729, 1986.

imunomoduladores, inibidores de óxido nítrico, entre outros (CHRISTOFFERSEN et al., 2012b; CANISSO et al., 2016; SCOGGIN et al., 2016; KHAN et al., 2017).

Para uma terapia bem sucedida, deve-se realizar a correção dos defeitos anatômicos através de cirurgia e melhorar a capacidade física de drenagem do útero após inseminação com conseqüente redução da resposta inflamatória e inibição do crescimento bacteriano (LEBLANC, 2010). O ideal é a realização de somente uma cobertura, o que pode ser obtido através de adequado controle reprodutivo e utilização de agentes indutores de ovulação. Embora o espermatozoide seja o principal causador da inflamação pós-cobertura, o controle e higiene da região perineal da égua é fundamental, seja previamente a monta natural (MN) ou da inseminação artificial (IA). A IA, quando possível, pode favorecer éguas susceptíveis. Em éguas vazias do ano anterior, grupo no qual se encontra a maioria das éguas susceptíveis, e em éguas no cio do potro, grupo com predisposição à endometrite persistente pós cobertura (EPPC), a utilização da inseminação artificial resultou em taxas superiores de prenhez em comparação àquela obtida com a monta natural (MALSCHITZKY et al., 2007).

A ocitocina é responsável pela liberação de prostaglandina ( $PGF_{2\alpha}$ ), lise do CL, além de apresentar efeito ecbólico (SCOGGIN, 2016). É sintetizada no núcleo supraóptico do hipotálamo e armazenadas nos terminais nervosos próximos dos leitos capilares na neuro-hipófise até a sua liberação para a corrente circulatória (MADELLA-OLIVEIRA; QUIRINO; PACHECO, 2014). Administrada frequentemente para promover contrações miométriais e a limpeza do fluido e debris uterinos. Entretanto, a administração intravenosa (IV) de 30 unidades internacionais (UI) reduziu a contração uterina em comparação a doses menores de 5 a 10 UI (CAMPBELL; ENGLAND, 2002). A ocitocina age na contração uterina por se ligar a receptores miométriais, que variam em número de acordo com a fase estral, onde a maior concentração é na fase estrogênica e menor no período pós-ovulatório (GUTJAHR et al., 2000; VERONESI et al., 2006). O uso de ocitocina no dia da ovulação e no dia posterior não afeta na formação do CL, na produção de progesterona e, portanto, na taxa de prenhez (BRENDENMUEHL, 2002).

O uso de  $PGF_{2\alpha}$  exógena em éguas com endometrite leva a limpeza física do útero através de contrações miométriais visando eliminar os fluídos inflamatórios (VERONESI et al., 2006). Entretanto, seu uso após a ovulação pode ser capaz de interferir na formação do corpo lúteo e na secreção de progesterona. Possui uma vantagem em relação a ocitocina: sua



atividade miometrial é de aproximadamente cinco horas enquanto a ocitocina apresenta tempo médio de ação de 45 minutos (BRENDENMUEHL, 2002; LEBLANC, 2003).

Carbetocina, análogo de longa ação da Ocitocina, apresenta-se no manejo reprodutivo de éguas como uma potencial alternativa mais eficiente que a Ocitocina ou Cloprostenol (STECKLER et al., 2012). Entretanto, seu uso na prática clínica ainda é limitado e são necessários mais dados que possibilitem fornecer recomendações específicas a respeito do fármaco (CANISSO et al., 2016). A eletro-acupuntura também tem sido usada clinicamente para aumentar a contratilidade uterina em éguas com atraso na limpeza uterina (LIU; TROEDSSON, 2008).

Agentes antibióticos tem sido usados durante décadas como tratamento para endometrite em éguas (quadro 3).

**Quadro 3.** Antibióticos comumente usados para o tratamento de endometrite em éguas.

<b>Antimicrobiano</b>	<b>Dose</b>	<b>Via de administração</b>
<i>Amicacina</i>	10 mg/kg q24 h	Intravenosa (IV) / intramuscular (IM)
<i>Ampicillina</i>	29 mg/kg q12 ou 24 h	IV/IM
<i>Ceftiofur</i>	2,5 mg/kg q12–24 h	IV/IM
<i>Ceftiofur cristalina</i>	6,6 mg/kg q4 dias	IM
<i>Enrofloxacina</i>	5 mg/kg q24 h	IV
	7.5 mg/kg q24 h	Oral (VO)
<i>Gentamicina</i>	6.6 mg/kg q24 h	IV
<i>Metronidazol</i>	15–25 mg/kg	VO
<i>Penicilina Potássica</i>	25.000 IU/kg q6 h	IV
<i>Penicilina Procaina</i>	22.000 IU/kg q12 h	IM

Fonte: Adaptado de Canisso, Stewart e Coutinho da Silva (2016).

Infusão intrauterina e por via sistêmica são as formas mais comuns para o tratamento da endometrite aguda. A infusão local apresenta a vantagem de atingir alta concentração tecidual no endométrio (SCOGGIN, 2016). Infusões são mais indicadas para infecções em éguas com organismos altamente patogênicos ou aquelas em que a infecção persiste ciclo após ciclo, tais como *K. pneumoniae*, *Pseudomonas* ou *T. equigenitalis*. As infusões devem ser precedidas por lavagem uterina para amenizar possíveis condições adversas do útero como presença de fluido e células inflamatórias que podem alterar o efeito dos fármacos (LEBLANC, 2012).

A lavagem uterina tem o objetivo de auxiliar a limpeza do órgão, pois remove debris celulares, organismos infecciosos e fluido do lúmen uterino, reduzindo a carga bacteriana e células inflamatórias. Éguas em estro podem ter o útero lavado um ou mais dias antes da cobertura visando remover fluido uterino ou como parte de planejamento terapêutico para endometrite infecciosa. Em éguas que apresentem endometrite persistente pós cobertura, o lavado uterino pode ser necessário após a monta ou IA, geralmente realizado em média 4-6 horas após (DASCANIO, 2014).

Apesar das vantagens da infusão uterina, análises de biópsias endometriais demonstraram que o *Streptococcus zooepidemicus* estava profundamente presente no tecido de éguas inférteis (PETERSEN et al., 2009; 2015). Nestes casos, os tratamentos limitados a infusões intrauterinas podem ser mal sucedidos, especialmente se concentrações adequadas de antibiótico para eliminarem o microorganismo não atingirem tecidos profundos (DASCANIO, 2011). Além disso, o uso de repetidas infusões intrauterinas de antibióticos podem levar a distúrbios da flora vaginal predispondo a égua a endometrite fúngica (CANISSO et al., 2016).

Em relação ao tratamento sistêmico, a antibioticoterapia apresenta menores variações nos níveis do princípio ativo, visto que a administração não está sujeita a condições uterinas adversas, possível irritação no local da aplicação (endométrio) podendo alterar a absorção, não existem riscos de introdução de contaminação bacteriana decorrente da manipulação uterina, além de não haver a necessidade da duração do tratamento ser imposta pelo ciclo estral, possibilitando o tratamento em situações nas quais o acesso intrauterino não é possível (CAUSEY, 2006).

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

A curetagem uterina é um método seguro e relativamente fácil de ser realizado, tendo um melhor resultado na fase de diestro. Muitos agentes tem sido usados como processo de curetagem química para o tratamento de endometrite na égua. Incluem-se Dimetilsulfóxido

(DMSO), o Peróxido de Hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), Sulfato de Magnésio (MgSO<sub>4</sub>), querosene e desinfetantes diluídos (solução Iodopovidine 0,2%) (LEY, 2006).

DMSO é um solvente com propriedades anti-inflamatórias que vem sendo utilizado clinicamente em éguas visando eliminar muco, exsudato ou biofilme (LEBLANC, 2010). Ley et al. (1989) relataram melhora na inflamação crônica em comparação ao grupo experimental 1 quando utilizaram infusão intrauterina com DMSO 30% (vol/vol) durante cinco dias. Entretanto, seu uso em concentração elevada (75%, vol/vol) foi associado a ulceração do epitélio e afluxo de células inflamatórias (FRAZER et al., 1988). Atualmente, tem sido preconizada a concentração final de 30% (vol/vol) (FERRIS, 2017).

Ozônio é um potente agente oxidante que pode atacar glicoproteínas da membrana bacteriana e/u glicolípídeos resultando em ruptura celular e liberação do conteúdo celular (GÜZEL-SEYDIM et al., 2004). Especialmente contra bactérias gram-positivas, o ozônio tem demonstrado forte efeito bactericida. Entretanto, a temperatura ambiente rapidamente sofre degradação retornando a átomos de Oxigênio. Tem sido utilizado em bovinocultura para tratamento de endometrite quando administrado via intrauterina (ĐURIČIĆ et al., 2015).

A fitoterapia vem sendo cada vez mais utilizada e, apesar de ser por muitos considerada como terapia alternativa, não é uma especialidade médica, se enquadrando na medicina natural (CÂNDIDO, 2001). Atualmente, essa prática vem crescendo devido ao grande interesse da população por terapias menos agressivas (YUNES et al., 2001). Devido ao baixo custo e fácil acesso, a fitoterapia é considerada um método de cura e prevenção mais acessível. Contudo, são necessários estudos que comprovem a eficácia do fitoterápico para que não haja danos à saúde do paciente (REZENDE; COCCO, 2002).

Produtos naturais ou oriundos de plantas, microrganismos ou animais são importante segmento de pesquisa em drogas de uso clínico. Como resultado desta importância, a Organização Mundial de Saúde (OMS) tem considerado programas básicos de desenvolvimento e validação de medicamentos de origem natural, especialmente em países em desenvolvimento (PRYIA, 2004).

As propriedades antimicrobianas de substâncias presentes em extratos e óleos essenciais produzidas pelas plantas como uma consequência do metabolismo secundário, são reconhecidas empiricamente há séculos e foram comprovadas cientificamente apenas anos atrás (DUARTE, 2006). Estudos sobre as atividades antimicrobianas de extratos e óleos essenciais de plantas nativas têm sido relatados em muitos países, como o Brasil, que possui

diversificada flora e tradição na utilização de plantas medicinais como antibacteriano ou antifúngico (DUARTE et al, 2005).

A pesquisa de extratos de plantas com ação antimicrobiana representa um interesse constante em encontrar novos compostos com potencial atividade contra bactérias resistentes (SUFFREDINI et al, 2004). Um amplo estudo pode ser mais efetivo se a investigação abranger o potencial farmacológico de várias espécies de um determinado gênero baseado no uso medicinal popular. Em virtude da biodiversidade presente nos diferentes biomas brasileiros, existe uma crescente demanda para produtos naturais por indústrias farmacêuticas nacionais e internacionais, que impulsiona as investigações científicas e a busca por drogas naturais (SHAN et al., 2007).

Em Medicina Veterinária, o produto chamado Fitoclean® (Organnact Saúde Animal, Curitiba, Paraná, Brasil) é utilizado através de infusão intrauterina de forma empírica para o tratamento da endometrite equina, o que requer estudos para comprovar sua eficácia. Sua composição, de acordo com a bula do produto, consiste de: extrato de Calêndula; extrato de Barbatimão; extrato de Confrey; extrato de Bardana; extrato de Guaçatonga; extrato de Babosa; extrato de Própolis.

### **3 OBJETIVOS**

---

#### **3.1 Objetivo Geral:**

Validar a técnica de ultrassonografia modo color Doppler como método diagnóstico auxiliar para a endometrite equina, além daqueles já existentes (cultura uterina e antibiograma, citologia endometrial, e ultrassonografia modo B).

#### **3.2 Objetivos Específicos:**

- a) Avaliar a vascularização nos diferentes segmentos uterinos (corpo e cornos uterinos) do útero com e sem endometrite;
- b) confirmar resultados obtidos através da ultrassonografia color Doppler com os achados nos exames tradicionais para diagnóstico da endometrite (citologia endometrial, cultura uterina e antibiograma e ultrassonografia modo B).
- c) comparar a vascularização entre os grupos controle e tratados;
- d) avaliar a resposta uterina ao tratamento para endometrite utilizando infusão com fitoterápico e antibiótico.

#### **4 HIPÓTESE**

---

O útero equino com endometrite aguda induzida apresenta aumento de vascularização, possibilitando sua identificação através da ultrassonografia color Doppler.

## 5 MATERIAL E MÉTODOS

---

O presente trabalho foi realizado segundo os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA) e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais do Centro Universitário de Barra Mansa (CEUA/UBM) sob o número de protocolo nº 010/2016, em reunião de 13/09/2016.

### 5.1 Local e Período de Realização

O trabalho foi realizado no Haras Legião da Marcha, localizado no município de Barra Mansa (Latitude: 22°32'27.164"S, Longitude: 44° 10' 42.092" O) e as amostras uterinas obtidas foram encaminhadas para o Laboratório de Patologia da Reprodução/UFRRJ. Foram utilizadas 20 éguas mestiça e da raça Mangalarga Marchador livres de endometrite (confirmado através da citologia uterina, cultura uterina e ultrassonografia modo B), com idade entre 6-20 anos. Todas as éguas pesavam entre 350 e 450 kg, mantidas em piquetes com capim e água fresca *ad libitum*, suplementadas com sal mineral e ração concentrada, 1,0% PV diariamente.

O experimento foi realizado durante os meses de setembro a novembro de 2016.

### 5.2 Animais

As éguas foram submetidas à ultrassonografia transretal modo B para constatar a presença ou ausência de edema endometrial. Os animais que não apresentavam edema endometrial, foram submetidos à administração de 5,0 mg Benzoato de Estradiol (Gonadiol®, Zoetis, São Paulo, Brasil), por via intramuscular (IM), para que possibilitasse a colheita de amostras para citologia, cultura endometrial e antibiograma. O edema uterino foi graduado de acordo com Brinsko et al. (2011), a saber: 0 (sem edema), 1 (leve), 2 (moderado) e 3 (avançado).

### 5.3 Delineamento experimental

**ETAPA 1.** Foram utilizadas 20 éguas livres de endometrite, previamente avaliadas através da ultrassonografia modo B, citologia e cultura uterina. As éguas foram submetidas a inoculação intrauterina com 10 mL de solução de *Escherichia coli* ( $1,5 \times 10^9$  UFC/mL) proveniente de útero equino. A inoculação foi realizada por via transcervical utilizando pipeta

de inseminação artificial. As sessões de ultrassonografia color Doppler foram realizadas em M0 (momento imediatamente anterior à inoculação intrauterina) e M1 (24 horas após a inoculação intrauterina).

**ETAPA 2.** Os animais foram divididos em dois grupos: grupo experimental 1 (G1, n=10) e grupo experimental 2 (G2, n=10). As éguas do grupo experimental 1 foram submetidas à infusão uterina 24h após a inoculação bacteriana utilizando 1,0 L Ringer com Lactato com imediata drenagem deste conteúdo. Após a remoção do líquido, foi novamente infundindo no útero 100 ml de Ringer Lactato e o líquido não foi recuperado.

As éguas do grupo experimental 2 foram submetidas à infusão uterina 24h após a inoculação bacteriana utilizando 50 ml da solução fitoterápica Fitoclean® (Organnact Saúde Animal, Curitiba, Paraná, Brasil) diluída em 950 ml de Ringer com Lactato com imediata drenagem deste conteúdo. Após a remoção do líquido, o útero das éguas foi tratado com 40 ml solução fitoterápica Fitoclean® diluída em 60 ml de Ringer com Lactato e o líquido não foi recuperado.

Os exames ultrassonografia modo B, color Doppler, cultura e citologia uterina foram realizados no grupo experimental 1 no momento T1c (imediatamente antes do procedimento de infusão uterina), momento T2c (24h após a infusão uterina) e T3c (48h após a infusão uterina) e no grupo experimental 2 nos momentos T1t, T2t e T3t.

**ETAPA 3.** As éguas em que foram identificados agentes patogênicos nas amostras coletadas 10 dias após o término da etapa 2, foram submetidas à antibioticoterapia por infusão intrauterina utilizando 100mL de Gentamicina (Gentrin® Infusão Uterina, Ourofino Saúde Animal, São Paulo, Brasil) durante três dias, conforme sensibilidade apresentada no antibiograma. Sete dias após a realização da antibioticoterapia, foram realizados novos exame de ultrassonografia modo B, cultura uterina e antibiograma, citologia endometrial e color Doppler. Este momento foi identificado como momento pós antibiótico (MPA).

#### **5.4 Cultura Bacteriana e Antibiograma**

Antes da coleta da amostra para cultura bacteriana, a cauda da égua foi envolvida com atadura, a vulva e região perineal foram cuidadosamente lavadas com água corrente e solução de Iodopovidine degermante e secas com papel toalha.

O material para cultura bacteriana foi coletado por meio de *swab* estéril protegido, que foi introduzido no corpo uterino com auxílio de uma pinça ginecológica própria para uso



em equinos de aço inoxidável esterilizada. O *swab* foi exposto somente ao lúmen uterino para obtenção de amostra endometrial e realizado movimentos circulares, removido e acondicionado em tubo identificados contendo meio de cultura *Stuart* e transportado ao laboratório sob refrigeração para incubação e posterior identificação bacteriana.

Os *swabs* foram inoculados em placas de Agar Sangue e Cromoagar (Laborclin), para cultura bacteriológica e, posteriormente, incubadas a 37°C em aerobiose por 24 horas a fim de se observar as características macroscópicas das colônias. Somente placas com mais de cinco colônias fenotipicamente semelhantes foram consideradas e aquelas em que não havia crescimento nas primeiras 24 horas permaneciam na estufa a 37°C por mais 24 horas.

Em sequência, as colônias isoladas foram submetidas à coloração pelo método de Gram para avaliação das características morfo-tintoriais. A identificação dos microrganismos foi realizada através dos testes bioquímicos referentes a cada espécie realizando-se a inoculação de uma pequena porção de colônia bacteriana bem isolada em uma série de meios de cultura contendo substratos específicos e indicadores químicos, segundo KONEMAN et al (2008).

Os testes de suscetibilidade aos antimicrobianos (TSA) foram confeccionados e interpretados conforme os padrões estabelecidos pelo CLSI (2013). Utilizou-se suspensão direta em caldo de Mueller Hinton por 18 a 24 horas. Após o crescimento foi distribuído com auxílio de um *swab* estéril sobre Agar Mueller Hinton. Esperou-se de três a cinco minutos para aplicação dos discos, sendo realizada a técnica de difusão em disco simples. As placas foram depositadas na estufa a 35°C por 24 horas e, posteriormente, os halos de inibição foram medidos e interpretados. Os discos de antibióticos (SENSIFAR-CEFAR<sup>®</sup>) utilizados foram Enrofloxacina (5 µl), Gentamicina (10 µl), Tetraciclina (30 µl); Sulfametoxazol + trimetropim (25 µl), Penicilina (10UI); Ceftiofur (30 µl) e também discos de papel de 6 mm impregnados com 30 µl Fitoclean<sup>®</sup> (Organnact Saúde Animal, Curitiba, Paraná, Brasil) e discos com Fitoclean<sup>®</sup> na diluição 50% (30 µl).

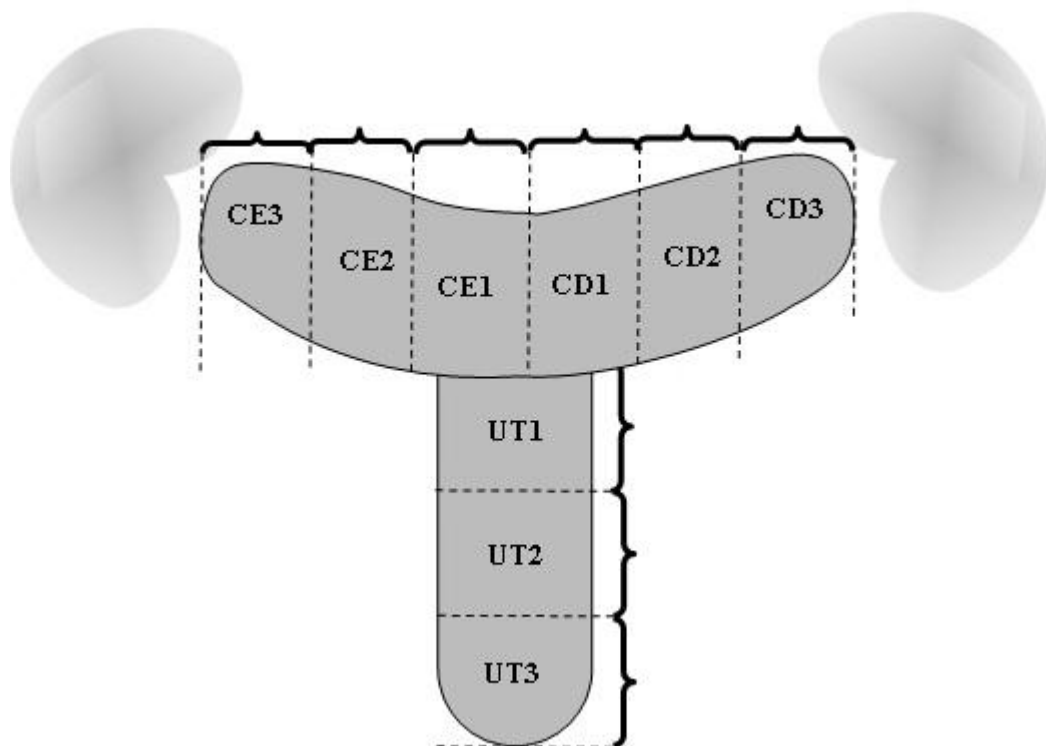
### **5.5 Citologia Endometrial**

O material para citologia uterina foi obtido através de escarificação do endométrio com movimentos circulares utilizando escova ginecológica estéril de uso humano conectada a uma pinça ginecológica própria para equinos de aço inoxidável esterilizada. O material celular das escovas ginecológicas foi distribuído em 3 lâminas histológicas através de *imprint* e fixado em triarilmetano 0,1% (Solução 1 do Kit Corante Panótico Rápido LB).

As lâminas foram avaliadas em microscópio óptico (aumento de 40x). Foram avaliados pelo menos 10 campos em cada lâmina. Os achados foram classificados de acordo com o número de neutrófilos. Citologia foi considerada normal em lâminas com dois neutrófilos por campo, com inflamação moderada na presença de dois a cinco neutrófilos por campo e com inflamação severa na presença de mais de cinco neutrófilos por campo (RIDDLE; LEBLANC; STROMBERG, 2007).

### 5.6 Ultrassonografia Color Doppler

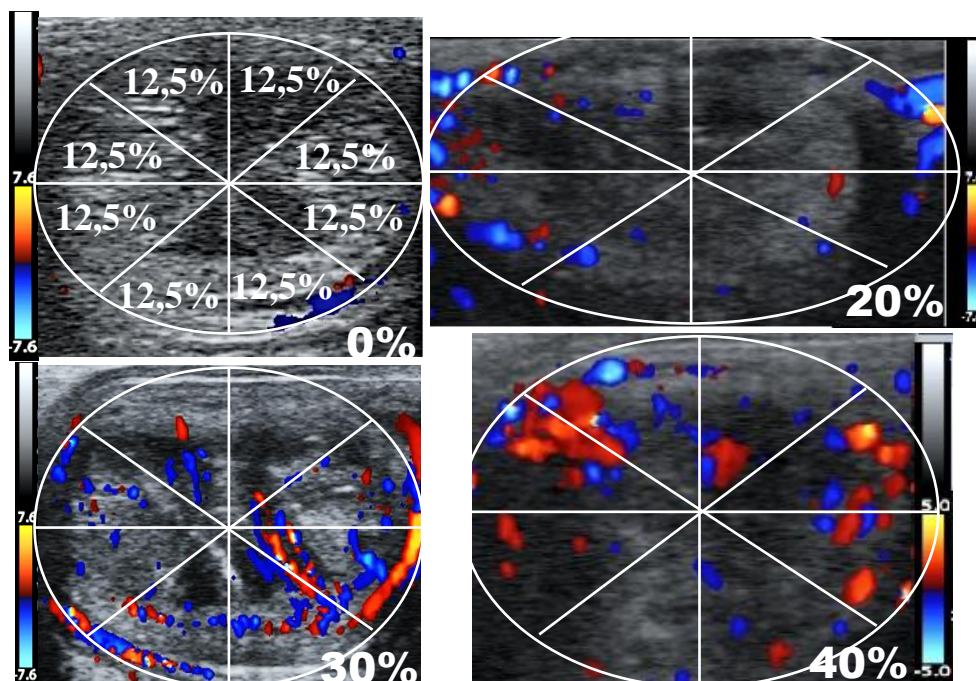
Para realização da ultrassonografia color Doppler foi utilizado aparelho Mindray Z5-VET (DPS, China) equipado com transdutor linear de 6,5 MHz. O exame foi realizado através de lento escaneamento de toda extensão uterina, obtendo-se vídeos de 30 segundo para posterior análise. Os vídeos foram obtidos da região uterina (corpo ou cornos uterinos) de maior vascularização (1, 2 e 3) (figura 2):



**Figura 2.** Representação esquemática dos diferentes segmentos uterinos como foram considerados neste experimento.

A perfusão vascular uterina foi analisada de modo subjetivo levando-se em consideração o percentual de sinais Doppler coloridos presentes no mesométrio, miométrio e

endométrio, em corte longitudinal do corpo uterino e transversal dos cornos uterinos (adaptado de FERREIRA et al., 2008). A classificação utilizada foi graduada em percentual (figura 3). Todas as análises e captura das imagens foram realizadas pelo mesmo operador.



**Figura 3.** Exame ultrassonográfico modo color Doppler em corte transversal de corno uterino de éguas sem e com endometrite. Exemplos de imagens representativas da avaliação subjetiva da perfusão vascular uterina, em um escore de classificação em porcentagem. Fonte: Arquivo pessoal.

A avaliação objetiva foi realizada através da avaliação da cor e intensidade dos pixels apresentada pelos quadros selecionados a partir dos filmes realizados. Para esta avaliação utilizou-se o programa ImageJ 1.46r<sup>®</sup> (NIH Image)

### **5.7 Preparo da Cepa de *Escherichia coli* e Inoculação Intrauterina**

A cepa de *Escherichia coli* foi obtida de útero de égua que apresentava sinais clínicos de endometrite e, por esta razão, foi submetida a coleta de material para cultura endometrial, que confirmou a presença do patógeno. Após o isolamento, as bactérias foram cultivadas durante 24 horas em meio de enriquecimento de infusão de cérebro e coração (BHI). Glicerol foi adicionado ao BHI, armazenados em criotubos de 2 mL esterilizados e mantidos a – 20 °C.

Antes da infusão, as bactérias foram descongeladas e incubadas a 37 °C durante 24 horas em placas de Ágar BHI, a fim de promover o crescimento bacteriano. Para a inoculação

intrauterina, as colônias foram suspensas em 10 mL de solução salina a uma concentração final de  $1,5 \times 10^9$  UFC/mL, utilizando a escala de MacFarland (Neflobac<sup>®</sup>, Probac do Brasil Ltda, São Paulo, Brasil).

O isolamento, cultivo e inoculação foram realizados conforme preconizado por Camozzato et al. (2014).

### **5.8 Análise estatística**

Para análise estatística dos dados das variáveis cor e intensidade, foi utilizada Análise de Variância seguida do teste de Tukey. Foi aplicado o teste t de Student para comparar as médias percentuais de vascularização entre M0 e M1 e ANOVA para comparação das médias obtidas nos diferentes períodos entre os grupos tratado e controle. Foi utilizado o Qui Quadrado para avaliação do efeito do Fitoclean<sup>®</sup> (Organnact Saúde Animal, Curitiba, Paraná, Brasil) sobre os resultados dos exames de cultura uterina, citologia e ultrassonografia modo B. Todas as análises foram realizadas ao nível de 95% de significância.

## 6 Resultados e Discussão

**ETAPA 1.** Um dos vídeos contendo os registros de vascularização endometrial durante o momento M1 não pode ser avaliado pois os dados foram corrompidos. Sendo assim, foram avaliadas vascularizações endometriais correspondentes a 19 éguas. Os exames de citologia e cultura endometrial, antibiograma e ultrassonografia modo B foram obtidos de 20 animais.

A média de cor e intensidade dos pixels obtidos através da análise das imagens utilizando o programa Image J 1.46r<sup>®</sup> de todas as éguas antes (M0) e após (M1) a inoculação intrauterina de *Escherichia coli* pode ser encontrada na tabela 1.

**Tabela 1.** Número de pixels e intensidade média obtida em éguas nos momentos M0 e M1.

Média ± Desvio padrão	Momentos	Útero		Corno esquerdo		Corno direito	
		Cor	Intensidade	Cor	Intensidade	Cor	Intensidade
	M0 (n=20)	3728,11± 2344,85 <sup>a*</sup>	379012± 238969 <sup>a</sup>	4549,37± 3192,55 <sup>a</sup>	468544± 316354 <sup>a</sup>	3885,56± 2155,81 <sup>a</sup>	394074± 210043 <sup>a</sup>
	M1 (n=19)	10125,5± 3814,47 <sup>b</sup>	1045637± 392058 <sup>b</sup>	7955± 4694,37 <sup>b</sup>	837195± 466398 <sup>b</sup>	10334,1± 6814,22 <sup>b</sup>	897441± 401245 <sup>b</sup>

Houve diferença estatística (p<0,05).

\*Letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente.

M0 – momento imediatamente antes a inoculação intrauterina. M1 – 24h após inoculação intrauterina.

A média da perfusão vascular endometrial subjetiva de todas as éguas antes (M0) e após (M1) a inoculação intrauterina de *Escherichia coli* pode ser encontrada na tabela 2.

**Tabela 2.** Perfusão vascular endometrial subjetiva média obtida em éguas nos momentos M0 e M1.

Média (Desvio padrão) (%)	Momentos	Útero	Corno esquerdo	Corno direito
		(%)	(%)	(%)
	M0 (n=20)	13,74 <sup>a*</sup> (12,00)	13,21 <sup>a</sup> (10,03)	10,28 <sup>a</sup> (8,62)
	M1 (n=19)	30,71 <sup>b</sup> (10,15)	23,84 <sup>b</sup> (11,44)	27,42 <sup>b</sup> (10,36)

Houve diferença estatística (p<0,05).

\*Médias de tratamentos com letras diferentes nas colunas diferem estatisticamente entre si

M0 – momento imediatamente antes a inoculação intrauterina. M1 – 24h após inoculação intrauterina.

Verificou-se que os valores médios de vascularização no momento M1 foram significativamente superiores (P<0,05) aos obtidos em M0 para as três partes do útero tanto na análise pelo programa ImageJ 1.46r<sup>®</sup> quanto na análise subjetiva, demonstrando haver um

quadro de inflamação. Dessa forma, neste experimento, foi possível identificar a inflamação do endométrio equino através da ultrassonografia color Doppler.

Pereira et al. (2014) divulgaram relato de caso em que afirmam que houve aumento da vascularização uterina devido a endometrite em sete éguas. Entretanto, o exame de ultrassonografia color Doppler foi realizado somente após a infecção já estabelecida, bem como valores de vascularização não foram descritos, o que inviabiliza a comparação. Este foi o único trabalho encontrado na literatura em que aplica a utilização do color Doppler em éguas com endometrite. Trabalhos que relacionem a avaliação da reação inflamatória uterina utilizando o color Doppler também são escassos. Em bovinos de corte, Oliveira et al. (2014) avaliaram a reação inflamatória uterina causada pela inseminação artificial, mas não observaram alteração na vascularização entre os grupos controle e o inseminado. O mesmo grupo de pesquisa também não observou diferença na vascularização quando as inseminações artificiais foram realizadas utilizando sêmen de pior qualidade (com maior porcentagem de danos celulares) avaliado por sondas fluorescentes (OLIVEIRA et al., 2014b).

Juntamente ao aumento da vascularização endometrial das 19 éguas, foi possível observar crescimento bacteriano observado em todas as amostras coletadas (tabela 3).

**Tabela 3.** Resultados da cultura, citologia endometrial e ultrassonografia modo B realizados nas éguas 24 horas após a inoculação intrauterina com *Escherichia coli*.

Nº de animais	CULTURA (crescimento bacteriano)	CITOLOGIA (≥ 2 PMNs por campo 400x)	US (presença de líquido intrauterino)
15	+	+	+
1	+	-	+
4	+	+	-

Nº - número. PMNs – polimorfonucleares. US – ultrassonografia modo B

Todas as 20 éguas que foram submetidas à inoculação intrauterina com 10 mL da solução contendo  $1,5 \times 10^9$  UFC/mL apresentaram crescimento bacteriano no exame de cultura microbiológica. Christoffersen et al. (2012a) observaram crescimento bacteriano inferior a este estudo (66,6%, 8/12) 24h após a inoculação intrauterina de  $10^6$  UFC/10mL de *E. coli*. Provavelmente a menor concentração de *E. coli* utilizada para a inoculação deve ter influenciado este resultado. Neste estudo, em 75% (15/20) das éguas foi possível realizar a confirmação entre crescimento bacteriano, citologia (≥ duas células PMNs por campo em aumento de 400X) e presença de líquido intrauterino detectado através da ultrassonografia

modo B. Estes resultados da citologia são inferiores aos obtidos por Christoffersen et al. (2012b), que relataram neutrofilia em todas as éguas 24h após a inoculação intrauterina. Em uma das éguas a confirmação da endometrite foi baseada apenas nos resultados da cultura e US; e em quatro éguas a confirmação ocorreu através dos resultados da cultura e citologia (tabela 3).

Quase todos os animais apresentaram cultura uterina e citologia endometrial positivas. Apenas uma égua (5%) apresentou resultado negativo no exame de citologia uterina. Segundo Ferris (2016) isto pode ocorrer quando a bactéria está presente em região profunda e não na superfície do endométrio. Em outras quatro éguas (20%), apesar de nos exames de cultura e citologia ser possível identificar a infecção, não foi identificada a presença de líquido intrauterino durante a ultrassonografia modo B, caracterizando quadro de endometrite subclínica. A manifestação da endometrite varia amplamente de caso a caso, podendo ser de difícil detecção devido à sinais clínicos sutis ou ausentes em alguma fase do ciclo estral. Em outras palavras, algumas éguas podem não manifestam a infecção, sendo referenciado como endometrite subclínica (LEBLANC e CAUSEY, 2009). Entretanto, através do aumento pronunciado da perfusão vascular endometrial em M1 em comparação ao momento M0 (livre de endometrite) (tabela 2) foi possível identificar a inflamação uterina, mesmo não havendo produção de líquido intrauterino. Ainda assim, em 80% (16/20) das éguas foi identificada a presença de líquido intrauterino durante a ultrassonografia modo B 24h após a inoculação. Reghini et al. (2016) também identificaram alta resposta (92%, 12/13) de retenção de líquido intrauterino 24h após a inseminação artificial em éguas que apresentavam degeneração endometrial crônica. Este percentual é maior que o identificado neste estudo, porém Reghini et al. (2016) trabalharam com animais sabidamente portadores de processo degenerativo severo, o que pode ter favorecido a identificação de maior percentual.

A tabela 4 mostra especificamente a perfusão vascular endometrial de quatro animais em que um dos exames realizados (citologia endometrial ou ultrassonografia modo B) não identificou a infecção. Apesar da falha de diagnóstico da endometrite nos exames realizados, através da ultrassonografia color Doppler observou-se aumento da vascularização, sugerindo o quadro de infecção, servindo como recurso adicional para o diagnóstico da endometrite.

**Tabela 4.** Perfusão vascular endometrial subjetiva das quatro éguas do experimento em que não foi possível detectar endometrite nos exames realizados (citologia uterina ou ultrassonografia modo B).

Égua		Vascularização (%)			
		UT	CE	CD	
04	M0	1	5	3	
	M1	30	80	65	
06	M0	1	5	2	
	M1	48	80	70	
08	M0	5	5	5	
	M1	26	70	90	
15	M0	45	13	10	
	M1	50	70	75	
<i>Média (Desvio padrão) (%)</i>		M0	13,00 (0,21)	7,00 (0,04)	5,00 (0,04)
		M1	39,00 (0,11)	17 (0,06)	33 (0,12)

UT – útero. CE – corno uterino esquerdo. CD – corno uterino direito.

M0 – imediatamente antes da inoculação intrauterina. M1 – 24h após a inoculação intrauterina

No presente trabalho, 95% (19/20) apresentaram citologia e microbiologia positivas (apenas uma delas apresentou citologia negativa), resultado superior ao de Oliveira et al. (2010), que obtiveram citologia positiva em apenas 25% (4/16) de éguas que apresentavam exame microbiológico positivo.

Segundo Dascanio e Ferris (2014), existem situações em que a citologia endometrial pode estar normal (sem células inflamatórias) e ainda assim a infecção estar presente. Uma das éguas deste experimento apresentou citologia normal (ver tabela 2) porém com crescimento bacteriano no exame de cultura. Ao avaliar a perfusão vascular da mesma égua (ver Anexos, tabela 1, égua 15) durante o momento M1, a ultrassonografia color Doppler revelou menor vascularização de ambos os cornos uterinos em comparação ao corpo uterino. Dascanio e Ferris (2014) acreditam que o resultado negativo do exame de citologia pode estar relacionado a uma infecção localizada, o que também pode ter sido responsável pela discrepância entre a vascularização das diferentes regiões. Ou seja, a infecção se manteve localizada no corpo uterino, proporcionando grande vascularização e crescimento bacteriano nesta região.

As bactérias isoladas nas culturas realizadas no diagnóstico da endometrite 24h após a inoculação foram descritas na tabela 5.



**Tabela 5.** Espécies bacterianas isoladas nas amostras endometriais das éguas 24 horas após a inoculação intrauterina com *Escherichia coli*.

<b>BACTÉRIA</b>	<b>Nº de animais identificados</b>
<i>Escherichia coli</i>	n = 10
<i>Klebsiella sp</i>	n = 4
<i>Streptococcus β hemolyticus</i>	n = 3
<i>Proteus mirabilis</i>	n = 1
<i>Serratia sp</i>	n = 1
<i>Providencia sp</i>	n = 1
<i>Staphylococcus sp</i>	n = 1
<i>Enterococcus sp</i>	n = 1
<i>Klebsiella sp</i>	n = 1

Em todas as éguas foi identificado crescimento bacteriano 24h após a inoculação intrauterina, porém em 50% (10/20) o crescimento foi *E. coli*. Esse resultado corrobora os achados de Camozzato et al. (2014), que relataram 59,2% de crescimento para o mesmo tempo. Também foram próximos aos resultados de Christoffersen et al. (2012a), que obtiveram 42,8% (3/7), e Christoffersen et al. (2012b), que obtiveram crescimento de 46,6% (7/15 ciclos), ambos em éguas susceptíveis a endometrite. Os autores afirmam que o baixo número de éguas que apresentaram desenvolvimento bacteriano pós inoculação pode ter ocorrido pela concentração de *E. coli* utilizada ( $10^6$  UFC), inferior a empregada neste experimento (10 ml -  $1,5 \times 10^9$  UFC/mL). Bem como no presente experimento, além do crescimento de *E. coli*, Christoffersen et al. (2012a) descreveram ainda o desenvolvimento de outras bactérias: *Streptococcus zooepidemicus* em quatro das sete éguas e *Panthoea agglomerans* em outra éguas. Os autores afirmaram que as bactérias podem estabelecer infecções de modo latente/inativo, tornando-se ativa através da infusão de alguma substância indutora da inflamação (*E. coli*). Neste estudo, outras bactérias também se desenvolveram em menor frequência durante o cultivo, provavelmente oriundas de contaminação ascendente durante manipulação ginecológica prévia, já que houve crescimento de grande parte destas bactérias no primeiro exame de cultura (M0). Segundo Oliveira et al. (2010), há a possibilidade de contaminação ambiental durante a coleta de material uterino, pois estas bactérias geralmente são encontradas em fezes e no ambiente, podendo ser introduzidas no útero durante a coleta do material. Além disso, alguns procedimentos ginecológicos (inseminação artificial, transferência de embriões, biópsia ou *swab* uterino, infusão uterina de

medicamentos) podem carrear bactérias para o ambiente uterino.

Três éguas (15%, 3/20) apresentaram crescimento bacteriano misto, ou seja, na mesma amostra uterina houve o desenvolvimento de duas bactérias. Esse resultado está próximo ao relatado por Frontoso et al. (2008) em levantamento realizado utilizando éguas com problema de fertilidade, em que 17,1% (49/287) dos animais com cultura bacteriana positiva apresentaram mais de uma bactéria nas amostras uterinas (*E. coli* e *Streptococcus dysgalactiae subsp. equisimilis* foram os crescimentos mais comuns). Neste estudo, o crescimento misto provavelmente ocorreu por contaminação prévia ao início do experimento, o que pode ter levado a um quadro crônico de endometrite nestas éguas. A presença de duas bactérias no ambiente uterino não refletiu em alteração na vascularização uterina destas éguas, que apresentaram perfusão semelhante às demais para o mesmo período.

No presente estudo, em 80% (16/20) das éguas foi identificada a presença de fluido intrauterino através da ultrassonografia modo B. Fatores predisponentes ao acúmulo de fluido intrauterino são reduzidas contrações miométriais, drenagem linfática pobre, útero excessivamente distendido e incompetência cervical (BARBACINI et al., 2003), o que ocorre mais frequentemente em éguas idosas e está associado a fertilidade reduzida (CANISSO et al., 2016).

Neste estudo, 75% (15/20) das éguas utilizadas apresentavam idade acima de 10 anos, sendo que destas, 13 delas (86,6%) acumularam líquido intrauterino. A idade avançada tem sido associada por anos a endometrite persistente (RICKETTS e ALONSO, 1991; CARNEVALE e GINTHER, 1992; TROEDSSON, 1999; BARBACINI et al. 2003;). Hughes e Loy (1969) observaram grande disparidade na capacidade em solucionar a inflamação uterina entre éguas jovens (éguas férteis) e idosas (sub férteis) após inoculação intrauterina com *Streptococcus zooepidemicus*. Animais idosos, múltiparos ou com baixo escore corporal apresentam condições do trato reprodutivo que favorecem a susceptibilidade a endometrite persistente (WOODWARD e TROEDSON, 2014).

Foi avaliada a incidência da maior vascularização em cada segmento uterino em M0 e M1 (anexo). Entretanto, não se observou associação significativa ( $P > 0,05$ ) entre o número de ocorrências nos segmentos do útero e dos cornos direito e esquerdo das éguas e os momentos observados. O número total de observações foi baixo, o que prejudicou a aplicação do teste Qui-quadrado.

**ETAPA 2.** A evolução da perfusão vascular endometrial obtida nos momentos A (imediatamente anterior ao tratamento), B (24h) e C (48h) dos grupos experimentais 1 e 2 estão dispostos nas tabelas 6 (ImageJ 1.46r<sup>®</sup>) e 7 (análise subjetiva).

**Tabela 6.** Área dos pixels e intensidade de cor obtidos das análises das imagens de útero, cornos esquerdo e direito nos momentos A, B e C dos grupos experimentais 1 e 2 através da avaliação utilizando ImageJ 1.46r<sup>®</sup>.

<b>ÚTERO</b>				
<i>Momentos</i>	<i>Área dos pixels</i>		<i>Intensidade de cor</i>	
	<i>G1</i>	<i>G2</i>	<i>G1</i>	<i>G2</i>
A	10899,9 <sup>Aa*</sup> (4955,1)	8797,2 <sup>Aa</sup> (3759,8)	1096886 <sup>Aa</sup> (493498)	931753 <sup>Aa</sup> (418759)
B	6580 <sup>Ab</sup> (3205,2)	5513,1 <sup>Aab</sup> (2691,8)	678977 <sup>Ab</sup> (327300)	599066 <sup>Aab</sup> (286917)
C	6510,6 <sup>Ab</sup> (3007,5)	2874,6 <sup>Bb</sup> (2209)	673603 <sup>Ab</sup> (311480)	311662 <sup>Bb</sup> (241153)
<b>CORNO UTERINO ESQUERDO</b>				
<i>Momentos</i>	<i>Área dos pixels</i>		<i>Intensidade de cor</i>	
	<i>G1</i>	<i>G2</i>	<i>G1</i>	<i>G2</i>
A	10899,9 <sup>Aa*</sup> (4955,2)	8797,2 <sup>Aa</sup> (3759,9)	1096886,1 <sup>Aa</sup> (493498)	931752,8 <sup>Aa</sup> (418759)
B	6580,0 <sup>Ab</sup> (3205,2)	5513,1 <sup>Aab</sup> (2691,8)	678977,0 <sup>Ab</sup> (327300)	599065,8 <sup>Aab</sup> (286917)
C	6510,6 <sup>Ab</sup> (3007,6)	2874,7 <sup>Bb</sup> (2209,0)	673601,7 <sup>Ab</sup> (311480)	311662,1 <sup>Bb</sup> (241153)
<b>CORNO UTERINO DIREITO</b>				
<i>Momentos</i>	<i>Área dos pixels</i>		<i>Intensidade de cor</i>	
	<i>G1</i>	<i>G2</i>	<i>G1</i>	<i>G2</i>
A	9349,6 <sup>Aa</sup> (3405,5)	11090,0 <sup>Aa</sup> (9428,8)	926283 <sup>Aa</sup> (362821)	851037,7 <sup>Aa</sup> (479787)
B	6275,4 <sup>Aa</sup> (2417,6)	4828,0 <sup>Ab</sup> (2543)	644693,3 <sup>Aa</sup> (245861)	488270,4 <sup>Aa</sup> (268299)
C	5258,3 <sup>Aa</sup> (2670,6)	3701,2 <sup>Ab</sup> (1973,6)	531582,2 <sup>Aab</sup> (271164)	392605 <sup>Aab</sup> (214568)

\*Letras maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas com letras diferentes, diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

A – imediatamente antes do tratamento. B – 24h após o tratamento. C – 48h após o tratamento.

**Tabela 7.** Perfusão vascular endometrial média subjetiva de útero, cornos esquerdo e direito nos momentos A, B e C dos Grupos 1 e 2.

<b>ÚTERO (%)</b>		
<i>Momentos</i>	<i>G1</i>	<i>G2</i>
A	34,00 <sup>Aa</sup> (11,26)	27,00 <sup>Aa</sup> (7,80)
B	18,10 <sup>Ab</sup> (8,81)	11,44 <sup>Ab</sup> (4,88)
C	15,11 <sup>Ab</sup> (6,35)	9,00 <sup>Ab</sup> (5,27)
<b>CORNO UTERINO ESQUERDO (%)</b>		
<i>Momentos</i>	<i>G1</i>	<i>G2</i>
A	23,20 <sup>Aa</sup> (7,83)	24,56 <sup>Aa</sup> (14,98)
B	17,20 <sup>Aa</sup> (8,30)	11,88 <sup>Ab</sup> (5,25)
C	15,50 <sup>Aa</sup> (5,50)	11,50 <sup>Ab</sup> (5,68)
<b>CORNO UTERINO DIREITO (%)</b>		
<i>Momentos</i>	<i>G1</i>	<i>G2</i>
A	28,90 <sup>Aa</sup> (10,69)	25,78 <sup>Aa</sup> (10,29)
B	15,50 <sup>Ab</sup> (5,66)	14,33 <sup>Ab</sup> (5,07)
C	15,89 <sup>Ab</sup> (6,86)	10,00 <sup>Ab</sup> (5,20)

\*\* Médias de tratamentos com letras diferentes maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas diferem significativamente entre si pelo Teste de Tukey ( $p > 0,05$ ).

A – imediatamente antes do tratamento. B – 24h após o tratamento. C – 48h após o tratamento.

No momento G1<sub>B</sub>, a égua 2 apresentou repleta coleção de conteúdo uterino com regiões hiperecóticas em seu interior, o que dificultou visualizar a perfusão vascular. Entretanto, as imagens visualizadas foram consideradas para avaliação subjetiva e objetiva da média e desvio padrão. Os valores médios de vascularização, área do pixel e intensidade de cor nos diferentes segmentos (útero e cornos uterinos) não diferiram significativamente entre os grupos ( $P > 0,05$ ).

Verificou-se que o valor médio do percentual de vascularização da análise subjetiva no momento A foi significativamente superior ( $P < 0,05$ ) aos obtidos nos momentos B e C nas regiões de útero e cornos uterinos (exceto apenas em G1 do corno uterino esquerdo). Na análise por pixels, o momento A foi superior ( $P < 0,05$ ) nas regiões de útero e cornos uterino (exceto em G1 do corno uterino direito). Isto provavelmente ocorreu em ambas as análises devido à vasodilatação característica da fase aguda da endometrite, ocorrendo até 24 horas após a inoculação intrauterina. Já a região do corno uterino direito não apresentou diferença ( $P > 0,05$ ) entre os três momentos do G1, divergindo da análise subjetiva.

Em ambos os grupos, houve redução significativa da vascularização subjetiva e na avaliação por pixels observada nos momentos B e C em relação ao momento A. Apesar da diminuição na vascularização uterina subjetiva e por pixels, no grupo 1, no momento B, 50% (5/10) apresentaram crescimento bacteriano e 100% (10/10) apresentaram citologia positiva; no momento C apenas uma égua apresentou citologia negativa. No grupo 2, no momento B 80% (8/10) das amostras uterinas detectaram a presença bacteriana e citologia positiva; no momento C, 80% (8/10) apresentaram crescimento bacteriano e 100% (10/10) apresentaram citologia positiva. Provavelmente o Fitoclean<sup>®</sup> promoveu vasoconstrição devido a suas propriedades anti-inflamatórias sobre o endométrio. Ou seja, foi possível detectar redução da vascularização endometrial mesmo com presença bacteriana nas amostras uterinas.

Neste trabalho, não foi possível identificar um ponto em toda a extensão uterina em que a vascularização fosse estatisticamente superior. Este achado é semelhante ao de Araújo (2014), que também não observou diferença nos escores de perfusão vascular subjetiva obtidos nos cornos uterinos contra e ipsilateral à ovulação ao avaliar a reação inflamatória promovida após inseminação artificial nas diferentes regiões uterinas.

O resultados de cultura, citologia endometrial e ultrassonografia modo B realizados nos grupos experimentais 1 e 2 estão disponíveis na tabela 8.

**Tabela 8.** Resultados da cultura, citologia endometrial e ultrassonografia modo B realizados nos momentos A (imediatamente anterior ao tratamento), B (24h após o tratamento) e C (48h após o tratamento) dos grupos 1 e 2.

<b>GRUPO 1 (n=10)</b>				
<b>Momentos</b>	<b>Nº de animais</b>	<b>CULTURA (crescimento bacteriano)</b>	<b>CITOLOGIA (≥ 2 PMNs por campo 400x)</b>	<b>US (presença de líquido intrauterino)</b>
A	7	+	+	+
	1	+	-	-
	2	+	+	-
B	5	+	+	+
	5	-	+	-
C	5	+	+	+
	3	-	-	-
	2	-	+	-
<b>GRUPO 2 (n=10)</b>				
A	9	+	+	+
	1	+	+	-

B	8	+	+	+
	2	-	-	-
C	7	+	+	+
	2	-	+	-
	1	+	+	-

A – imediatamente antes do tratamento. B – 24h após o tratamento. C – 48h após o tratamento.

Não houve diferença estatística ( $p=0,2$ ) entre os grupos experimentais 1 e 2 sobre os resultados de cultura, citologia uterina e ultrassonografia modo B. Sendo assim, o Fitoclean<sup>®</sup> não foi capaz de eliminar o agente causador da infecção, não permitindo comprovar a eficiência do fitoterápico utilizado sobre a endometrite equina via infusão. Isto significa que o efeito da lavagem uterina com Ringer com Lactato utilizado no grupo experimental 1 foi similar ao Fitoclean<sup>®</sup>. A lavagem uterina é um procedimento útil no manejo da endometrite em éguas susceptíveis. Seu objetivo é auxiliar o *clearence* uterino para eliminação de células inflamatórias (SCOGGIN, 2016). Segundo Livini et al. (2013), a lavagem uterina pode remover biofilme. Isto pode ter favorecido a limpeza uterina das éguas do grupo 1 e 2. *E. coli* isoladas de útero tem sido associados a formação de biofilme, uma estratégia de proteção desenvolvida pela bactéria frente aos antibióticos (FERRIS et al., 2016).

Apesar da diferença na perfusão vascular observada nos grupos 1 e 2 nos diferentes momentos, a limpeza uterina não foi observada nos resultados dos exames cultura, citologia e ultrassonografia modo B. Loncar et al. (2017) também não observaram redução na concentração bacteriana de *E. coli* utilizando solução salina ozonizada. Entretanto, no mesmo estudo, o Dimetilsulfóxido reduziu significativamente o número de Unidades Formadoras de Colônia de *E. coli* comparado ao grupo experimental 1 em 80% (8/10) dos isolados.

Reghini et al. (2016) também observaram redução na resposta inflamatória uterina utilizando Plasma Rico em Plaquetas (PRP), obtendo redução no percentual de polimorfonucleares e acúmulo de fluido intrauterino no grupo tratado em comparação ao controle. Os autores afirmam que o PRP é capaz de provocar *down regulation* sobre a expressão de citocinas uterinas proinflamatórias. Apesar dos constituintes do Fitoclean<sup>®</sup> como Barbatimão, Confrei, Bardana e Aloe Vera apresentarem relatos de efeitos antiinflamatório (LIMA; MARTINS; SOUZA, 1998; PILEGGI et al, 2002; UCHIYAMA et al, 2005) e antibiótico (KUZUYA et al., 2001; SANCHES et al, 2005; PEREIRA et al., 2005; DAS et al, 2011), seus componentes não foram capazes de eliminar o processo inflamatório estabelecido.

A incidência da maior perfusão vascular nos diferentes segmentos (1, 2 e 3) do corpo

uterino e cornos direito e esquerdo nos grupos 1 e 2 foi avaliada (anexo). Somente no grupo 2 observou-se associação significativa ( $P < 0,05$ ) entre o número de ocorrências nos segmentos do corpo do útero das éguas e os períodos utilizados.

No momento A do grupo 1 observou-se aumento significativo no segmento UT1, enquanto que no momento B de G1 observou-se uma redução significativa neste segmento. Não foi encontrado na literatura trabalho com resultados semelhantes que permitissem confrontar os resultados. Entretanto, a variação do sítio de incidência de maior vascularização nos diferentes segmentos observada no presente estudo pode estar relacionada ao ponto onde ocorreu a inoculação. No momento B, a solução de *E. coli* inoculada provavelmente já havia tomado toda a extensão uterina, dissipando também os pontos de maior vascularização.

**ETAPA 3.** De acordo com os resultados obtidos nos exames de cultura e antibiograma realizados 10 dias após o término da etapa 2, 13 éguas (65%, 13/20) foram submetidas a antibioticoterapia através de infusão intrauterina com Gentamicina, independente do grupo que fizeram parte. Uma semana após este tratamento, foram submetidas a novo exame de ultrassonografia Doppler. A comparação da porcentagem da perfusão vascular uterina de todas as éguas anteriormente à inoculação intrauterina com *E. coli* (M0), das éguas submetidas ao tratamento com Fitoclean<sup>®</sup> e submetidas ao tratamento com Gentamicina (momento pós antibioticoterapia - MPA) pode ser encontrado na tabela 9.

**Tabela 9.** Comparação da perfusão vascular endometrial média de éguas antes da inoculação (M0), submetidas ao tratamento com Fitoclean<sup>®</sup> (G1<sub>C</sub>) e após tratamento com Gentamicina (MPA).

<i>Momentos</i>	<i>Útero (%)*</i>	<i>Corno esquerdo (%)*</i>	<i>Corno direito (%)*</i>
M0 (n=20)	13,74 (12,00)	13,21 (10,03)	10,28 (8,62)
G1 <sub>C</sub> (n=13)	15,11 (6,35)	15,50 (5,50)	15,89 (6,86)
MPA (n = 13)	14,62 (8,42)	15,00 (6,20)	12,40 (10,21)

\*Média (Desvio padrão) (%)

M0 – momento imediatamente antes a inoculação intrauterina. G1<sub>C</sub> – Momoento C (48 horas após inoculação intrauterina) do Grupo 1. MPA – Momento pós antibioticoterapia.

Após o tratamento com infusão intrauterina de antibiótico, a vascularização observada apresentou redução em comparação ao momento C do Grupo 1 no corpo e cornos uterinos. Entretanto, não atingiram a vascularização apresentada em M0. Apesar disso, não

houve crescimento bacteriano nas amostras obtidas após o tratamento com infusão intrauterina com antibiótico.

Novos estudos visando estabelecer parâmetros de perfusão vascular são necessários e servirão de ferramenta para identificação de éguas com ambiente uterino inadequado ao desenvolvimento embrionário.



## 7 Conclusões

---

Nas condições deste estudo concluiu-se que:

- ✓ O útero apresentando endometrite clínica apresentou perfusão vascular característica;
- ✓ Fitoclean<sup>®</sup> foi capaz de reduzir a perfusão vascular uterina, apesar de não eliminar o crescimento bacteriano nas amostras uterinas;
- ✓ O antibiótico utilizado (Gentamicina) eliminou o crescimento bacteriano uterino, mesmo não reduzindo totalmente a perfusão vascular;
- ✓ A ultrassonografia color Doppler associada a cultura endometrial, antibiograma e citologia uterina é mais uma ferramenta para auxiliar no diagnóstico de endometrite subclínica em éguas.

## 8 Referências<sup>2</sup>

---

ABDELNABY, E.A.; EL-MAATY, A.M.A., RAGAB, R.S.A.; SEIDA, A. A. Assessment of uterine vascular perfusion during the estrous cycle of mares in connection to circulating leptin and nitric oxide concentrations. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 39, p. 25–32, 2016.

ACOSTA, T.J.; HAYASHI, K. G.; OHTANI, M.; MIYAMOTO, A. Local changes in blood flow within the preovulatory follicle wall and early corpus luteum in cows. **Reproduction**, v. 125, n. 5, p. 759-767, 2003.

ACOSTA, T.J.; BEG, M. A.; GINTHER, O. J. Aberrant blood flow área and plasma gonadotropin concentrations during the development of dominant-sized transitional anovulatory follicles in mares. **Biology of Reproduction**, v. 71, n. 2, p. 637-642, 2004.

ALONSO, M.A.; SILVA, L.A.; AFFONSO, F.J.; LEMES, K.M.; CELEGHINI, E.C.C.; LANÇONI, R.; CARVALHO, H.F.; FLOREZ-RODRIGUEZ, S.A.; RODRIGUES, M.P.; LEITE, T.G.; ARRUDA, R.P. Effect of hCG application in three different moments of the estrous cycle on ovarian and uterine vascularization and serum progesterone concentration. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 34, n. 1, p. 154, 2014.

ANDRADE, M.M.J. Antiinflamatórios Esteroidais. In: SPINOSA, H.S. Farmacologia aplicada à medicina veterinária. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 752p., p. 240-250, 2002.

ARAÚJO, A. G. Avaliação da resposta inflamatória em útero de éguas após diferentes técnicas de inseminação artificial utilizando sêmen asinino. Niterói. 2014. 71f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Fluminense, 2014.

BARBACINI, S.; NECCHI, D.; ZAVAGLIA, G.; SQUIRES, E. L. Retrospective study on the incidence of postinsemination uterine fluid in mares inseminated with frozen/thawed semen. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 23, n. 11, p. 493-496, 2003.

BARBACINI, S.; NECCHI, D.; ZAVAGLIA, G.; SQUIRES, E.L. Retrospective study on the

---

<sup>2</sup> Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT NBR 6023)

incidence of postinsemination uterine fluid in mares inseminated with frozen/thawed semen. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 23, n. 11, p. 493-496, 2003.

BARBOSA, C. C.; SILVA, L. D. M. Ultrassonografia Doppler para avaliação reprodutiva de fêmeas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, n. 4, p. 220-224, 2012.

BOLLWEIN, H.; MAYER, R.; STOLLA, R. Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow during early pregnancy in mares. **Theriogenology**, v. 60, n.4, p. 597–605, 2003.

BOLLWEIN, H.; SOWADE, C.; STOLLA, R. The effect of semen extender, seminal plasma and raw semen on uterine and ovarian blood flow in mares. **Theriogenology**, v. 60, n. 4, p. 607–616, 2003b.

BOLLWEIN, H.; WEBER, F.; WOSCHÉE, I.; STOLLA, R. Transrectal Doppler sonography of uterine and umbilical blood flow during pregnancy in mares. **Theriogenology**, v. 61, n. 2, p. 499–509, 2004.

BRENDEMUEHL, J.P. Effect of Oxytocin and PGF<sub>2α</sub> on luteal formation, function, and pregnancy rates in mares. **Theriogenology**, v.58, p. 623-626, 2002.

BRINSKO, S.; BLANCHARD, T.; VARNER, D.; SCHUMACHER, J.; LOVE, C. Transrectal Ultrasonography in Broodmare Practice. In: BRINSKO, S.; BLANCHARD, T.; VARNER, D.; SCHUMACHER, J.; LOVE, C. **Manual of Equine Reproduction**. Missouri: Elsevier Health Sciences, 336p. cap. 5, p. 65, 2011.

BOHN, A.A.; FERRIS, R.A.; MCCUE, P.M. Comparison of equine endometrial cytology samples collected with uterine swab, uterine brush and low-volume lavage from healthy mares. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 43, n. 4, p. 594–600, 2014.

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, n. 7, p. 1093-1100, 2008.

CAMOZZATO, G. C.; CAZALES, N.; PINHEIRO, E. M.; WOLF, C. A.; GARBADE, P.; JOBIM, M. I.; GREGOR, R. M.; MATTOS, R. C. Endometritis in mares experimentally infected with three different strains of E. coli. **Pferdeheilkunde**, v. 30, n.1, p. 57-60, 2014.

CAMPBELL, M.L.H.; ENGLAND, G.C.W. A comparison of the ecbolic efficacy of intravenous and intrauterine oxytocin treatments. **Theriogenology**, v. 58, n. 2-4, p. 473–477, 2002.

CÂNDIDO, L.C. **Nova abordagem no tratamento de feridas**. São Paulo: SENAC, p. 2001.

CANESIN, H.S. Caracterização da hemodinâmica uterina de éguas durante o ciclo estral. Botucatu. 2013. 108f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. 2013.

CANISSO, I.F.; STEWART, J.; COUTINHO DA SILVA, M.A. Endometritis: managing persistent post-breeding endometritis. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 32, n.3, p. 465-480, 2016.

CARNEVALE, E. M.; GINTHER, O. J. Relationships of age to uterine function and reproductive efficiency in mares. **Theriogenology**, v. 37, n. 5, p. 1101-1115, 1992.

CARVALHO, C.F.; CHAMMAS, M.C.; CERRI, G.G. Princípios físicos do Doppler em ultrassonografia. **Ciência Rural**, v.38, n. 3, p.872-879, 2008.

CAUSEY, R.C. Making sense of equine uterine infections: the many faces of physical clearance. **The Veterinary Journal**, v. 172, n. 3, p. 405-421, 2006.

CHIEN, L.W.; LEE, W.S.; AU, H.K.; TZENG, C.R. Assessment of changes in utero–ovarian arterial impedance during the peri-implantation period by Doppler sonography in women undergoing assisted reproduction. **Ultrasound in Obstetrics and Gynecology**, v.23, n. 5, p.496-500, 2004.

CHRISTOFFERSEN, M.; WOODWARD, E.; BOJESSEN, A. M.; JACOBSEN, S.; PETERSEN, M. R.; TROEDSSON, M. H.; LEHN-JENSEN, H. Inflammatory responses to induced infectious endometritis in mares resistant or susceptible to persistent endometritis. **BMC veterinary research**, v. 8, n. 1, p. 41, 2012a.

CHRISTOFFERSEN, M.; WOODWARD, E. M.; BOJESSEN, A. M.; PETERSEN, M. R.; SQUIRES, E. L.; LEHN-JENSEN, H.; TROEDSSON, M. H. T. Effect of immunomodulatory therapy on the endometrial inflammatory response to induced infectious endometritis in

susceptible mares. **Theriogenology**, v. 78, n. 5, 991-1004, 2012b.

CLSI- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria isolated from animals. Approved standards. VET0-A4, **Clinical and Laboratory Standards Institute**, Wayne, Pa, 2013.

COCCHIA, N.; PACIELLO, O.; AULETTA, L.; UCCELLO, V.; SILVESTRO, L.; MALLARDO, K.; PARAGGIO, G.; PASOLINI, M. P. Comparison of the cytobrush, cottonswab, and low-volume uterine flush techniques to evaluate endometrial cytology for diagnosing endometritis in chronically infertile mares. **Theriogenology**, v. 77, n. 1, p. 89-98, 2012.

CHRISTOFFERSEN, M.; BRANDIS, L.; SAMUELSSON, J.; BOJESEN, A.M.; TROEDSSON, M.H.T.; PETERSEN, M.R. Diagnostic double-guarded low volume uterine lavage in mares. **Theriogenology**, v. 83, n. 2, p. 222–227, 2015.

DAS, S.; MISHRA, B.; GILL, K.; ASHRAF, M. S.; SINGH, A. K.; SINHA, M.; DEY, S. Isolation and characterization of novel protein with anti-fungal and anti-inflammatory properties from *Aloe vera* leaf gel. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.48, n.1, p.38-43, 2011.

DASCANIO J.J. How and when to treat endometritis with systemic or local antibiotics. In: 57<sup>th</sup> Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners, 2011. **Proceedings...**, San Antonio, Texas, p. 24-31, 2011.

DASCANIO, J.J. Doppler ultrasonography. In: DASCANIO, J.J.; MCCUE, P.M. Equine reproductive procedures. Aspen: Wiley Blackwell, 560p, cap. 63, p. 208, 2014.

DASCANIO, J.J.; FERRIS, R. Uterine cytology collection: swab/brush. In: DASCANIO, J.J.; MCCUE, P.M. Equine reproductive procedures. Aspen: Wiley Blackwell, 560p, cap. 17, p. 58 - 62, 2014.

DEFONTIS, M.; VAILLANCOURT, D.; GRAND, F.X. Comparison of three methods of sampling for endometrial cytology in the mare. **Tierärztliche Praxis Großtiere**, v. 39, n.3, p. 171–175, 2011.

DELL'AQUA, J.A.; PAPA, F.; LOPES, M.D.; ALVARENGA, M.A.; MACEDO, L.P.; MELO, C.M. Modulation of acute uterine inflammatory response after artificial insemination with equine frozen semen. **Animal Reproduction Science**, v. 94, n. 1-4, p. 270–273, 2006.

DIMOCKS, W. W.; EDWARDS, P.R. Bacteria of the genital tract of mares and the semen of the stallions and their relation to breeding efficiency. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 64, p. 288-298, 1923.

DUARTE, M.C.T. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil. **Revista Multiciência**, v.7, n.1, 2006.

DUARTE M.C.T.; FIGUEIRA, G.M., SARTORATTO, A.; REHDER, V.L.G.; DELARMELINA, C. Anti-Candida activity of essential oils and extracts from native and exotic medicinal plants used in Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 97, p.305-311, 2005.

ĐURIČIĆ, D.; VALPOTIĆ, H.; SAMARDŽIJA, M. Prophylaxis and therapeutic potential of ozone in buiatrics: current knowledge. **Animal Reproduction Science**, v. 159, p. 1-7, 2015.

FERREIRA, J.C.; GASTAL, E. L.; GINTHER, O.J. Uterine blood flow and perfusion in mares with uterine cysts: effect of the size of the cystic area and age. **Reproduction**, v. 135, n. 4, p. 541–550, 2008.

FERREIRA, J.C.; IGNÁCIO, F.S.; MEIRA, C. Uterine vascular perfusion and spectral-Doppler measurements during early gestation in mares: new concepts of evaluation. **Animal Reproduction Science**, v. 121, n. 1/2, p. 281-283, 2010.

FERREIRA, J.C. Influência das alterações degenerativas endometriais e da idade na hemodinâmica do trato reprodutivo de éguas após a inseminação artificial e durante as fases iniciais do desenvolvimento embrionário. Botucatu. 2012. 175f. Tese (Doutorado). Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, 2012.

FERRIS, R. A.; FRISBIE, D.D.; MCCUE, P.M. Use of mesenchymal stem cells or autologous conditioned serum to modulate the inflammatory response to spermatozoa in mares. **Theriogenology**, v. 82, n. 1, p. 36-42, 2014.

FERRIS, R. A. Endometritis: diagnostic tools for infectious endometritis. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 32, n. 3, p. 481-498, 2016.

FERRIS, R. A. **Antibiotic and non-antibiotic combinations for the treatment of biofilm associated bacterial endometritis in mares**. Colorado State University: Equine Reproduction Laboratory. 2017. Disponível em: <http://csu-cvmb.colostate.edu/Documents/erl-biofilm-therapy-recommendation.pdf>. Acesso em: 23 de abril de 2017.

FLEURY, P.D.C.; ALONSO, M.A.; SOUSA, F.A.C.; ANDRADE, A.F.C.; ARRUDA, R.P. Uso da gonadotrofina coriônica humana (hCG) visando melhorar as características reprodutivas e fertilidade de receptoras de embriões equinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.31, n.1, p.27-31, 2007.

FRAZER, G. S.; ROSSOL, T. J.; THRELFALL, W. R.; WEISBRODE, S. E. Histopathologic effects of dimethyl sulfoxide on equine endometrium. **American Journal of Veterinary Research**, v. 49, n. 10, p. 1774-1781, 1988.

FRONTOSO, R.; DE CARLO, E.; PASOLINI, M. P.; VAN DER MEULEN, K.; PAGNINI, U.; IOVANE, G.; DE MARTINO, L. Retrospective study of bacterial isolates and their antimicrobial susceptibilities in equine uteri during fertility problems. **Research in Veterinary Science**, v. 84, n. 1, p. 1-6, 2008.

GÜZEL-SEYDIM, ZEYNEP; BEVER, PAUL I.; GREENE, ANNEL K. Efficacy of ozone to reduce bacterial populations in the presence of food components. **Food Microbiology**, v. 21, n. 4, p. 475-479, 2004.

GINTHER, O.J; UTT, M.D. Doppler ultrasound in equine reproduction: principles, techniques, and potential. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 24, n. 12, p. 516-526, 2004.

GINTHER, O.J. Ultrasonic imaging and animal reproduction: Color-Doppler ultrasonography – Book 4. Madison: Equiservices Publishing, 258p, 2007a.

HERMSTEINER, M.; ZOLTAN, D.R.; DOETSCH, J.; RASCHER, W.; KUENZEL, W. Human chorionic gonadotropin dilates uterine and mesenteric resistance arteries in pregnant

and nonpregnant rats. **European Journal of Physiology**, v. 439, n. 1, p. 186–194, 1999.

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

HURTGEN, J.P. Pathogenesis and treatment of endometritis in the mare: a review. **Theriogenology**, v.66, n. 3, p.560-566, 2006.

JAUNIAUX, E.; JURKOVIC, D.; DELOGNE-DESNOEK, J.; MEURIS, S. Influence of human chorionic gonadotropin, oestradiol and progesterone on uteroplacental and corpus luteum blood flow in normal early pregnancy. **Human Reproduction**, v. 7, n. 10, p. 1467–1473, 1992.

KAWAKAMA, J. et al. Física. In: CERRI, G.G.; ROCHA, D.C. *Ultra-sonografia Abdominal*. São Paulo: Sarvier, cap.1, p.1-14, 1993.

KENNEY, R.M.; DOIG, P.A. Equine endometrial biopsy. Current therapy in theriogenology. Philadelphia: WB Saunders; p. 723–729, 1986.

KHAN, F. A.; CHENIER, T. S.; MURRANT, C. L.; FOSTER, R. A.; HEWSON, J.; SCHOLTZ, E. L. Dose-dependent inhibition of uterine contractility by nitric oxide: A potential mechanism underlying persistent breeding-induced endometritis in the mare. **Theriogenology**, v. 90, n. 1, p. 59-64, 2017.

KONEMAN, E.W.; ALLEN, S.D.; JANDA, W.M.; SCHRECKENBERGER, P.C.; WINN JR., W.C. 2008. **Diagnóstico Microbiológico**. 5ª ed. Rio de Janeiro. MEDSI, 1465p., 2008.

KUZUYA, H.; TAMAI, I.; BEPPU, H.; SHIMPO, K.; CHIHARA, T. Determination of aloenin, barbaloin and isobarbaloin in *Aloe species* by micellar electrokinetic chromatography. **Journal of Chromatography**. v.752, n.1, p.91-97, 2001.

LEBLANC, M.M. The equine endometrium and the pathophysiology of endometritis. In: Reproductive Pathology Symposium, 1997. **Proceedings...**, Hastings, NE : Association Offices, p.78-84, 1997.

LEBLANC, MM. Persistent mating induced endometritis. In: Robinson, N.E. (ed.) *Current*



therapy in equine medicine 5. Philadelphia: WB Saunders, 2003. p.234-237.

LEBLANC, M.M.; MAGSIG, J.; STROMBERG, A.J. Use of a low-volume uterine flush for diagnosing endometritis in chronically infertile mares. **Theriogenology**, v. 68, n. 3, p. 403–412, 2007.

LEBLANC, M.M.; CAUSEY, R.C. Clinical and Subclinical Endometritis in the Mare: Both Threats to Fertility. **Reproduction in Domestic Animals**. v.44, n.3, p.10–22, 2009.

LEBLANC, M.M. Advances in the diagnosis and treatment of chronic infectious and post-mating-induced endometritis in the mare. **Reproduction in Domestic Animals**, v.45, n. 2, p. 21–27, 2010.

LEBLANC, M.M. Antibiotic use in equine reproduction: local versus systemic therapy. In: 18<sup>th</sup> Annual Meeting of the Italian Association of Equine Veterinarians, 2012... **Proceedings**, Bologna, Italy, n. 3-5, p. 62-66, 2012.

LEMES, K. M.; SILVA, L. A.; CELEGHINI, E.C.C.; ALONSO, M.A.; PUGLIESI, G.; CARVALHO, H.F.; AFFONSO, F.J.; SILVA, A.D.F.; LEITE, A.T.G.; ARRUDA, R. P. Follicular development and ovarian blood flow in mares with early or late ovulation postpartum. **Reproduction, Fertility and Development**, vol. 27, n. 1, p. 178-179, 2015.

LEY, W.B.; BOWEN, J.M.; SPONENBERG, D.P.; LESSARD, P.N. Dimethyl sulfoxide intrauterine therapy in the mare: effects upon endometrial histological features and biopsy classification. **Theriogenology**, v. 32, n.2, p. 263–276, 1989.

LEY, W.B. Reprodução em éguas para veterinários de equinos. 1<sup>a</sup> ed., São Paulo: Editora Roca, 220p., 2006.

LIMA, J. C. S.; MARTINS, D. T. O.; DE SOUZA, P. T. Jr. Experimental evaluation of stem bark of *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville for anti-inflammatory activity. **Phytotherapy Research**, v. 12, n. 3, p. 212-220, 1998.

LIU, I.K.M.; TROEDSSON, M.H.T. The diagnosis and treatment of endometritis in the mare: yesterday and today. **Theriogenology**, v.70, n. 3, p.415-20, 2008.

LIVINI, M.; ZAMBONI, A.; NECCHI, D. Effect of pre-insemination uterine lavage on fertility in a population of subfertile mares. In: **Proceedings of the 59th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners, Nashville, Tennessee, USA, 7-11 December 2013**. American Association of Equine Practitioners (AAEP), 2013. p. 514-516.

LONCAR, K. D.; FERRIS, R. A.; MCCUE, P. M.; BORLEE, G. I.; HENNET, M. L.; BORLEE, B. R. *In Vitro* biofilm disruption and bacterial killing using nonantibiotic compounds against gram-negative equine uterine pathogens. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 53, p. 94-99, 2017.

MADELLA-OLIVEIRA, A.F.; QUIRINO, C.R.; PACHECO, A. Principais hormônios que controlam o comportamento reprodutivo e social das fêmeas ruminantes – Revisão. **PUBVET**, v.8, n.3, 2014.

MALSCHITZKY, E.; JOBIM, M.I.M.; GREGORY, R.M. MATTOS, R.C. Endometrite na égua, novos conceitos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.31, n.1, p.17-26, 2007.

MCCUE, P. Endometrial biopsy. In: DASCANIO, J.J.; MCCUE, P.M. Equine reproductive procedures. Aspen: Wiley Blackwell, 560p, cap. 19, p. 69 - 70, 2014.

MOREL, M. D.; LAWLOR, O.; NASH, D. M. Equine endometrial cytology and bacteriology: effectiveness for predicting live foaling rates. **The Veterinary Journal**, v. 198, n.1, 206-211, 2013.

NIELSEN, J.M.; NIELSEN, F.H.; PETERSEN, M.R. Diagnosis of equine endometritis – microbiology, cytology, and histology of endometrial biopsies and the correlation to fertility. **Pferdeheilkunde**, v. 28, n. 1, p. 8–13, 2012.

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

OLIVEIRA, B.M.M.; ARRUDA, R.P.; THOMÉ, H.E.; MATURANA FILHO, M.; OLIVEIRA, G.C.; GUIMARÃES, C.F.; SILVA, L.A.; NICHI, M.; CELEGHINI, E.C.C. Artificial insemination causes uterine hemodynamic alterations in suckled beef cows

subjected to an ovulation synchronization program. **Livestock Science**, v. 167, n. 9, p. 449-454, 2014.

OLIVEIRA, B.M.M; ARRUDA, R.P.; THOMÉ, H.E.; MATURANA FILHO, M.; OLIVEIRA, G.; GUIMARÃES, C.; SILVA, L.A.; NICHI, M.; CELEGHINI, E.C.C. Fertility and uterine hemodynamic in cows after artificial insemination with semen assessed by fluorescent probes. **Theriogenology**, v. 82, n. 5, p. 767-772, 2014b.

OUSEY, J.C.; KÖLLING, M.; NEWTON, R.; WRIGHT, M.; ALLEN, W. R. Uterine haemodynamics in young and aged pregnant mares measured using Doppler ultrasonography. **Equine Veterinary Journal**, v. 44, supl. 41, p. 15-21, 2012.

OVERBECK, W.; WITTE, T.S.; HEUWIESER, W. Comparison of three diagnostic methods to identify subclinical endometritis in mares. **Theriogenology** v. 75, n. 7, p. 1311–1318, 2011.

PASOLINI, M.P.; DEL PRETE, C.; FABBRI, S.; AULETTA, L. Endometritis and infertility in the mare – the challenge in equine breeding industry—a review. In: DARWISH, A.M. **Genital Infections and Infertility**, 1.ed. InTech, cap. 15, p. 1-45, 2016.

PEREIRA, J. V.; BERGAMO, D. C. B.; PEREIRA, J. O.; FRANÇA, S. D. C.; PIETRO, R. C. L. R.; SILVA-SOUSA, Y. T. C. Antimicrobial activity of *Arctium lappa* constituents against microorganisms commonly found in endodontic infections. **Brazilian Dental Journal**. v.16, n.3, p.192-196, 2005.

PEREIRA, R.; SILVA, E.; IGNÁCIO, F.; LACERDA, T.; MEIRA, C.; COELHO, C. Utilização de ultrassonografia modo doppler como diagnóstico complementar da endometrite em éguas: relato de caso. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v.23, n.1, p. 1-14, 2014.

PETERSEN M.R.; JESPER, M.N.; HENRIK, L.J.; BOJESEN, A.M. Streptococcus equi subspecies zooepidemicus resides deep in the chronically infected endometrium of mares. **Clinical Theriogenology**. v.1, n. 1, p.393-409, 2009.

PETERSEN, M.R.; SKIVE, B.; CHRISTOFFERSEN, M.; LUD., K.; NIELSEN, J.M.; TROEDSSON, M.H.T. BOJESEN, A.M. Activation of persistent Streptococcus equi

subspecies *zooeconomicus* in mares with subclinical endometritis. **Veterinary Microbiology**, v. 179, n. 1–2, p. 119–125, 2015.

PRYIA, K.S.; ARUMUGAM, G.; RATHINAM, B.; WELLS, A.; BABU, M. *Celosia argentea* Linn. Leaf extract improves wound healing in a rat burn wound model. **Wound Repair and Regeneration**, v.12, n.6, p.618-625, 2004.

RAZIK, M.A.; FARAG, M.A.H.; SHETA, M. Uterine and ovarian arteries blood flow during the mid luteal phase in women with unexplained infertility. **Middle East Fertility Society Journal**, v. 20, n. 3, p. 209–212, 2015.

REGHINI, M.F.S.; NETO, C. R., SEGABINAZZI, L. G., CHAVES, M. M. B. C., CAMILA DE PAULA, F., BUSSIERE, M. C. C.; DELL'AQUA Jr, J. A.; PAPA, F. O.; ALVARENGA, M. A. Inflammatory response in chronic degenerative endometritis mares treated with platelet-rich plasma. **Theriogenology**, v. 86, n. 2, p. 516-522, 2016.

RESENDE, H.L. Comparação da perfusão vascular folicular, luteal, uterina e perfil hormonal plasmático entre éguas jovens e idosas suplementadas ou não com L-Arginina. Botucatu. 2014. 118f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, 2014.

REZENDE, H.A., COCCO M.I.M. A utilização de fitoterapia no cotidiano de uma população rural. **Revista Escola Enfermagem USP**. v. 36, n. 3, p. 282-288, 2002.

RICKETTS, S. W.; ALONSO, Silvia. The effect of age and parity on the development of equine chronic endometrial disease. **Equine Veterinary Journal**, v. 23, n. 3, p. 189-192, 1991.

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

SANCHES, A.C.C.; LOPES, G.C.; NAKAMURA, C.V.; DIAS FILHO, B.P.; MELLO, J.C.P.D. Antioxidant and antifungal activities of extracts and condensed tannins from *Stryphnodendron obovatum* Benth. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v.41, n.1, p.101-107, 2005.

- SCHIEBEL, G. **Untersuchungen über die bakterienflora im uterus steriler stuten.** Nieders. Staats-u. Univ.-Bibl., 1995.
- SCHOON, D.; SCHOON, H.A.; KLUG, E. Angioses in the equine endometrium–pathogenesis and clinical correlations. **Pferdeheilkunde**, v.15, n. 6, p.541–546, 1999.
- SCOGGIN, C.F. Endometritis: Nontraditional Therapies. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 32, n.3, p.499-511, 2016.
- SHAN, B.; CAI, Y. Z.; BROOKS, J. D.; CORKE, H. The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. **International Journal of food microbiology**, v. 117, n. 1, p. 112-119, 2007.
- SILVA, L.A.; GASTAL, E.L.; BEG, M.A.; GINTHER, O.J. Changes in vascular perfusion of the endometrium in association with changes in location of the embryonic vesicle in mares. **Biology Reproduction**, v. 72, n. 3, p. 755–761, 2005.
- SILVA, L. A.; SILVA, L.A.; GASTAL, E.L.; GASTAL, M.O.; BEG, M.A.; GINTHER, O.J. Relationship between vascularity of the preovulatory follicle and establishment of pregnancy in mares. **Animal Reproduction**, v. 3, n. 3, p. 339-346, 2006.
- SILVA, L.A.; GINTHER, O.J. Local effect of the conceptus on uterine vascular perfusion during early pregnancy in heifers. **Reproduction**, v. 139, n. 2, p. 453–463, 2010.
- STANTON, M.B.; STEINER, J.V.; PUGH, D.G. Endometrial cysts in the mare. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 24, n. 1, p. 14–19, 2004.
- STECKLER, D.; NAIDOO, V.; GERBER, D.; KÄHN, W. Ex vivo influence of carbetocin on equine myometrial muscles and comparison with oxytocin. **Theriogenology**, v.78, n. 3, 502-509, 2012.
- SUFFREDINI, I.B.; SADER, H.S.; GONÇALVES, A.G.; REIS, A.O.; GALES, A.C.; VARELLA, A.D.; YOUNES, R.N. Screening of antibacterial extracts from plants native to the Brazilian Amazon rain forest and Atlantic forest. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. v.37, n.3, p.379-84, 2004.

TROEDSSON, M.H.T. Uterine clearance and resistance to persistent endometritis in the mare. **Theriogenology**, v.52, n. 3, p.461-471, 1999.

TROEDSSON, M.H. Breeding-induced endometritis in mares. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v.22, n.3, p.705-712, 2006.

TUPPITS, U.; ORRO, T.; EINARSSON, S.; KASK, K.; KAVAK, A. Influence of the uterine inflammatory response after insemination with frozen-thawed semen on serum concentrations of acute phase proteins in mares. **Animal Reproduction Science**. v.146, n. 3, p.182-186, 2014.

TÜRKÇAPAR, A.F.; MORALOĞLU, Ö.; ÖZDENER, T.; SEÇKİN, B.; TONGUÇ, E.; VAR, T.; UĞUR, M. Assessment of changes in uterine and subendometrial blood flows by doppler sonography in women undergoing assisted reproduction. **Gynecology Obstetrics e Reproductive Medicine**, v.16, n. 2, p. 91 – 97, 2010.

VERMILLON, R.P. Basic physical principles. In: SNIDER, A.R.; SERWER, G.A. **Echocardiography in pediatric heart disease**, 2.ed. Missouri: Mosby, cap.1, p.1-10, 1997.

VERONESI, M.C.; CARLUCIO, A.; KINDHAL, H.; FAUSTINI, M.; BATTOCCHIO, M.; CEIROLI, F. Oxitocin-induced PGF $2\alpha$  release in mares with and without pos-breeding delayed uterine clearance. **Journal Veterinary Medicine**, v.53, n. 5, p. 259-262, 2006.

WAELECHI, R. O. Endometrial biopsy in mares under nonuniform breeding management conditions: prognostic value and relationship with age. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 31, n. 5, p. 379, 1990.

WILSHER, S.; ALLEN, W.R. The effects of maternal age and parity on placental and fetal development in the mare. **Equine Veterinary Journal**, v. 35, n. 5, p. 476-483, 2003.

WOODWARD, E.M.; TROEDSSON, M.H.T. Endometritis in old mares. **Pferdeheilkunde**, v. 30, n. 1, p. 53-56, 2014.

YANG, Y.J.; CHO, G.J. Factors concerning early embryonic death in thoroughbred mares in South Korea. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 69, n. 8, p. 787–792, 2007.

YILMAZ, O.T.; GUNDUZ, M.C.; DAL, G.E.; KURBANB, I.; ERZENGINA, O.M.;

UCMAKA, M. Is uterine blood flow influenced by hCG and mare age? **Animal Reproduction Science**, v.151, n. 3, p.182–185, 2014.

YUNES, R.A., PEDROSA, R.C., CECHINEL FILHO, V. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Química Nova**, v.24, n.1, p.147-152, 2001.

ZIECIK, A.J.; STANCHEV, P.D.; TILTON, J.E. Evidence for the presence of luteinizing hormone/human chorionic gonadotropin-binding sites in the porcine uterus. **Endocrinology**, v. 119, n. 3, p. 1159–1163, 1986.

ZOLLER, D.; LÜTTGENAU, J.; STEFFEN, S.; BOLLWEIN, H. The effect of isosorbide dinitrate on uterine and ovarian blood flow in cycling and early pregnant mares: a pilot study. **Theriogenology**, v. 85, n. 9, p. 1562–1567, 2016.

## 9ANEXOS

### Anexo I. Cor e intensidade dos pixels das imagens obtida em éguas nos momentos M0 e M1.

Égua	Momento	Utero		C. Esquerdo		C. Direito	
		Cor	Intensid	Cor	Intensid	Cor	Intensid
1	M0	5005	479920	4556	478809	1402	156960
	M1	6445	716640	5407	591376	8649	857288
2	M0	1858	179469	4996	586167	3218	318737
	M1	7814	734304	7156	693357	11041	1039894
3	M0	2705	264094	5297	514238	2376	276614
	M1					6530	671053
4	M0	569	64721	2055	216496	2333	222338
	M1	10884	1174134	1896	215183	9934	966349
5	M0	4914	502493	1413	147745	3943	392861
	M1	13467	1418254	11607	1118319	16643	1686461
6	M0	4344	484841	4265	438004	4572	454415
	M1	11441	1104743	7533	768622	8960	842378
7	M0	979	99058	2484	268160	2383	234459
	M1	6818	714021	2990	301908	4441	392507
8	M0	2570	248640	2758	281900	2995	323866
	M1	9637	1028897	255	232681	255	215659
9	M0	569	55542	3316	287662	1076	108409
	M1	5797	647687	3774	419007	3774	419009
10	M0	10441	1050907	8257	827155	8587	898145
	M1						
11	M0	3009	267729	6314	717409	2814	294315
	M1	18107	1678116	14585	1529765	8874	779660
12	M0	2924	325155	2635	289269	6616	648292
	M1	11944	1175123	8963	899942	10120	1059731
13	M0	2310	227169	15462	1524398	2229	221114
	M1	13456	1504058			12451	1385879
14	M0	5091	562152	3676	422264	7129	674449
	M1	7656	718673	9465	1003485	10690	972751
15	M0	5884	625963	3588	370777	6157	557707
	M1	12652	1321184	8169	869416	14204	1424287
16	M0	4059	436641	2173	233775	4135	467189
	M1	6347	652881	6453	689923	4078	394671
17	M0	4231	382682	4173	436672	2107	250964
	M1	4574	461139	8217	847148	32385	665189
18	M0	6300	603419	6799	656700	5868	592494



	M1	15947	1762753	17766	1893432	12008	1339212
<b>19</b>	M0	3072	340631	2221	204738		
	M1	9147	963220	13044	1321553	10977	1041956

**Anexo II.** Perfusão vascular endometrial individual e média obtida em éguas nos momentos M0 e M1.

<i>Éguas</i>	<i>Momentos</i>	<i>Útero (%)</i>	<i>Corno esquerdo (%)</i>	<i>Corno direito (%)</i>
<b>1</b>	M0	10	20	15
	M1	70	60	70
<b>2</b>	M0	10	15	15
	M1	80	80	60
<b>3</b>	M0	20	15	15
	M1	40	50	35
<b>4</b>	M0	10	30	20
	M1	90	80	65
<b>5</b>	M0	40	50	35
	M1	90	90	90
<b>6</b>	M0	10	15	25
	M1	70	50	30
<b>7</b>	M0	5	8	8
	M1	90	80	80
<b>8</b>	M0	5	8	5
	M1	85	70	90
<b>9</b>	M0	5	1	5
	M1	60	70	60
<b>10</b>	M0	5	10	5
	M1	85	90	85
<b>11</b>	M0	5	5	5
	M1	80	70	60
<b>12</b>	M0	20	10	20
	M1	90	60	70
<b>13</b>	M0	5	20	5
	M1	85	60	60
<b>14</b>	M0	5	20	10
	M1	50	45	50
<b>15</b>	M0	5	10	5
	M1	80	30	40
<b>16</b>	M0	20	15	25
	M1**	-	-	-
<b>17</b>	M0	20	15	20

	M1	60	35	30
<b>18</b>	M0	5	40	5
	M1	60	60	50
<b>19</b>	M0	25	20	20
	M1	60	60	50
<b>20</b>	M0	5	5	5
	M1	50	30	40
<i>Média ± Desvio padrão (%)</i>	M0	11,75±9,50 <sup>a*</sup>	16,60±11,90 <sup>a</sup>	13,40±8,95 <sup>a</sup>
	M1	72,37±15,93 <sup>b*</sup>	61,58±18,41 <sup>b</sup>	58,68±19,06 <sup>b</sup>

Houve diferença significativa entre M0 e M1 (P<0,01).

\*Letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente.

\*\* Dados corrompidos.

**Anexo III.** Incidência da perfusão vascular observada em cada porção do corpo uterino e cornos uterinos esquerdo e direito das éguas do experimento.

Momentos	Segmentos	Útero	Corno esquerdo	Corno direito
M0	1	11,1% (1/9)	22,2% (2/9)	22,2% (2/9)
	2	33,3% (3/9)	55,5% (5/9)	55,5% (5/9)
	3	55,5% (5/9)	22,2% (2/9)	22,2% (2/9)
M1	1	44,4% (4/9)	0	11,1% (1/9)
	2	33,3% (3/9)	88,8% (8/9)	88,8% (8/9)
	3	22,2% (2/9)	11,1% (1/9)	-

Não houve diferença significativa entre os diferentes momentos ( $P>0,05$ ).

**Anexo IV.** Incidência da perfusão vascular observada em cada porção do corpo uterino e cornos uterinos esquerdo e direito das éguas do grupo experimental 1.

Momentos	Segmentos	Útero	Corno esquerdo	Corno direito
T1	1	44,4% (4/9)	0%	11,1% (1/9)
	2	22,2% (2/9)	80,0% (8/10)	88,8% (8/9)
	3	33,3% (3/9)	10,0% (1/10)	0
T2	1	88,8% (8/9)	22,2% (2/9)	33,3% (3/9)
	2	11,1% (1/9)	44,4% (4/9)	44,4% (4/9)
	3	0	33,3% (3/9)	22,2% (2/9)
T3	1	12,5% (1/8)	12,5% (1/8)	37,5% (3/8)
	2	50,0% (4/8)	50,0% (4/8)	37,5% (3/8)
	3	37,5% (3/8)	37,5% (3/8)	25,0% (2/8)

**Anexo V.** Perfusão vascular endometrial das éguas após tratamento com Gentamicina.

<i>Éguas (n=13)</i>	<i>Útero (%)</i>	<i>Corno esquerdo (%)</i>	<i>Corno direito (%)</i>
<b>1</b>	50	40	20
<b>2</b>	10	20	20
<b>3</b>	40	30	20
<b>4</b>	40	50	30
<b>7</b>	10	15	10
<b>8</b>	10	10	15
<b>10</b>	5	10	5
<b>13</b>	50	50	40
<b>15</b>	50	40	30
<b>16</b>	20	30	30
<b>17</b>	5	20	10
<b>18</b>	20	5	10
<b>19</b>	10	5	20
<i>Média ± Desvio padrão (%)</i>	24,62 ± 18,42	25,00 ± 16,20	20,00 ± 10,21