

Ozonioterapia no tratamento de endometrite subclínica em éguas: uma pesquisa experimental

Ozoniotherapy in the treatment of subclinical endometritis in mares: an experimental research

Ana Claudia Camilo de Melo¹
Saulo Gonçalves Pereira²
Janaina Paula do Carmo³

62

Resumo: A endometrite é um dos fatores preponderantes para a classificação da espécie equina como a de menor fertilidade entre as espécies domésticas. Por essa razão, faz-se importante o estudo das formas de tratamento dessa patologia. Assim, o presente estudo objetivou realizar um experimento envolvendo a ozonioterapia como tratamento de endometrite subclínica em éguas. Para tanto, foi realizado um experimento utilizando cinco animais que foram submetidos à avaliação da conformação perineal, ultrassonografia, citologia endometrial e cultura microbiológica uterina antes e pós aplicação do ozonioterapia. Trata-se de uma pesquisa quali-quantitativa, descritiva e experimental, que se justificou pela necessidade de buscar tratamentos alternativos e eficientes visando à diminuição da utilização de antibióticos e a efetividade da utilização do ozônio em endometrite subclínica em éguas. Constatou-se, nos resultados, que o ozônio foi efetivo na interrupção do crescimento e destruição do agente *Echerichia coli*, presente no ambiente uterino, além de promover uma melhor resposta inflamatória do endométrio frente ao agente.

Palavras-chave: Endometrite. Equinos. Ozônio. O3

¹ Médica Veterinária, FPM, 2020.E-mail: ana_claudia_camilo@gmail.com

² Doutor em Saúde Animal no programa de Ciências Veterinárias (morfologia), da UFU; Mestre em Ciências Veterinárias na área de concentração - Saúde Animal (UFU). Graduado em Ciências Biológicas Bacharel/Licenciatura - Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM - UEMG), Editor da revista Scientia Generalis. É especialista prático em Gestão Ambiental pelo CRBio 04, conselho no qual é inscrito. Avaliador do banco de avaliadores da CAPES.E-mail: saulobiologo@yahoo.com.br

³ Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Viçosa em 2010, Especialização em Produção de Ruminantes pela Esalq-USP em 2014.E-mail: docarmojanaina@gmail.com

Recebido em 30/09/2022

Aprovado em 10/11/2022

Sistema de Avaliação: *Double Blind Review*



Abstract: Endometritis is one of the main factors for the classification of the equine species as the one with the lowest fertility among domestic species. For this reason, it is important to study the ways of treating this pathology. Thus, the present study aimed to conduct an experiment involving ozone therapy as a treatment for subclinical endometritis in mares. For that, an experiment was carried out using five animals that were submitted to the evaluation of the perineal conformation, ultrasound, endometrial cytology and uterine microbiological culture before and after ozone therapy application. This is a qualitative-quantitative, descriptive and experimental research, which was justified by the need to seek alternative and efficient treatments aimed at reducing the use of antibiotics and the effectiveness of the use of ozone in subclinical endometritis in mares. In the results, it was found that ozone was effective in stopping the growth and destruction of the agent *Echerichia coli*, present in the uterine environment, in addition to promoting a better inflammatory response of the endometrium to the agent.

Keywords: Endometritis. Equine. Ozonotherapy. O₃

INTRODUÇÃO

A equinocultura tem ganhado um grande espaço no mercado econômico, em que, de acordo com a Confederação Nacional da Agricultura, movimentou R\$ 16 bilhões em 2016. A espécie equina foi mencionada por Taub-dargatz.; Salman e Voss (1933) como a espécie menos fértil, e uma das causas desse baixo no índice de fertilidade são as afecções uterinas, sendo um exemplo delas a inflamação caracterizada no endométrio conhecida por endometrite. A endometrite é uma das principais causadoras de perdas econômicas na atividade e, para obter um diagnóstico correto, é necessária a realização de um conjunto de exames tratamento consiste na utilização de antibioticoterapia, correções cirúrgicas, antissépticos, imunomoduladores, agentes quelantes, mucolíticos, lavagens uterinas, e a utilização de terapia complementar, como o ozonioterapia (LEBLANC; CAUSEY, 2009).

Neste sentido, Vendruscolo (2017) apresentou em seu estudo a ação do ozônio como estimulante da resposta inflamatória, recrutando mais células de defesa e apresentando melhoria frente à agressão do agente. Já Scott (1963) demonstrou, em sua pesquisa, o efeito do ozônio sobre os microrganismos, alcançado a eliminação dos agentes presentes em suas amostras. Carneiro *et al.* (2018) concluiu que o ozônio só é efetivo na interrupção do crescimento e destruição do agente se os mesmos não possuem biofilme. Esse fato se dá devido ao ozônio não apresentar efeitos satisfatórios sobre a camada de proteção dos agentes.

É perceptível que se busca um entendimento cada vez maior sobre esse tipo de tratamento para a endometrite. Fica evidente a importância de se estudar terapias complementares, uma vez que os agentes etiológicos apresentam resistência aos tratamentos

convencionais. O ozônio, como terapia complementar, estimula e favorece condições para que o próprio organismo consiga debelar o agente sem o uso indiscriminado de medicações (TAKAKURA, 2020). Desta forma, optaria pela utilização de antibióticos somente em situações de extrema necessidade (BOCCI, 2000).

Assim, justificou-se a escolha de tal tema visto que há uma grande necessidade de se buscar tratamentos alternativos e eficientes que não sejam a utilização de antibióticos, visto que, optando-se por essa terapia, diminuir-se-ia, conseqüentemente, o custo e a liberação de resíduos no meio ambiente. Além disso, se faz necessário o estudo do ozônio e sua efetividade em endometrite subclínica, a fim de se diminuir as perdas embrionárias no plantel.

Objetivou-se, com a presente pesquisa, realizar um experimento envolvendo a ozonioterapia como tratamento de endometrite subclínica em éguas.

O artigo é caracterizado por uma pesquisa descritiva e experimental, de cunho qualitativo, que se utiliza de revisão bibliográfica para coleta de informações teóricas e embasadoras. Para tanto, utilizou-se como objeto e local de estudo o Haras Santo Antônio, localizado em Patrocínio, Minas Gerais, que disponibilizou cinco de seus animais para o presente estudo. Os animais passaram por avaliações como conformação perineal, ultrassonografia, citologia endometrial e cultura microbiológica antes e pós-aplicação das lavagens uterinas com soro ozonizado. As amostras intrauterinas coletadas foram analisadas nos laboratórios de microbiologia e citologia da Faculdade Patos de Minas. Após a execução do experimento, foi realizada a análise dos dados obtidos, sob a luz da bibliografia estudada, para se concluir e discutir acerca dos resultados alcançados.

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho está protocolizado e aprovado pela Comissão de Ética na Utilização de Animais da FPM pelo protocolo 003/2020.

Foram selecionadas cinco éguas da raça Mangalarga Marchador (Figura 1), com faixa etária de 06 a 19 anos, com suspeita de afecção uterina, pois apresentaram o histórico de repetições de cio frequentes e baixa de fertilidade.

Figura 1 – Animais utilizados na pesquisa

Fonte: (MELO, 2020)

Os animais utilizados não receberam nenhuma medicação durante o desenvolvimento da presente pesquisa. São procedentes do Haras Santo Antônio, localizado na zona rural de Patrocínio, em um local conhecido como Santo Antônio do Quebranzol, em Minas Gerais. As éguas estão dispostas juntas em um sistema de piquetes, e são utilizadas no programa reprodutivo do haras como doadoras de embrião.

A pesquisa tem caráter quali-quantitativo, que, segundo Reis (2009), carrega características qualitativas e quantitativas. Em seu aspecto qualitativo, objetiva interpretar e dar significado aos fenômenos estudados, sendo o principal resultado apresentado em formato de análise. O aspecto quantitativo está presente na representação e comparação dos resultados dos testes realizados com os animais antes e depois do tratamento.

O presente estudo se encaixa, quanto aos seus objetivos, na classificação de pesquisa descritiva, envolvendo uma tomada de conhecimento sobre o tema em questão, sendo o tratamento da endometrite equina com ozonioterapia. Trata da reunião e exposição de conhecimentos preexistentes, e a pesquisa de campo visa a complementar e enriquecer as constatações (REIS, 2009).

Quanto aos procedimentos adotados, é classificada como pesquisa experimental, que, segundo Gil (2017), é caracterizada quando se determina um objeto para estudo, faz-se a seleção ou determinação das variáveis que podem influenciá-lo, e elabora-se um experimento ou experimentos para observação dos efeitos das variáveis sobre o objeto. Na presente

situação, as variáveis analisadas são os agentes encontrados, o grau de inflamação caracterizado pelo número de neutrófilos por campo, a unidade formadora de colônia, e a conformação perineal, verificados nos testes realizados com o material de coleta antes e depois do tratamento com ozonioterapia.

Além da pesquisa bibliográfica, que fornece os subsídios para a conceituação e teoria relacionada ao tema, o outro instrumento de pesquisa utilizado foi o experimento, que, também de acordo com Gil (2017), é a escolha típica da pesquisa experimental, carregando suas mesmas características de determinação de um objeto para estudo e seleção ou determinação das variáveis que podem influenciá-lo.

O experimento foi realizado em três visitas ao Haras Santo Antônio. Na primeira visita ao Haras Santo Antônio, os animais foram levados um por vez ao tronco de contenção para iniciar a avaliação da conformação perineal. Em seguida, foi realizada a palpação retal seguido de ultrassonografia para avaliação de presença de edema uterino e líquido intrauterino. A região perineal foi higienizada por três vezes com água corrente e sabão neutro para prosseguir a coleta, a fim de diminuir as fontes de contaminação. Posteriormente, foi coletada uma amostra intrauterina utilizando escova citológica para a realização da citologia endometrial. Após a coleta, foi realizada uma nova coleta intrauterina utilizando um *swab* estéril depositado em meio *Stuart* para a realização da cultura microbiológica em laboratório.

Com o resultado da citologia endometrial e cultura microbiológica uterina realizadas no laboratório, nos dirigimos ao Haras Santo Antônio para a segunda visita. Os animais foram levados um por vez ao tronco de contenção para a realização da higienização da região perineal com água corrente e sabão neutro. Em seguida, realizamos a lavagem uterina das éguas com soro ozonizado, sendo soltas no piquete após o procedimento.

Sete dias depois da lavagem uterina com soro ozonizado, foi realizada a terceira visita ao Haras Santo Antônio. Os animais foram levados um por vez ao tronco de contenção para prosseguir com a palpação retal seguida de ultrassonografia. A região perineal foi higienizada com água corrente e sabão neutro para diminuir as fontes de contaminação. Foram coletadas novas amostras do material intrauterino, sendo utilizada a escova ginecológica para realização da citologia endometrial e o *swab* estéril para realização da cultura microbiológica uterina.

O material coletado na primeira e na terceira visita foi analisado em laboratório para comparação dos resultados. O procedimento é descrito em detalhes no capítulo seguinte, de resultados e discussão, sob o caráter do paralelo entre o experimento prático e a teoria estudada. Também os resultados da análise e comparação são apresentados no capítulo seguinte.

Resultados e discussão

Nos tópicos subsequentes, serão abordados os procedimentos realizados no experimento e a análise dos dados obtidos.

Procedimentos realizados

Os procedimentos realizados no experimento foram: Avaliação da Conformação Perineal, Ultrassonografia, Citologia Endometrial, Cultura Microbiológica Uterina, e Ozonioterapia. Cada um deles será abordado em sua execução e discutido a seguir.

67

Avaliação da Conformação Perineal

Conforme supramencionado, a avaliação da conformação perineal é importante, uma vez que o animal que apresenta conformação perineal irregular predispõe o surgimento de patologias como pneumovagina e urovagina, levando a infecções uterinas ascendentes como a endometrite (BRADECAMP, 2011).

Para iniciar a avaliação, foi seguido o procedimento recomendado por Mccue (2008) e Canisso *et al.* (2016). As fêmeas foram levadas ao tronco de contenção, uma por vez, para a realização da avaliação da conformação perineal. Durante o exame, foi avaliada a conformação vulvar do animal, sendo ela a primeira barreira física que impede a infecção, os lábios vulvares, o tônus muscular do períneo e a inclinação vulvar, a conformação do ânus e sua inclinação.

Ultrassonografia

Conforme supramencionado, a Ultrassonografia é importante para detectar e classificar o edema endometrial e a presença de líquido intrauterino, que são os principais achados clínicos sugestivos de endometrite (GINTHER; PIERSON, 1984; KATILA *et al.*, 2010).

Para iniciar o processo de Ultrassonografia, foi seguido o procedimento recomendado por Bowman (2011). As fêmeas foram conduzidas uma por vez ao tronco de contenção para a realização da palpação retal, ultrassonografia e coleta do material uterino. Foi realizado o

isolamento lateralmente da cauda do animal por meio de ataduras para facilitar o manejo e diminuir o risco de contaminação (FERRIS, 2014).

Para a realização da palpação retal, foi utilizada uma luva de acetato-vinilo de etileno (E.V.A.) siliconado longa tipo flex (Walmur®), própria para a atividade de palpação retal e inseminação. Para a realização da ultrassonografia utilizou-se o ultrassom veterinário Mindray DP-2200Vet®, conforme recomendado por Bastiani (2017).

Após a palpação retal e ultrassonografia, realizou-se a lavagem da região vulvar e perivulvar das éguas com detergente neutro (Clear Ypê®) e água corrente, que, conforme Oliveira (2018) contribui para diminuir o risco e fonte de contaminação durante a coleta do material uterino. Em seguida, foram secos com papel toalha. (FERRIS, 2016).

Citologia Uterina

Para a coleta do material uterino, utilizou-se uma luva de palpação para guiar a escova ginecológica (Provar ®) descartável e estéril pela vagina até a cérvix do animal. A escova ginecológica foi colocada dentro de uma camisa sanitária (IMV®) para que não entrasse em contato com as estruturas, diminuindo o risco de contaminação. Ao ser introduzido via cervical, utilizando uma pressão exercida pelo polegar, a escova ginecológica rompia a camisa sanitária e era exposta em contato com a mucosa uterina, e girado consecutivamente por três vezes para obtenção do material do lúmen uterino. O processo foi repetido por duas vezes com escovas ginecológicas diferentes em cada animal.

A escova ginecológica contendo o material uterino era pressionada sobre a lâmina para microscopia (Precision®) e, com movimentos giratórios, o conteúdo era depositado sobre a mesma. Após a deposição do conteúdo, a lâmina foi colocada imediatamente dentro do estojo porta lâmina Tubet e imersa ao Álcool Absoluto 99,3% (Santa Cruz®), identificada com o número do animal e data da coleta.

As lâminas foram destinadas ao Laboratório de Citologia da Faculdade Patos de Minas, situado no município de Patos de Minas, Minas Gerais, para a realização da coloração utilizando a Técnica de Papanicolau.

Os esfregaços foram classificados de acordo com Riddle *et al.* (2007). Para isso, foi determinado que escolhesse dez campos de alta potência aleatoriamente (em aumento de 400 vezes) para serem avaliados utilizando o número médio de neutrófilos polimorfonucleares encontrados a fim de estimar a gravidade da inflamação no endométrio.

O grau de inflamação é caracterizado segundo Carvalho *et al.* (2011) pela presença de

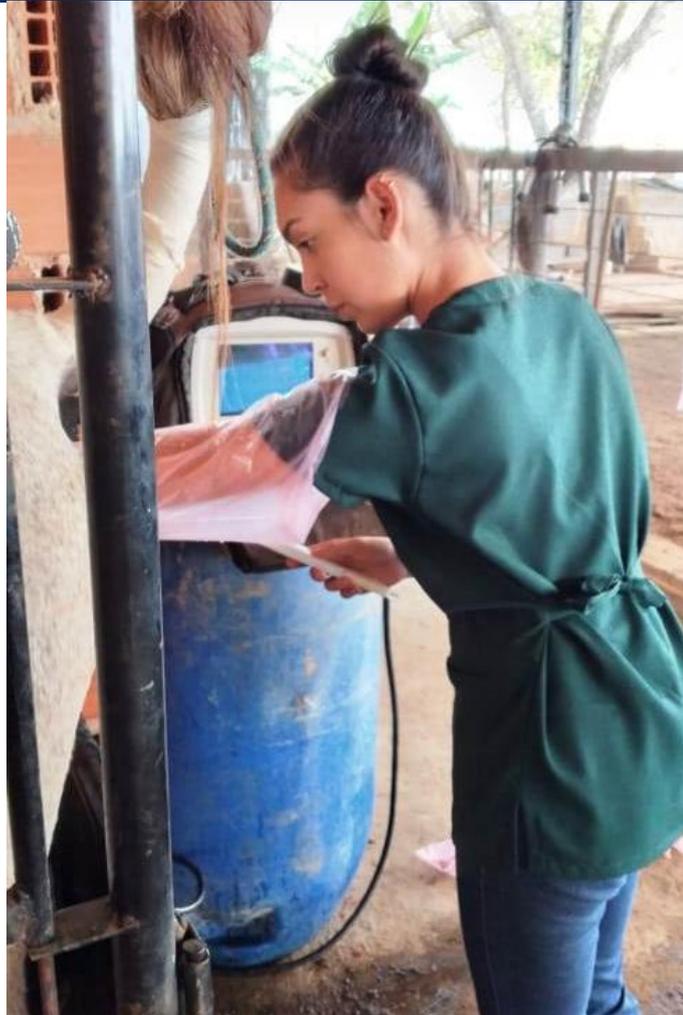
neutrófilos polimorfonucleares, sendo grau leve (1-2 neutrófilos por campo), moderado (3-5 neutrófilos por campo) e intenso (mais de 5 neutrófilos por campo).

Cultura Microbiológica Uterina

Após a coleta do material uterino com escova ginecológica destinada a citologia uterina, realizou-se a lavagem da região vulvar e perivulvar das éguas novamente com detergente neutro (Clear Ypê®) e água corrente, que, conforme Oliveira (2018) contribui para diminuir o risco e fonte de contaminação durante a coleta do material uterino. Em seguida, foram secos com papel toalha (FERRIS, 2016).

Para a coleta do material uterino, utilizou-se uma luva de palpção para guiar o *swab* (Provar®) estéril descartável pela vagina até a cérvix do animal (Figura 2). Após a introdução do *swab* no interior do útero da égua, rompeu-se a camisa sanitária e empurrou-se a haste interna com o cotonete para coleta do material. Após a coleta da amostra, puxa-se a haste de volta para dentro do tubo externo e retira-se o conjunto de dentro do útero com o cotonete protegido de contaminações (KOZDROWSKI *et al.*, 2015).

Figura 2 – Coleta do material intrauterino utilizando *swab* para a realização da cultura microbiológica uterina



Fonte: (MELO, 2020)

O *swab* contendo o material uterino destinado a cultura microbiológica foi depositado no meio de transporte *Stuart* e imediatamente fechado e identificado com o número do animal para a realização da cultura microbiológica em laboratório. Os materiais coletados foram acondicionados em caixa isotérmica e encaminhados para o Laboratório de Microbiologia da Faculdade Patos de Minas.

No laboratório de microbiologia, utilizando-se uma capela de fluxo laminar, as amostras coletadas com os *swabs* uterinos depositados no meio de transporte *Stuart*, respectivos de cada animal, foram inoculados em meio de cultura Ágar-Sangue em placas de Petri e identificados com o número de cada animal e data de coleta segundo Ricketts (2011) (Figura 3). As placas foram incubadas em estufa bacteriológica (Fanem502®) a 37,5 °C em meio de aerobiose por 24 horas.

Figura 3 – Capela de fluxo laminar utilizada para a realização de inoculação do material intrauterino em meio de cultura Ágar Sangue



Fonte: (MELO, 2020)

Após as 24 horas de inoculação observaram-se grande crescimento de colônias nas placas, hemólise, pigmentação e características morfológicas, descrito por Katila *et al.*, (2010) observando a presença de mais de uma particularidade nas placas que caracterizavam a presença de duas colônias diferentes, optou-se pela utilização da técnica de Semeadura por esgotamento em placas de Ágar-Sangue. As placas que apresentavam crescimento misto foram repicadas para novas culturas, a fim de se isolar os microrganismos e conseqüentemente, obter culturas puras.

Para a técnica de Semeadura, foram coletadas, com a alça de inoculação, as colônias que apresentavam características diferentes e isoladas, para serem inseridas em tubos de ensaio contendo 1 ml de soro fisiológico, com posterior homogeneização e inoculação em novas placas de Ágar-Sangue. Foi coletada uma gota do soro fisiológico contendo as colônias inoculadas, então disposta em lâminas para a realização da coloração de Gram (Figura 4), a fim de avaliar a morfologia dos microrganismos. Para leitura das lâminas utilizou-se microscópio binocular led (OlenK55-BA®) (QUINN *et al.*, 1994).

Figura 4 – Realização da coloração de Gram descrita por QUINN *et al.* (1994)



Fonte: (MELO, 2020)

As placas destinadas à técnica de Semeadura por Esgotamento foram levadas para a estufa em meio de aerobiose a 37,5°C. Foram identificadas de acordo com o número do animal e o número da colônia encontrada em cada amostra.

Após 24 horas de inoculação, foram percebidos diferentes crescimentos bacterianos e, novamente, foi realizada a coleta de colônias isoladas para serem inseridas em tubos de ensaio contendo 1 ml de soro fisiológico. Após esse processo, com o manuseio de uma alça de inoculação, o conteúdo foi inoculado no meio de cultura seletivo Cled e MacConkey.

Coletou-se uma gota do soro fisiológico contendo as colônias presente no tubo de ensaio e dispôs-se em lâmina para a realização da coloração de Gram (Figura 5). As placas inoculadas Cled Mackonkey foram levadas à estufa, a 37,5°C, onde permaneceram por 24 horas em meio de aerobiose. As placas foram identificadas com o número do animal e o número da colônia encontrada em cada amostra.

Figura 5 – Colônia sendo disposta em lâmina para realizar a coloração de Gram



Fonte: (MELO, 2020)

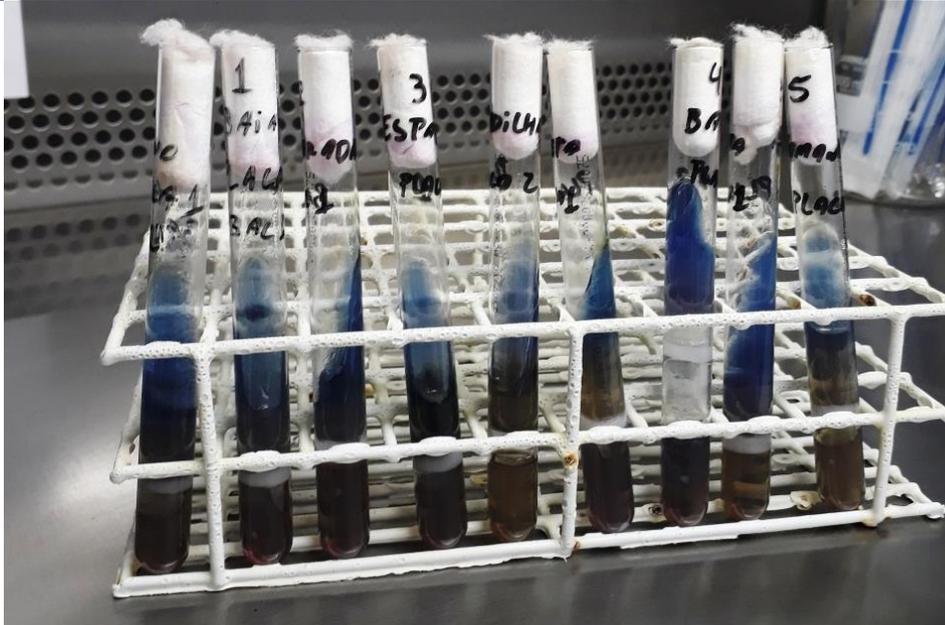
Observaram-se crescimentos bacterianos e suas características nos meios em que foram inoculados após 24 horas. A contagem da Unidade Formadora de Colônia foi realizada na superfície da placa de Petri. Foram realizadas as avaliações quanto a Unidades Formadoras de Colônias (UFC) segundo Katila *et al.*, (2002), sendo classificados em: nenhum crescimento (0 UFC), baixo crescimento (1 a 10 UFC), moderado crescimento (11 a 100 UFC), grande crescimento (maior que 100 UFC ou impossível contagem).

Para identificação das bactérias presentes na amostra, foi utilizada a Técnica de Rugai Modificado Renylab sugerido por Koneman *et al.* (1997), em que a interpretação se dá através da presença de Desaminação do L-Triptofano, Fermentação da Glicose, Fermentação da Sacarose, Produção de Gás a partir da Glicose, Hidrólise da Ureia, Descarboxilação da Lisina, Motilidade e Indol.

Coletou-se uma colônia isolada de cada amostra, usando uma agulha bacteriológica flambada para realização da picada na base do meio associado à técnica de estrias no ápice.

Após inoculação, os tubos foram levados para a estufa a 37°C em meio de aerobiose por 24 horas (Figura 6).

Figura 6 – Amostras inoculadas no meio Rugai Modificado Renylab



Fonte: (MELO, 2020)

Os tubos foram identificados de acordo com o número do animal e com o número da colônia encontrada.

1 Ozonioterapia

Após analisar os resultados das amostras uterinas, foi realizada a aplicação de ozônio nas cinco éguas selecionadas com suspeita de endometrite. As fêmeas foram conduzidas uma por vez ao tronco de contenção, onde foi realizada a lateralização com ataduras da cauda do animal e, em seguida, a lavagem da região vulvar e perivulvar com detergente neutro Clear Ypê® e água corrente, e seca com papel toalha (FERRIS, 2014).

Em seguida, com a mão protegida por luva E.V.A. siliconada longa tipo flex (Walmur®), foi introduzido um cateter de silicone estéril 32 FR (Bioniche Animal Health, Canadá) via vaginal, ultrapassando a cérvix e chegando ao útero. Foram utilizados 38 ml de ar para que o balão do cateter fosse inflado com a finalidade de mantê-lo no local para realização da lavagem uterina.

Optou-se pela realização da lavagem uterina antes da aplicação da solução ozonizada a fim de promover a limpeza física do endométrio e facilitar a ação do ozônio no ambiente uterino. Para isso, foi inserido um litro de soro Ringer Lactato (JP Farma®) e, em seguida, drenado por gravidade.

Para ozonizar a solução Ringer Lactato, foi utilizado um equipamento gerador de ozônio portátil modelo O&L 1.5 RM (Ozone&Life®). Foi utilizada a concentração de 27 µg

de O₃/ml, obtida por meio da regulagem do fluxômetro de entrada de O₂ em 0,25 litros por minuto na quinta potência da máquina. O equipo estéril foi acoplado à saída de mistura ozônio / oxigênio, onde foi injetado continuamente durante cinco minutos na parte inferior do frasco de Ringer Lactato, de maneira que o gás entrasse em contato com a solução e o gás residual fosse liberado por uma agulha descartável 40x12mm (Descarpack®) acoplada na parte superior do frasco (Figura 7).

Figura 7 – Cilindro de oxigênio acoplado ao gerador de ozônio para a ozonização da solução Ringer Lactato



Fonte: (MELO, 2020)

A deposição da solução ozonizada no útero da fêmea era realizada imediatamente após seu preparo, devido à instabilidade do gás ozônio em soluções aquosas. Durante o processo de deposição da solução ozonizada, era realizada a palpação retal com finalidade de exercer a massagem uterina para que o conteúdo entrasse em contato com todo o epitélio uterino.

A solução era inserida no útero perfazendo 1 litro, mantida por dez minutos e, posteriormente, drenada por gravidade. Concluída toda a drenagem da solução, eram retirados os 38 ml de ar que permaneciam no balão, para a remoção do cateter. Após a retirada do cateter, os animais eram soltos em seus respectivos piquetes. O procedimento foi realizado da mesma forma em cada animal.

Análise dos dados coletados

A partir dos procedimentos realizados, descritos nos tópicos anteriores, foi possível coletar e organizar dados referentes ao estado dos animais em momento anterior e posterior ao tratamento, para que pudessem ser comparados e analisados.

Os índices observados são: tipos de bactéria encontrados, número de colônias encontradas, e número de células inflamatórias.

Esses índices estão apresentados antes e depois dos procedimentos realizados, e os resultados são relacionados no Quadro 1:

Quadro 1 – Agentes encontrados nas culturas bacteriológicas

Animal	Antes ou depois do tratamento	Agentes encontrados	Grau de Inflamação (Nº de neutrófilos por campo)	Unidade Formadora de Colônia segundo Katila <i>et al.</i> (2002)	Conformação Perineal
1	Antes	<i>Streptococcus spp.</i> <i>Echerichia coli</i>	Moderado	Grande (> 100 UFC)	Irregular
	Depois	<i>Echerichia coli</i>	Leve	Moderado (11 a 100 UFC)	
2	Antes	<i>Echerichia coli</i>	Leve	Moderado (11 a 100 UFC)	Regular
	Depois	-	Leve	Nenhum crescimento	
3	Antes	<i>Proteus</i>	Leve	Grande (>100 UFC)	Regular
	Depois	<i>Enterobacter</i>	Moderado	Moderado (11 a 100)	
4	Antes	<i>Klebsiella spp.</i> <i>Echerichia coli</i>	Moderado	Grande (>100 UFC)	Irregular
	Depois	<i>Echerichia coli</i>	Leve	Moderado (11 a 100 UFC)	
5	Antes	<i>Echerichia coli</i>	Leve	Moderado	Regular
	Depois	-	Leve	Nenhum crescimento	

Fonte: da pesquisa, 2020.

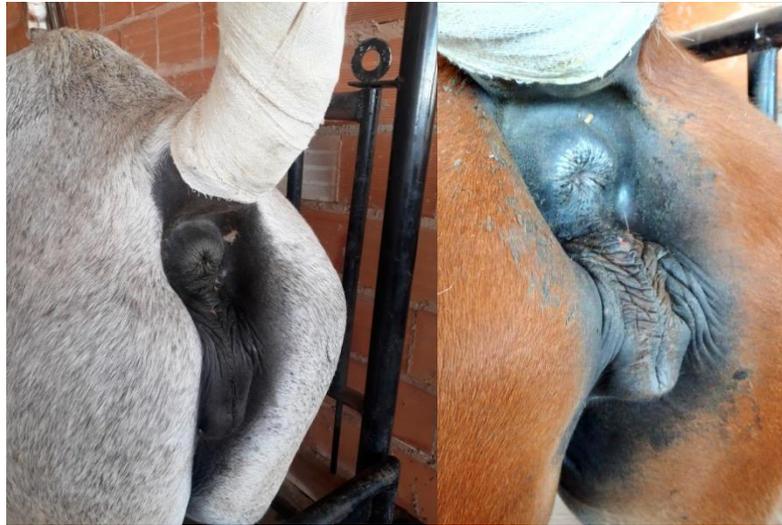
A partir do exame ultrassonográfico transretal, todos os animais foram classificados como negativos, ou seja, não apresentaram edema endometrial e/ou líquido intrauterino que caracterizasse um quadro de endometrite. Os edemas apresentados pelos animais foram condizentes com a fase do ciclo estral. Os resultados da presente pesquisa diferem com os resultados de Soares (2017). Em sua pesquisa, Soares demonstrou que 52% dos animais foram classificados como positivos, apresentando edema endometrial não condizente com a fase do ciclo estral, hiperedema e líquido intrauterino. Porém, Leblanc e Causey (2009) mencionam que animais que não manifestam sinais clínicos tipicamente associados a essa patologia sofrem de endometrite subclínica.

Os resultados do exame de cultura microbiológica uterina foram positivos para todos os animais avaliados. Observou-se que a presente pesquisa obteve resultado superior ao obtido por Carvalho *et al.* (2011) e Júnior (2016) que verificaram isolamento bacteriano respectivamente em 80,7%, 64,4%, 61,9% e 71,4%, dos animais que possuíam histórico de subfertilidade. Os resultados elevados podem ser justificados pelo fato de que a cultura microbiológica uterina não é utilizada como ferramenta para o diagnóstico de endometrite na rotina reprodutiva do haras, o que facilitaria o estabelecimento de tratamento específico para o agente encontrado. Outra hipótese que justifique esse aumento é a falta de higiene em procedimentos ginecológicos, visto que não se sabe o histórico reprodutivo anteriores dos animais utilizados na pesquisa, por se tratar de exemplares que vieram, em tempo anterior, de outro haras, ao qual não se tem acesso para obtenção de dados referentes ao histórico dos animais.

Os agentes encontrados na cultura microbiológica foram *Echerichia coli*, *Enterobacter sp.*, *Klebsiella sp.*, *Proteus sp.* e *Streptococcus sp.*, sendo os mesmos identificados por Riddle *et al.* (2007) em seus estudos. Os gêneros citados acima são comumente isolados no útero, sendo o de maior frequência a *Echerichia coli*, que apresentou compatibilidade no estudo realizado por Leblanc *et al.* (2007). O estudo de Oliveira (2018) difere com os resultados encontrados, uma vez que os microrganismos isolados com maior frequência foram *Klebsiella sp.* (17,8%), seguido por *Streptococcus sp.* (15,7%) e *Enterobacter sp.* (14,3%). A diferença dos resultados obtidos pode se dar ao fato de que os animais estão em localizações geográficas diferentes, ao que pode haver variações na ocorrência desses microrganismos. Outro fator citado por Threlfall e Immeegart (2000), que podem influenciar na diferença dos valores, é a conformação perineal irregular, levando o animal a desenvolver pneumovagina e urovagina. Essas irregularidades favorecem o desenvolvimento de uma infecção uterina em éguas.

Realizado a análise da conformação perineal, observou-se que os animais 1 e 4 apresentaram conformação irregular, caracterizada pela inclinação vulvar e retração do ânus, fazendo com que fezes e debrís caíssem diretamente na vulva. (Figura 8).

Figura 8 - Conformação perineal irregular dos animais de número 1 e 4 respectivamente



Fonte: (MELO, 2020)

Nas amostras microbiológicas desses mesmos animais, observou-se a presença do agente *Echerichia coli*. Os resultados aqui apresentados coincidem com os resultados de Moreno *et al.* (1972) e Threlfall e Immegart (2000), que concluem que a ocorrência do agente está intimamente ligada com defeitos anatômicos como pneumovagina e urovagina, que favorecem a veiculação do material fecal para o trato genital das éguas causando quadros de endometrite.

Diante da análise dos dados, observa-se que os animais 1, 2 e 4 apresentaram microrganismos diferentes isolados na amostra, o que caracteriza uma infecção mista. Os resultados da presente pesquisa são condizentes com os resultados de Oliveira (2018), que conseguiu isolar mais de um microrganismo nas amostras. Segundo Júnior (2016), endometrites caracterizadas por infecção mista apresentam maior potencial prejudicial ao endométrio e conseqüentemente necessitam de um tratamento direcionado.

Analisando a citologia endometrial dos animais utilizados na pesquisa, evidenciou-se que os processos inflamatórios do endométrio variaram de grau leve a moderado, sendo respectivamente os animais 2, 3 e 5, e 1 e 4. Os dados não condizem com os dados levantados por Papa *et al* (1993). A justificativa que pode ser levantada é que os animais utilizados nesta pesquisa possuem conformação perineal irregular, idade avançada e ausência de histórico

reprodutivo anterior.

A avaliação citológica demonstrou que os animais 1 e 4 apresentaram grau de inflamação do endométrio de caráter moderado. No animal de número 1, a cultura microbiológica uterina detectou infecção mista por agentes *Echerichia coli* e *Streptococcus sp.* Já no animal de número 2, os agentes isolados foram a *Echerichia coli* e *Klebsiella sp.* Os resultados coincidem com os encontrados por Carvalho *et al.* (2011), em que foi observada inflamação de grau moderado a intenso em todos os animais que apresentaram *Echerichia coli* e *Streptococcus sp.* na cultura microbiológica uterina. Essa associação entre o isolamento de *Echerichia coli* e a ocorrência de inflamação moderada a intensa foi estatisticamente significativa. Riddle *et al.* (2007) relaciona os dados citológicos e bacteriológicos e afirma que o isolamento de dois ou mais agentes bacterianos está relacionado à inflamação intensa endometrial.

Os resultados da citologia endometrial do animal 4, após a aplicação de ozônio, demonstraram que a inflamação (número de neutrófilos por campo) foi de grau leve a moderado. O resultado condiz com a pesquisa de Vendruscolo (2017), que observou também em seus resultados o aumento de células inflamatórias em ratos após a aplicação de ozônio. Segundo Bocci (2011), o ozônio possui efeitos sobre os neutrófilos polimorfosnucleares (PMNs), devido à sua ação estimuladora em aumentar a atividade fagocitária mediante estímulo direto sobre as células para produção e liberação de citocinas. Essas citocinas estimuladas podem também provocar liberação de mais células para potencializar a resposta imunológica frente ao agente.

A citologia endometrial dos animais 2 e 5 apresentaram inflamação de grau leve mesmo após a aplicação de ozônio. Valacchi e Bocci (1999) mencionam em seus estudos que o ozônio estimula a primeira linha de defesa orgânica no organismo, o que condiz com o resultado da presente pesquisa. Para obter uma melhor resposta imunológica frente ao agente e diminuir a reação inflamatória, são necessárias várias aplicações até alcançar o estímulo desejado (WRIGHT *et al.*, 1994).

Já os animais de número 1 e 4 apresentaram grau de inflamação moderado antes da aplicação de ozônio e, após, grau de inflamação leve. O resultado não condiz com o resultado mencionado por Bocci (2004), que, em seu estudo, observou que após a aplicação de ozônio houve um aumento de neutrófilos polimorfosnucleares. O que justifica essa diminuição de células inflamatórias nos resultados de citologia endometrial é a baixa dose utilizada na aplicação do ozônio. Riddle *et al.* (2007) descreve que, para se obter uma maior resposta imunológica, é necessário aumentar a dose, tornando a resposta ao ozônio dose-dependente. O

ozônio atua sobre a medula óssea e o aumento na contagem destas células pode estar associado ao estímulo provocado por ele, sendo quanto maior estimulação, maior a resposta imunológica.

Após a aplicação de ozonioterapia, dois animais, sendo eles de número 2 e 5, apresentaram resultados negativos em sua cultura microbiológica uterina. O presente estudo coincide com Oliveira (2018), em que 32,2% das amostras alcançaram resultados negativos. Duric Lipar e Samardzija (2014) comprovou também a eficiência do ozônio em vacas e, conseqüentemente, conseguiu aumentar a eficiência reprodutiva, apresentando, assim, o resultado negativo à cultura microbiológica uterina após a utilização de ozonioterapia. A justificativa do resultado apresentado é a capacidade do ozônio de provocar ações bactericidas sobre a bactéria, causando interrupção da integridade devido à oxidação dos fosfolipídios e lipoproteínas da membrana citoplasmática e parede celular.

Os animais que apresentaram cultura microbiológica uterina negativa após a aplicação de ozônio foram os mesmos que apresentaram isolamento do agente *Echerichia coli* antes da aplicação. O fato de não ter isolado o agente na cultura microbiológica após a ozonioterapia coincide com o estudo de Ishizaki *et al.*, (1987), que explorou o efeito do ozônio em *Echerichia coli*. O ozônio penetrou através da membrana celular e reagiu com o conteúdo citoplasmático, convertendo o DNA do plasmídeo fechado em aberto, o que conseqüentemente diminuiu a eficiência da procriação bacteriana (ISHIZAKI *et al.*, 1987). As bactérias Gram negativas, como no caso a *Echerichia coli*, apresentam maior sensibilidade ao ozônio devido seu efeito de oxidação dos componentes da membrana. Essa membrana possui uma lamela de peptidoglicano fina sobre a qual é sobreposta a uma membrana externa feita de lipoproteínas e lipossacarídeos (ISHIZAKI *et al.*, 1987).

As culturas microbiológicas uterinas dos animais utilizados na pesquisa apresentaram diminuição na contagem de Unidade Formadora de Colônia após a aplicação de ozonioterapia (Figura 9).

Figura 9 - Cultura microbiológica uterina do animal de número quatro antes e depois da aplicação de ozonioterapia



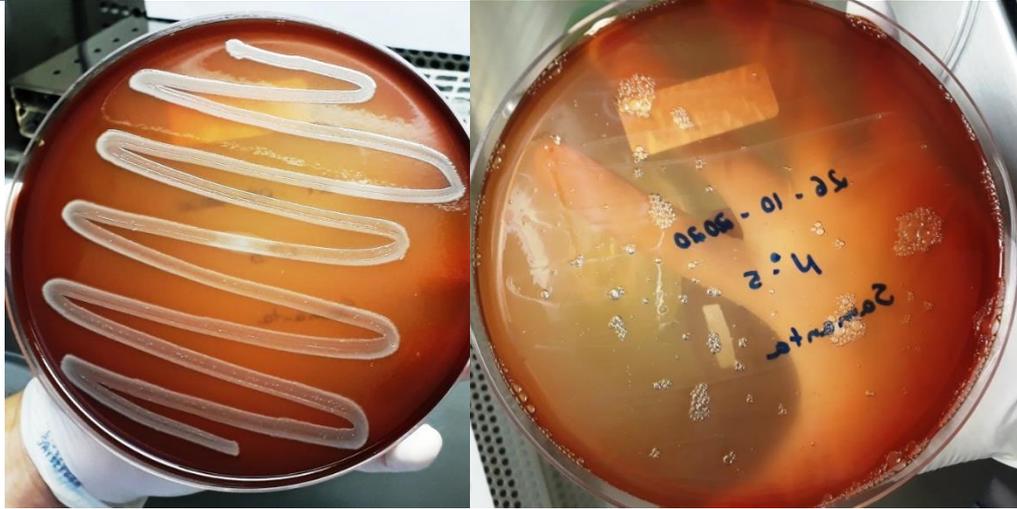
Fonte: (MELO, 2020)

81

Os animais de número 1, 3 e 4 passaram de grande crescimento (>100 UFC) para moderado crescimento (11 a 100 UFC). O resultado da presente pesquisa está de acordo com os estudos de Matos Neto *et al.*, (2012), onde se observou que o ozônio apresentou inibição completa do crescimento bacteriano. De acordo com o mesmo estudo, o ozônio não foi capaz de eliminar todos os agentes, porém foi responsável pela redução do número circulante. A justificativa é que o ozônio oxida a membrana celular da bactéria, chegando ao citoplasma e convertendo o DNA fechado para aberto, diminuindo a eficiência da procriação bacteriana (ISHIZAKI *et al.*, 1987).

Já os animais de número 2 e 5 apresentaram moderado crescimento (11 a 100 UFC) na primeira amostra da cultura microbiológica, porém após o ozônio não apresentaram crescimento (Figura 10). Os resultados aqui encontrados coincidem com os resultados de Scott (1963), onde se observou, após a utilização via tópica de solução salina ozonizada, uma redução de UFC nas amostras analisadas. Isso ocorreu devido à capacidade do ozônio de reagir com ligação duplo lipídios, que leva a lise bacteriana e extravasamento do conteúdo citoplasmático. Quando penetrado ao interior da célula, o ozônio recombina-se com elementos citoplasmáticos, provocando oxidação de aminoácidos e ácidos nucleicos que, conseqüentemente a clivagem e morte celular (CAETANO, 2018).

Figura 10 - Cultura microbiológica uterina do animal de número 5 antes e depois da aplicação de ozonioterapia



Fonte: (MELO, 2020)

82

As bolhas presentes na segunda imagem são correspondentes ao meio de cultura. Durante todo o desenvolvimento da pesquisa, nenhum dos animais apresentou sintomatologia clínica e alteração no exame ultrassonográfico, o que, segundo Carneiro (2018), pode ser justificado pelo fato de haver presença de biofilme no ambiente uterino produzido pelos agentes encontrados, caracterizando o quadro de endometrite subclínica.

Embora em algumas éguas o ozônio foi responsável por zerar a contagem microbiológica, em outras ele foi responsável pela diminuição dos agentes. Esses resultados condizem com o resultado apresentado por Guggenheim e Schmidlin (2007), que, em sua pesquisa, observou que o ozônio possui efeitos mínimos quando aplicado ao biofilme, indicando que as bactérias, quando organizadas no biofilme, estão protegidas de seus efeitos bactericidas.

Vale ressaltar que os resultados obtidos nesta pesquisa devem ser considerados, visto que contribuíram para o estudo da eficácia do ozônio no tratamento de éguas com endometrites subclínica.

POSSIBILIDADES DE PROCEDIMENTOS COMPLEMENTARES

Concomitantemente ao tratamento com ozonioterapia, podem ser utilizados procedimentos complementares, de forma a se compor um conjunto de ações eficazes no sentido de se solucionar a patologia. Nos tópicos subsequentes, serão abordados dois desses possíveis procedimentos complementares: a terapia e a profilaxia.

Terapia

O tratamento de endometrites se torna complicado, uma vez que possui grande quantidade de variáveis causadores dessa patologia, o que não permite estabelecer protocolos padronizados (HURTGEN, 2006; OLIVEIRA, 2018).

Além do ozônio, várias técnicas e fármacos podem ser empregados no tratamento de endometrites. Para isso, é necessária a realização de um diagnóstico assertivo contemplado de exames específicos (OLIVEIRA, 2018).

Quando a variável trata de uma conformação perineal irregular avaliada por meio do índice de Caslick, que facilita a infecção ascendente e caracteriza quadros de endometrite, se faz necessária a realização de uma vulvoplastia de Caslick (RAMBAGS, COLENBRANDER; STOUT, 2003).

Em casos em que já foi realizado o isolamento de microrganismos em cultura microbiológica uterina, faz-se necessário à utilização de antibióticos. O teste de suscetibilidade antimicrobiana pode ser adotado a fim utilizar o antibiótico específico para o agente encontrado. Quando não é possível realizar o teste, a utilização de antibióticos de amplo espectro se torna viável (LEBLANC, 2010). Normalmente, as infecções uterinas se limitam ao endométrio, sendo assim, a abordagem terapêutica mais adotada é a infusão de antibiótico intrauterina. Quando as infecções se tornam graves, opta-se pela utilização de antibióticos sistêmicos (PETERSEN *et al.*, 2009).

Quando a intenção da terapia é diminuir o tamanho e aumentar o tônus uterino, as soluções antissépticas são utilizadas. Essas soluções tornam o fluido uterino menos viscoso e contribui para a eliminação do conteúdo (ASBURY, 1984). As soluções utilizadas são acriflavina, ácido bórico, soluções iodadas, iodoforme, e óxido de prata. Porém, devem ser utilizadas com cautela, visto que no ambiente uterino podem provocar irritações como necrose e alterações fibróticas no endométrio, cérvix e vagina (ASBURY, 1984; OLIVEIRA, 2018).

Em casos em que há presença de detritos, microrganismos e neutrófilos polimorfonucleares no útero, a realização de lavagem uterina é indicada por contribuir na remoção dos mesmos, auxiliando na absorção do antibiótico pelo endométrio. Em casos de prevenção, pode utilizar pequenos volumes de iodopolvidona (5 a 10 ml) à solução de lavagem, a fim de prevenir bactérias e fungos. Em casos em que é necessário drenar o fluido existente no ambiente intrauterino, utiliza-se fármacos ocitócitos, que são capazes de estimular a contração do miométrio e a drenagem linfática. Dessa forma, a drenagem colabora

com o aumento da fertilidade (PYCOCK, 2007). O ocitócito mais utilizado é a ocitocina. Seu tempo de meia-vida é muito curto, chegando a aproximadamente oito minutos. Sendo assim, faz-se necessária a administração de doses repetidas a fim de aumentar a eficácia do tratamento (LEBLANC e CAUSEY, 2009).

Quando o diagnóstico alcançado é a endometrite persistente caracterizada pela produção excessiva de muco e exsudado, opta-se pela utilização de agentes quelantes e mucolítica. As soluções mais utilizadas são a N-acetilcisteína e o dimetilfulfóxido (DMSO). Em procedimentos avançados, requer a infusão uterina dos agentes a fim de eliminar o muco, facilitando a absorção do antibiótico pelo endométrio (LEBLANC, 2010).

Os imunomoduladores são administrados quando o médico veterinário requer o equilíbrio das citocinas pró e antiinflamatória, desejando a hemostasia a resposta inflamatória local. Opta-se pela utilização de glucocorticóides ou corticoesteróides, porém devem ser utilizados de forma prudente (LEBLANC; CAUSEY, 2009).

Profilaxia

Para evitar prejuízos econômicos na criação de equinos, é necessário adotar métodos preventivos que impeçam o seu rebanho de vir a desenvolver problemas reprodutivos.

Paiva (2008) afirma que a endometrite é a principal patologia que causa quadros de subfertilidade ou infertilidade, inviabilizando a criação de equinos.

Desse modo, a adoção de um manejo preventivo e eficiente é uma das principais formas de prevenir endometrites. O manejo preventivo inclui a correção das causas que podem contribuir para o início do processo inflamatório e a eliminação do agente causador, além da adoção de métodos higiênicos e apropriados no manejo reprodutivo, evitando assim infecções recorrentes (PAIVA, 2008).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Sabendo-se que a endometrite é uma das principais causadoras de perdas econômicas na criação de equinos, cabe ao médico veterinário a tarefa de diagnosticar e implantar métodos terapêuticos efetivos.

O tratamento efetivo se inicia com o correto diagnóstico, dado através de um conjunto de exames, como avaliação perineal, ultrassonografia, citologia endometrial e cultura microbiológica uterina realizada de acordo com a literatura proposta. O ozônio, por se tratar

de uma terapia complementar, utilizado de forma correta, produz bons resultados, como no presente estudo, sendo eles a melhora na resposta inflamatória e a inibição e destruição de agentes patológicos presente no endométrio de éguas.

Conforme o estudo apresentado, o ozônio não foi capaz de zerar a contagem microbiológica de todos os animais, porém, nas situações menos efetivas, ainda assim, proporcionou sua diminuição. Sendo assim, faz-se necessário a aplicação de mais lavagens uterinas com soro ozonizado ou a utilização de antibioticoterapia associada a esta terapia complementar.

Estudos adicionais com maior número amostral, no entanto, se fazem necessários para a real constatação de tais resultados.

Referências

ASBURY, A.C. Endometritis diagnosis in mares. **Equine Vet, Data**, v.5, p. 166, 1984.

Disponível em:

https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S141395962001000500007&script=sci_arttext&tlng=pt. Acesso em: 12/10/2020.

BASTIANI, G. *et al.* Aspectos ultrassonográficos, anatômicos e histológicos normais da articulação metacarpofalangeana equina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, n. 10, p. 1165-1171, 2017. Disponível em:

https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010036X2017001001165&script=sci_arttext&tlng=pt. Acesso em: 07/11/2020.

BOCCI, V. Ossigeno ozonoterapia: comprensione dei meccanismi di azione e possibilità terapeutiche. **CEA**, 2000. Disponível em:

http://www.centauro.it/ossigenozono/summary_03_1_04/summary01.html. Acesso em: 08/09/2020.

BOCCI, V. Ozone as Janus: this controversial gas can be either toxic or medically useful. **Mediators of inflammation**, v. 13, 2004. Disponível em:

<https://www.hindawi.com/journals/mi/2004/594205/>. Acesso em: 08/09/2020.

BOCCI, V.; ZANARDI, I.; TRAVAGLI, V. Oxygen/ozone as a medical gas mixture. A critical evaluation of the various methods clarifies positive and negative aspects. **Medical gas research**, v. 1, n. 1, p. 6, 2011. Disponível em:

<https://link.springer.com/article/10.1186/2045-9912-1-6>. Acesso em: 09/09/2020.

BOWMAN, T. R. Direct rectal palpation. **Equine Reproduction**, p. 1904-1913, 2011.

Disponível em: <https://www.repository.utl.pt/handle/10400.5/3608>. Acesso em: 02/11/2020.

BRADECAMP, E. A. Pneumovagina. In: MCKINNON A. O., SQUIRES E. L., VAALA W. E., VARNER D. V., editors. **Equine Reproduction**, Second Edition. U.K: Wiley-Blackwell; 2011. Disponível em:

<https://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/194236>. Acesso em: 07/10/2020.

CAETANO, Maicon Henrique. Gás ozônio: avaliação da eficácia de desinfecção de ambientes. 2018. Disponível em: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03001996000200004. Acesso em: 26/08/2020.

CANISSO, I. F.; STEWART, J.; SILVA, M. A. C. Endometritis: Managing persistent post-breeding endometritis. **Veterinary Clinics: Equine Practice**, v. 32, n. 3, p. 465-480, 2016. Disponível em: [https://www.vetequine.theclinics.com/article/S0749-0739\(16\)30043-8/abstract](https://www.vetequine.theclinics.com/article/S0749-0739(16)30043-8/abstract). Acesso em: 07/10/2020.

CARNEIRO, G. F. *et al.* Intrauterine Infusion of Ozone in susceptible mare. **ISABR**, 2018. Disponível em: <http://hdl.handle.net/123456789/1489>. Acesso em: 13/10/2020.

CARVALHO, C. F. P. M. *et al.* Diagnóstico bacteriológico, citológico e histopatológico da endometrite equina. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 18, n. 1, 2011. Disponível em: <https://periodicos.uff.br/rbcv/article/view/6975>. Acesso em: 16/09/2020.

DURICIC, D.; LIPAR, M.; SAMARDZIJA, M. Ozone treatment of metritis and endometritis in Holstein cows. **Veterinarski Archiv**, v.84, n.2, p.103-110, 2014. Disponível em: https://hrcak.srce.hr/index.php?show=clanak&id_clanak_jezik=175845. Acesso em: 07/10/2020.

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**, vol.82, p. 36-42. 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24681213/>. Acesso em: 29/09/2020.

FERRIS, Ryan A. Endometritis: Diagnostic tools for infectious endometritis. **Veterinary Clinics: Equine Practice**, v. 32, n. 3, p. 481-498, 2016. Disponível em: [https://www.vetequine.theclinics.com/article/S0749-0739\(16\)30040-2/abstract](https://www.vetequine.theclinics.com/article/S0749-0739(16)30040-2/abstract). Acesso em: 24/09/2020.

GIL, Antônio Carlos. **Como elaborar projetos de pesquisa**. 6. ed. São Paulo: Atlas, 2017. Disponível em: https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/31031805/9482_lista_de_revisao_1%C2%BA_bimestre_com_respostas_direito.pdf?1364236988=&response-content-disposition=inline%3B+fil. Acesso em: 01/11/2020.

GINTHER, O. J.; PIERSON, R. A. Ultrasonic anatomy and pathology of the equine uterus. **Theriogenology**, v. 21, n. 3, p. 505-516, 1984. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0093691X84904126>. Acesso em: 16/10/2020.

GUGGENHEIM, B.; SCHMIDLIN, P. R. Efficacy of gasiform ozone and photodynamic therapy on a multispecies oral biofilm in vitro. *European journal of oral sciences*, v. 115, n. 1, p. 77-80, 2007.

HURTGEN, John P. Pathogenesis and treatment of endometritis in the mare: a review. **Theriogenology**, v. 66, n. 3, p. 560-566, 2006. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0093691X06002329>. Acesso em: 25/10/2020.

ISHIZAKI, K. *et al.* Effect of ozone on plasmid DNA of Escherichia coli in situ. **Water research**, v. 21, n. 7, p. 823-827, 1987. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0043135487901588>. Acesso em: 01/11/2020.

JÚNIOR, J. A. C. **Processo inflamatório no útero de éguas: Endometrite (Revisão de literatura)**. 2016. 39 f. Monografia (Doutorado) - Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande - Ufcp, Patos, 2016. Disponível em: http://www.cstrold.sti.ufcg.edu.br/grad_med_vet/tcc_2016.1/13_jose_aurelio_da_cruz_junior.pdf. Acesso em: 14/06/2020.

KATILA T, REILAS T, SAIRANEN J, NIVOLA K. Factors affecting reproductive performance of horses. **Pferdeheilkunde** 2010; 26: 6–9. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Tiina_Reilas/publication/310429621_Faktoren_die_den_Reproduktionserfolg_beim_Pferd_beeinflussen/links/5941255d45851566e1c24588/Faktoren-die-den-Reproduktionserfolg-beim-Pferd-beeinflussen.pdf. Acesso em: 27/09/2020.

KONEMAN, E. W.; ALLEN, S. D.; JANDA, et al. **Color atlas and textbook of diagnostic microbiology**, 5th Ed. Lippincott, 1395p, 1997. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=HF3sDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=Color+atlas+and+textbook+of+diagnostic+microbiology&ots=rE2su2uBvb&sig=QAi1t8pk9NNkiwZ-Ue-WqwgMgG8#v=onepage&q=Color%20atlas%20and%20textbook%20of%20diagnostic%20microbiology&f=false>. Acesso em: 04/11/2020.

KOZDROWSKI, R.; SIKORA, M.; BUCZKOWSKA, J.; *et al.* Effects of cycle stage and sampling procedure on interpretation of endometrial cytology in mares. **Animal Reproduction Science**. V. 154, p. 56-62, 2015. Disponível em: <https://europepmc.org/article/med/25660623>. Acesso em: 29/09/2020.

LEBLANC, Michelle M.; MAGSIG, Joshua; STROMBERG, Arnold J. Use of a low-volume uterine flush for diagnosing endometritis in chronically infertile mares. **Theriogenology**, v. 68, n. 3, p. 403-412, 2007. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0093691X07001951>. Acesso em: 28/09/2020.

LEBLANC, M. M.; CAUSEY, R. C. Clinical and subclinical endometritis in the mare: both threats to fertility. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 44, p. 10-22, 2009. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1439-0531.2009.01485.x>. Acesso em: 04/11/2020.

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, p. 21-27, 2010. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1439-0531.2010.01634>. Acesso em: 23/10/2020.

MATOS NETO, A., *et al.* Ozonioterapia no tratamento de ferida infectada (Relato de Caso). **Journal Brasileiro de Ciência Animal. JBCA**, v.5, n.10, suplemento, 2012. Disponível em: <http://ojs.unimar.br/index.php/ciencias/article/view/681>. Acesso em: 12/08/2020.

MCCUE, P. M. The problem mare: management philosophy, diagnostic procedures, and

therapeutic options. **Journal of equine veterinary science**, v. 28, n. 11, p. 619-626, 2008. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0737080608003390>. Acesso em: 03/11/2020.

MORENO, G.; BOTTINO, J.A.; MÓS, E.N.; MIGUEL, O. Infecções genitais de éguas puro sangue inglês. **Inquérito bacteriológico**. Biológico, São Paulo v.37, n.1, p.8-12, 1972. Disponível em: <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201302341865>. Acesso em: 03/11/2020.

OLIVEIRA, E. R. G. **Endometrite em éguas**: identificação bacteriana e perfil de resistência a antibióticos. 2018. 63 f. TCC (Graduação) - Curso de Medicina Veterinária, Unidade Acadêmica de Garanhuns, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Garanhuns, 2018. Disponível em: https://www.repository.ufrpe.br/bitstream/123456789/1521/1/tcc_ewertonrennergomesdeoliveira.pdf. Acesso em: 29/09/2020.

PAIVA, O. L. J. **Endometrite na égua**. Monografia submetida ao curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, p. 40, 2008. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/89292>. Acesso em: 13/09/2020.

PAPA, Frederico Ozanam *et al.* Morte embrionária precoce em éguas: aspectos clínicos e hormonais. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 35, n. 4, p. 170-173, 1998. Disponível em: <http://www.periodicos.usp.br/bjvras/article/view/5696>. Acesso em: 07/08/2020.

PETERSEN, M. R. et al. Streptococcus equi subspecies zooepidemicus resides deep in the chronically infected endometrium of mares. **Clinical Theriogenology**, v. 2009, n. 1, p. 393-409, 2009. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/1746-6148-8-41>. Acesso em: 22/10/2020.

PYCOCK, J. F.; NEWCOMBE, J. R. Assessment of the effect of three treatments to remove intrauterine fluid on pregnancy rate in the mare. **Veterinary Record**, v. 138, n. 14, p. 320-323, 1996. Disponível em: <https://veterinaryrecord.bmj.com/content/138/14/320.short>. Acesso em: 03/11/2020.

QUINN, P. J. et al. **Clinical Veterinary Microbiology**, London: Wolfe, 1994. 648p. Disponível em: <https://royalsocietypublishing.org/doi/abs/10.1098/rstb.2001.0888>. Acesso em: 23/09/2020.

RAMBAGS, B. P. B.; COLENBRANDER, B.; STOUT, T. A. E. Early pregnancy loss in aged mares: probable causes and possible cures. **Pferdeheilkunde**, v. 19, n. 6, p. 653-656, 2003. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Tom_Stout/publication/46637924_Early_pregnancy_loss_in_aged_mares_Probable_causes_and_possible_cures/links/588f5c6aaca272bc14bc1b38/Early-pregnancy-loss-in-aged-mares-Probable-causes-and-possible-cures. Acesso em: 18/08/2020.

REIS, M. F. C. T. **Metodologia de pesquisa**. 2. ed. Curitiba: IESDE Brasil, 2009. Disponível em: https://www.academia.edu/17288338/Livro_Metodologia_da_Pesquisa_Cientifica_TOZONI_REIS. Acesso em: 04/11/2020.

RICKETTS, S. W. et al. Uterine and clitoral cultures. **Equine reproduction**, Volume 2, n. Ed. 2, p. 1963-1978, 2011. Disponível em:

<https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20113059217>. Acesso em: 24/10/2020.

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. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0093691X07002798>.

Acesso em: 07/11/2020.

SCOTT, D. M.; LESHER, E. C. Effect of ozone on survival and permeability of Escherichia coli. **Journal of bacteriology**, v. 85, n. 3, p. 567-576, 1963. Disponível em:

<https://jlb.asm.org/content/85/3/567.short>. Acesso em: 01/11/2020.

SOARES, C. M. T. **Avaliação Ginecológica de Éguas Receptoras de Embrião Via Diferentes métodos de Diagnóstico**. 2017. Disponível em:

<https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/vtt-206693>. Acesso em: 06/09/2020.

TAKAKURA, G. S. **Avaliação do efeito da utilização de lavagem uterina com solução fisiológica ozonizada em éguas**. 2020. 56 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2020. Disponível em:

<http://177.105.2.222/handle/1/41917>. Acesso em: 07/11/2020.

THRELFALL, W.R.; IMMEGART, H.M. Doença uterina e tratamento. In: REED, S.M. & BAYLY, W.M. (Eds.). **Medicina interna equina**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. p.666-671. Disponível em: <https://tede.ufrj.br/handle/jspui/3389>. Acesso em: 06/11/2020.

VALACCHI, G., BOCCI, V. Studies on the biological effects of ozone: 10. Release of factors from ozonated human platelets. **Mediators Inflamm**, v. 8, n.4-5, p 205-209, 1999. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/mi/1998/754591/abs/>. Acesso em: 03/11/2020.

VENDRUSCOLO, Cynthia do Prado. **Avaliação dos efeitos inflamatório e oxidante do ozônio medicinal em articulações sinoviais de equinos hípidos**. 2017. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo. Disponível em:

<https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10136/tde-25052017-133250/?gathStatIcon=true>. Acesso em: 22/10/2020.

WRIGHT, D. T. *et al.* Ozone stimulates release of platelet activating factor and activates phospholipases in guinea pig tracheal epithelial cells in primary culture. **Toxicology and applied pharmacology**, v. 127, n. 1, p. 27-36, 1994. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0041008X84711355>. Acesso em: 24/08/2020.