

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS – PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

Estudo comparativo da microbiota vaginal e uterina de acordo com a fase do ciclo estral de cadelas e gatas submetidas à ovariossalpingohisterectomia no HV/CSTR-UFCG

Rossandra dos Santos Lucena

2014



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE PATOS – PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

Estudo comparativo da microbiota vaginal e uterina de acordo com a fase do ciclo estral de cadelas e gatas submetidas à ovariossalpingohisterectomia no HV/CSTR-UFCG

Rossandra dos Santos Lucena
Graduanda

Profa. Dra. Norma Lúcia de Souza Araújo
Orientadora

Patos -PB
Junho de 2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAUDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

ROSSANDRA DOS SANTOS LUCENA
Graduanda

Monografia submetida ao Curso de Medicina Veterinária como requisito parcial para
obtenção do grau de Medico Veterinário.

APROVADO EM: 12/ 06/2014

EXAMINADORES

Profª. Dra. Norma Lúcia de Souza Araújo
Orientadora

Prof. Dr. Carlos Enrique Peña Alfaro
Examinador I

M.V. Msc. Layze Cilmara Alves da Silva
Examinador II

A Deus, que sempre me acompanhou nessa jornada e que me guiou pelos caminhos certos.

Aos meus pais Raimundo e Maria do Carmo, pela força, ajuda, amor, confiança e orações para que este sonho se realizasse.

Ao meu esposo Josinaldo, que esteve sempre ao meu lado em todos os momentos, pelo amor e confiança, pela fé que tudo vai dar certo.

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, por todas as bênçãos que derramou sobre mim e meus familiares, me transformando num ser de bondade e fé, também pela força que me acompanhou no decorrer dessa jornada.

Aos meus pais Maria do Carmo e Raimundo, aos quais devo-lhes tudo, pois foram essenciais no desenvolver dessa formação, pelo amor, orações, ajuda financeira, por sempre acreditarem no meu potencial e por juntos realizarmos um sonho em comum.

Ao meu esposo Josinaldo, pelo amor, dedicação, companheirismo, conselhos, amizade, por dividir comigo essa missão e essa conquista, pela paciência comigo e com os meus animais, por estar sempre presente e por transformar a minha vida mais colorida.

Aos meus irmãos, Roberta, Luiz e Leandro, pela cumplicidade e companheirismo, pelos momentos de conversas, e por me atualizarem sobre os acontecimentos do Brasil e do mundo.

Aos amigos e colegas, Ramon e Ediane por estarem sempre comigo, me ajudando quando tive dificuldades, explicando quando tive dúvidas, também, pelos momentos de descontração, pelas risadas, pelas brigas, pela amizade e companheirismo e por todos os momentos que convivemos nesses 5 anos.

À Daniele Aluska, por ter me ajudado na parte das análises microbiológicas, pelos conselhos sobre a monografia e por ser tão boa sempre comigo, estando sempre disposta a me ajudar.

À Profa. Dra. Norma Lúcia de Souza Araújo, minha orientadora, pela paciência, motivação e confiança no meu trabalho, por me entender e me tratar tão bem.

Ao Prof. Dr. Pedro Izidro, Renato, Davyd, Roberta, Fernanda, Lilian, Sóstenes, por me ajudarem a concretizar uma parte do meu estudo.

Ao Prof. Dr. Otavio Brilhante por ceder um dos microscópios do laboratório para que pudesse fazer a leitura das lâminas.

Aos funcionários da instituição que estiveram sempre dispostos a ajudar Alielson, Fabiano, Adriano, Seu Cuité, Finha, Neide, Dona Rilva, Dona Socorro, Verinha, Erotides e Dona Solange.

À Dona Lena e Seu Francisco, Dágua, Nathalia e Dona Zenilda pela convivência.

A todos os meus professores, pelos ensinamentos.

À turma 2009.2 que será lembrada por mim pelo resto dos meus dias.

Aos amigos do Centro Médico Dr. Leonardo Torres: Dr. Leonardo, Dra. Alinne Dantas, Dra Kamila e Dra Janaina, pelos ensinamentos, pelas demonstrações e por me aceitarem tão bem, à Maria, Diná, Lucélia, Jonathan, Neto, pelas brincadeiras, risadas, descontração e pelo carinho.

À minha sogra, cunhados e amigos, por ajudarem quando tive dificuldades.

Aos meus filhotes de quatro patas, pela inocência, carinho, por terem me transformado na pessoa que sou hoje.

Aos animais, seres que desde sempre respeitei, amei, cuidei e que a cada dia me apaixono mais e mais, aos que fizeram parte desta trajetória e que, com o silêncio, me mostraram o caminho até aqui, me ajudando na realização desse sonho. Muitas vezes com um olhar desconfiado, um pedido de carinho ou ajuda. Muitas vezes fui incapaz de ajudar perante as dificuldades, mas aqueles que consegui ajudar fizeram a diferença na minha vida.

Ao REUNI pelo auxílio financeiro e por possibilitar uma vida melhor.

Aos que contribuíram direta ou indiretamente para a conclusão deste trabalho.

A todos, muito obrigada!

"No semblante de um animal que não fala, há todo um discurso que somente um espírito sábio pode realmente entender."

(Mahatma Gandhi)

SUMÁRIO

| | Pág. |
|---|-------------|
| 1 INTRODUÇÃO | 11 |
| 2 REVISÃO DE LITERATURA | 12 |
| 2.1 O ciclo estral nas cadelas e gatas..... | 12 |
| 2.1.1 Fases do ciclo estral na cadela e na gata..... | 13 |
| 2.1.1.1 Proestro..... | 13 |
| 2.1.1.2 Estro..... | 14 |
| 2.1.1.3 Interestro..... | 15 |
| 2.1.1.4 Diestro..... | 15 |
| 2.1.1.5 Anestro..... | 15 |
| 2.2 Citologia Vaginal..... | 16 |
| 2.2.1 Técnicas de colheita..... | 18 |
| 2.2.2 Determinação da fase do ciclo estral em cadelas e gatas utilizando citologia vaginal..... | 19 |
| 2.3 Microrganismos colonizadores do trato reprodutivo..... | 20 |
| 2.3.1 <i>Escherichia coli</i> | 20 |
| 2.3.2 <i>Streptococcus spp.</i> | 21 |
| 2.3.3 <i>Staphylococcus spp.</i> | 22 |
| 2.3.4 <i>Klebsiella spp.</i> | 22 |
| 2.4 Mecanismos de defesa uterina em cadelas e gatas..... | 23 |
| 2.4.1 Mecanismo celular..... | 24 |
| 2.4.2 Mecanismo humoral..... | 25 |
| 2.4.3 Mecanismo físico..... | 25 |
| 3 MATERIAL E MÉTODOS | 26 |
| 3.1 Local do experimento..... | 26 |
| 3.2 Animais..... | 26 |
| 3.3 Citologia vaginal..... | 26 |
| 3.7 Análises microbiológicas..... | 26 |
| 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 28 |
| 5 CONCLUSÕES | 33 |
| 6 REFERENCIAS | 34 |

LISTA DE FIGURAS

| | Pág. |
|--|-------------|
| Figura 1 – Influência dos hormônios nas diferentes fases do ciclo estral..... | 14 |
| Figura 2 – Célula parabasal..... | 17 |
| Figura 3 – Célula intermediária..... | 17 |
| Figura 4 – Célula superficiais: A - Células superficiais com núcleo. B – Células superficiais sem núcleo ou queratinizadas..... | 18 |
| Figura 5 – <i>Escherichia coli</i> | 20 |
| Figura 6 – <i>Streptococcus spp.</i> | 21 |
| Figura 7 – <i>Staphylococcus spp.</i> | 22 |
| Figura 8 – <i>Klebsiella Pneumoniae</i> | 23 |
| Figura 9 – Mecanismo de migração dos neutrófilos até agente invasor e fagocitose..... | 24 |
| Figura 10 – Fases do ciclo estral em cadelas e gatas submetidas à OSH no HV/CSTR-UFCG..... | 28 |
| Figura 11 – Microbiologias vaginais de cadelas e gatas submetidas à OSH no HV/CSTR-UFCG..... | 29 |
| Figura 12 – Relação dos microrganismos isolados das amostras vaginais em gatas com as fases do ciclo estral..... | 31 |
| Figura 13 – Relação dos microrganismos isolados das amostras vaginais em cadelas com as fases do ciclo estral..... | 32 |

RESUMO

LUCENA, ROSSANDRA DOS SANTOS. Estudo comparativo da microbiota vaginal e uterina de acordo com a fase do ciclo estral de cadelas e gatas submetidas à ovariossalpingohisterectomia no HV/CSTR-UFCG. Patos. UFCG. 2014. 37f. (Trabalho de conclusão de curso de Medicina Veterinária).

Diversas enfermidades acometem os animais domésticos, sendo as doenças reprodutivas de grande importância, podendo levar a complicações sistêmicas ocasionando a morte de fêmeas. A piometra é um distúrbio decorrente da colonização do útero por microrganismos patogênicos, os quais, na maioria das vezes fazem parte da microbiota residente da vagina da fêmea que, por ocasião de vários fatores podem multiplicar-se e gerar a enfermidade. Objetivou-se com este estudo comparar a microbiota colonizadora do trato reprodutivo de cadelas e gatas ambas clinicamente saudáveis, através do isolamento e identificação dos microrganismos e relacionar a sua presença com as fases do ciclo estral determinando em qual dessas ocorre maior índice de colonização. Para tanto, foram utilizados 32 animais saudáveis, sendo 16 da espécie felina e 16 da espécie canina, em diferentes fases do ciclo estral, submetidos à ovariossalpingohisterectomia (OSH) eletiva no Hospital Veterinário do Centro de Saúde e Tecnologia Rural da Universidade Federal de Campina Grande (HV/CSTR-UFCG), na cidade de Patos, Paraíba. Foram coletadas de cada animal, amostras biológicas para citologia vaginal, microbiologia vaginal e uterina. Diante dos resultados obtidos conclui-se que houve maior colonização nas amostras da vagina cranial de gatas quando comparada as amostras vaginais de cadelas. Demonstrando que a fase mais frequente no experimento foi o anestro.

Palavras chaves: Defesa uterina. Reprodução. Piometra.

ABSTRACT

LUCENA, ROSSANDRA DOS SANTOS. Comparative study of vaginal and uterine microbiota according to the phase of the estrous cycle of female dogs and cats undergoing ovariohysterectomy in HV / CSTR-UFCG. Patos. UFCG. 2014. 37f. (Work completion for Veterinary Medicine).

Various diseases affecting domestic animals and reproductive diseases are of great importance and may lead to systemic complications leading to death of females. The Pyometra is a disease that occurs when the uterus is colonized by pathogenic microorganisms, that most part are of the resident microbiota of the female's vagina, in occasions several of factors can multiply and generate the disease. The objective of this study was to compare the colonization of the reproductive tract microbiota of healthy dogs and cats through the isolation and identification of microorganisms and relate their presence with the phases of the estrous cycle by determining at what stage of the estrous cycle higher rate of colonization occurs. 32 animals were used, 16 of the feline specie and 16 of the canine specie, healthy, at different stages of the estrous cycle, submitted ovariohysterectomy (OSH) elective at the Veterinary Hospital of the Federal University of Campina Grande (HV / CSTR-UFCG) in city of Patos, Paraíba. Were collected from each animal, biological samples for cytology, microbiology vaginal and uterine. Based on these results it is concluded that there was a higher colonization in the samples from the cranial vagina chicks compared vaginal samples bitches. Demonstrating that the most common phase in the experiment was the anestrus.

Keywords: Uterine Defense. Reproduction. Pyometra.

1 INTRODUÇÃO

A população de animais de estimação cresce proporcionalmente ao número de pessoas e a cada dia ganha mais espaço dentro das casas, onde desenvolvem um papel social importante. Sendo considerados membros da família, os animais de estimação encontram-se diretamente ligados a evolução do consumo de produtos e serviços estéticos voltados para este novo tipo de consumidor.

Os cuidados com a saúde desses animais também movimentam um mercado importante, dada a preocupação dos proprietários pela proximidade do cão ou gato com os membros da família e o risco de contato com enfermidades.

O diagnóstico de enfermidades do sistema genital assume um papel importante na criação dos animais de estimação, uma vez que as enfermidades podem comprometer a capacidade reprodutiva dos animais, podendo ainda ser fatais em cadelas e gatas. Características peculiares do ciclo estral tornam as fêmeas suscetíveis a distúrbios como a piometra, que pode levar a morte ou a esterilidade.

A piometra ocorre quando há colonização do útero por microrganismos patógenos, estes, na maioria das vezes fazem parte da microbiota residente na vagina da fêmea, que por ocasiões de vários fatores, podem multiplicar-se e gerar a enfermidade.

É necessário um conhecimento aprofundado dos microrganismos potencialmente patogênicos que estão presentes na flora do trato genital das fêmeas e sua associação ao ciclo estral onde se possa observar qual fase há maior índice de contaminação, pois, através desse entendimento pode-se determinar a etiologia de distúrbios que acometem o sistema reprodutivo de cadelas e gatas e assim obter maior eficácia no tratamento instituído ao animal acometido.

Com base nesses aspectos, o objetivo deste estudo foi comparar a microbiota colonizadora do trato reprodutivo de cadelas com o de gatas, ambas clinicamente saudáveis, identificando os microrganismos presentes e relacionando com as fases do ciclo estral, determinando em que fase do ciclo estral ocorre maior índice de colonização.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O ciclo estral nas cadelas e gatas

O fenômeno rítmico observado em todos os mamíferos que envolvem períodos regulares, mas limitados, de receptividade sexual (estro) que ocorrem em intervalos característicos para cada espécie é denominado de ciclo estral. Um intervalo de ciclo é definido como o tempo do início de um período de receptividade sexual até o ciclo seguinte (REECE, 2008).

O ciclo estral é classicamente dividido em estágios que representam eventos comportamentais ou gonadais, em que são observados quatro períodos definidos como: Proestro, período do desenvolvimento do folículo; Estro, período de receptividade sexual; Diestro, período da fase madura do corpo lúteo (GRECO; STABENFELD, 2008); Anestro, período caracterizado pela queda da progesterona sérica e inatividade sexual da fêmea (ETTINGER, 1992).

O mecanismo fisiológico que determina o primeiro ciclo estral inicia-se no hipotálamo, quando há um aumento na síntese e liberação do hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) que estimula a secreção das gonadotrofinas: o hormônio folículoestimulante (FSH) e o hormônio luteinizante (LH) pela adenohipófise. As gonadotrofinas influenciam a função ovariana na intensificação do desenvolvimento folicular ovariano, a ovulação e a função do corpo lúteo (CL). O ovário secreta estrogênio, progesterona e inibina em resposta ao estímulo das gonadotrofinas. O LH e o FSH agem tanto em conjunto quanto separadamente, são necessários para o crescimento adicional dos folículos que participam do estágio pré-ovulatório e para a secreção máxima de estradiol. O FSH é necessário para o desenvolvimento folicular no período inicial e estimula o crescimento folicular ovariano enquanto que o LH é importante para a maturação final do folículo, ovulação e manutenção do corpo lúteo e conseqüentemente a secreção de progesterona (REECE, 2006).

As cadelas são consideradas monoéstricas, pois apresentam apenas um ciclo estral seguido por um longo período de anestro (HOSPOOLS, 2007), representando cerca de um ou dois ciclos por ano (NELSON; COUTO, 2010), porém não são raros três ciclos, embora, mesmo nesse caso, na maior parte do ano ela se encontre em anestro.

As gatas são consideradas poliéstricas estacionais, sua ciclicidade é controlada pelo fotoperíodo que deve ser de aproximadamente 12 a 14 horas de luz com intensidade de 50 Lux (NELSON; COUTO, 2010). Essa espécie possui ovulação desencadeada pelo acasalamento, na qual, durante o coito haverá a estimulação da hipófise para produção de maior quantidade de FSH e LH que resultará em ovulação imediata, enquanto na espécie canina a ovulação ocorre independente de acasalamento (GÜRTLER et al., 1987). O primeiro cio ocorre na idade de aproximadamente seis a nove meses nas cadelas e entre seis a doze meses nas gatas (DYCE; SACK; WENSING, 1997).

2.1.1 Fases do ciclo estral na cadela e na gata

O ciclo estral pode ser dividido em quatro ou cinco fases: o proestro, estro, interestro (em gatas), diestro e anestro, onde são observadas modificações orgânicas específicas e com diferentes períodos de duração (FELDMAN, 2004; GRUNERT; BIRGEL; VALE, 2005).

2.1.1.1 Proestro

É identificado pelo edemaciamento vulvar e pelo sangramento vaginal. Não há receptividade sexual apesar da fêmea se encontrar sexualmente atraente (HOSPOOLS, 2007). Tem duração média de 9 dias, variando de 3 a 17 dias em cadelas, já em gatas pode ser curto ao ponto de não ser identificado, contudo tipicamente dura de 1 a 2 dias (NELSON; COUTO, 2010). Em algumas gatas é difícil distinguir o proestro do estro, pois esses animais expressam comportamento de estro e aceitam o acasalamento sem este período de transição preliminar (FELDMAN, 2004).

O aumento na concentração de FSH é considerado fundamental para iniciar a fase do proestro e o desenvolvimento dos folículos ovarianos que apresentam um diâmetro de 1,5 a 5mm em cadelas, esses folículos irão produzir estradiol, que é o responsável pelo edema da vulva, pela cornificação da vagina e pelo sangramento vaginal, observado como uma secreção vulvar serossanguinolenta. A concentração sérica de estradiol se eleva gradualmente durante o início do proestro, aumenta de forma abrupta momentos antes do pico pré-ovulatório de LH (Figura 1) e em seguida atinge rapidamente níveis basais (NELSON; COUTO, 2010).

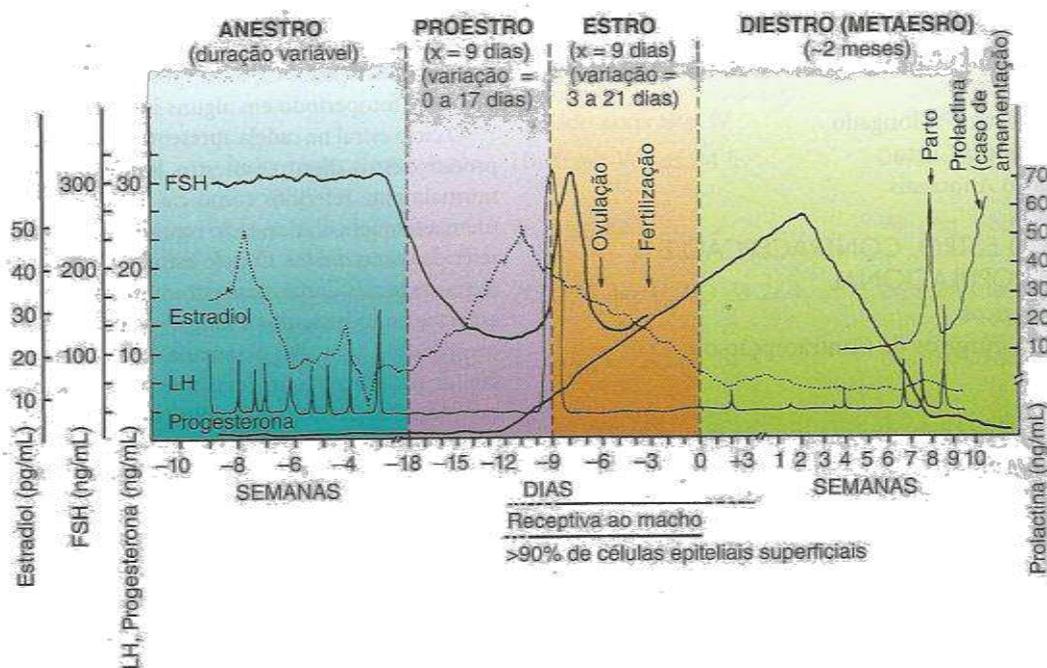


Figura 1 – Influência dos hormônios nas diferentes fases do ciclo estral.
Fonte: Nelson; Couto, (2010).

2.1.1.2 Estro

O estro inicia-se com receptividade à monta e termina com a recusa ao acasalamento. Sua duração em cadelas é de 9 dias em média, com variação de 3 a 21 dias, em gatas tem duração de 3 a 16 dias com média de 7 dias (ETTINGER, 1992). Ocorre a aceitação do macho pela cadela que se torna menos agressiva com postura imóvel e patas firmemente plantadas no chão, sua cauda é deslocada lateralmente, permitindo a intromissão do pênis. As gatas apresentam comportamento caracterizado por vocalizações, rolamento pelo chão, lordose, tremores no corpo ou cauda e sustentação da cauda para um dos lados, aceitando a cobertura (NELSON; COUTO, 2010).

Nas cadelas os folículos pré-ovulatórios continuam a se desenvolver e aumentar de tamanho. O aumento na concentração de estradiol durante o proestro, via *feedback* positivo no hipotálamo, inicia o pico de LH que, por sua vez, determina a ovulação, formação do corpo lúteo e secreção de progesterona pelo ovário. A ovulação ocorre na maioria das cadelas em intervalo de 48 horas após o pico de LH (variação de 0 a 96 horas). Em gatas o processo de ovulação é decorrente de um reflexo neuroendócrino, iniciado por meio da estimulação mecânica dos receptores sensoriais localizados na vagina e cérvix. O estímulo

induz a liberação do pico de LH pela hipófise, ocorrendo ovulação 48 horas depois (NELSON; COUTO, 2010).

2.1.1.3 Interestro

Ocorre em gatas que não ovularam devido à ausência de cópula ou a estimulação de hormônio insuficiente. Se manifesta entre um estro não ovulatório e um novo estro subsequente, a fêmea não exhibe sinais físicos ou comportamentais de atividade sexual, podendo durar em média 7 dias (FELDMAN, 2004).

2.1.1.4 Diestro

O diestro é marcado pelo fim do estro, tem duração de 2 a 3 meses, período em que as fêmeas se tornam calmas, a atração pelos machos decresce e não são mais receptivas (FELDMAN, 2004). Essa fase está sob influência da progesterona, pois os corpos lúteos dos ovários secretam o hormônio tanto em animais prenhes, quanto não prenhes. A progesterona sérica durante esse período varia de 2 até mais de 40 ng/mL. Quando há declínio na progesterona para menos de 2 ng/mL se torna um indicativo do fim do diestro, que ocorre na ocasião do parto (ETTINGER, 1992).

Quando o diestro ocorre seguido de gestação, a fase terá duração de 62 a 71 dias, quando há ovulação seguida da ausência de gestação, o diestro irá se apresentar como pseudogestação fisiológica, durando de 25 a 45 dias (FELDMAN, 2004).

2.1.1.5 Anestro

No anestro a fêmea se encontra sexualmente sem atividade e inicia-se quando a progesterona sérica cai para menos de 2 ng/mL, terminando no início dos sinais do proestro. A duração do anestro em cadelas é variável, em média de 4,5 meses, enquanto que em gatas é em torno de 3 meses (ETTINGER, 1992).

Como não há comportamentos específicos associados à fase de anestro, essa fase do ciclo tem sido erroneamente descrita como período de quiescência reprodutiva quando se compara com parâmetros de cadelas pré-púberes. Porém, o eixo hipofisário-ovariano e o útero estão ativos durante a fase, a secreção pulsátil dos hormônios LH e FSH continuam.

O endométrio descama-se e o tamanho e atividade das glândulas endometriais e as espessuras do miométrio e do endométrio diminuem. A regressão endometrial continua por cerca de 120 dias após um ciclo em que não houve gestação e por 150 dias após ciclo onde houve uma gestação (NELSON; COUTO, 2010).

2.2 Citologia vaginal

O exame das células epiteliais da vagina de cadelas e gatas é denominado citologia vaginal, é uma técnica bastante usada na Medicina Veterinária e de grande importância como auxílio no diagnóstico de doenças uterinas e vaginais, assim como na avaliação do estágio do ciclo estral (BANKS, 1991).

A citologia vaginal é um dos meios empregados para a determinação do início e duração do período fértil de cadelas e gatas que consiste na esfoliação do epitélio da mucosa vaginal, esfregaço por aposição em lâmina e interpretação (ALVES; MATEUS; COSTA, 2002).

A mucosa vaginal é formada por várias camadas celulares, que diferem quanto a sua morfologia. Essas camadas variam em espessuras ao longo do ciclo estral, durante a gestação, anestro e lactação de acordo com estímulo hormonal ao qual são submetidos (RAPOSO et al., 2000).

Quatro tipos de achados podem estar presentes na citologia vaginal como: células do epitélio vaginal, leucócitos, hemácias e bactérias. As células de maior importância para avaliar as diferentes fases do ciclo estral em cadelas e gatas são as células epiteliais, pois o epitélio vaginal sofre constantemente modificações por influencia hormonal (BANKS, 1991).

Schutter (1967, apud Porto et al., 2007) em estudo da arquitetura celular em cadelas, classificou as células do epitélio vaginal em: basais, parabasais, intermediárias, superficiais com núcleo e superficiais sem núcleo.

As células basais possuem núcleo arredondado e quantidade escassa de citoplasma basofílico, estão localizadas ao longo da membrana basal e, por esse motivo, são raramente observadas na citologia (RASKIN; MEYER, 2003).

As células parabasais apresentam alta proporção núcleo:citoplasma, possuem citoplasma basofílico, núcleos arredondados de tamanho e forma uniformes (Figura 2). São as menores células epiteliais observadas no exame citológico de rotina das amostras da

vagina. As células que contêm vacúolos citoplasmáticos são denominadas células espumosas, porém, o significado dos vacúolos é desconhecido (OLSON, 1984 apud RASKIN; MEYER, 2003).

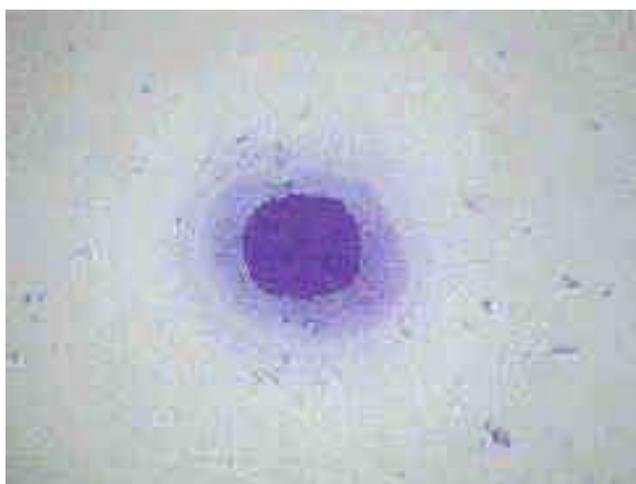


Figura 2 – Célula parabasal.
Fonte: Musolino; Ghirelli; Moreno (2000).

As células intermediárias possuem proporção núcleo:citoplasma baixa, com abundante quantidade de citoplasma azul a azul-esverdeado (Figura 3), os bordos citoplasmáticos são arredondados a irregulares e dobrados (BAKER; LUMSDEN, 1999 apud RASKIN; MEYER, 2003). Variam em tamanho podendo ser classificadas em células intermediárias pequenas e grandes (MUSOLINO; GHIRELLI; MORENO, 2000).

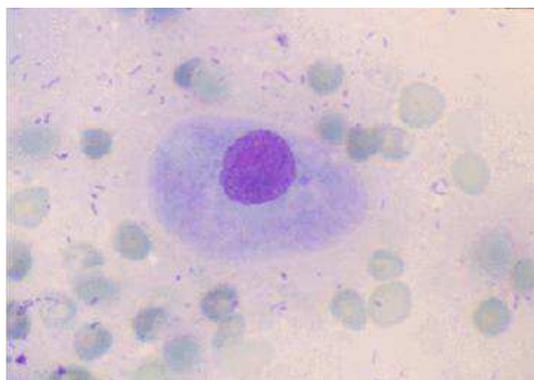


Figura 3 – Célula intermediária
Fonte: Musolino; Ghirelli; Moreno (2000).

As células superficiais com núcleo (Figura 4-A) possuem quantidade abundante de citoplasma azul-claro a azul esverdeado, núcleo picnótico e bordos celulares angulares ou dobrados. Quando as células superficiais envelhecem se degeneram e são denominadas células superficiais sem núcleo (queratinizadas) e estas se caracterizam por serem grandes e irregulares (Figura 4-B) representando o fim do processo que se inicia com as células basais. São também chamadas de células queratinizadas ou cornificadas (MUSOLINO; GHIRELLI; MORENO, 2000).

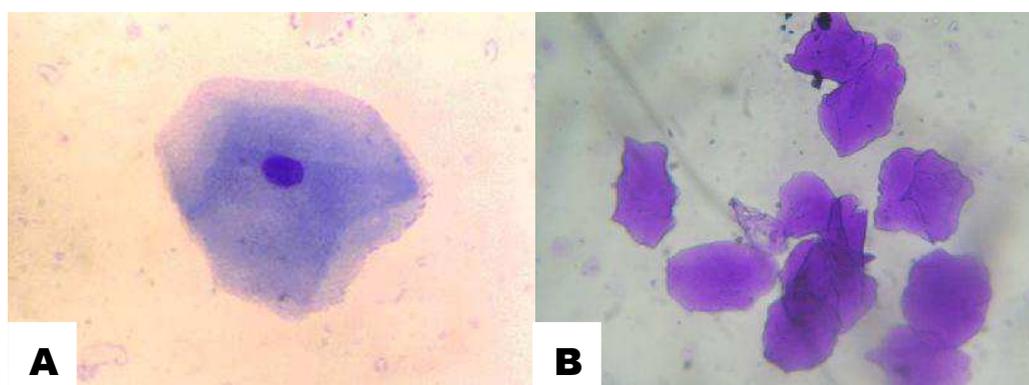


Figura 4 – Células superficiais: A- células superficiais com núcleo. B- células superficiais sem núcleo ou queratinizadas

Fonte: Musolino; Ghirelli; Moreno (2000).

2.2.1 Técnicas de colheita

Para obtenção de células vaginais para exame citológico utiliza-se, segundo Raskin e Meyer (2003), um swab de algodão umedecido com solução salina ou uma escova ginecológica direcionada craniodorsalmente na região caudal da vagina. Deve-se evitar o vestíbulo e a fossa do clitóris, visto que as células superficiais queratinizadas presentes neste local podem influenciar a interpretação citológica. Cranialmente ao orifício da uretra obtém-se as células da vagina tocando-se suavemente no revestimento epitelial.

Outro método alternativo de colheita foi descrito Olson (1984 apud RASKIN; MEYER, 2003) consiste na utilização de uma pequena pipeta de vidro com bulbo contendo solução salina estéril, introduzida na porção caudal da vagina, obtendo-se as células mediante repetidas infusões e aspirações da solução.

2.2.2 Determinação da fase do ciclo estral em cadelas e gatas utilizando citologia vaginal

O estrógeno exerce grande influência no epitélio vaginal, estimulando a proliferação do epitélio que passa de uma espessura de poucas camadas celulares no anestro para uma espessura de 20 a 30 (até 100-150) camadas de células no fim do pró-estro (ALVES; MATEUS; COSTA, 2002).

No início do proestro, há predominância de células parabasais e intermediárias não cornificadas em mais de 80% (NELSON; COUTO, 2010). São comumente encontrados poucos neutrófilos e bactérias podem ser visualizadas em pequenas ou grandes quantidades. O fundo do esfregaço é aparentemente sujo devido à presença de secreções cervicais e vaginais que se coram facilmente (MUSOLINO; GHIRELLI; MORENO, 2000). Com a progressão do proestro, a população de células esfoliadas sofre uma maturação gradual desaparecendo as células parabasais e intermediárias, enquanto o número de células superficiais aumenta (NELSON; COUTO, 2010). Dessa forma, a variação na percentagem de células superficiais ao longo de esfregaços vaginais seriados pode ser usada no monitoramento da evolução do ciclo reprodutivo. Em termos citológicos, considera-se que a cadela ou gata está em cio (estro) quando o esfregaço celular apresenta um índice de células superficiais superior a 80 % (ALVES; MATEUS; COSTA, 2002).

A presença ou ausência de núcleo picnótico dentro de células superficiais não tem relação com alterações de concentrações plasmáticas de hormônios, ou com a presença de folículos ou corpo lúteo dentro do ovário (MUSOLINO; GHIRELLI; MORENO, 2000).

No diestro há um predomínio de células intermediárias e, conforme progride a fase, pode-se observar maior número de células parabasais. No anestro, por não possuir tanta influência hormonal, há poucas camadas de células. As células que se observam são as basais, porém, também há parabasais e intermediárias em pouca quantidade (SERVICIO, 2011).

No anestro podem estar presentes neutrófilos, enquanto os glóbulos vermelhos estão normalmente ausentes. Bactérias podem ou não estar presentes e, quando presentes, geralmente representam a microflora normal (MUSOLINO; GHIRELLI; MORENO, 2000).

2.3 Microrganismos colonizadores do trato reprodutivo

O trato genital feminino possui uma microbiota residente das regiões externas ao óstio cervical. O útero é desprovido de microrganismos graças à cérvix que se mostra como uma barreira muito eficiente aliada a outros mecanismos de defesa. A higidez do útero fica comprometida quando as bactérias oriundas do trato geniturinário ascendem via cérvix, situação que surge quando se acha reunido certo número de fatores como o relaxamento cervical no estro. No diestro o ambiente uterino encontra-se mais susceptível a possíveis contaminações assim, as bactérias que colonizam o útero encontram-se num meio receptivo e apropriado à sua adesão e multiplicação, desenvolvendo-se uma infecção (VINES, 2011).

2.3.1 *Escherichia coli*

A *Escherichia coli* é facultativamente anaeróbia, gram-negativa, em forma de bastonete, não formadora de esporo, medindo de 1,0 -1,5 μm de largura e 2,0–6,0 μm de comprimento (Figura 5) (GOMES, 2014).

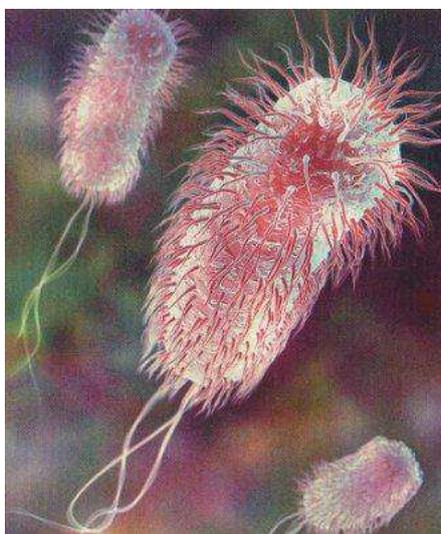


Figura 5 – *Escherichia coli* Fonte: Mdsauade.com

Nos animais a *E.coli* tem sido relacionada a uma grande variedade de manifestações clínicas, incluindo diarreia, endometrite, cistite, aborto, septicemia, entre outras (RADOSTITS et al., 2000).

Na piometra, a *E.coli* é a principal bactéria associada a enfermidade, sendo isolada em 59% a 96% dos casos (FRANSSON, 2003).

Em poucas horas ou em poucos dias após o nascimento há a colonização do trato gastrointestinal pela *E. coli*, isso ocorre porque o microrganismo é ingerido junto com o alimento, água ou obtido diretamente de outros indivíduos. A *E. coli* adere-se à superfície mucosa do intestino grosso e, uma vez estabelecida, pode persistir por meses ou anos. Linhagens residentes mudam após um longo período de tempo, especialmente após infecções entéricas ou terapia com antimicrobianos que alteram a flora normal (GOMES, 2014).

2.3.2 *Streptococcus spp.*

Os estreptococos são microrganismos esféricos, dispostos geralmente em cadeias, gram-positivos, suas dimensões variam entre 0,2 a 1,2 μm , imóveis, amplamente distribuídos na natureza, mas são sensíveis ao aquecimento por 30 minutos a 60°C (Figura 6) (JAWETZ; MELNICK; ADELBERG, 1982).

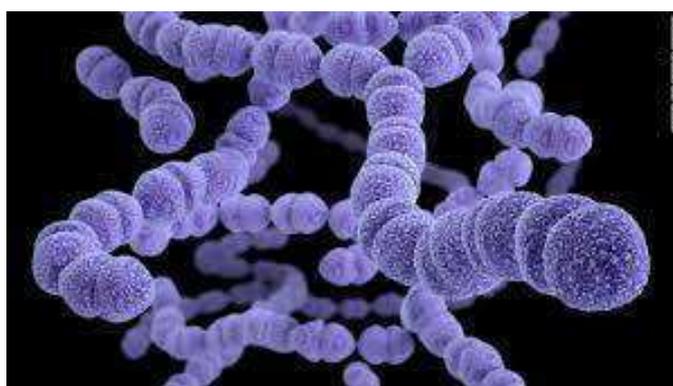


Figura 6 – *Streptococcus spp.* Fontes: Bioweb.uwlax.edu

A maior parte dos estreptococos são anaeróbicos facultativos, produtores de substâncias extracelulares e enzimas, possuem capacidade de lisar hemácias em diversos graus e isso constitui um importante critério para sua classificação (JAWETZ; MELNICK;

ADELBERG, 1982). São encontrados nas mucosas da boca, trato respiratório, gastrointestinal, genitourinário e pele (QUINN et al., 2005).

Podem causar diversas enfermidades dentre elas: infecções do trato respiratório superior, septicêmicas neonatais, infecções piogênicas, infecções do trato genitourinário e mastite bovina (HIRSCH; ZEE, 2003).

2.3.3 *Staphylococcus spp.*

O nome do gênero deriva da palavra grega *staphylé* que significa cacho de uvas (Figura 7), pois podem estar arranjados de tal modo que lembra a fruta. Os estafilococos são organismos esféricos, com 0,5 -1,5 μm de diâmetro, gram-positivos, imóveis, não formadores de esporos e aeróbios ou anaeróbios facultativos (QUINN et al., 2005).

Alguns estafilococos patogênicos provocam supuração, formação de abscessos, uma variedade de infecções piogênicas e até septicemia fatal, além de infecção do trato urinário. Podem produzir doenças tanto por sua capacidade de multiplicação e disseminação ampla nos tecidos, como por produção de muitas substâncias extracelulares (JAWETZ; MELNICK; ADELBERG, 1982).

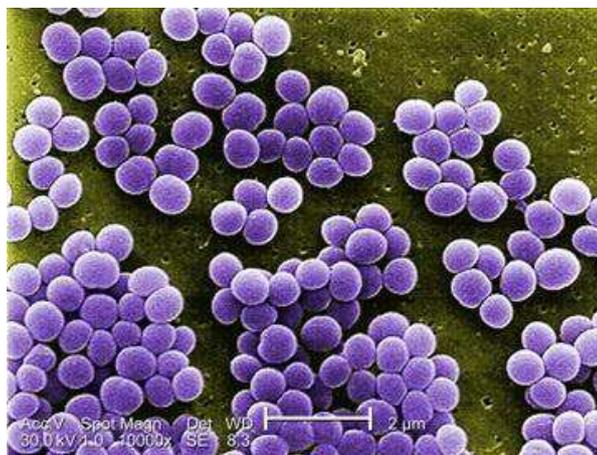


Figura 7 – *Staphylococcus spp.*

Fontes: Extension.org

2.4.4 *Klebsiella pneumoniae*

A *Klebsiella pneumoniae* é o membro mais comumente isolado do gênero. São bactérias gram-negativas, encapsulada, imóveis e pertencem à família

Enterobacteriaceae (Figura 8). Isolada normalmente da flora intestinal de humanos e animais (JAWETZ; MELNICK; ADELBERG, 1982; KRIEG, 1984).

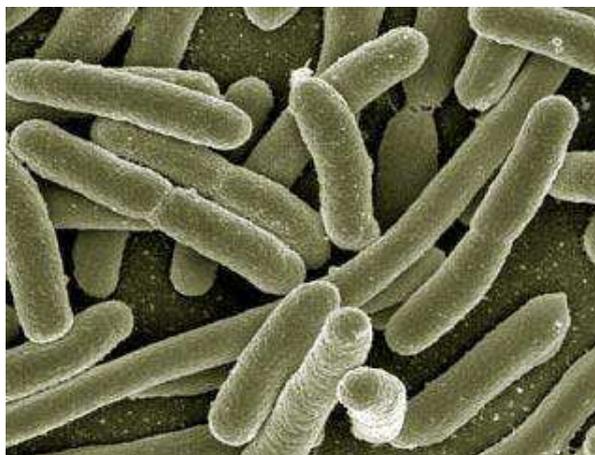


Figura 8 – *Klebsiella Pneumoniae*.
Fontes: klebsiella-pneumoniae.org

É um agente oportunista de importantes infecções, sendo encontrada em enfermidades como a piometra. Em estudos observa-se que as cepas da *K. pneumoniae* vem demonstrando resistência múltipla a antimicrobianos (KRIEG, 1984).

2.4 Mecanismo de defesa uterina em cadelas e gatas

Os mamíferos possuem diversos mecanismos de defesa, cuja finalidade é controlar as infecções causadas por microrganismos patogênicos. Esses mecanismos podem ser classificados em: inespecíficos ou imunidade natural, quando não há o contato do hospedeiro com o microrganismo patogênico e o específico ou imunidade adquirida, que é dependente do contato com o patógeno e do reconhecimento do antígeno. Tanto os mecanismos de defesa específicos como os inespecíficos são especializados para oferecer proteção ao nível das mucosas, pois, na grande maioria das vezes, as infecções bacterianas têm início ou se limitam às mucosas, constituindo assim a imunidade local (PEREIRA, 1991).

Para alguns microrganismos a primeira etapa na infecção é sua aderência às células epiteliais superficiais. Quando microrganismos penetram na mucosa, eles tendem a ser capturados por fagócitos e transportados pelos canais linfáticos regionais até os linfonodos. Estes atuam como barreiras a uma disseminação adicional e conseguem remover um

grande número de bactérias. A maioria das mucosas do organismo apresenta uma flora microbiana normal constante, que por si só se opõe ao estabelecimento de microrganismos patogênicos e tem funções fisiológicas importantes (JAWETZ; MELNICK; ADELBERG, 1984).

2.4.1 Mecanismo celular

Os principais representantes do mecanismo de defesa celular uterina são os neutrófilos que estão presentes nos processos inflamatórios agudos, constituindo a primeira linha de defesa do organismo. Essas células são as primeiras a chegar ao local de infecção e sua migração é direcionada pela quimiotaxia, e sua locomoção é orientada através de um gradiente químico (Figura 9). Os neutrófilos atuam no local, englobando os agentes invasores pelo processo de fagocitose, decompõem o antígeno através da liberação dos grânulos presentes no citoplasma (TIZARD, 2002).

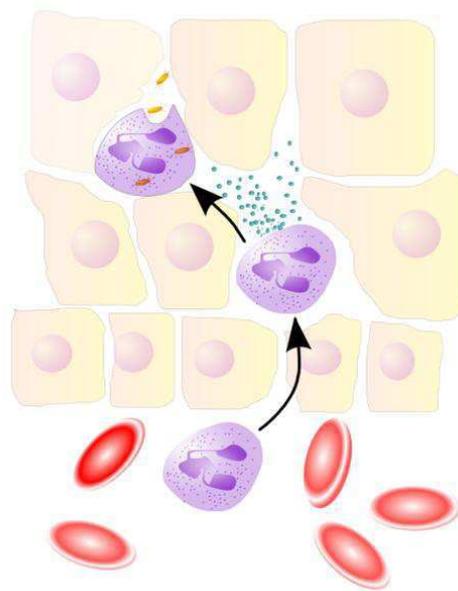


Figura 9 – Mecanismo de migração dos neutrófilos até agente invasor e fagocitose.
Fonte: wikipedia.org

Macrófagos também são importantes representantes da defesa celular, diferenciam-se dos monócitos que circulam pelo sangue periférico como células imaturas,

desenvolvem-se e atingem os tecidos, onde se diferenciam em macrófagos, com alto potencial fagocítico (CASSADO, 2011).

2.4.2 Mecanismo humoral

O mecanismo humoral da resposta imune contribui na defesa uterina através das imunoglobulinas (Ig). A permeabilidade do endotélio da circulação local está alterada no início do processo inflamatório, permitindo assim a saída de fluidos do sistema vascular para os tecidos e cavidades. O fluido uterino é composto basicamente de imunoglobulinas, proteínas plasmáticas e células inflamatórias (GALINDO et al., 2003).

A ligação das imunoglobulinas com microorganismos da superfície epitelial uterina e o sistema complemento aumenta a eficiência do processo de fagocitose, pois facilita a aderência das membranas dos organismos contaminantes aos fagócitos (CASTANHEIRA, 2002).

2.4.3 Mecanismo físico

A remoção do fluido uterino tem papel importante no mecanismo físico de defesa uterina. As contrações uterinas após a expulsão do feto favorecem a eliminação do conteúdo restante, reduzindo assim a proliferação de microrganismos inespecíficos (OLIVEIRA FILHO, 1996) e além, a adequada dilatação cervical associada às contrações miométriais e uma eficiente drenagem linfática são requisitos para a manutenção de um útero saudável (CASTANHEIRA, 2002).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local do experimento

O experimento foi realizado no Setor de Cirurgia de Pequenos Animais e Laboratório de Microbiologia do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural no Campus de Patos-PB.

3.2 Animais

Foram utilizadas 32 fêmeas em idade fértil, sadias clinicamente, sendo 16 da espécie canina e 16 da espécie felina, sem padrão racial definido, em diferentes fases do ciclo estral.

3.3 Citologia vaginal

Para citologia vaginal, um swab foi inserido na comissura dorsal da vulva sendo direcionado crâniodorsalmente e friccionado levemente na mucosa vaginal. Em seguida, foi realizado um “*imprint*” das células em uma lâmina histológica por meio de rolamento do swab sobre a mesma. A lâmina foi posteriormente corada pelo método do panótico rápido, sendo em seguida identificada.

A análise foi feita em microscópio óptico, em objetivas de 10x e 40x, onde se analisou o tipo celular predominante compatível com as diferentes fases do ciclo estral nas cadelas e gatas.

3.4 Análises microbiológicas

O conteúdo biológico vaginal foi coletado com um swab estéril, inserido na vagina do animal e levemente friccionado contra a parede. Em seguida, adicionado em meio Stuart que foi mantido resfriado em isopor contendo gelo, sendo então as amostras encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Campina Grande.

A amostra do conteúdo uterino foi coletada após a realização da OSH, onde fez-se um corte longitudinal no corno uterino direito e com o auxílio de um swab estéril coletou-se material biológico da parede do endométrio. Em seguida, o swab com a amostra foi colocado em um tubo de ensaio contendo meio Stuart e posteriormente identificado com nome do animal e corno uterino respectivo, o mesmo procedimento foi realizado com corno do uterino esquerdo. Todo o procedimento acima descrito ocorreu em ambiente cirúrgico e, portanto, estéril.

Os materiais biológicos coletados foram acondicionados em caixas isotérmicas e encaminhados para o Laboratório de Microbiologia do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Campina Grande, onde foram semeados por técnica de inoculação em placas de Petri por esgotamento, para obtenção de colônias isoladas, com meios de cultivo em Ágar sangue ovino desfibrinado e Ágar MacConkey e caldo BHI (Brain Heart Infusion), incubados em estufa a 37°C durante 24-48 horas. Passado o período de incubação, observou-se então, a presença de crescimento bacteriano. Das colônias que cresceram nas placas foram observados as características macroscópicas e confeccionou-se lâminas histológicas que foram coradas com a coloração de Gram, sendo posteriormente visualizadas em microscópio óptico com objetiva de 100X em óleo de imersão.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises da citologia vaginal das cadelas e gatas obtidos neste estudo estão representados na figura 10.

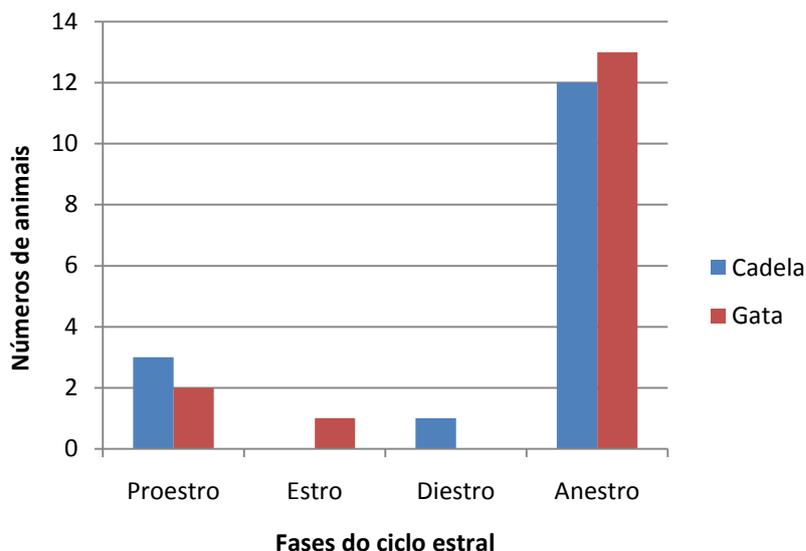


Figura 10 – Fases do ciclo estral em cadelas e gatas submetidas a OSH no HV/CSTR-UFCG.

Observou-se que o anestro foi a fase de maior incidência nas duas espécies estudadas, totalizando 25 animais (78,14 %), o que justifica por o anestro ser a fase do ciclo reprodutivo com maior duração. O proestro apresentou-se em cinco animais (15,62%), em duas gatas e três cadelas. O estro e diestro foram as fases de menor incidência. O estro apresentou-se em apenas uma gata (3,12%) não sendo identificado em nenhuma das cadelas, o inverso aconteceu com a fase do diestro observado em apenas uma cadela (3,12%) não sendo identificada em nenhuma das gatas.

Os resultados obtidos nas análises microbiológicas vaginais das cadelas e gatas estão representadas na figura 11. Dos 32 animais utilizados no estudo, apenas seis (18,75%) apresentaram ausência de microrganismos no trato reprodutivo. O restante dos animais apresentou-se positivo em pelo menos uma das regiões do trato reprodutivo. A

vagina cranial foram isolados microrganismos em 10 amostras de cadelas (31,25%) e 16 amostras de gatas (50%).

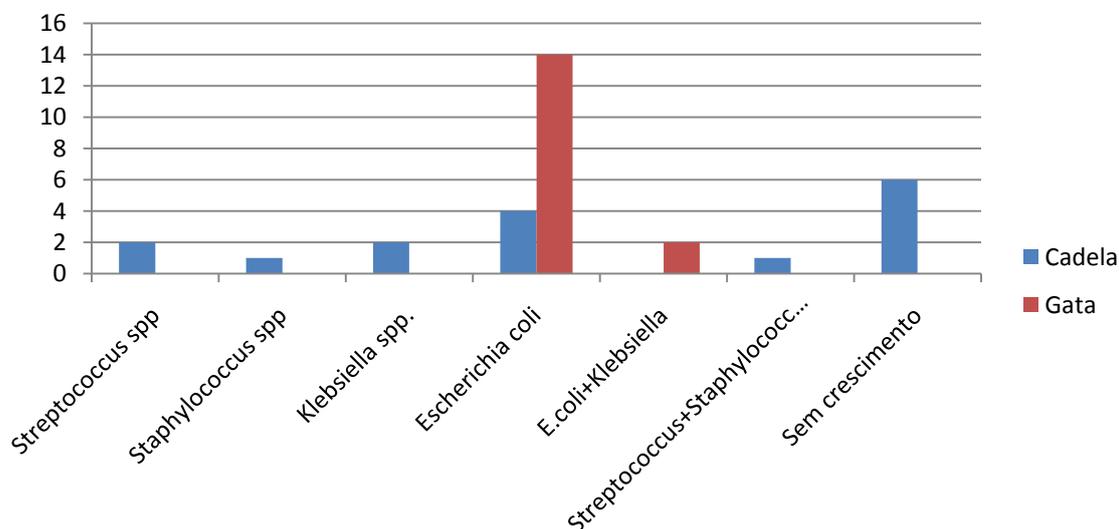


Figura 11 – Microbiologias vaginais de cadelas e gatas submetidas à OSH no HV/CSTR-UFCG.

As cadelas apresentaram maior variedade de espécies de microrganismos nas culturas vaginais quando comparadas as da gata. Das 16 amostras vaginais de cadelas, não houve crescimento microbiano em seis (37,5%) e as 10 restantes isolou-se: *Streptococcus spp.* (12,5%), *Staphylococcus spp.* (6,25%), *Escherichia Coli* (25%), *Klebsiella spp.* (12,5%). Em apenas uma amostra houve crescimento de *Streptococcus spp.* juntamente com *Staphylococcus spp.* (6,25%). As amostras vaginais de gatas por sua vez, apresentaram crescimento de *Escherichia coli* em 14 amostras (87,5%) e em duas amostras (12,5%) houve crescimento de *Escherichia coli* juntamente com *Klebsiella spp.*

A presença de *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.* e *Escherichia coli* em cadelas como demonstrado neste estudo, mostra que esses agentes podem estar presentes na vagina e conseqüentemente ascender ao útero de cadelas sadias, causando danos ao aparelho reprodutor da fêmea (ETTINGER, 1992).

Os achados do estudo de Carneiro; Toniollo e Schocken-Iturrino (2005) mostraram que os microrganismos encontrados em amostras vaginais de cadelas sadias foram: *Staphylococcus spp.*, *Escherichia coli* e o *Streptococcus spp.*, o que se assemelha quanto aos microrganismos isolados neste trabalho.

Santos (2006) estudou a avaliação da microbiota vaginal de cadelas usando como diagnóstico o isolamento microbiológico e a colpocitologia, em 40 cadelas híginas, os resultados obtidos do isolamento bacteriano foram diferentes deste estudo quanto aos microrganismos encontrados, visto que Santos (2006) obteve maior incidência de *Micrococcus spp.*

Avila et al. (2008) obtiveram grande diversidade de microrganismos isolados no canal vaginal. Utilizaram 70 cadelas sem alterações clínicas perceptíveis no sistema genital. Dentre as espécies isoladas obteve-se *Staphylococcus epidermidis* (14,2%), *Pseudomonas aeruginosa* (11,5%), *Proteus mirabilis* (11,5%), *Staphylococcus aureus* (8,6%), *Escherichia coli* (8,6%), *Proteus vulgaris* (8,6%), *Streptococcus spp.* (5,7%), *Klebsiella sp.* (2,8%), *Shigella sp.* (2,8%), *Citrobacter sp.* (2,8%).

Já os resultados obtidos das amostras vaginais de gatas são distintos dos encontrados por Clemetson e Ward (1990), que utilizaram em seu trabalho 53 gatas saudáveis e obtiveram o isolamento das seguintes bactérias: *Staphylococcus spp.* em 56,0%, *Streptococcus canis* em 52,0% e *Escherichia coli* em 44,0% das amostras vaginais.

Em outro estudo desenvolvido por Schocken-Iturrino et al. (1992) utilizaram 80 amostras vaginais de gatas adultas não castradas conseguiram 223 isolamentos, dentre as espécies bacterianas isoladas, duas se destacaram como mais frequentes: a *Escherichia coli* isolada em 83,75%) e *Streptococcus spp.* isolados em 50%, o que se assemelha ao resultado deste experimento quanto a incidência da *Escherichia coli* que foi o microrganismo de maior predominância no isolamento vaginal de gatas estando presente nas 16 gatas e em duas encontrava-se atuando juntamente com *Klebsiella spp.*

Os resultados microbiológicos uterinos das 16 gatas deste estudo, indicaram que tanto os cornos uterinos direito quanto os cornos uterinos esquerdo não desenvolveram crescimento nos meios de cultura utilizados, semelhante ao estudo de Holst et al. (2003) que caracterizaram a população de bactérias do trato genital de gatas adultas, utilizando 66 fêmeas submetidas a OSH, não obtendo crescimento de nenhum microrganismo nas amostras uterinas submetidas a cultura microbiológica.

Na análise microbiológica uterina de cadelas deste estudo, observou-se crescimento em ambos os cornos uterinos em um único animal (6,25%) com *Staphylococcus spp.* Nesse mesmo animal houve o crescimento de *Streptococcus spp.* na amostra vaginal, o que sugere que, neste caso, a contaminação não foi ascendente. O restante das cadelas (93,25) não apresentaram crescimento microbiológico uterino, esse resultado difere do estudo de

Watts; Wright e Whithear (1996) que concluiu com seu estudo que o útero de fêmeas hígdas tem uma microflora durante o proestro e estro semelhante à microflora da vagina e da cérvix.

Por sua vez, Carneiro; Toniollo e Schocken-Iturrino (2005) conseguiram isolar no útero de 21 cadelas sadias *Staphylococcus* (42,85%), *Escherichia coli* (23,80%), *Streptococcus* (23,80%), *Lactobacillus* (19,04%), *Streptococcus lacticus* (14,28%), *Bacillus* (9,52%), *Sarcina* (9,52%), *Proteus* (4,76%), leveduras (4,76%), *Corynebacterium* (4,76%), diferentemente dos resultados obtidos nesse estudo.

A fase do ciclo estral das gatas com maior índice de contaminação foi o anestro, estando presente em 13 animais (81,25%), onde houve a colonização de *Escherichia coli* e *Klebsiella spp.* (Figura 12).

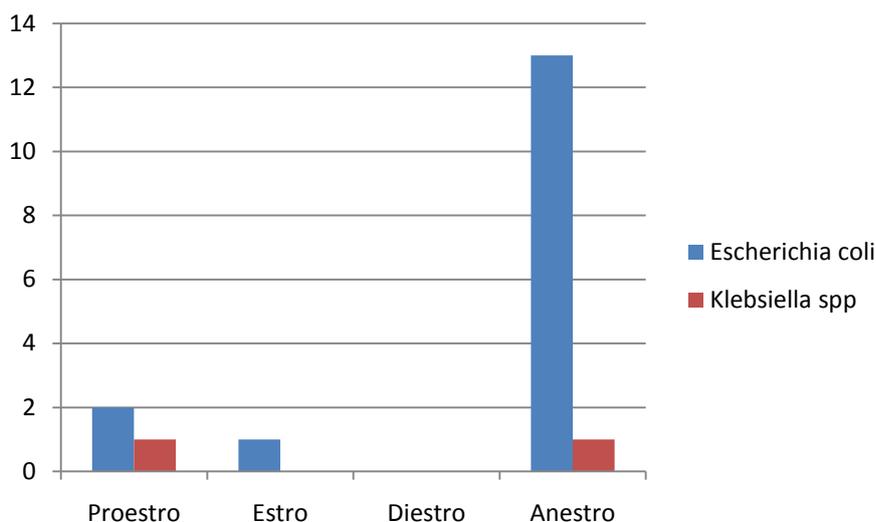


Figura 12 – Relação das fases do ciclo estral em gatas com microrganismos isolados das amostras vaginais.

Relacionando o índice de contaminação do trato genital de cadelas com a fase do ciclo estral (Figura 13), observa-se que todas as fases exceto o estro que não foi observado nas cadelas avaliadas, obtiveram colonização vaginal, a fase de maior índice de contaminação foi o anestro, estando presente em 12 animais. Semelhante aos resultados obtidos por Stein et al. (2009) que fizeram uma avaliação da microbiota vaginal de cadelas e relacionando-a com o ciclo estral, onde 11 fêmeas apresentaram maior índice de

contaminação na fase de anestro (73,4%) sendo o microrganismo de maior incidência foi o *Streptococcus spp.*

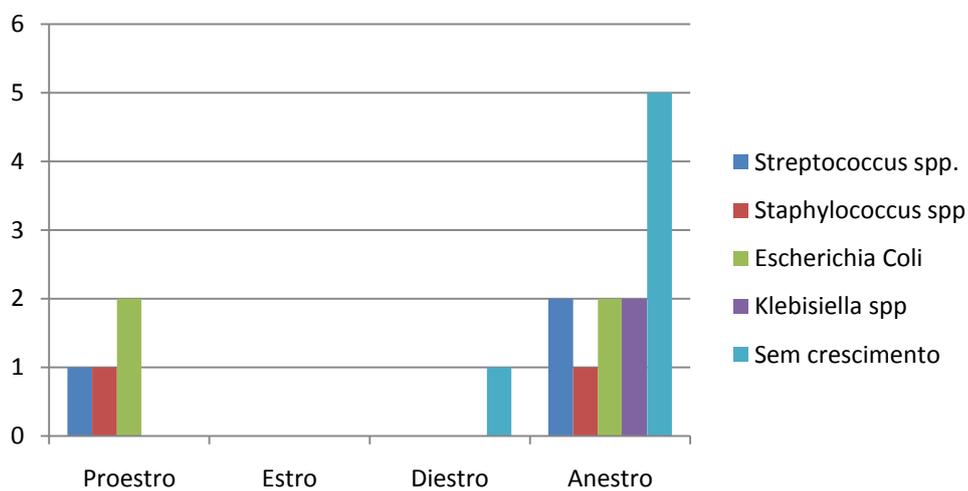


Figura 13 – Relação das fases do ciclo estral em cadelas com microrganismos isolados amostras vaginais.

5 CONCLUSÃO

Com base nos dados obtidos e segundo as condições deste experimento conclui-se que:

- ❖ Houve maior colonização nas amostras da vagina cranial de gatas quando comparada as amostras vaginais de cadelas;
- ❖ A fase mais frequente no experimento foi o anestro.

É necessário um estudo mais aprofundado no sentido de associar os resultados à forma de manejo e histórico reprodutivo, o que não foi possível realizar no presente estudo, uma vez que a maioria dos animais que participaram do experimento eram errantes, muitas vezes sem proprietário, impedindo uma avaliação mais apurada das condições de manejo e histórico reprodutivo.

REFERÊNCIAS

ALVES, I.; MATEUS, M.; COSTA, L. L. Monitorização do ciclo éstrico da cadela para inseminação artificial ou cruzamento. In: CONGRESSO DE CIÊNCIAS VETERINÁRIAS, 1. 2002, Lisboa. **Anais eletrônicos...** Lisboa: SPCV, 2002. Disponível em: <<http://horta.0catch.com/congressospcv/20.pdf>> Acesso em: 10 de mar. de 2014.

AVILA, M. O.; CAMARGO, L. M.; BENETTI, A. H.; ALARCON, L. F. Microbiota da mucosa vaginal de fêmeas caninas saudáveis atendidas no hospital veterinário da Universidade de Cuiabá, MT. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 35, 2008, Gramado. **Anais eletrônicos...** Gramado: CONBRAVET, 2008. Disponível em: <<http://www.sovergs.com.br/conbravet2008/anais/cd/resumos/R0632-1.pdf>>. Acesso em: 10 mar. de 2014.

BANKS, W. J. **Histologia veterinária aplicada**. 2. ed. São Paulo: Manole, 1991. 629p.

CARNEIRO, A. P.; TONIOLLO G. H.; SCHOCKEN-ITURRINO, R. P. Avaliação microbiológica da flora vaginal e do corpo uterino de cadelas (*Canis familiares*) submetidas à Ovariosalpingohisterectomia. **ARS Veterinária**. v. 21, n. 3, p. 361-367, 2005.

CASSADO, A.A. **Heterogeneidade dos macrófagos peritoneais**. 2011. 158 f. Tese (Doutor em ciências) - Universidade de São Paulo. Instituto de Ciências Biomédicas. São Paulo, São Paulo. 2011.

CASTANHEIRA, P. N. **Endometrite em éguas**. Arquivos da Escola Veterinária da UFMG, Belo Horizonte-MG, 2002. 10p.

CLEMETSON, L. L ; WARD, A. C. S. Bacterial flora of the vagina and uterus of healthy cats. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 196, n. 6, p. 902-906, 1990.

DYCE, K. M.; SACK, W. O; WENSING, C. J. G. **Tratado de anatomia veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. 668p.

Escherichia coli. Disponível em: <<http://www.mdsaude.com/2011/06/bacteria-escherichia-coli.html>>. Acesso em: 10 de maio de 2014.

ETTINGER, S. J. **Tratado de medicina interna veterinária**. 3. ed. São Paulo: Manole, 1992. 2557p.

FELDMAN, E. C. O complexo hiperplasia endometrial cística/ piometra e infertilidade em cadelas. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN E. C. **Tratado de medicina interna veterinária: Doenças do cão e do gato**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. p.1632-1669.

- FRANSSON, B.A. **Systemic Inflammatory Response in Canine Pyometra: The Response to Bacterial Uterine Infection.** Doctor's dissertation - Swedish University of Agricultural Sciences. Uppsala. Sweden. 2003.
- GALINDO, A. S. D.; KUNZ, T. L.; GAMBARINI, M. L.; OLIVEIRA FILHO, B. D. Mecanismo de defesa uterino na fêmea bovina. **Revista CFMV.** v.9, n.30, p.49-58. 2003.
- GOMES, M. **Gênero *Escherichia* spp.** Faculdade de Veterinária-UFRGS. 2014. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/labacvet/files/Gênero%20Escherichia%204-2014-1.pdf>> Acessado em: 9 de abr. de 2014.
- GRECO, D.; STABENFELDT, G.H. Ciclos reprodutivos. In: CUNNINGHAM, J. G. **Tratado de fisiologia veterinária.** 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. p. 401-416.
- GRUNERT, E.; BIRGEL, E. H.; VALE, W. G. **Patologia e clínica da reprodução dos animais mamíferos domésticos: Ginecologia.** São Paulo: varela, 2005. 551p.
- GÜRTLER, H.; KETZ, H. A.; KOLB, E.; SCHRÖDER, L.; SEIDEL, H. **Fisiologia veterinária.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1987. 286p.
- HIRSCH, D. C.; ZEE, Y. C. **Microbiologia veterinária.** 2. ed. [S.l.]: Guanabara Koogan, 2003. 446 p.
- HOLST, B. C.; BERESTROM, A.; LAGERSTEDT, A. S.; KARLSTAM, E.; ENGLUND, L.; BAVERUD, V. Characterization of the bacterial population of the genital tract of adult cats. **American journal of veterinary research,** v. 64, n. 8, p. 963- 968, 2003.
- HOSPOOLS, L. Reprodução de Cães. In: **Compêndio de Reprodução Animal.** Intervet. 2007. p. 241-278. Disponível em: <http://www.abspecplan.com.br/upload/library/Compendio_Reproducao.pdf> Acesso em: 18 de fev. de 2013.
- JAWETZ, E.; MELNICK J. L.; ADELBERG, E. A. **Microbiologia médica.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1984. 557p.
- Klebsiella pneumoniae.* Disponível em: <http://klebsiella-pneumoniae.org/klebsiella_pneumoniae_urinary_tract_infection.html>. Acesso em: 10 de maio de 2014.
- KRIEG, N. R. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology.** Baltimore/London: Williams & Wilkins, 1984. v.1, 964 p.
- MUSOLINO, C.; GHIRELLI, C. de O. ; MORENO, L. M. **Alterações do Ciclo Estral em Cadelas.** USP- São Paulo 2000. Disponível em: <<http://www.redevet.com.br/artigos/cicloest.htm>> Acesso em: 25 mar. 2014
- NELSON, R. W.; COUTO, C. G. **Medicina interna de pequenos animais.** 4. ed. São Paulo: Elsevier, 2010. 1468p.

OLIVEIRA FILHO, B. D. **Involução uterina na vaca**. 1996. 25f. Monografia – Faculdade de Ciências Agrárias. Universidade Federal Paulista. Jaboticabal, São Paulo. 1996.

PEREIRA, O. A.C. In: TRABULSI, L. R.; TOLEDO, M. R. F. **Microbiologia**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 1991. 386p.

PORTO, R. R. M.; CAVALCANTE, T. V.; DIAS, F. E. F.; ROCHA, J. M.N.; SOUZA, J. A. T. Perfil citológico vaginal de ovelhas da raça santa inês no acompanhamento do ciclo estral. **Ciência Animal Brasileira**. v. 8, n. 3, p. 521-527. 2007. Disponível em: <<http://www.revistas.ufg.br/index.php/vet/article/download/1729/1696>> Acesso em: 5 mar. de 2014.

QUINN P. J.; MARKEY, B. K.; CATER, M. E.; DONNELLY, W. J.; LEONAR, F. C. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Porto Alegre: Artmed, 2005. 512p.

RADOSTITS, O. M., GAY, C. C., BLOOD, D. C., HINCHCLIFF, K. W. **Clínica veterinária: Um tratado de doenças dos bovinos, suínos, caprinos e equinos**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. 1737p.

RAPOSO, R. S.; SILVA, L. D. M.; LOBO, R. N.B.; FREITAS, V. J. F.; DIAS, F. E. F. Comparação da citologia vaginal de cabras cíclicas e gestantes da raça Saanen. **Revista Científica Produção Animal**, Fortaleza, v. 2, n. 1. p. 12-16, 2000. Disponível em: <<http://www.ojs.ufpi.br/index.php/rcpa/article/view/34/33>> Acesso em: 5 de mar. de 2014.

RASKIN, R. E.; MEYER, D. J. **Atlas de citologia de cães e gatos**. São Paulo: Roca, 2003. 354 p.

REECE, W. O. **Fisiologia dos animais domésticos**. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 926p.

REECE, W. O. **Anatomia funcional e fisiologia dos animais domésticos**. 3. ed. São Paulo: Roca, 2008. 480 p.

SANTOS, A. G. **Avaliação da microbiota vaginal de cadelas usando como diagnóstico o isolamento microbiológico e a colpocitologia**. 2006. 41f. Dissertação (Mestrado em ciências) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Instituto de Veterinária. Seropédica, Rio de Janeiro. 2006.

SCHOCKEN-ITURRINO, R. P.; VICENTE, W. R. R.; TONIOLLO, G. H.; JARDIM, J. P. C.; BERCHIELLI, S. C. P. Estudo microbiológico da vagina de felinas adultas. In: ENCONTRO DE PESQUISAS VETERINÁRIAS, 14, 1992, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: UNESP, 1992.

SERVICIO, V. G. M. Citología vaginal exfoliativa ¿cuándo y para qué sirve? In: CONGRESO VETERINARIO DE EL SALVADOR, 1, 2011, San Salvador. **Anais...** San Salvador: CVES, 2011.

Staphylococcus spp. Disponível em:

<<https://www.extension.org/pages/28432/staphylococcus>>. Acesso em: 10 de maio de 2014

STEIN, M.; CASTRO, L. L. D.; GUIOT, Ê. G.; SILVA, L. G. C.; SILVEIRA, G. R.; CLEFF, M. B.; SCHRAMM, R. C. Avaliação da microbiota vaginal de fêmeas caninas relacionadas com o ciclo estral. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 18, ENCONTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO, 11 e MOSTRA CIENTÍFICA, 1, 2009, Pelotas. **Anais eletrônicos...** Pelotas: CIC/Enpos/Mostra Científica, 2009. Disponível em: <http://www2.ufpel.edu.br/cic/2009/cd/pdf/CA/CA_01749.pdf>. Acesso em: 2 de jan. 2014.

Streptococcus spp. Disponível em:

<https://bioweb.uwlax.edu/bio203/f2013/schaefer_rya2/>. Acesso em: 10 de maio de 2014.

TIZARD, I. R. **Imunologia veterinária: uma introdução**. 6. ed. São Paulo: Roca, 2002. 554p.

VINES, G. M. G. **Estudo do complexo hiperplasia quística de endométrio – piómetra - na gata doméstica**, 2011, Lisboa. Disponível em:

<<https://www.repository.utl.pt/bitstream/10400.5/3133/1/Estudo%20do%20complexo%20hiperplasia%20quistica%20do%20endometrio-piometra%20na%20gata%20domestica.pdf>> Acessado em: 07 de Fevereiro de 2013

WATTS, J. R., WRIGHT, P. J., WHITHEAR, K. C. Uterine cervical and vaginal microflora of the normal bitch throughout the reproductive cycle. **Journal of Small Animal Practice**. v.37, p.7, 1996.

_____. Mecanismo de migração dos neutrófilos até agente invasor e fagocitose.

Disponível em: <<http://pt.wikipedia.org/wiki/Ficheiro:NeutrophilerAktion.png>>. Acesso em: 5 de maio de 2014.

_____. Técnica cirúrgica utilizada no experimento . Disponível em:

<http://eagaspar.com.br/mcguido/ovario_hist_.htm>. Acesso em: 2 de jun. de 2014.