

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS - CAV
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

MAURICIO SEMINOTTI ZANETTE

**DIAGNÓSTICO DE ENDOMETRITE EM ÉGUAS: MÉTODO ALTERNATIVO
DE COLETA PARA CITOLOGIA E CULTURA UTERINA**

LAGES

2026

MAURICIO SEMNINOTTI ZANETTE

**DIAGNÓSTICO DE ENDOMETRITE EM ÉGUAS: MÉTODO ALTERNATIVO
DE COLETA PARA CITOLOGIA E CULTURA UTERINA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal, com área de concentração em Reprodução Animal.

Orientadora: Prof^a Dr^a. Verônica Flores da Cunha Scheeren

LAGES

2026

**Ficha catalográfica elaborada pelo programa de geração automática da
Biblioteca Universitária Udesc,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

Seminotti Zanette, Mauricio
DIAGNÓSTICO DE ENDOMETRITE EM ÉGUAS:
MÉTODO ALTERNATIVO DE COLETA PARA CITOLOGIA E
CULTURA UTERINA / Mauricio Seminotti Zanette. -- 2026.
54 p.

Orientadora: Verônica Flores da Cunha Scheeren
Coorientadora: Sandra Maria Ferraz
Dissertação (mestrado) -- Universidade do Estado de
Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias,
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Lages,
2026.

1. inflamação uterina. 2. infecção bacteriana. 3.
subfertilidade. 4. infertilidade. I. Flores da Cunha Scheeren,
Verônica. II. Ferraz, Sandra Maria . III. Universidade do
Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências
Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência
Animal. IV. Título.

MAURICIO SEMINOTTI ZANETTE

**DIAGNÓSTICO DE ENDOMETRITE EM ÉGUAS: MÉTODO ALTERNATIVO
DE COLETA PARA CITOLOGIA E CULTURA UTERINA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal, com área de concentração em Reprodução Animal.

Orientadora: Prof^a Dr^a. Verônica Flores da Cunha Scheeren

BANCA EXAMINADORA:

Dr^a. Verônica Flores da Cunha Scheeren
Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC

Membros:

Prof. Dr. Lorenzo Garrido Teixeira Martini Segabinazzi
Ross University School of Veterinary Medicine - RUSVM

Dr. David Germano Gonçalves Schwarz
Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC

Lages, 01 de junho de 2026

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus pela oportunidade de me tornar mestre em ciência animal. Ninguém melhor do que Ele sabe das dificuldades e da superação que foi concluir esse projeto. Foi me aproximando dEle, em meio a diversos obstáculos, que entendi que desistir nunca foi e nem será uma opção.

Em segundo lugar gostaria de agradecer a minha família. Minha esposa Bruna, que em meio a muitas dificuldades e desafios, com o início do meu mestrado e o nascimento da nossa filha praticamente juntos, se manteve firme e ao meu lado. Vivemos muita coisa durante esse período, mas o mais importante é que superamos todos os obstáculos e com certeza hoje somos muito mais fortes, tenho cada vez mais certeza de que fiz a melhor escolha quando decidi caminhar ao teu lado, te amo para sempre meu Amor. A minha pequena Helena, que nasceu poucos dias antes de iniciar o mestrado e, sem perceber, me ajudou muito a seguir em frente e nunca desistir, eu dedico essa conquista para você, minha princesa linda, o papai te ama muito. Aos meus pais, que também sempre acreditaram em mim me dando todo apoio necessário no decorrer desse período, te amo Pai e Mãe.

A minha orientadora prof. Dra Verônica Flores da Cunha Scheeren, obrigado por ter me aceitado como seu primeiro orientado de mestrado, sei que talvez não fui o orientado dos sonhos, mas espero ter correspondido às suas expectativas e contribuído da melhor maneira possível, agradeço imensamente por todos os ensinamentos. Agradeço também a Prof. Aimé Friso e a todos os bolsistas e colegas de mestrado do Laboratório de Reprodução Animal – REPROCAV, em especial à Luísa Giachini, Melissa Risso e Mariana Zanini que participaram ativamente em todas as etapas do meu projeto, podem contar sempre comigo.

Por último mas não menos importante, agradeço à minha coorientadora prof. Dra Sandra Maria Ferraz, que abriu as portas do laboratório de microbiologia do CAV – UDESC para realizarmos esse projeto e à Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC pela oportunidade.

RESUMO

Uma das principais causas de subfertilidade ou infertilidade em éguas é a endometrite, que pode ou não estar associada a presença de micro-organismos patogênicos, por isso o seu diagnóstico rápido e preciso é de fundamental importância, permitindo ao médico veterinário atuar de forma eficiente no tratamento dessa enfermidade, evitando prejuízos e atrasos na estação de monta. Os métodos de diagnóstico de endometrite em éguas utilizados atualmente envolvem principalmente a realização de exames de citologia e cultura bacteriológica do útero a partir de amostras coletadas com swabs uterinos, escova citológica, lavado uterino de baixo volume e biópsia uterina. Cada método apresenta vantagens e limitações. Dessa forma o objetivo desse estudo foi aprimorar o uso da escova citológica para melhorar o seu desempenho no diagnóstico da endometrite em éguas, permitindo a coleta de material de uma área abrangente do lúmen uterino e comparar a sua eficiência com outros métodos utilizados na rotina de campo. Para isso, foram utilizadas 52 éguas da raça Crioula e três métodos foram aplicados sequencialmente, no mesmo momento, em cada égua: citologia convencional (G1; escova citológica na bifurcação uterina), citologia total (G2; escova citológica em ambos os cornos e corpo uterino) e lavagem uterina de baixo volume (G3). Para cada método, foram preparadas lâminas citológicas (C1; C2; C3) para avaliação da proporção de neutrófilos polimorfonucleares, e swabs foram coletados para cultura bacteriológica (S1; S2; S3). Nesse estudo, embora a probabilidade estimada de cultura positiva tenha sido maior no G3 com OR de 3,86 (IC 95%: 1,26–11,82; $P = 0,018$) em comparação com G1 e G2, não houve diferença estatística de sensibilidade tanto para citologia quanto para cultura uterina. Os três métodos apresentaram sensibilidade citológica comparável, porém a lavagem uterina de baixo volume aumentou em aproximadamente 3,9 vezes a chance de detecção bacteriana em comparação à coleta com escova citológica.

Palavras-chave: Inflamação uterina; infecção bacteriana; subfertilidade; infertilidade;

ABSTRACT

One of the main causes of subfertility or infertility in mares is endometritis, which may or may not be associated with the presence of pathogenic microorganisms. Therefore, its rapid and accurate diagnosis is of fundamental importance, allowing the veterinarian to act efficiently in the treatment of this condition, avoiding losses and delays during the breeding season. Currently used diagnostic methods for endometritis in mares mainly involve cytology and bacteriological culture of the uterus from samples collected using uterine swabs, cytobrush, low-volume uterine lavage, and uterine biopsy. Each method presents advantages and limitations. Thus, the aim of this study was to refine the use of the cytobrush to improve its performance in the diagnosis of endometritis in mares, allowing the collection of material from a broader area of the uterine lumen, and to compare its efficiency with other methods commonly used in field practice. For this purpose, 52 Crioula mares were used, and three methods were applied sequentially, at the same time, in each mare: conventional cytology (G1; cytobrush at the uterine bifurcation), total cytology (G2; cytobrush in both uterine horns and the uterine body), and low-volume uterine lavage (G3). For each method, cytological slides (C1; C2; C3) were prepared to evaluate the proportion of polymorphonuclear neutrophils, and swabs were collected for bacteriological culture (S1; S2; S3). In this study, although the estimated probability of a positive culture was higher in G3, with an OR of 3.86 (95% CI: 1.26–11.82; $P = 0.018$) compared to G1 and G2, no statistical difference in sensitivity was observed for either cytology or uterine culture. All three methods showed comparable cytological sensitivity; however, low-volume uterine lavage increased the odds of bacterial detection by approximately 3.9 times compared to cytobrush sampling.

Key words: Uterine inflammation; bacterial infection; subfertility; infertility;

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Schematic representation of the experimental design: G1 – conventional cytology; G2 – total cytology; G3 – low-volume uterine lavage; C1, C2, and C3 – cytology samples from G1, G2, and G3; S1, S2, and S3 – swabs from G1, G2, and G3, respectively.....	43
---	----

LISTA DE TABELAS

Table 1. Number and percentage of positive cytology and culture results in each sampling group.....	47
Table 2. Number and percentage of animals with positive cytology and culture results in individual groups or combined groups.....	47
Table 3. Comparison between groups regarding positive cultures and their respective p-values.....	48

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1.....	11
REVISÃO DE LITERATURA.....	12
1. INTRODUÇÃO.....	12
2. ETIOPATOGENIA.....	13
2.1. Endometrite bacteriana.....	16
3. DIAGNÓSTICO.....	18
3.1. Citologia uterina.....	19
3.2. Cultivo microbiológico uterino.....	21
3.3. Biópsia uterina e novas metodologias diagnósticas.....	23
4. TRATAMENTO.....	23
5. CONCLUSÃO.....	25
6. REFERÊNCIAS.....	26
HIPÓTESES.....	36
OBJETIVOS.....	36
Objetivo geral.....	36
Objetivo específico.....	36
CAPÍTULO 2.....	37
ARTIGO.....	38

CAPÍTULO 1

REVISÃO DE LITERATURA

1. INTRODUÇÃO

A endometrite, processo inflamatório do endométrio uterino, representa a principal causa de subfertilidade em éguas e a terceira afecção mais frequente na espécie (TROEDSSON, 2006; SOLIMAN et al., 2021). Estima-se que a enfermidade acometa entre 25 e 60% das éguas subférteis (CAUSEY, 2006). A redução da fertilidade decorrente do processo inflamatório aumenta o número de inseminações ou coberturas necessárias para obtenção da gestação, prolonga o intervalo entre partos e eleva os custos relacionados ao manejo reprodutivo e aos tratamentos. Esses fatores impactam diretamente a rentabilidade da equinocultura, sobretudo em rebanhos destinados à reprodução de animais de elevado valor genético, nos quais a perda de uma estação reprodutiva pode representar expressivos prejuízos econômicos (DA SILVA et al., 2024).

Fisiologicamente, após a introdução de sêmen no trato reprodutivo feminino, seja pela cópula ou inseminação artificial, desencadeia-se uma resposta inflamatória local e transitória (MCKINNON et al., 2011). Por meio da ação conjunta da contratilidade miometrial e dos mecanismos de imunidade inata, essa inflamação é resolvida entre 24 e 36 horas após a cobertura em éguas saudáveis (CHRISTOFFERSEN; TROEDSSON, 2017; MORRIS; MCCUE; AURICH, 2020).

Entretanto, quando esses mecanismos de depuração são ineficientes, a condição é denominada endometrite persistente pós-cobertura (EPPC), caracterizada clinicamente pelo acúmulo de líquido intrauterino, associado ou não à presença de secreção vulvar a partir de 48 horas após a exposição ao sêmen (TROEDSSON; LIU, 1991; WOODWARD et al., 2013b). Por outro lado, a endometrite infecciosa caracteriza-se pela persistência da inflamação em decorrência da colonização e multiplicação de microrganismos patogênicos, principalmente bactérias e, menos frequentemente, fungos (KATILA et al., 2022; VIRENDRA et al., 2024).

Essa afecção compromete o ambiente uterino necessário ao desenvolvimento embrionário inicial, além de estimular liberação de

prostaglandina- $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) e, conseqüentemente, induzir a luteólise e queda nos níveis de progesterona circulantes (SAMPER; PYCOCK; KINNON, 2003; SEGABINAZZI et al., 2021). Como resultado, são evidenciadas perdas embrionárias precoces, retorno ao estro e repetidas falhas de concepção (DA SILVA et al., 2024).

Éguas de idade avançada, submetidas a coberturas excessivas ou com histórico de partos distócicos apresentam maior predisposição ao desenvolvimento da enfermidade. Além disso, alterações anatômicas, como conformação vulvar e perineal inadequada, coaptação deficiente dos lábios vulvares e presença de útero penduloso, também favorecem o quadro (WOODWARD et al., 2012; CHRISTOFFERSEN et al., 2015b). A susceptibilidade provém da incapacidade de contração do miométrio, drenagem linfática, transporte mucociliar, função cervical deficiente e processos degenerativos vasculares (LEBLANC; CAUSEY, 2009).

A endometrite pode ter origem infecciosa ou não infecciosa, visto que a resposta inflamatória pode ser desencadeada por bactérias, fungos, urina, fezes ou, ainda, pelo ejaculado (LEBLANC, 2003). Durante o estro, as barreiras naturais de defesa contra microrganismos encontram-se abertas pelo efeito estrogênico, favorecendo a entrada de agentes patogênicos (REILAS et al., 2016). Entretanto, nesse período também ocorre intensificação dos mecanismos de defesa uterinos. Com a transição para o diestro, sob influência da progesterona, observa-se redução da resposta imune local e da capacidade de eliminação do conteúdo uterino, criando um ambiente favorável à proliferação dos microrganismos que permaneceram no lúmen uterino após o estro em éguas suscetíveis (DAVIS et al., 2013; PETERSEN et al., 2018). A endometrite infecciosa, seja pré ou pós-acasalamento, assim como a endometrite persistente pós-cobertura (EPPC), podem ser classificadas como aguda, crônica ou subclínica (CHRISTOFFERSEN; TROEDSSON, 2017).

Éguas com citologia e cultura positivas podem apresentar a forma subclínica da doença, sem manifestação clínica aparente (RASMUSSEN et al., 2015). Estima-se que 15% a 30% das éguas sejam suscetíveis à EPPC (PYCOCK; NEWCOMBE, 1996; ZENT; TROEDSSON; XUE, 1998) e, entre essas, aproximadamente, 28,6% desenvolvem a forma subclínica. Ramussen et

al. (2015) correlacionaram o aumento do edema endometrial no início do estro com infecções subclínicas por *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*, caracterizando esse achado como forte indicador da doença.

2. ETIOPATOGENIA

A resposta uterina à cobertura envolve uma série de mecanismos fisiológicos e imunológicos coordenados, fundamentais para a remoção de espermatozoides excedentes, microrganismos e subprodutos inflamatórios (MORRIS; MCCUE; AURICH, 2020). A estimulação mecânica da cérvix e vagina durante a cópula ou inseminação promove a liberação de ocitocina, a qual induz contrações miométriais responsáveis pela expulsão do conteúdo uterino entre 6 e 12 horas (CAMPBELL; ENGLAND, 2004; RISCO et al., 2009). Após a ovulação, com o fechamento da cérvix, o sistema linfático passa a exercer papel fundamental na drenagem desses subprodutos (LEBLANC et al., 1995).

Durante a inflamação fisiológica é desencadeada a cascata do ácido araquidônico, resultando na liberação de $\text{PGF}_{2\alpha}$. Além de sua ação luteolítica, essa prostaglandina atua como mediadora inflamatória e auxilia na estimulação da contração miometrial (TROEDSSON et al., 1995; TROEDSSON, 1999). Em éguas resistentes a EPPC esse mecanismo de limpeza uterina ocorre de forma eficiente dentro de até 48 horas após a cobertura (TROEDSSON; LIU, 1991).

Em contrapartida, éguas suscetíveis iniciam a contratilidade uterina de forma tardia e apresentam redução da atividade miometrial antes do término do desafio (TROEDSSON et al., 1993; LEBLANC et al., 1994). Uma das hipóteses para esse fenômeno é o maior acúmulo intrauterino de óxido nítrico, produzido durante processos inflamatórios pela enzima óxido nítrico sintase induzível. Esse composto exerce efeito relaxante sobre a musculatura lisa e reduz a responsividade a estímulos elétricos (ALGHAMDI et al., 2005; WOODWARD et al., 2013b). Contudo, sugere-se que há fatores endócrinos e etários envolvidos nesse processo, os quais ainda não estão completamente elucidados (KHAN et al., 2017).

Ademais, determinadas características anatômicas podem comprometer a drenagem uterina adequada e favorecer o acúmulo de líquido intrauterino. Entre os principais fatores estão alterações conformacionais, lesões e fibroses resultantes de partos sucessivos ou distócicos (REILAS et al., 1997), como o estiramento dos ligamentos uterinos e desenvolvimento de útero penduloso, decorrente de gestações múltiplas (LEBLANC et al., 1998; LEBLANC; CAUSEY, 2009). Além da fibrose cervical e consequente redução da capacidade de dilatação induzida por manipulações excessivas, condição frequentemente observada em éguas doadoras de embriões (REILAS et al., 1997). Por fim, o fechamento cervical precoce, especialmente em éguas virgens, constitui outro importante fator predisponente à EPPC (PYCOCK, 2009).

As formas infecciosas e não infecciosas frequentemente ocorrem de maneira concomitante, apresentando sinais clínicos e resposta neutrofílica semelhantes (KOTILAINEN; KATILA; HUHTINEN, 1994; CHRISTOFFERSEN; TROEDSSON, 2017). Independentemente do método de cobertura, espermatozoides, proteínas do plasma seminal e bactérias presentes no ejaculado ultrapassam as barreiras físicas do trato reprodutivo e desencadeiam uma resposta imune inata não específica, rápida e de curta duração (TROEDSSON et al., 2001; MURAILLE; GORIELY, 2017).

Após a introdução do sêmen, células epiteliais endometriais e sentinelas, como macrófagos, células *natural killer*, células dendríticas e neutrófilos, reconhecem padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) por meio de receptores específicos (TROEDSSON, 1999). Os PAMPs incluem lipopolissacarídeos de bactérias gram-negativas, bem como peptidoglicanos e ácidos lipoteicoicos de gram-positivas (QUAYLE, 2002). Esse reconhecimento desencadeia a ativação de citocinas pró-inflamatórias, como IL-1 β e IL-8, associada à menor expressão de citocinas anti-inflamatórias, como IL-1RA, IL-10 e IL-6 (SCHÖNIGER; GRÄFE; SCHOON, 2017; SKARZYNSKI et al., 2020). Esse mecanismo favorece o influxo de neutrófilos polimorfonucleares (PMNs) para o lúmen uterino por quimiotaxia, constituindo a primeira linha de defesa imunológica (WOODWARD et al., 2013a; FEDORKA et al., 2018).

Os PMNs podem ser detectados já aos 30 minutos após a cobertura, atingindo pico em aproximadamente 12 horas (KATILA, 1995; ALGHAMDI et al.,

2005), seguido de redução a partir de 24 horas em éguas normais, independentemente da concentração do ejaculado (FIALA et al., 2007). Esses leucócitos ativados ligam-se aos espermatozoides e às bactérias, eliminando esses patógenos por fagocitose, degranulação e pela formação de armadilhas extracelulares de neutrófilos (ALGHAMDI; FOSTER, 2005; REBORDÃO et al., 2014). Essa resposta ocorre porque o sêmen é reconhecido como um corpo estranho pelo organismo da fêmea. Contudo, não há produção de anticorpos, uma vez que, células T regulatórias são as principais responsáveis por reconhecer esses antígenos masculinos e suprimir a inflamação, promovendo um ambiente imunológico de tolerância (MOLDENHAUER et al., 2009; SCHJENKEN; ROBERTSON, 2015).

Quando o processo inflamatório persiste por dias ou semanas, geralmente está associado à infecção bacteriana ou fúngica (KATILA; FERREIRA-DIAS, 2022). A endometrite fúngica é uma condição oportunista, causada principalmente por *Candida* spp. e *Aspergillus* spp. (BELTAIRE; CHEONG; COUTINHO DA SILVA, 2012). Ela representa cerca de 1 a 5% dos casos de endometrite (DASCANIO; SCHWEIZER; LEY, 2001) e os sinais consistem em secreção vaginal purulenta, fluido com ecogenicidade heterogênea no lúmen uterino e infertilidade crônica. Embora sua patogênese ainda não esteja completamente elucidada, sua ocorrência é frequentemente associada a fatores imunossupressores e ao uso repetido de antibioticoterapia intrauterina (HINRICHS; SPENSLEY; MCDONOUGH, 1992; SCOTT, 2020).

2.1. Endometrite bacteriana

As infecções bacterianas correspondem a aproximadamente 25 a 60% dos casos de endometrite e estão majoritariamente associadas a agentes aeróbios (RIDDLE; LEBLANC; STROMBERG, 2007; FRONTOSO et al., 2008). Bactérias latentes podem passar a se proliferar também pela imunossupressão proveniente da resposta inflamatória fisiológica pós-cobertura (PETERSEN et al., 2015).

Anteriormente, acreditava-se que o útero fosse um órgão estéril, entretanto, estudos demonstram que, em éguas, a microbiota uterina é moderadamente diversa e pode variar conforme o momento do ciclo estral

(BAKER; CHASE; HERBST-KRALOVETZ, 2018; HEIL et al., 2018). Essa microbiota apresenta relação direta com os microrganismos presentes no fundo da vagina, em virtude da abertura e comunicação cervical durante o estro (HEIL et al., 2018). Em equilíbrio, a microbiota exerce papel protetor contra infecções, contudo, alterações nessa dinâmica podem favorecer o comportamento oportunista de microrganismos comensais (HEIL; PACCAMONTI; SONES, 2019).

Virendra et. al. (2024) identificaram diferenças significativas na composição da microbiota uterina entre éguas saudáveis e com endometrite. Éguas saudáveis apresentaram maior prevalência de bactérias do filo *Firmicutes* e da família *Paenibacillaceae*, com maior abundância das espécies *Brevibacillus brevis*, *Brevibacillus choshinensis* e *Paenibacillus* spp. Em contraste, éguas com endometrite exibiram uma microbiota caracterizada pelo predomínio do filo *Proteobacteria*, família *Enterobacteriaceae* e espécies potencialmente patogênicas, como *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* e *Klebsiella pneumoniae* (HOLYOAK, 2021; DONATO et al., 2026).

Em concordância, demais estudos trazem que as bactérias mais comumente isoladas incluem *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* e *Escherichia coli*. Ademais, também são identificadas *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Corynebacterium* spp., *Enterobacter* spp. e *Actinobacter* spp. (TROEDSSON, 1999; FRONTOSO et al., 2008; DAVIS et al., 2013).

S. zooepidemicus é uma bactéria beta-hemolítica oportunista, a qual possui cepas específicas colonizadoras do trato reprodutivo caudal (ALBIHN; BÅVERUD; MAGNUSSON, 2003; CHRISTOFFERSEN et al., 2015b). Essas cepas apresentam alta patogenicidade, associada à expressão de superantígenos e à capacidade de persistir cronicamente em diferentes compartimentos do útero equino (CASAGRANDE PROIETTI et al., 2011; PETERSEN et al., 2015; SKIVE et al., 2017). A presença de cápsula de ácido hialurônico e proteínas ligantes de fibronectina confere ação antifagocítica, dificultando sua eliminação pelo sistema imune. Portanto, esses agentes só se tornam detectáveis por técnicas de diagnóstico convencionais durante a infecção aguda, normalmente, quando reativados pela EPPC (PETERSEN et al., 2015).

Em contraste, não há descrição de cepas uterinas específicas de *E. coli* na espécie equina, indicando que sua presença esteja mais relacionada à contaminação do que à colonização desse órgão (SHELDON et al., 2010). Por esse motivo, ela é mais frequentemente observada em animais acometidos com pneumovagina ou contaminação fecal (TROEDSSON, 1999).

Além disso, diversos patógenos gram-negativos isolados do útero equino, incluindo aqueles de maior prevalência, são capazes de formar biofilme. Por meio de sinalização celular bacteriana, os microrganismos organizam-se em agregados envolvidos por uma matriz extracelular de substâncias poliméricas (THURLOW et al., 2011; FERRIS et al., 2014; KOO et al., 2017). Essa organização confere uma barreira de proteção, além das bactérias apresentarem metabolismo reduzido e menor taxa de replicação, tornando-as menos suscetíveis à resposta imune do hospedeiro e à ação de antimicrobianos. Como consequência, são estabelecidas infecções de difícil diagnóstico e tratamento, com maior propensão à cronicidade e ao desenvolvimento de resistência antimicrobiana (FERRIS et al., 2014; BEEHAN et al., 2015).

3. DIAGNÓSTICO

O diagnóstico da endometrite é composto pela avaliação clínica da fêmea, associado a exames complementares ultrassonográficos e laboratoriais (KATILA, 2016). Inicialmente, busca-se evidenciar os possíveis fatores de susceptibilidade envolvidos por meio da identificação e análise criteriosa do histórico reprodutivo do animal. Antecedentes de infertilidade ou subfertilidade, distocias, abortos, retenção de placenta, intervalos curtos entreaios e episódios de acúmulo de líquido intrauterino são considerados indicativos relevantes (MORRIS; MCCUE; AURICH, 2020).

O exame clínico geral contribui para a identificação de eventuais alterações sistêmicas associadas, embora estas sejam pouco frequentes em éguas acometidas por essa afecção (NOAKES, 2002). A investigação clínica específica do sistema reprodutivo inclui a inspeção da conformação do aparelho reprodutor externo e a verificação da presença de secreção vulvar (MORRIS; MCCUE; AURICH, 2020). Embora a descarga vulvar não seja prevalente em

todos os casos, a massagem uterina durante o exame pode favorecer sua exteriorização. Adicionalmente, alterações como congestão vaginal e cervical podem ser identificadas com o auxílio do espécuro vaginal (BRINSKO; BLANCHARD, 2011; KATILA, 2016).

A etapa interna do exame ginecológico, realizada por palpação transretal, permite a constatação de alterações de tamanho, consistência, conformação e posição uterina, bem como possíveis anormalidades cervicais (BRINSKO; BLANCHARD, 2011; MCKINNON et al., 2011). A ultrassonografia transretal complementa essa avaliação, possibilitando a identificação de achados como edema uterino e presença de líquido intrauterino, os quais contribuem significativamente para o diagnóstico de endometrite (LEBLANC; CAUSEY, 2009; NOAKES, 2002). Brinsko et al. (2003) classificaram o volume de conteúdo intrauterino entre 0, 1 e 2, representando ausência de líquido, volume inferior a 2 cm e superior a 2 cm, respectivamente.

O acúmulo de volumes iguais ou superiores a 2 cm durante o estro está associado a maior susceptibilidade à endometrite (BRINSKO et al., 2003). Após a cópula, a permanência excessiva de conteúdo anecoico ou com pontos hiperecoicos é sugestiva de inflamação ou infecção uterina, embora a ausência de acúmulo não exclua a afecção (NOAKES, 2002; CÁSSERES DE BORBA et al., 2012). A ecogenicidade do líquido sugere a concentração de células inflamatórias e resíduos no lúmen uterino, de modo que maior ecogenicidade reflete maior grau de contaminação por detritos (NOAKES, 2002). Além disso, edema uterino excessivo no período pós-acasalamento e presença de uma linha hiperecogênica entre as pregas endometriais são indicativos de endometrite subclínica (LEBLANC; CAUSEY, 2009).

Por se tratar de uma infecção localizada, o leucograma e os marcadores inflamatórios não apresentam especificidade ou sensibilidade suficientes para serem utilizados como exames complementares no diagnóstico da endometrite, exceto nos casos de metrite puerperal (KATILA et al., 2016). Dessa forma, métodos como a ultrassonografia, a citologia endometrial, a cultura microbiológica e a biópsia uterina constituem as principais ferramentas para a identificação e classificação da endometrite (CANISSO et al., 2020).

A diferenciação entre a endometrite persistente pós-cobertura (EPPC) e a endometrite infecciosa é essencial para a definição da conduta terapêutica e para a otimização da eficiência reprodutiva das éguas. Embora ambas se caracterizem pela persistência da inflamação uterina, a endometrite infecciosa decorre da colonização e multiplicação de agentes infecciosos no útero, exigindo tratamento direcionado ao agente etiológico. Dessa forma, o diagnóstico adequado permite distinguir essas condições, evitando o uso indiscriminado de antimicrobianos, direcionando a terapia mais apropriada e aumentando as chances de estabelecimento e manutenção da gestação (PETERSEN et al., 2018; DÍAZ-BERTRANA et al., 2021; TEIXEIRA-SOARES et al., 2022).

3.1. Citologia uterina

A citologia uterina baseia-se na quantificação de células inflamatórias (PMNs) em relação às células endometriais (MCKINNON et al., 2011). A migração de neutrófilos para o lúmen uterino em resposta ao processo inflamatório pode ser diagnosticada com precisão por meio do exame citológico de esfoliação das células endometriais (NIELSEN, 2005). Por esse motivo, é considerada uma ferramenta fundamental para a avaliação imediata do estado endometrial, auxiliando na tomada de decisão terapêutica pelo médico veterinário (BRINSKO; BLANCHARD, 2011).

Os principais parâmetros avaliados incluem o percentual de neutrófilos, a identificação de bastonetes, cocos e cocobacilos, bem como a detecção de leveduras, fungos e a avaliação da presença e quantidade de detritos celulares (CARD et al., 2004). A contagem pode ser realizada pelo número de PMNs em 10 campos microscópicos ou pela contagem total de 100, 200 ou 300 células na lâmina, a fim de se determinar a porcentagem de neutrófilos. Processos inflamatórios moderados a severos, caracterizados pela presença de ≥ 5 PMNs por campo em aumento de 400 $\times$, apresentam alta associação com a ocorrência de líquido intrauterino (BURLESON et al., 2010). Ressalta-se que o melhor método de contagem e os valores de referência variam conforme a técnica de coleta utilizada (LEBLANC; MAGSIG; STROMBERG, 2007; MCKINNON et al., 2011; KOZDROWSKI et al., 2015). A patogenicidade de determinadas bactérias, como a *E. coli*, também influencia os achados citológicos, por sua atividade de

supressão neutrofílica, interferindo na resposta inflamatória observada (CHRISTOFFERSEN et al., 2015b).

As amostras citológicas podem ser obtidas por meio de escova ginecológica, *cytotape* ou *swab* endometrial, utilizando kits descartáveis, ou ainda por lavado uterino de baixo volume seguido de centrifugação (BRINSKO; BLANCHARD, 2011). Independentemente da técnica empregada, a citologia constitui um método rápido e de confiabilidade relativamente elevada, embora resultados falso-negativos possam ocorrer (NIELSEN, 2005; NIELSEN et al., 2010).

Para a obtenção de resultados citológicos confiáveis, é imprescindível a adoção de técnicas de coleta que permitam a recuperação de um número elevado de células bem preservadas e representativas, sem causar danos ao trato reprodutivo (ROSZEL; FREEMAN, 1988). Diversos autores destacam a superioridade da escova citológica protegida em relação ao *swab* protegido quanto à quantidade de material celular obtido. Entretanto, o *swab* pode proporcionar células mais intactas e com melhor qualidade morfológica, além de ser um método menos invasivo (ALVARENGA; MATTOS, 1990; COCCHIA et al., 2012; WALTER et al., 2012).

Quando comparada à lavagem uterina, a escova citológica é considerada mais prática e proporciona resultados mais rápidos, uma vez que as amostras podem ser analisadas diretamente, sem necessidade de processamento laboratorial (ALVARENGA; MATTOS, 1990). Em contrapartida, os lavados uterinos permitem a obtenção de células provenientes de uma área mais extensa da superfície endometrial, resultando em amostras mais representativas quando comparadas a métodos de coleta focal, como o *swab*, que entra em contato com apenas 1 a 2 cm² do endométrio (ROSZEL; FREEMAN, 1988; COCCHIA et al. 2012). No entanto, o processo de centrifugação pode aumentar a presença de detritos celulares, dificultando a identificação e a contagem dos PMNs (CARD et al., 2004).

A avaliação macroscópica do conteúdo recuperado no lavado também auxilia no diagnóstico, podendo revelar muco e turbidez decorrentes da presença de debris celulares (LEBLANC; MAGSIG; STROMBERG, 2007). Apesar da

maior sensibilidade desse procedimento, a baixa recuperação da solução pode indicar distribuição inadequada no lúmen uterino, comprometendo a interpretação dos resultados (CHRISTOFFERSEN et al., 2015a).

3.2. Cultivo microbiológico uterino

O diagnóstico microbiológico baseia-se na avaliação do tamanho, da morfologia, da pigmentação e do potencial hemolítico das colônias bacterianas (KATILA, 2016). A coleta pode ser realizada por *swab* com ponta de algodão, biópsia endometrial ou lavado uterino de baixo volume, preferencialmente durante o estro (FERRIS et al., 2016). Após a coleta, as amostras devem ser acondicionadas em meios adequados e mantidas sob refrigeração até o processamento laboratorial. O material destinado à cultura deve ser coletado antes de qualquer outro procedimento diagnóstico, a fim de evitar contaminação cruzada (NOAKES, 2002).

A interpretação da contagem bacteriana varia conforme os autores e os métodos empregados, entretanto, a presença de mais de 10 colônias tende a representar uma infecção verdadeira (REILAS; KATILA, 2002; CHRISTOFFERSEN et al., 2015a). O crescimento de uma a duas espécies bacterianas é considerado cultura pura, enquanto o isolamento de três ou mais espécies sugere colonização acidental da amostra (NIELSEN, 2005). Destaca-se que as bactérias mais frequentemente associadas à endometrite também integram a microbiota genital de equinos, o que dificulta a distinção entre infecção verdadeira e contaminação amostral (SCOTT et al., 1971; WAELCHLI; CORBOZ; DOEBELI, 1992). Ademais, técnicas de coleta endometrial semiprotetidas, como a lavagem uterina, apresentam maior susceptibilidade à contaminação proveniente da vagina ou do colo uterino, ao passo que métodos totalmente protegidos, como o *swab* endometrial, minimizam essa interferência (RIDDLE; LEBLANC; STROMBERG, 2007).

Além disso, microrganismos metabolicamente inativos não são detectados por métodos convencionais, assim como infecções com distribuição focal demandam métodos de amostragem mais representativos, como a lavagem uterina de baixo volume (KATILA, 2016). Dessa forma, a principal limitação da interpretação isolada desse exame reside na ocorrência de

resultados falso-positivos ou falso-negativos, comprometendo a acurácia diagnóstica (WAELCHLI et al., 1992; NIELSEN, 2005; LEBLANC; CAUSEY, 2009). Alguns autores relatam que o exame citológico apresenta sensibilidade superior à cultura na identificação da endometrite (DIGBY, 1978; RIDDLE et al., 2007).

Porém, nesse contexto, a associação entre exames citológicos e bacteriológicos positivos proporciona maior confiabilidade (WALTER; WEHREND, 2007; NIELSEN et al., 2010). Ademais, o crescimento bacteriano nem sempre está associado à inflamação endometrial ou à redução da fertilidade, reforçando a necessidade da utilização de métodos complementares (NIELSEN, 2005; LEBLANC et al., 2007).

Recentemente, DelPrete et al. (2024) descreveram um protocolo utilizando a escova ginecológica simultaneamente para citologia e cultura endometrial. Os autores observaram correlação positiva com os métodos tradicionais de *swab* de algodão e escova citológica, ao utilizarem uma única amostra para esfregaço em lâmina de vidro estéril e posterior imersão da escova em solução salina estéril, resultando em um procedimento prático, seguro e aplicável à rotina de campo.

3.3. Biópsia uterina e novas metodologias diagnósticas

Nos casos de endometrite crônica, a avaliação histológica do endométrio por meio da biópsia uterina é considerada o padrão-ouro (gold standard) para o diagnóstico e prognóstico da fertilidade da égua (MITCHELL et al., 2018). Trata-se da única técnica capaz de avaliar a arquitetura do endométrio, permitindo a identificação da intensidade e distribuição do infiltrado inflamatório, alterações fibróticas, fibrose periglandular, dilatação de vasos linfáticos, alterações glandulares e outras lesões degenerativas que comprometem a capacidade reprodutiva da fêmea (BRINSKO; BLANCHARD, 2011). Além do diagnóstico da enfermidade, a avaliação histopatológica possibilita classificar o endométrio quanto ao prognóstico reprodutivo (MCKINNON, et al., 2011). Entretanto, apesar de sua elevada acurácia diagnóstica, a biópsia apresenta limitações relacionadas ao seu caráter

invasivo, à necessidade de processamento histopatológico e interpretação especializada, ao maior tempo para obtenção dos resultados e ao fato de representar apenas uma pequena área do endométrio, o que pode não refletir lesões distribuídas de forma focal (NIELSEN et al., 2005; NIELSEN et al., 2012).

Em razão dessas limitações, novas ferramentas diagnósticas vêm sendo investigadas com o objetivo de aumentar a sensibilidade, reduzir o tempo de diagnóstico e fornecer informações complementares às técnicas convencionais. Entre elas, destaca-se a reação em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR), que possibilita a quantificação da expressão de genes relacionados à resposta imune inata e à inflamação uterina, contribuindo para a identificação precoce de alterações endometriais (MARTH; MACOLINO; KREKELER, 2018).

No caso das infecções fúngicas, a PCR também pode ser empregada para detectar DNA de fungos em amostras obtidas por citologia ou biópsia endometrial, apresentando maior rapidez quando comparada à cultura micológica, a qual frequentemente requer um período prolongado para o crescimento dos microrganismos (BELTAIRE; CHEONG; COUTINHO DA SILVA, 2012; MORRIS; MCCUE; AURICH, 2020).

Outras abordagens emergentes incluem a avaliação do perfil proteômico do fluido uterino, a mensuração de biomarcadores inflamatórios e a identificação de proteínas relacionadas à resposta imune endometrial, com potencial para auxiliar no diagnóstico precoce e no monitoramento da evolução da doença (LECTION et al., 2024; TEIXEIRA-SOARES et al., 2025). Apesar dos avanços tecnológicos, fatores como custo, disponibilidade de infraestrutura laboratorial e necessidade de padronização metodológica ainda limitam a incorporação dessas técnicas na rotina clínica, mantendo a citologia, a cultura microbiológica e a biópsia endometrial como os principais métodos empregados na avaliação da endometrite equina.

4. TRATAMENTO

A principal estratégia terapêutica empregada no manejo da endometrite consiste na associação entre lavagem uterina e o uso de fármacos ecbólicos nas primeiras 48 horas pós-cobertura, com o objetivo de promover a remoção física de debris inflamatórios e microrganismos presentes no lúmen uterino (LEBLANC; CAUSEY, 2009; ROSE et al., 2018). Tradicionalmente, essa abordagem é complementada com o uso de anti-inflamatórios e antibióticos. No entanto, a administração empírica de antimicrobianos, sem diagnóstico preciso, tem apresentado eficácia limitada, sobretudo em função do aumento progressivo da resistência bacteriana (DAVIS et al., 2013; MITCHELL et al., 2018).

Entre os agentes ecbólicos, destaca-se a ocitocina, responsável por induzir contrações miométriais de alta amplitude por aproximadamente 30 minutos. A expressão gênica de seus receptores no miométrio torna a resposta uterina mais intensa durante o estro, podendo persistir até 48 horas após a ovulação (LEBLANC et al., 1994). A PGF_{2α}, por sua vez, apresenta ação mais prolongada e não é recomendada no período pós-ovulatório devido ao seu efeito luteolítico. Quando há alterações anatômicas como útero penduloso e cérvix fechada a eficiência desse tipo de tratamento é reduzida (LEBLANC; CAUSEY, 2009).

A lavagem uterina é comumente realizada com solução salina ou ringer lactato estéreis, sendo indicada antes da inseminação ou, preferencialmente, quatro horas após a cobertura. Procedimentos realizados 30 minutos e duas horas após a cópula estão associados à redução das taxas de prenhez pela interferência no transporte espermático (BRINSKO et al., 1990; VANDERWALL; WOODS, 2003).

O uso de fármacos anti-inflamatórios tem sido associado à melhora da fertilidade em éguas suscetíveis à endometrite. Estudos demonstram aumento nas taxas de prenhez após a administração de glicocorticoides, como dexametasona e prednisolona, bem como de anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) utilizados previamente à cobertura (DELL'AQUA et al., 2006; BUCCA et al., 2008; FRISO et al., 2019). Entretanto, devido ao potencial efeito inibitório sobre a contratilidade uterina, o uso de AINEs deve ser criterioso e associado a agentes ecbólicos quando indicado (DELL'AQUA et al., 2006).

Outras abordagens terapêuticas com foco na imunomodulação incluem a imunização contra agentes bacterianos, o uso de proteínas do plasma seminal, como a lactoferrina, terapias com plasma rico em plaquetas (PRP), extrato da parede celular de *Mycobacterium* e a aplicação de células-tronco mesenquimais endometriais. Essas estratégias demonstram potencial para modular a resposta imune uterina, reduzir o influxo de neutrófilos, alterar o perfil de citocinas e melhorar o ambiente uterino pós-cobertura. Apesar dos resultados promissores, tais terapias ainda demandam maior padronização e validação clínica antes de sua ampla aplicação na rotina reprodutiva (MORRIS; MCCUE; AURICH, 2020).

O tratamento antibiótico deve ser sempre precedido por cultura microbiológica e teste de sensibilidade antimicrobiana, uma vez que os perfis de resistência variam entre indivíduos e não apresentam correlação direta com a intensidade da inflamação uterina (DAVIS et al., 2013; MITCHELL et al., 2018). A infusão intrauterina de antimicrobianos é amplamente utilizada por permitir altas concentrações locais do fármaco (LEBLANC; CAUSEY, 2009). Contudo, fatores como manipulação repetida do colo uterino, presença de debris inflamatórios, pH não fisiológico e distribuição inadequada do antibiótico podem comprometer sua eficácia. Em contrapartida, estudos recentes demonstram que a administração sistêmica pode alcançar concentrações endometriais superiores à concentração inibitória mínima, evidenciando seu potencial terapêutico (SCOFIELD et al., 2014; DAVOLLI et al., 2018; BEACHLER et al., 2023).

Bactérias formadoras de biofilme não são sensíveis ao uso isolado de terapias antimicrobianas, sendo necessária a associação com agentes disruptores de biofilme, como Tris-EDTA ou DMSO, para maior eficácia do tratamento (FERRIS et al., 2017). Outras alternativas incluem a N-acetilcisteína e o peróxido de hidrogênio, desde que utilizados em concentrações adequadas e com cautela quanto às possíveis interações farmacológicas (MCKINNON et al., 2011; MELKUS et al., 2013). O tratamento intrauterino deve ser iniciado apenas após quatro horas da cobertura e limitado a até dois a três dias após a ovulação, a fim de evitar interferência no transporte espermático e prejuízo à função do corpo lúteo (BRINSKO; BLANCHARD, 2011).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O diagnóstico da endometrite equina constitui um dos principais desafios no manejo reprodutivo de éguas, sobretudo em razão da natureza multifatorial da enfermidade e da elevada ocorrência de formas subclínicas. Nesse cenário, o diagnóstico assume papel central na tomada de decisão clínica, uma vez que métodos isolados apresentam limitações relevantes. Assim, a sensibilidade e a especificidade das ferramentas diagnósticas são determinantes para a identificação precoce de processos inflamatórios endometriais não fisiológicos e para o estabelecimento de condutas terapêuticas adequadas, refletindo diretamente no sucesso reprodutivo.

6. REFERÊNCIAS

- ALBIHN, A.; BÅVERUD, V.; MAGNUSSON, U. Uterine Microbiology and Antimicrobial Susceptibility in Isolated Bacteria from Mares with Fertility Problems. *Acta Veterinaria Scandinavica*, v. 44, n. 3, p. 121, 2003.
- ALGHAMDI, A. S.; FOSTER D. N.; CARLSON, C. S.; TROEDSSON, M. H. T. Nitric Oxide Levels and Nitric Oxide Synthase Expression in Uterine Samples from Mares Susceptible and Resistant to Persistent Breeding-induced Endometritis. *American Journal of Reproductive Immunology*, v. 53, n. 5, p. 230–237, 2005.
- ALGHAMDI, A. S.; FOSTER, D. N. Seminal DNase Frees Spermatozoa Entangled in Neutrophil Extracellular Traps. *Biology of Reproduction*, v. 73, n. 6, p. 1174–1181, 2005.
- ALVARENGA, M. A.; MATTOS, M. C. F. I. Eficiência da escova ginecológica “Cytobrush” na colheita de material endometrial em éguas. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. v. 42, n. 1, p.67-68, 1990.
- BAKER, J. M.; CHASE, D. M.; HERBST-KRALOVETZ, M. M. Uterine Microbiota: Residents, Tourists, or Invaders? *Frontiers in Immunology*, v. 9, 2018.
- BEACHLER, T. M.; PAPICH, M. G.; WULF, L. W.; KUNDU, D.; MOCHEL, J. P.; WITHOWSKI, K. E.; BAILEY, C. S. Concentrations of penicillin and gentamicin following intrauterine administration of two compounded formulations. *Journal of Equine Veterinary Science*, v. 125, 2023.
- BEEHAN, D. P.; WOLFSDORF, K.; ELAM, J.; KREKELER, N.; PACCAMONTI, D.; LYLE, S. K. The Evaluation of Biofilm-Forming Potential of *Escherichia coli* Collected From the Equine Female Reproductive Tract. *Journal of Equine Veterinary Science*, v. 35, n. 11–12, p. 935–939, 2015.

BELTAIRE, K. A.; CHEONG, S. H.; COUTINHO DA SILVA, M. A. Retrospective study on equine uterine fungal isolates and antifungal susceptibility patterns (1999–2011). *Equine Veterinary Journal*, v. 44, n. S43, p. 84–87, 2012.

BRINSKO, S. P.; VARNER, D.D.; BLANCHARD, T.L.; MEYERS, S.A. The effect of postbreeding uterine lavage on pregnancy rate in mares. *Theriogenology*, v. 33, n. 2, p. 465–475, 1990.

BRINSKO, S. P.; RIGBY, S. L.; DICKSON, V. D.; TERRY, B. L. A Practical Method for Recognizing Mares Susceptible to Post-breeding Endometritis. In: AAEP PROCEEDINGS, 2003, Reproduction, 2003.

BRINSKO, S. P.; BLANCHARD, T. L. Manual of equine reproduction. Mosby/Elsevier, 2011.

BUCCA, S.; CARLI, A.; BUCKLEY, T.; DOLCI, G.; FOGARTY, U. The use of dexamethasone administered to mares at breeding time in the modulation of persistent mating induced endometritis. *Theriogenology*, v. 70, n. 7, p. 1093–1100, 2008.

BURLESON, M. D.; LEBLANC, M. M.; RIDDLE, T.; HENDRICKS, K. E. M. Endometrial Microbial Isolates Are Associated With Different Ultrasonographic and Endometrial Cytology Findings in Thoroughbred Mares. In: AAEP PROCEEDINGS, 2010, THERIOGENOLOGY/REPRODUCTION, 2010.

CAMPBELL, M. L. H.; ENGLAND, G. C. W. Effect of teasing, mechanical stimulation and the intrauterine infusion of saline on uterine contractions in mares. *Veterinary Record*, v. 155, n. 4, p. 103–110, 2004.

CANISSO, I.F.; SEGABINAZZI, L.G.T.M.; FEDORKA, C.E. Persistent breeding induced endometritis in mares – a multifaceted challenge: from clinical aspects to immunopathogenesis and pathobiology. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 21, p.1432, 2020

CARD, C. E.; CARLEY, S. D.; GREEN, J.; CHIRINO-TREJO, M. Endometrial cytology in mares bred with frozen semen. In: Proceedings of the 50th Annual Conv American Association Equine Practitioners. Denver, Colorado, p. 505-509, 2004.

CASAGRANDE PROIETTI, P.; BIETTA, A.; COPPOLA, G.; FELICETTI, M.; COOK, R.F.; COLETTI, M.; MARENZONI, M.L.; PASSAMONTI, F. Isolation and characterization of β -haemolytic-Streptococci from endometritis in mares. *Veterinary Microbiology*, v. 152, n. 1–2, p. 126–130, 2011.

CÁSSERES DE BORBA, E. V.; CAMOZZATO, G C; MALSCHITZKY, E; CUNHA BUSTAMANTE-FILHO, I; AFONSO MARTINS, A; MATTOS, R C; PIRES NEVES, A. Is the presence of uterine fluid a reliable indicator of endometrial inflammation? *Pferdeheilkunde Equine Medicine*, v. 28, n. 1, p. 27–29, 2012.

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

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

CHRISTOFFERSEN, M.; TROEDSSON, M. Inflammation and fertility in the mare. *Reproduction in Domestic Animals*, v. 52, n. S3, p. 14–20, 2017.

CHRISTOFFERSEN, M.; SÖDERLIND, M.; RUDEFALK, S. R.; PEDERSEN, H. G.; ALLEN, J.; KREKELER, N. Risk factors associated with uterine fluid after breeding caused by *Streptococcus zooepidemicus*. *Theriogenology*, v. 84, n. 8, p. 1283–1290, 2015b.

COCCHIA, N.; PACIELLO, O.; AULETTA, L.; VALERIA, U.; LAURA, S.; KARINA, M.; GERARDO, P.; MARIA, P. Comparison of the cytobrush, cottonswab, and low-volume uterine flush techniques to evaluate endometrial cytology for diagnosing endometritis in chronically infertile mares. *Theriogenology*, v. 77, n. 1, p. 89-98, 2012

DA SILVA, E.; MARTÍN-CANO, F.E.; GÓMEZ-ARRONES, V.; GAITSKELL-PHILLIPS, G.; ALONSO, J.M.; REY, J.; BECERRO, L.; GIL, M.C; PEÑA, F.J.; ORTEGA-FERRUSOLA, C. Bacterial endometritis-induced changes in the endometrial proteome in mares: Potential uterine biomarker for bacterial endometritis. *Theriogenology*, v. 226, p. 202–212, 2024.

DASCANIO, J. J.; SCHWEIZER, C.; LEY, W. B. Equine fungal endometritis. *Equine Veterinary Education*, v. 13, n. 6, p. 324–329, 2001.

DAVIS, H. A.; STANTON, M. B.; THUNGRAT, K.; BOOTHE, D. M. Uterine bacterial isolates from mares and their resistance to antimicrobials: 8,296 cases (2003–2008). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 242, n. 7, p. 977–983, 2013.

DAVOLLI, G. M.; BEAVERS, K. N.; MEDINA, V.; SONES, J. L.; PINTO, C.R.F.; PACCAMONTI, D. L.; CAUSEY, R. C. Concentrations of Sulfadiazine and Trimethoprim in Blood and Endometrium of Mares After Administration of an Oral Suspension. *Journal of Equine Veterinary Science*, v. 67, p. 27–30, 2018.

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

DIGBY, N. J. W. The Technique and Clinical Application of Endometrial Cytology in Mares. *Equine Veterinary Journal*. v. 10, n. 3, p. 167-170, 1978.

DONATO, G. G.; NEBBIA, P.; STELLA, M. C.; GIONECHETTI, F.; ALA, U.; CRISTOFOLI, D.; ROBINO, P.; PALLAVICINI, A.; NERVO, T.. The Uterine Microbiota in Mares With Endometritis: impacts of antibiotic treatment. *Veterinary Medicine International*, v. 2026, n. 1, p. 1-9, 2026.

FEDORKA, C. E.; SCOGGIN, K.E.; BOAKARI, Y.L.; HOPPE, N.E.; SQUIRES, E.L.; BALL, B.A.; TROEDSSON, M.H.T. The anti-inflammatory effect of exogenous lactoferrin on breeding-induced endometritis when administered post-breeding in susceptible mares. *Theriogenology*, v. 114, p. 63–69, 2018.

FERRIS, R. A.; WITTSTOCK, S.M.; MCCUE, P.M.; BORLEE, B.R. Evaluation of biofilms in gram-negative bacteria isolated from the equine uterus. *Journal of Equine Veterinary Science*, v. 34, n. 1, p. 121, 2014.

FERRIS, R.A.; MCCUE, P.M.; BORLEE, G.I.; LONCAR, K.D.; HENNET, M.L.; BORLEE, B.R. In vitro efficacy of nonantibiotic treatments on biofilm disruption of Gram-negative pathogens and an in vivo model of infectious endometritis utilizing isolates from the equine uterus. *Journal of Clinical Microbiology*, v.54, p. 631–639, 2016.

FERRIS, R. A.; MCCUE, P. M.; BORLEE, G. I.; GLAPA, K. E.; MARTIN, K. H.; MANGALEA, M. R.; HENNET, M. L.; WOLFE, L. M. Model of Chronic Equine Endometritis Involving a *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm. *Infection and Immunity*, v. 85, n. 12, 2017.

FIALA, S. M.; PIMENTEL, C. A.; MATTOS, A. L. G.; GREGORY, R. M.; MATTOS, R. C. Effect of sperm numbers and concentration on sperm transport and uterine inflammatory response in the mare. *Theriogenology*, v. 67, n. 3, p. 556–562, 2007.

FRISO, A. M.; SEGABINAZZI, L.G.T.M.; CYRINO, M.; CORREAL, S. B.; FREITAS-DELL'AQUA, C. P.; TEORO DO CARMO, M.; DELL'AQUA JR., J. A.; MIRÓ, J.; PAPA, F.O.; ALVARENGA, M.A. Periovarian administration of firocoxib did not alter ovulation rates and mitigated post-breeding inflammatory response in mares. *Theriogenology*, v. 138, p. 24–30, 2019.

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

HEIL, B. A.; THOMPSON, S.K.; KEARNS, T.A.; DAVOLLI, G.M.; KING, G.; SONES, J.L. Metagenetic Characterization of the Resident Equine Uterine Microbiome Using Multiple Techniques. *Journal of Equine Veterinary Science*, v. 66, p. 111, 2018.

HEIL, B. A.; PACCAMONTI, D. L.; SONES, J. L. Role for the mammalian female reproductive tract microbiome in pregnancy outcomes. *Physiological Genomics*, v. 51, n. 8, p. 390–399, 2019.

HINRICHS, K.; SPENSLEY, M. S.; MCDONOUGH, P. L. Evaluation of progesterone treatment to create a model for equine endometritis. *Equine Veterinary Journal*, v. 24, n. 6, p. 457–461, 1992.

HOLYOAK, G. Reed. The Equine Endometrial Microbiome: a brief review. *American Journal Of Biomedical Science & Research*, v. 11, n. 6, p. 532–534, 2021.

KATILA, T. Onset and Duration of Uterine Inflammatory Response of Mares after Insemination with Fresh Semen. *Biology of Reproduction*, v. 52, n. monograph_series1, p. 515–517, 1995.

KATILA, T. Evaluation of diagnostic methods in equine endometritis. *Reproductive Biology*, v. 16, n. 3, p. 189–196, 2016.

KATILA, T.; FERREIRA-DIAS, G. Evolution of the Concepts of Endometrosis, Post Breeding Endometritis, and Susceptibility of Mares. *Animals*, v. 12, n. 6, p. 779, 2022.

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

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

KOO, H.; ALLAN, R. N.; HOWLIN, R. P.; STOODLEY, P.; HALL-STOODLEY, L. Targeting microbial biofilms: current and prospective therapeutic strategies. *Nature Reviews Microbiology*, v. 15, n. 12, p. 740–755, 2017.

KOZDROWSKI, R.; SIKORA, M.; BUCZKOWSKA, J.; NOWAK, M.; DZIĘCIOŁ, M. Effects of cycle stage and sampling procedure on interpretation of endometrial cytology in mares. *Animal Reproduction Science*, v. 154, p. 56–62, 2015.

LEBLANC, M. M.; NEUWIRTH, L.; ASBURY, A. C.; TRAN, T.; MAURAGIS, D.; KLAPSTEIN, E. Scintigraphic measurement of uterine clearance in normal mares and mares with recurrent endometritis. *Equine Veterinary Journal*, v. 26, n. 2, p. 109–113, 1994.

LEBLANC, M. M.; JOHNSON, R. D.; CALDERWOOD MAYS, M. B.; VALDERRAMA, C. Lymphatic Clearance of India Ink in Reproductively Normal Mares and Mares Susceptible to Endometritis. *Biology of Reproduction*, v. 52, p. 501–506, 1995.

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

LEBLANC, M. M.; NEUWIRTH, L.; JONES, L.; CAGE, C.; MAURAGIS, D. Differences in uterine position of reproductively normal mares and those with delayed uterine clearance detected by scintigraphy. *Theriogenology*, v. 50, n. 1, p. 49–54, 1998.

LEBLANC, M. M. Persistent mating-induced endometritis. Current therapy in equine medicine. 5.ed. Philadelphia: WB Saunders, 2003. cap. 5.5. p. 234–237.

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

LECTION, J.; WAGNER, B.; BYRON, M.; MILLER, A.; ROLLINS, A.; CHENIER, T.; CHEONG, S. H.; DIEL DE AMORIM, M. Inflammatory markers for differentiation of endometritis in the mare. *Equine Veterinary Journal*, v. 56, n. 4, p. 678–687, 2024.

MARTH, C. D.; MACOLINO, G. P.; KREKELER, N. The Value of Innate Immune Genes as Diagnostic Markers for Endometritis in Mares. *Journal of Equine Veterinary Science*, v. 66, p. 112, 2018.

MCKINNON, A. O.; SQUIRES, E. L.; VAALA, W. E.; VARNER, D. D. *Equine Reproduction*. 2nd.ed. Oxford: Wiley-Blackwell, 2011.

MELKUS, E.; WITTE, T.; WALTER, I.; HEUWIESER, W.; AURICH, C. Investigations on the Endometrial Response to Intrauterine Administration of N-Acetylcysteine in Oestrous Mares. *Reproduction in Domestic Animals*, v. 48, n. 4, p. 591–597, 2013.

MITCHELL, A. R.; DIEL DE AMORIM, M.; THACHIL, A.J.; ALTIER, C.; CHEONG, S.H. Uterine Bacterial Isolates From Mares and Their Resistance to Antimicrobials. *Journal of Equine Veterinary Science*, v. 66, p. 114, 2018.

MOLDENHAUER, L. M.; DIENER, K. R.; THRING, D. M.; BROWN, M. P.; HAYBALL, J. D.; ROBERTSON, S. A. Cross-Presentation of Male Seminal Fluid Antigens Elicits T Cell Activation to Initiate the Female Immune Response to Pregnancy. *The Journal of Immunology*, v. 182, n. 12, p. 8080–8093, 2009.

MORRIS, L. H. A.; MCCUE, P. M.; AURICH, C. Equine endometritis: a review of challenges and new approaches. *Reproduction*, v. 160, n. 5, p. 95–110, 2020.

MURAILLE, E.; GORIELY, S. The nonspecific face of adaptive immunity. *Current Opinion in Immunology*, v. 48, p. 38–43, 2017.

NIELSEN, J. M. Endometritis in the mare: A diagnostic study comparing cultures from swab and biopsy. *Theriogenology*, v. 64, n. 3, p. 510–518, 2005.

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

NIELSEN, J. M.; TROEDSSON, M. H.; PEDERSEN, M. R.; BOJESSEN, A. M.; LEHNJENSEN, H.; ZENT, W. W. Diagnosis of Endometritis in the Mare Based on Bacteriological and Cytological Examinations of the Endometrium: Comparison of Results Obtained by Swabs and Biopsies. *Journal of Equine Veterinary Science*. v. 30, n.1, p. 27-30, 2010.

NOAKES, D. E. *Arthur's veterinary reproduction and obstetrics*. England: Saunders, 2002. 868p.

PETERSEN, M. R.; SKIVE, B.; CHRISTOFFERSEN, M.; LU, K.; NIELSEN, J.M.; TROEDSSON, M.H.T.; BOJESSEN, A.M. Activation of persistent *Streptococcus equi* subspecies *zooepidemicus* in mares with subclinical endometritis. *Veterinary Microbiology*, v. 179, n. 1–2, p. 119–125, 2015.

PETERSEN, M. R.; ROSENBROCK, A.; OSBORNE, M.; BOJESSEN, A.M. High Prevalence of Subclinical Endometritis in Problem Mares— Effect of Activation and Treatment on Fertility. *Journal of Equine Veterinary Science*, v. 66, p. 117, 2018.

PRETE, C. D.; NOCERA, F. P.; PIEGARI, G.; PALUMBO, V.; MARTINO, L. D.; COCCHIA, N.; PACIELLO, O.; MONTANO, C.; PASOLINI, M. P. Use of cytobrush for bacteriological and cytological diagnosis of endometritis in mares. *Veterinary World*, p. 398-406, 2024.

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.

PYCOCK, J. F. Breeding Management of the Problem Mare. Equine Breeding Management and Artificial Insemination. Elsevier, 2009. p. 139–164.

QUAYLE, A. J. The innate and early immune response to pathogen challenge in the female genital tract and the pivotal role of epithelial cells. *Journal of Reproductive Immunology*, v. 57, n. 1–2, p. 61–79, 2002.

RASMUSSEN, C. D.; PETERSEN, M. R.; BOJESSEN, A. M.; PEDERSEN, H. G.; LEHN-JENSEN, H.; CHRISTOFFERSEN, M. Equine Infectious Endometritis— Clinical and Subclinical Cases. *Journal of Equine Veterinary Science*, v. 35, n. 2, p. 95–104, 2015.

REBORDÃO, M. R.; CARNEIRO, C.; CARNEIRO, C.; ALEXANDRE-PIRES, G.; BRITO, P.; PEREIRA, C.; PEREIRA, C.; NUNES, T.; GALVÃO, A.; LEITÃO, A.; VILELA, C.; FERREIRA, G. Neutrophil extracellular traps formation by bacteria causing endometritis in the mare. *Journal of Reproductive Immunology*, v. 106, p. 41–49, 2014.

REILAS, T.; KATILA, T.; MÄKELÄ, O.; HUHTINEN, M.; KOSKINEN, E. Intrauterine Fluid Accumulation in Oestrous Mares. *Acta Veterinaria Scandinavica*, v. 38, n. 1, p. 69–78, 1997.

REILAS, T.; KATILA, T. Proteins and Enzymes in Uterine Lavage Fluid of Postpartum and Nonparturient Mares. *Reproduction in Domestic Animals*, v. 37, n. 5, p. 261–268, 2002.

REILAS, T.; RIVERA DEL ALAMO, M. M.; LIEPINA, E.; YESTE, M.; KATILA, T. Effects on the equine endometrium of cervical occlusion after insemination. *Theriogenology*, v. 85, n. 4, p. 617–624, 2016.

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.

RISCO, A. M.; REILAS, T.; MUILU, L.; KARESKOSKI, M.; KATILA, T. Effect of oxytocin and flunixin meglumine on uterine response to insemination in mares. *Theriogenology*, v. 72, n. 9, p. 1195–1201, 2009.

ROSE, B. V.; FIRTH, M.; MORRIS, B.; ROACH, J.M.; WATHES, D.C.; VERHEYEN, K.L.P.; DE MESTRE, A.M. Descriptive study of current therapeutic practices, clinical reproductive findings and incidence of pregnancy loss in intensively managed thoroughbred mares. *Animal Reproduction Science*, v. 188, p. 74–84, 2018.

ROSZEL, J. F.; FREEMAN, K. P. Equine endometrial cytology. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*. v. 4, n. 2, p. 247-262, 1988.

SAMPER, J. C.; PYCOCK, J. F.; KINNON, A. O. Current Therapy in Equine Reproduction. Missouri: Saunders Elsevier, 2003. 234–237p.

SCHJENKEN, J. E.; ROBERTSON, S. A. Seminal Fluid Signalling in the Female Reproductive Tract: Implications for Reproductive Success and Offspring Health. Switzerland: Springer International, 2015. p. 127–158.

SCHÖNIGER, S.; GRÄFE, H.; SCHOON, H.-A. Expression of Toll-like receptors 2, 4 and 6 in different cell populations of the equine endometrium. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, v. 185, p. 7–13, 2017.

SCOFIELD, D.; BLACK, J.; WITTENBURG, L.; GUSTAFSON, D.; FERRIS, R.; HATZEL, J.; TRAUB-DARGATZ, J.; MCCUE, P. Endometrial tissue and blood plasma concentration of ceftiofur and metabolites following intramuscular administration of ceftiofur crystalline free acid to mares. *Equine Veterinary Journal*, v. 46, n. 5, p. 606–610, 2014.

SCOTT, C. J. A review of fungal endometritis in the mare. *Equine Veterinary Education*, v. 32, n. 8, p. 444–448, ago. de 2020.

SCOTT, P.; DALEY, P.; BAIRD, G.; STURGESS, S.; FROST, A. The aerobic bacterial flora of the reproductive tract of the mare. *Veterinary Record*, v. 88, n. 3, p. 58–61, 1971.

SEGABINAZZI, L. G. T. M.; CANISSO, I. F.; PODICO, G.; CUNHA, L. L.; NOVELLO, G.; ROSSER, M. F.; LOUX, S. C.; LIMA, F. S. Intrauterine Blood Plasma Platelet-Therapy Mitigates Persistent Breeding-Induced Endometritis, Reduces Uterine Infections, and Improves Embryo Recovery in Mares. *Antibiotics*, v. 10, n. 5, p. 490, 2021.

SHELDON, I. M.; RYCROFT, A. N.; DOGAN, B.; CRAVEN, M.; BROMFIELD, J. J.; CHANDLER, A.; ROBERTS, M. H.; PRICE, S. B. Specific Strains of *Escherichia coli* Are Pathogenic for the Endometrium of Cattle and Cause Pelvic Inflammatory Disease in Cattle and Mice. *Plos One*, v. 5, n. 2, 2010.

SKARZYNSKI, D. J.; SZÓSTEK-MIODUCHOWSKA, A. Z.; REBORDÃO, M. R.; JALALI, B. M.; PIOTROWSKA-TOMALA, K. K.; LECIEJEWSKA, N.; ŁAZARCZYK, M.; FERREIRA-DIAS, G. M. Neutrophils, monocytes and other immune components in the equine endometrium: Friends or foes? *Theriogenology*, v. 150, p. 150–157, 2020.

SKIVE, B.; ROHDE, M.; MOLINARI, G.; BRAUNSTEIN, T. H.; BOJESSEN, A. M. *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* Invades and Survives in Epithelial Cells. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, v. 7, 2017.

SOLIMAN, M. M. H.; RAGAB, E.; IBRAHIM, S.; AHMED, Y. Microbiological, Cytological and Immunological Investigation of Endometritis in Arabian Mares. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, v. 9, n. 12, 2021.

TEIXEIRA-SOARES, C. M.; VIANA, A. G.; CARVALHO, R. P. R.; BARROS, E.; RAMIREZ-LOPEZ, C.; MOURA, A. A.; MACHADO-NEVES, M. Unraveling the uterine fluid proteome of mares diagnosed with post-breeding and infectious endometritis. *Journal of Reproductive Immunology*, v. 167, 2025.

THURLOW, L. R.; HANKE, M. L.; FRITZ, T.; ANGLE, A.; ALDRICH, A.; WILLIAMS, S. H.; ENGEBRETSEN, I. L.; BAYLES, K. W.; HORSWILL, A. R.; KIELIAN, T. *Staphylococcus aureus* Biofilms Prevent Macrophage Phagocytosis and Attenuate Inflammation In Vivo. *The Journal of Immunology*, v. 186, n. 11, p. 6585–6596, 2011.

TROEDSSON, M. H.; LIU, I. K. Uterine clearance of non-antigenic markers (51Cr) in response to a bacterial challenge in mares potentially susceptible and resistant to chronic uterine infections. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement*, 1991.

TROEDSSON, M. H. T.; LIU, I. K. M.; ING, M.; PASCOE, J.; THURMOND, M. Multiple site electromyography recordings of uterine activity following an intrauterine bacterial challenge in mares susceptible and resistant to chronic uterine infection. *Reproduction*, v. 99, n. 2, p. 307–313, 1993.

TROEDSSON, M. H. T.; LIU, I. K. M.; ING, M.; PASCOE, J. John Smooth Muscle Electrical Activity in the Oviduct, and the Effect of Oxytocin, Prostaglandin F2 α , and Prostaglandin E2 on the Myometrium and the Oviduct of the Cycling Mare1. *Biology of Reproduction*, v. 52, p. 475–488, 1995.

TROEDSSON, M. H. T. Breeding-Induced Endometritis in Mares. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, v. 22, n. 3, p. 705–712, 2006.

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

TROEDSSON, M. H. T.; LOSET, K.; ALGHAMDI, A.M.; DAHMS, B.; CRABO, B.G. Interaction between equine semen and the endometrium: the inflammatory response to semen. *Animal Reproduction Science*, v. 68, n. 3–4, p. 273–278, 2001.

VANDERWALL, D. K.; WOODS, G. L. Effect on fertility of uterine lavage performed immediately prior to insemination in mares. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 222, n. 8, p. 1108–1110, 2003.

VIRENDRA, A.; GULAVANE, S. U.; AHMED, Z. A.; REDDY, R.; CHAUDHARI, R. J.; GAIKWAD, S. M.; SHELAR, R. R.; INGOLE, S. D.; THORAT, V. D.; KHANAM, A. Metagenomic analysis unravels novel taxonomic differences in the uterine

microbiome between healthy mares and mares with endometritis. *Veterinary Medicine and Science*, v. 10, n. 2, 2024.

WÄELCHLI, R. O.; CORBOZ, L.; DOEBELI, M. Streptomycin-resistant *Escherichia coli* as a Marker of Vulvovestibular Contamination of Endometrial Culture Swabs in the Mare. *Canadian Journal of Veterinary Research*, v. 56, p. 308–312, 1992.

WALTER, J.; WEHREND, A. Exfoliative endometrial cytology as a diagnostic aid in the gynaecological examination of broodmares. *Pferdeheilkunde*. v. 23, n. 5, p. 481-488, 2007.

WALTER, J.; NEUBERG, K. P.; FAILING, K.; WEHREND, A. Cytological diagnosis of endometritis in the mare: Investigations of sampling techniques and relation to bacteriological results. *Animal Reproduction Science*. v. 132, n. 3-4, p. 178-186, 2012.

WOODWARD, E. M.; CHRISTOFFERSEN, M.; CAMPOS, J.; BETANCOURT, A.; HOROHOV, D.; SCOGGIN, K E; SQUIRES, E L; TROEDSSON, M H T. Endometrial inflammatory markers of the early immune response in mares susceptible or resistant to persistent breeding-induced endometritis. *Reproduction*, v. 145, n. 3, p. 289–296, 2013a.

WOODWARD, E. M.; CHRISTOFFERSEN, M.; CAMPOS, J.; SQUIRES, E.L.; TROEDSSON, M.H.T. Susceptibility to persistent breeding-induced endometritis in the mare: Relationship to endometrial biopsy score and age, and variations between seasons. *Theriogenology*, v. 78, n. 3, p. 495–501, 2012.

WOODWARD, E.; CHRISTOFFERSEN, M.; CAMPOS, J.; HOROHOV, D.W.; SCOGGIN, K.E.; SQUIRES, E.; TROEDSSON, M.H.T. An Investigation of Uterine Nitric Oxide Production in Mares Susceptible and Resistant to Persistent Breeding-Induced Endometritis and the Effects of Immunomodulation. *Reproduction in Domestic Animals*, v. 48, n. 4, p. 554–561, 2013b.

ZENT, W. W.; TROEDSSON, H. T.; XUE, J. Postbreeding Uterine Fluid Accumulation in a Normal Population of Thoroughbred Mares: A Field Study. In: PROCEEDINGS OF THE ANNUAL CONVENTION OF THE AAEP, 1998.

HIPÓTESES

O *swab* coletado com o método total ou o lavado de baixo volume tem maior eficiência diagnóstica quando comparado com a citologia tradicional;

O *swab* coletado da amostra de citologia total apresenta igual ou melhor eficiência diagnóstica quando comparado com o *swab* coletado do lavado de baixo volume;

A amostra para citologia coletada da escova citológica usando o método total ou o lavado de baixo volume tem maior eficiência diagnóstica quando comparada com o método tradicional;

A amostra para citologia coletada da escova citológica usando o método total apresenta igual ou melhor eficiência diagnóstica quando comparada com o lavado de baixo volume.

OBJETIVOS

Objetivo geral

Desenvolver um método alternativo para o diagnóstico da endometrite em éguas, comparando seu desempenho diagnóstico ao da citologia convencional e do lavado uterino de baixo volume. **Objetivos específicos**

Comparar os resultados citológicos obtidos pelos diferentes métodos de coleta.

Comparar os resultados microbiológicos obtidos pelos diferentes métodos de coleta.

Avaliar o desempenho diagnóstico da citologia total como método alternativo para o diagnóstico da endometrite em éguas.

CAPÍTULO 2

ARTIGO

Artigo redigido segundo as normas da Journal of Equine Veterinary Science, <https://shop.elsevier.com/journals/journal-of-equine-veterinary-science/0737-0806>, ISSN: 0737-0806, fator de impacto 1.6, ranqueada como A2 pelo QUALIS – CAPES de 2021-2024.

Diferentes bordagens na utilização da escova citológica para diagnóstico de endometrite em éguas

Abstract

Background: Endometritis is a major cause of subfertility in mares, but current uterine sampling methods have limitations in sensitivity and field applicability, requiring direct comparison of available techniques.

Aims/objectives: Assess the efficiency of an alternative method of endometrial cytology for diagnosing endometritis in mares by comparing conventional cytology, total cytology, and low-volume uterine lavage through cytological and bacteriological analysis.

Methods: Cross-sectional study involving 52 Crioulo mares in estrus enrolled in a reproductive program. Three methods were applied sequentially: conventional cytology (G1; cytobrush at uterine bifurcation), total cytology (G2; cytobrush from both horns and uterine body), and low-volume uterine lavage (G3). For each method, cytological slides (C1;C2;C3) were prepared to assess the proportion of polymorphonuclear neutrophils, and swabs were collected for bacteriological culture (S1;S2;S3), respectively.

Results: Cytology positivity rates: C1 = 22.45% (11/49), C2 = 20.41% (10/49), C3 = 30.61% (15/49). Bacteriology positivity rates: S1 = 20.41% (10/49), S2 = 22.45% (11/49), S3 = 42.86% (21/49). The estimated probability of positive culture was 14% for G1 and G2, and 37% for G3. Compared to G1, G3 showed an OR of 3.86 (95% CI: 1.26–11.82; P = 0.018). No difference was observed between G1 and G2 (OR = 1.00; 95% CI: 0.38–2.62). Bacterial isolates included *Staphylococcus* spp. 26.5%, *Escherichia coli* 24.5%, *Streptococcus*

spp. 22.4%, *Corynebacterium* spp. 6.1%. Positive cytology and positive culture were not associated ($P = 0.75$).

Conclusion: All three methods showed comparable cytological performance. In contrast, low-volume uterine lavage demonstrated superior bacteriological performance, with a significantly higher probability of bacterial detection.

Keywords: Endometritis; Bacterial infection; Microbiological analysis; Polymorphonuclear cells; Uterine inflammation.

1. Introduction

Endometritis is one of the leading causes of subfertility in mares, compromising reproductive efficiency and resulting in substantial economic losses to the equine industry [1]. The condition has a multifactorial etiology and is influenced by both infectious and non-infectious factors [6-8]. Uterine inflammation may occur as persistent post-mating endometritis (PPME), resulting from impaired uterine clearance after breeding [2,3], or as chronic endometritis, characterized by persistent inflammation and/or infection of the endometrium. The frequently subclinical nature of endometritis, together with its association with early embryonic loss, return to estrus, and impaired pregnancy establishment [4,5], highlights the importance of accurate diagnostic methods for appropriate therapeutic intervention and reproductive management.

Current diagnostic approaches combine clinical examination with complementary laboratory techniques, including endometrial cytology, microbiological culture, and uterine biopsy [9,10]. Among these, cytology and bacteriological culture are the most widely used because they provide rapid and complementary information regarding uterine inflammation and infection [11–15].

Several sampling methods have been described for obtaining uterine samples, including protected cytobrush, endometrial swab, and low-volume uterine lavage [18,19], as biopsy is the most accurate and gold standard method [16] but limited and time-consuming tool for field use. While cytobrush sampling is simple and allows direct cytological evaluation [21,22], low-volume uterine lavage provides a more representative uterine sample [20] but requires laboratory processing before analysis [10,18,19]. Consequently, there is a need for

alternative sampling methods capable of combining the practicality of cytobrush sampling with the broader uterine representation achieved by low-volume uterine lavage, while maintaining reliable cytological and microbiological performance.

Therefore, the aim of this study was to evaluate the application of a cytobrush throughout the entire uterine lumen in an attempt to obtain samples as representative as those collected by low-volume uterine lavage. We hypothesize that total cytobrush sampling will provide greater diagnostic performance than the conventional method and comparable or superior to low-volume uterine lavage.

2. Material and methods

Mares' welfare and all procedures adhered to the guidelines established by the National Committee for the Regulation of Animal Experimentation (CONCEA) and were approved by the Ethics Committee for Animal Use of the University of Santa Catarina State (UDESC), Brazil (CEUA, protocol 6088150325/2025).

2.1. Animals

A total of 52 randomly selected Crioulo mares, weighing between 350 and 450 kg and aged 3 to 25 years, were enrolled in the study from March to December 2025, regardless of their uterine health status. All mares were enrolled in a reproductive program managed by an animal reproduction company (NOBRYO® Reprodução Animal Especializada) located in Lages, Santa Catarina, Brazil. Throughout the study, the animals remained on their farms of origin in the Serra Catarinense region and were maintained on improved native pasture, with ad libitum access to water and mineral supplementation.

Mares were required to be in estrus at the time of sampling (Troedsson, 2011), defined by a uterine edema score ≥ 2 (scale 0–3) [24] and the presence of a follicle ≥ 30 mm in diameter. Estrus was confirmed by transrectal palpation and ultrasonography using a Sonoscape A6V (Sonoscape®, Shenzhen, China) device equipped with a linear probe.

2.2. Sample Collection

Prior to sampling, the tail was wrapped and isolated, and the perineal region was aseptically prepared with gauze and 2% chlorhexidine solution. Two double-guarded uterine cytology devices (Provar®, São Paulo, Brazil), individually packaged and gamma-sterilized, were simultaneously introduced into the vagina, one for conventional cytology and the other for total cytology. After rupture of the sanitary sheaths at the level of the cervix, the devices were guided to the uterine body near the bifurcation by transrectal manipulation.

2.2.1. Group 1 (G1) – Conventional cytology

With both devices positioned in the uterine body, conventional cytology was performed first. The protective seal of one device was broken, exposing the cytology brush, which was gently rotated in a circular motion for 15 seconds at the uterine bifurcation. The brush was then retracted, and the device was removed. Immediately after removal from the uterus, a sterile swab was rubbed against the cytology brush and placed into a tube containing Stuart transport medium (Absorve®, Cotia, Brazil) for microbiological culture. The brush was then detached and rolled onto a glass slide to prepare a cytological smear (Fig. 1). All cytology slides were completely air-dried and immediately fixed using the fixative solution (Rapid Stain 1) from the Diff-Quik staining kit. The cytology slides and refrigerated (4°C) swab samples were transported within 24 hours to the Animal Reproduction Laboratory (REPROCAV – UDESC, Lages, Brazil) and the Animal Microbiological Diagnostic Center (CEDIMA – CAV – UDESC, Lages, Brazil) for cytological and microbiological analyses, respectively.

2.2.2. Group 2 (G2) – Total cytology

Following Group 1, the second device, which remained positioned in the uterus, was used for total cytology. Guided by transrectal palpation, the device was advanced to the tip of the left uterine horn with the brush protected. The brush was then exposed, and the device was slowly withdrawn while being gently rotated until reaching the uterine body. The brush was retracted and advanced to the tip of the right uterine horn, where the same procedure was repeated. After sampling both uterine horns and the uterine body, the brush was retracted, and the device was removed from the mare's reproductive tract. The cytology brush

was then processed and transported for microbiological culture and cytological smear preparation as described for Group 1 (Fig. 1).

2.2.3. Group 3 (G3) – low-volume uterine lavage

The third and final samples were obtained using the low-volume uterine lavage technique (Group 3). The perineal region was re-cleaned with gauze and a 2% chlorhexidine solution. A disposable silicone catheter (No. 24) was introduced into the uterine body, and the cuff was inflated with 50–70 mL of air. Subsequently, 60–120 mL of sterile 0.9% saline or lactated Ringer's solution was infused into the uterus [18]. The uterus was massaged transrectally to promote fluid distribution. A minimum of 30 mL of fluid was recovered, transferred to a sterile 50 mL tube, and transported at 4°C to REPROCAV, where it was processed within a maximum of 12 hours after collection. In the laboratory, samples were centrifuged at $400 \times g$ for 10 minutes using a swing-out rotor centrifuge (Fanem® Excelsa II 206 BL, Guarulhos, Brazil). The supernatant was discarded, a sterile swab was immersed in the sediment and placed into a tube containing Stuart transport medium (Absorve®, Cotia, Brazil) for microbiological culture. A second sterile swab was immersed in the sediment and rolled onto a glass slide to prepare a cytological smear (Fig. 1).

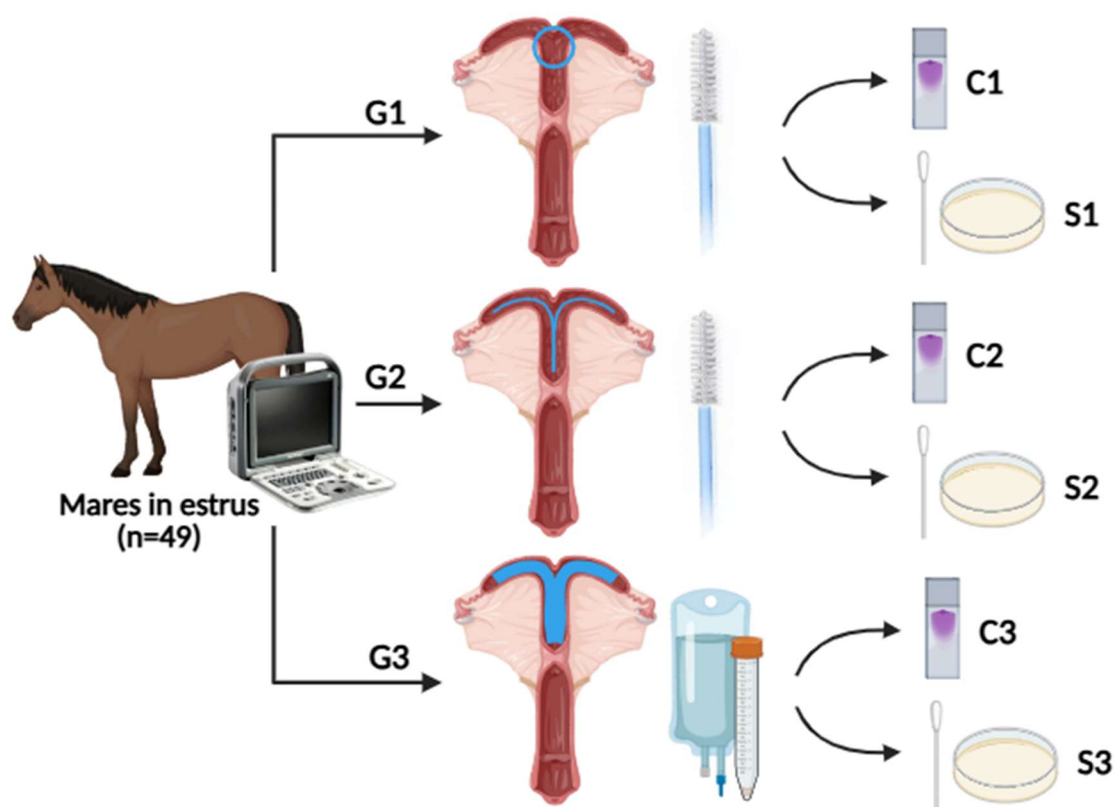


Fig. 1. Schematic representation of experimental design. G1 – conventional cytology; G2 – total cytology; G3 – low-volume uterine lavage. C1, C2, and C3 represent cytological samples, and S1, S2, and S3 represent microbiological cultures, both obtained from the respective groups.

2.3. Microbiological culture

Swab samples were cultured on blood agar and MacConkey agar and incubated under aerobic conditions at 37°C for up to 48 hours. Plates were classified as positive or negative based on the presence or absence of pathogenic bacterial growth, respectively. When bacterial growth was observed, bacteria were identified by Gram staining and further confirmed by biochemical testing.

2.4. Cytology slides

Cytological samples were stained and stored for subsequent evaluation. Cytological assessment was performed by a trained examiner blinded to both animal identification and sampling method. A total of 200 cells per slide were

counted using a phase-contrast microscope at 100× magnification, and the results were expressed as the proportion of neutrophils and healthy endometrial cells. Samples were classified as positive for endometritis when neutrophils accounted for more than 2% of the total cell population [25]. This approach allowed the comparison of microbiological culture results with the presence or absence of inflammatory cells in the corresponding cytological samples.

2.5. Statistical analysis

The software Rstudio was used for statistical analysis. Differences in sensitivity among cytology methods were assessed using the Kruskal–Wallis test, based on chi-square statistics, followed by Bonferroni-adjusted *p*-values for multiple comparisons. Differences among culture results were evaluated using Pearson's chi-square test, with *p*-values adjusted using the Tukey method. The association between cytological and microbiological culture results was analyzed using a generalized linear model. Statistical significance was set at 5% ($P < 0.05$) for all analysis.

3. Results

Of the 52 mares initially enrolled, 34.7% (17/49) were cytologically positive (more than 2% neutrophils) in at least one of the three sampling methods, whereas 55.1% (27/49) showed positive microbiological culture results in any of the methods applied. Three mares were excluded from the analysis due to unreadable cytological slides or insufficient fluid recovery during uterine lavage.

Across the evaluated techniques for uterine cytology, 22.45% (11/49) of the mares tested positive by conventional cytology (G1), 20.41% (10/49) by total cytology (G2), and 30.61% (15/49) by low-volume uterine lavage (G3) (Table 1). Cytological positivity was detected in a single method in 16.2% of mares (G1: 2%, G2: 2%, G3: 12.2%), in two methods concurrently in 2% (G1–G2: 0%, G1–G3: 2%, G2–G3: 0%), and in all three methods in 18.4% (G1–G2–G3) (Table 2). No significant differences were detected among techniques regarding cytological

findings, indicating comparable sensitivity across the evaluated diagnostic approaches ($p = 0,9636$).

Regarding bacteriological culture results, 20.41% (10/49) mares of the G1 were positive, 22.45% (11/49) from G2, and 42.86% (21/49) from G3 (Table 1). Bacterial growth was detected in a single method in 32.3% of mares (G1: 4.1%, G2: 8.2%, G3: 20%), in two methods concurrently in 14.3% (G1–G2: 0%, G1–G3: 8.2%, G2–G3: 6.1%), and across all three methods in 8.2% (G1–G2–G3) (Table 2).

Although a tendency was observed ($0.050 < p < 0.052$) when comparing G3 with G1 and G2 ($p = 0.0513$), no significant differences were detected among techniques with respect to culture findings (Table 3). A mixed logistic regression model, considering the mare as a random effect, was used to evaluate the association between the sampling method (G1, G2, and G3) and the bacterial culture result. The estimated probability of a positive culture was approximately 14% for G1 and G2, and 37% for G3. No difference was observed between G1 and G2; however, a higher probability of a positive culture was observed in G3 compared to G1 (OR = 3.86; $P = 0.018$), corresponding to an approximately 3.5-fold increase in the odds of a positive result.

Among the 147 swab samples collected, 28.6% showed bacterial growth (42/147). The most prevalent isolates belonged to the genus *Staphylococcus* spp. (26.5%), followed by *Escherichia coli* (24.5%), *Streptococcus* spp. (22.4%), and *Corynebacterium* spp. (6.1%). Other bacterial species were identified at lower frequencies, including *Trueperella pyogenes*, *Serratia liquefaciens*, *Salmonella* spp., *Enterococcus* spp., and *Pseudomonas* spp., collectively accounting for 10% of the isolates. Otherwise, there was no statistically significant association ($P = 0.75$) between positive cytology and positive bacteriological culture, indicating that cytological findings were not predictors of microbiological results.

Table 1. Number and percentage of positive cytology and culture results in each sampling group.

Group	Number of positive cytology		Number of positive cultures	
		%		%
G1	11	22,45	10	20,41
G2	10	20,41	11	22,45
G3	15	30,61	21	42,86
TOTAL	36	24,49	42	28,57

G1, conventional cytology. G2, total cytology. G3, low-volume uterine lavage.

Table 2. Number and percentage of animals with positive cytology and culture results in individual groups or combined groups.

Group	Cytology		Culture	
	Number of animals	%	Number of animals	%
G1	1	2,04	2	4,08
G2	1	2,04	4	8,16
G3	5	10,20	10	20,41
G1G2	0	0,00	0	0,00
G1G3	1	2,04	4	8,16
G2G3	0	0,00	3	6,12
G1G2G3	9	18,37	4	8,16
Total	17	34,69	27	55,10

G1, conventional cytology. G2, total cytology. G3, low-volume uterine lavage.

Table 3. Comparison between groups regarding positive cultures and their respective p-values.

Comparação	Odds Ratio	SE	z	Valor-p
G1/G2	1	0,546	0	1,0000
G1/G3	0,286	0,153	-2,333	0,0513
G2/G3	0,286	0,153	-2,333	0,0513

G1, conventional cytology. G2, total cytology. G3, low-volume uterine lavage.

4. Discussion

Endometritis remains a major challenge for equine reproduction practitioners, and the need for rapid, sensitive diagnostic methods continues to drive research. In this context, the present study evaluated an alternative diagnostic approach based on a simple, widely accessible technique with the potential to reduce equipment and labor costs. Our findings indicate that the cytobrush provides diagnostic performance comparable to low-volume uterine lavage, which is considered one of the most sensitive methods due to its ability to obtain more representative samples [18].

Although we hypothesized that total cytology would show greater sensitivity than conventional approaches and perform similarly to low-volume uterine lavage, no significant differences were observed among the sampling techniques for cytological evaluation. This suggests that all three methods offer comparable sensitivity for detecting endometrial inflammation, which is consistent with previous studies reporting no differences between cytobrush and other sampling methods [20,26].

Despite the similar sensitivity among methods, the cytobrush technique may be considered the most suitable for cytological evaluation. Other methods are associated with a higher risk of contamination and reduced slide quality, which can compromise interpretation [19,20,23,27]. Furthermore, cytobrush sampling is minimally invasive, practical for field use, and offers a favorable cost–benefit ratio [18,27,28].

Similarly, no statistically significant differences were observed in the overall comparison among sampling methods for bacteriological culture, corroborating previous studies [19,27]. Nevertheless, regression analysis showed that low-volume uterine lavage was associated with higher odds of bacterial detection, suggesting that this technique may improve bacterial recovery. This is likely due to its ability to sample a larger endometrial surface area and retrieve microorganisms that may be unevenly distributed within the uterine lumen [13,18]. Despite these findings, the lack of statistically significant differences among methods, together with the borderline p-value, emphasizes the need for cautious interpretation.

Additionally, macroscopic evaluation of the recovered fluid can support diagnosis [13]. However, it is more susceptible to contamination from the vagina or cervix, as a semi-protected technique, and the process of centrifugation may increase cellular debris, potentially impairing PMN identification. In contrast, fully protected methods, such as the endometrial swab, minimize this possible contamination [10,23].

Uterine microbiological culture yielded positive results in 55.1% of mares, which is higher than the ~40% reported in some studies [27,29] but lower than the ~65% described by others [14,19,30]. These discrepancies likely reflect differences in study populations, management conditions, and diagnostic approaches. In the present study, some of the most frequently isolated bacteria, such as *Streptococcus* spp. and *Escherichia coli*, are consistent with those commonly reported in the equine endometrium [13,14,27,30-34]. Notably, *Staphylococcus* spp. showed the highest prevalence, in agreement with Soares et al. [19]. These bacterial genera have been described as part of the core microbiota of healthy mares [35], and their commensal nature supports their role as opportunistic pathogens under conditions of impaired uterine defense [36]. Variability among studies may also be attributed to factors such as geographic location, antimicrobial use, and methodological differences, including microbiological protocols, sample handling, transport conditions, and storage [37,38].

In the present study, 34.7% of mares were cytologically positive, a proportion lower than that observed for bacteriological culture, in agreement with some reports [14,19] but differing from others [26,31]. The lack of association between cytological and bacteriological findings observed here is consistent with previous studies and underscores the complexity of endometritis diagnosis [14,25]. While cytology reflects the inflammatory status of the endometrium, bacteriological culture identifies the presence of microorganisms, which may not necessarily elicit an inflammatory response. This dissociation may be explained by factors such as bacterial virulence, biofilm formation, host immune response, and the presence of the natural uterine microbiome [39-41].

According to Riddle et al. [31], the isolation of microorganisms was associated with lower conception rates, even in the absence of apparent inflammation. Moreover, different microorganisms may induce distinct types

of exudates and lead to variability in neutrophil counts on cytological evaluation. In this context, Gram-negative bacteria such as *Escherichia coli* may evade the host immune response by circumventing cellular defense mechanisms and impairing ciliary function [25,32]. Furthermore, false-positive bacteriological results may occur due to sample contamination, highlighting the importance of using double-guarded sampling techniques to minimize this risk [11,13,31]. Taken together, these findings support the notion that combining cytological and bacteriological evaluation improves diagnostic sensitivity, reinforcing the importance of a multimodal approach for diagnosing endometritis in mares.

Additional refinements to the sampling technique may further enhance diagnostic outcomes, particularly regarding the duration of cytobrush contact with the endometrium. Previous studies have maintained contact for at least one minute [19], whereas the present study applied a shorter contact time of 15 seconds, which may have influenced sample representativeness.

5. Conclusion

All three sampling methods yielded comparable cytological and bacteriological findings. Expanding cytobrush sampling across the uterine lumen did not improve microorganism or inflammatory cell detection compared with the conventional cytobrush technique. Although the overall comparison among methods showed no significant differences, probability analysis demonstrated that low-volume uterine lavage was associated with higher odds of bacterial recovery. These results indicate that low-volume uterine lavage may increase the likelihood of recovering bacteria while remaining comparable to the other sampling methods under the conditions of this study. Therefore, the choice of sampling method may also consider practical aspects such as cost, ease of use, and field applicability.

REFERENCES

- [1] Troedsson, M. H. T. Breeding-Induced Endometritis in Mares. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*. 22 (2006) 705-712. doi:10.1016/j.cveq.2006.07.003
- [2] Christoffersen, M.; Troedsson, M. Inflammation and fertility in the mare. *Reproduction in Domestic Animals*. 52 (2017) 14–20. DOI: 10.1111/rda.13013

- [3] Morris, I. H. A.; Mccue, p. M.; Aurich, C. Equine endometritis: a review of challenges and new approaches. *Reproduction*. 160 (2020) 95–110. <https://doi.org/10.1530/REP-19-0478>
- [4] Donato, G. G.; Necchi, D.; Vandaele, H.; Vita, M. E.; Bertero, A.; Vincenti, L.; Nervo, T. Influence of Intrauterine Fluid Detection, Number of Transfers and Age of the Recipient on Pregnancy Rate and Early Embryonic Loss in a Commercial Embryo Transfer Program. *Animals*. 13 (2023) 1799. <http://dx.doi.org/10.3390/ani13111799>.
- [5] Silva, E. D.; MARTÍN-CANO, F.E.; Gómez-arrones, V.; Gaitskell-phillips, G.; Alonso, J.M.; Rey, J.; Becerro, L.; Gil, M.C.; Peña, F.J.; Ortega-ferrusola, C. Bacterial endometritis-induced changes in the endometrial proteome in mares: potential uterine biomarker for bacterial endometritis. *Theriogenology*. 226 (2024) 202-212, set. 2024. <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2024.06.009>.
- [6] Leblanc, M. M.; Neuwirth, L; Jones, L; Cage, C; Mauragis, D. Differences in uterine position of reproductively normal mares and those with delayed uterine clearance detected by scintigraphy. *Theriogenology*, 50 (1998) 49–54. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(98\)00112-5](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(98)00112-5)
- [7] Woodward, E. M.; Christoffersen, M.; Campos, J.; Squires, E.L.; Troedsson, M.H.T. Susceptibility to persistent breeding-induced endometritis in the mare: Relationship to endometrial biopsy score and age, and variations between seasons. *Theriogenology*. 78 (2012) 495–501. <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.02.028>
- [8] Christoffersen, M.; Söderlind, M.; Rudefalk, S. R.; Pedersen, H. G.; Allen, J.; Krekeler, N. Risk factors associated with uterine fluid after breeding caused by *Streptococcus zooepidemicus*. *Theriogenology*. 84 (2015) 1283–1290. <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.07.007>
- [9] Katila, T. Evaluation of diagnostic methods in equine endometritis. *Reproductive Biology*, 16 (2016) 189–196. <http://dx.doi.org/10.1016/j.repbio.2016.06.002>
- [10] Dascanio, John J. Uterine Culture/Cytology: low volume lavage. *Equine Reproductive Procedures*. (2014) 64-67. <http://dx.doi.org/10.1002/9781118904398.ch18>.
- [11] Nielsen, J. M. Endometritis in the mare: A diagnostic study comparing cultures from swab and biopsy. *Theriogenology*. 64 (2005) 510–518. doi:10.1016/j.theriogenology.2005.05.034
- [12] Brinsko, S. P.; Blanchard, T. L. Manual of equine reproduction. Mosby/Elsevier, 2011.
- [13] LEBLANC, M. M.; MAGSIG, J.; STROMBERG, A. J. Use of a low-volume uterine flush for diagnosing endometritis in chronically infertile mares. *Theriogenology*. 68 (2007) 403–412. <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.04.038>.

- [14] Carvalho, I. B.; Branco, S.; LARANJO, M.; QUEIROGA, M. C.; BETTENCOURT, E. Characteristics of the Mare-Uterine-Culture-Based Bacterial Composition Using Practical Clinical Evaluation Methods. *Pathogens*. 14 (2005) 357. <http://dx.doi.org/10.3390/pathogens14040357>.
- [15] Nielsen, J. M.; Troedsson, M. H.; Pedersen, M. R.; Bojesen, A. M.; Lehnjensen, H.; Zent, W. W. Diagnosis of Endometritis in the Mare Based on Bacteriological and Cytological Examinations of the Endometrium: Comparison of Results Obtained by Swabs and Biopsies. *Journal of Equine Veterinary Science*. 30 (2010) 27-30. doi:10.1016/j.jevs.2009.11.006.
- [16] NIELSEN, J. M.; NIELSEN, F. H.; PETERSEN, M. R. Diagnosis of equine endometritis—Microbiology, cytology and histology of endometrial biopsies and the correlation to fertility. *Pferdeheilkunde*. 28 (2012) 8-13.
- [18] Cocchia, N.; Paciello, O.; Auletta, L.; Valeria, U.; Laura, S.; Karina, M.; Gerardo, P.; Maria, P. Comparison of the cytobrush, cottonswab, and low-volume uterine flush techniques to evaluate endometrial cytology for diagnosing endometritis in chronically infertile mares. *Theriogenology*. 77 (2012) 89-98. doi:10.1016/j.theriogenology.2011.07.020
- [19] Teixeira-soares, C. M.; Viana, A. G. A.; Ribeiro, I.M.; Silva, K.D.P.; Sancler-silva, y.F.R.; Machado-neves, M, 2022. Comparison Between Gynecological Examination Methods and Sample Collection Techniques for the Diagnosis of Endometritis in Subfertile Mares. *Journal Of Equine Veterinary Science*. 119, 10414. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jevs.2022.104147>.
- [20] Bohn, A. A.; Ferris, R.A.; Mccue, P. M. Comparison of equine endometrial cytology samples collected with uterine swab, uterine brush, and low-volume lavage from healthy mares. *Veterinary Clinical Pathology*. 43 (2014) 594-600. <http://dx.doi.org/10.1111/vcp.12194>.
- [21] Alvarenga, M. A.; Mattos, M. C. F. I. Eficiência da escova ginecológica “Cytobrush” na colheita de material endometrial em éguas. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 42 (1990) 67-68.
- [22] Lection, J.; Schnobrich, M.; Wagner, B.; Byron, M.; Back, B.; Rollins, A.; Alves, R. F. C.; Cheong, S.H.; Amorim, M. D. Inflammatory marker analysis of uterine cytobrush samples helps identify mares with endometritis. *American Journal Of Veterinary Research*. (2025) 1-9. <http://dx.doi.org/10.2460/ajvr.25.02.0059>.
- [23] Card, C. E.; Carley, S. D.; Green, J.; Chirino-trejo, M. Endometrial cytology in mares bred with frozen semen. In: *Proceedings of the 50th Annual Conv American Association Equine Practitioners*. Denver, Colorado, p. 505-509, 2004.
- [24] Troedsson, M. H. T. Endometritis. In: Mckinnon, A. O.; Squires, E. L.; Vaala, W. E.; Varner, D. D. *Equine Reproduction*, 2. Ed. United Kingdom: Wiley Blackwell, 2011. p. 2608-2619
- [25] Samper, J. C.; Pycck, J. F.; Kinnon, A. O. *Current Therapy in Equine Reproduction*. Missouri: Saunders Elsevier, 2003. 234–237p.

- [26] Overbeck, W.; Witte, T.S.; Heuwieser, W. Comparison of three diagnostic methods to identify subclinical endometritis in mares. *Theriogenology*. 75 (2011) 1311-1318. <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.12.002>.
- [27] Buczkowska, J., Kozdrowski, R., Nowak, M. *et al.* Comparison of the biopsy and cytobrush techniques for diagnosis of subclinical endometritis in mares. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 27 (2014). <https://doi.org/10.1186/1477-7827-12-27>
- [28] Del Prete, C., Nocera FP, Piegari G, Palumbo V, De Martino L, Cocchia N, Paciello O, Montano C, and Pasolini MP. Use of cytobrush for bacteriological and cytological diagnosis of endometritis in mares. *Veterinary World*. 17 (2024) 398–406. www.doi.org/10.14202/vetworld.2024.398-406
- [29] Kozdrowski, R.; Sikora, M.; Buczkowska, J.; Nowak, M.; Dzieciol, M. Effects of cycle stage and sampling procedure on interpretation of endometrial cytology in mares. *Animal Reproduction Science*. 154 (2015) 56–62. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2015.01.009>
- [30] Frontoso, R.; De Carlo, E.; Pasolini, M.P.; Van Der Meulen, K.; Pagnini, U.; Iovane, G.; De Martino, L. Retrospective study of bacterial isolates and their antimicrobial susceptibilities in equine uteri during fertility problems. *Research in Veterinary Science*. 84 (2008) 1–6. doi:10.1016/j.rvsc.2007.02.008
- [31] Albiñ, A.; Båverud, V.; Magnusson, U. Uterine Microbiology and Antimicrobial Susceptibility in Isolated Bacteria from Mares with Fertility Problems. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 44 (2003) 121. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-44-121>
- [32] Riddle, W. T.; Leblanc, M. M.; Stromberg, A. J. Relationships between uterine culture, cytology and pregnancy rates in a Thoroughbred practice. *Theriogenology*. 68 (2007) 395–402. <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.05.050>.
- [33] Christoffersen, M.; Brandis, L.; Samuelsson, J.; Bojesen, A.M.; Troedsson, M.H.T.; Petersen, M.R. Diagnostic double-guarded low-volume uterine lavage in mares. *Theriogenology*. 83 (2015) 222-227. <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.09.008>.
- [34] Soliman, M. M. H.; Ragab, E.; Ibrahim, S.; Ahmed, Y. Microbiological, Cytological and Immunological Investigation of Endometritis in Arabian Mares. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*. 9 (2021). <https://doi.org/10.17582/journal.aavs/2021/9.12.2077.2083>
- [35] Ravaioli, V.; Raffini, E.; Tamburini, M.; Galletti, G.; Frasnelli, M., 2022. Infectious Endometritis in Mares: microbiological findings in field samples. *Journal Of Equine Veterinary Science*. 112, 103913. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jevs.2022.103913>.
- [36] Holyoak, G.R., Premathilake, H.U., Lyman, C.C., 2022. The healthy equine uterus harbors a distinct core microbiome plus a rich and diverse microbiome that varies with geographical location. *Scientific Reports*. 12, 14790.

<https://doi.org/10.1038/s41598-022-18971-6>

[37] Blanc, F.C.; Dombrowski, I.S.A.; Oliveira, N.F.; Silva, s.M.F.; Moreira, J.C.; Santos, C.O.; Miguel, M.G.R.; Salvado, M.G.; Penna, B.A.; Pinna, A.E, 2025. Antimicrobial and antibiofilm in vitro effect of oxygen-ozone gas against *Staphylococcus aureus*. *Research In Veterinary Science*. 194, 105814. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rvsc.2025.105814>.

[38] Davis, H. A.; Stanton, M. B.; Thungrat, K.; Boothe, D. M. Uterine bacterial isolates from mares and their resistance to antimicrobials: 8,296 cases (2003–2008). *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 242 (2013) 977–983.

[39] Díaz-bertrana, M.L.; Deleuze, S.; Rios, L.P.; Yeste, M.; Fariña, I.M.; Alamo, M.M.M. Microbial Prevalence and Antimicrobial Sensitivity in Equine Endometritis in Field Conditions. *Animals*. 11 (2021) 1476. <http://dx.doi.org/10.3390/ani11051476>.

[40] Ferris, R. A.; Wittstock, S.M.; Mccue, P.M.; Borlee, B.R. Evaluation of biofilms in gram-negative bacteria isolated from the equine uterus. *Journal of Equine Veterinary Science*. 34 (2014) 121.

[41] Petersen, M. R.; Skive, B.; Christoffersen, M.; Lu, K.; Nielsen, J.M.; Troedsson, M.H.T.; Bojesen, A.M. Activation of persistent *Streptococcus equi* subspecies *zooepidemicus* in mares with subclinical endometritis. *Veterinary Microbiology*. 179 (2015) 119 125. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2015.06.006>.



Assinaturas do documento



Código para verificação: **Z8601KXE**

Este documento foi assinado digitalmente pelos seguintes signatários nas datas indicadas:



VERONICA FLORES DA CUNHA SCHEEREN (CPF: 019.XXX.760-XX) em 16/07/2026 às 11:42:04

Emitido por: "SGP-e", emitido em 21/03/2023 - 12:49:08 e válido até 21/03/2123 - 12:49:08.

(Assinatura do sistema)

Para verificar a autenticidade desta cópia, acesse o link <https://portal.sgpe.sea.sc.gov.br/portal-externo/conferencia-documento/VURFU0NfMTlwMjJfMDAwMjczNzhfMjczODNfMjAyNI9aODYwMUtYRQ==> ou o site

<https://portal.sgpe.sea.sc.gov.br/portal-externo> e informe o processo **UDESC 00027378/2026** e o código **Z8601KXE** ou aponte a câmera para o QR Code presente nesta página para realizar a conferência.