

MICROBIOLOGIA UTERINA E SUSCEPTIBILIDADE ANTIMICROBIANA EM ÉGUAS COM ENDOMETRITE: ACHADO INÉDITO DE BORDETELLA SP.

UTERINE MICROBIOLOGY AND ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY IN MARES WITH ENDOMETRITIS: UNPUBLISHED FINDING OF BORDETELLA SP.

MICROBIOLOGÍA UTERINA Y SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA EN YEGUAS CON ENDOMETRITIS: HALLAZGO NO PUBLICADO DE BORDETELLA SP.

 <https://doi.org/10.56238/arev7n9-172>

Data de submissão: 16/08/2025

Data de publicação: 16/09/2025

Luiz Antonio Silveira da Motta Júnior

Graduando em Medicina Veterinária

Instituição: Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF)

E-mail: 20201300050@pq.uenf.br

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/4420573243916813>

Orcid: <https://orcid.org/0009-0001-4100-015X>

Maryana de Souza Rocha

Mestranda em Medicina Veterinária

Instituição: Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF)

E-mail: 202513120032@pq.uenf.br

Lattes: <https://lattes.cnpq.br/5987235866113150>

Orcid: <https://orcid.org/0009-0002-1800-1709>

Marcus Antônio Pessanha Bareto

Doutor em Produção Animal

Instituição: Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF)

E-mail: marcusvete@hotmail.com

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/2624854062970010>

Orcid: <https://orcid.org/0009-0009-7641-2953>

Júlia Eller Pedretti

Graduanda em Medicina Veterinária

Instituição: Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro

E-mail: 20211300030@pq.uenf.br

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/7350958495727364>

Orcid: <https://orcid.org/0009-0008-9697-5166>

Paulo Roberto de Oliveira Almeida Filho

Graduado em Medicina Veterinária

Instituição: Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF)

E-mail: betoalmeida3x@gmail.com

Lattes: <http://lattes.cnpq.br/3284887600834348>

José Renato Costa Caiado
Doutor em Produção Animal
Instituição: Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF)
E-mail: jrccaiado@uenf.br
Lattes: <http://lattes.cnpq.br/7567435157683445>
Orcid: <https://orcid.org/0009-0008-2952-5739>

Márcio Manhães Folly
Doutor em Medicina Veterinária pela Universidade de Berna
Instituição: Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro
E-mail: follyma@uenf.br
Lattes: <http://lattes.cnpq.br/1030279748232358>
Orcid: <https://orcid.org/0000-0003-2563-3202>

José Frederico Straggiotti Silva
Doutor em Medicina Veterinária
Instituição: TiHo (Alemanha), Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF),
Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro
E-mail: straggio@uenf.br
Lattes: <http://lattes.cnpq.br/1845406575748415>
Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-2975-9382>

RESUMO

A endometrite é uma das principais causas de subfertilidade em éguas, resultando em falhas reprodutivas e perdas econômicas significativas. Este estudo teve como objetivo identificar os microrganismos associados à endometrite em éguas da raça Mangalarga Marchador, bem como avaliar o perfil de sensibilidade antimicrobiana dos agentes bacterianos isolados. Foram analisadas amostras uterinas de 52 éguas com histórico de subfertilidade, coletadas por meio de lavagem uterina asséptica durante a estação reprodutiva de 2024/2025, no município de Campos dos Goytacazes (RJ). Um total de 35 microrganismos foram isolados, sendo 24 bactérias e 11 fungos. Entre os agentes bacterianos mais prevalentes destacaram-se *Escherichia coli*, *Streptococcus equi* e *Pseudomonas aeruginosa*. A presença de *Bordetella spp.* foi registrada pela primeira vez em amostra uterina equina, levantando hipóteses sobre contaminação iatrogênica associada a práticas reprodutivas. O perfil de resistência antimicrobiana revelou maior resistência à cefalexina, cefotaxima e enrofloxacina, enquanto neomicina, doxiciclina e amicacina demonstraram maior eficácia in vitro. Os achados reforçam a importância da identificação microbiológica e do uso de antibiogramas para o direcionamento terapêutico, além da necessidade de protocolos rigorosos de biossegurança em biotecnologias da reprodução.

Palavras-chave: Endometrite. Útero. Égua. Mangalarga Marchador.

ABSTRACT

Endometritis is a leading cause of subfertility in mares, resulting in reproductive failure and significant economic losses. This study aimed to identify the microorganisms associated with endometritis in Mangalarga Marchador mares and to evaluate the antimicrobial sensitivity profile of the isolated bacterial agents. Uterine samples from 52 mares with a history of subfertility were analyzed. These samples were collected by aseptic uterine lavage during the 2024/2025 breeding season in the municipality of Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro. A total of 35 microorganisms were isolated, including 24 bacteria and 11 fungi. The most prevalent bacterial agents were *Escherichia coli*,

Streptococcus equi, and Pseudomonas aeruginosa. The presence of Bordetella spp. was first recorded in an equine uterine sample, raising hypotheses of iatrogenic contamination associated with reproductive practices. The antimicrobial resistance profile revealed greater resistance to cephalaxin, cefotaxime, and enrofloxacin, while neomycin, doxycycline, and amikacin demonstrated greater efficacy in vitro. The findings reinforce the importance of microbiological identification and the use of antibiograms for therapeutic targeting, in addition to the need for strict biosafety protocols in reproductive biotechnologies.

Keywords: Endometritis. Uterus. Mare. Mangalarga Marchador.

RESUMEN

La endometritis es una de las principales causas de subfertilidad en yeguas, lo que resulta en fallas reproductivas y pérdidas económicas significativas. Este estudio tuvo como objetivo identificar los microorganismos asociados con la endometritis en yeguas Mangalarga Marchador y evaluar el perfil de sensibilidad antimicrobiana de los agentes bacterianos aislados. Se analizaron muestras uterinas de 52 yeguas con antecedentes de subfertilidad. Estas muestras se recolectaron mediante lavado uterino aséptico durante la temporada de reproducción 2024/2025 en el municipio de Campos dos Goytacazes, Río de Janeiro. Se aislaron un total de 35 microorganismos, incluidas 24 bacterias y 11 hongos. Los agentes bacterianos más prevalentes fueron Escherichia coli, Streptococcus equi y Pseudomonas aeruginosa. La presencia de Bordetella spp. se registró por primera vez en una muestra uterina equina, lo que planteó hipótesis de contaminación iatrogénica asociada con las prácticas reproductivas. El perfil de resistencia antimicrobiana reveló una mayor resistencia a la cefalexina, la cefotaxima y la enrofloxacina, mientras que la neomicina, la doxiciclina y la amikacina demostraron una mayor eficacia in vitro. Los hallazgos refuerzan la importancia de la identificación microbiológica y el uso de antibiogramas para la focalización terapéutica, además de la necesidad de protocolos estrictos de bioseguridad en las biotecnologías reproductivas.

Palabras clave: Endometritis. Útero. Mare. Mangalarga Marchador.

1 INTRODUÇÃO

A endometrite é reconhecida como uma das principais patologias que comprometem o desempenho reprodutivo de fêmeas equinas. O processo inflamatório do endométrio, muitas vezes infeccioso compromete a função uterina, sendo a principal causa de quadros de subfertilidade e infertilidade (HURTGEN, 2006), resultando em falhas na concepção, perdas embrionárias precoces e encurtamento da fase lútea, induzida pela liberação precoce de prostaglandina F2a (CHRISTOFFERSEN; WOODWARD, 2017), o que ocasiona impactos negativos significativos sobre a eficiência reprodutiva e os índices produtivos do plantel. Dados recentes reforçam esse impacto, nesse panorama, a endometrite é responsável por até 60% dos casos de subfertilidade em éguas receptoras removidas de programas de transferência de embriões, evidenciando a necessidade de estratégias diagnósticas e terapêuticas mais eficazes para mitigar seus efeitos. (NEVES 2023).

Fêmeas equinas senis, multíparas e submetidas a múltiplas estações reprodutivas consecutivas apresentam maior predisposição ao desenvolvimento de endometrite, especialmente quando associadas a alterações anatômicas do trato reprodutivo, como conformação vulvar inadequada, ângulo vulvar negativo, pneumovagina e posicionamento uterino caudoventral (útero pendular). Adicionalmente, disfunções nos mecanismos fisiológicos de defesa uterina, como a ineficiência na eliminação de fluidos pós cobertura, e a ausência de relaxamento cervical adequado durante o estro favorecem a retenção de material contaminante no lúmen uterino, promovendo um ambiente propício à inflamação persistente. Outros fatores predisponentes incluem distúrbios endócrinos, inseminações artificiais repetidas, montas naturais, manipulações iatrogênicas excessivas, retenção de placenta, distocia, abortamentos e falhas nas práticas de biosseguridade durante o manejo reprodutivo (SCHNEIDER *et al.*, 2015).

Em sua maioria a endometrite infecciosa apresenta como agente patogênico as bactérias, sendo comumente isoladas *Streptococcus equi*, *Escherichia coli*, *staphylococcus aureus*, *staphylococcus epidermidis*, *klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas sp.* (DÍAZ-BERTRANA, *et al.*, 2021; MOUNCEY, *et al.*, 2024). No entanto, tal condição pode ser ocasionada pela presença de fungos no lúmen uterino, sendo a *Candida Albicans* isolado com maior frequência (MAZZUCHINI 2024).

Sobretudo, o manejo inadequado das biotecnologias reprodutivas, como a inseminação artificial, a inoculação intrauterina e a lavagem transcervical, podem resultar na inoculação de bactérias não pertencentes à microbiota habitual do lúmen uterino. Para minimizar o risco de contaminação durante a inseminação transcervical, é essencial adotar medidas de assepsia rigorosas, como a limpeza adequada da genitália externa da égua e o uso de materiais estéreis.

2 JUSTIFICATIVA

A endometrite equina é amplamente reconhecida como uma das principais causas de falhas reprodutivas em éguas, resultando em perdas econômicas significativas durante a estação de monta. Essa condição pode levar ao descarte de animais e à perda embrionária precoce, afetando diretamente a produtividade e a rentabilidade na equideocultura.

3 OBJETIVOS

O presente trabalho teve como objetivo diagnosticar éguas acometidas por endometrite, identificar os microrganismos envolvidos na etiologia da patologia, bem como avaliar a susceptibilidade bacteriana aos antimicrobianos utilizados no tratamento.

4 REFERÊNCIAL TEÓRICO

O útero das éguas é composto pelo cérvix (colo uterino), corpo e dois cornos uterinos, apresentando variações morfológicas conforme a idade e o estado fisiológico do animal (KÖNIG; LIEBICH, 2016). A parede uterina é formada por três camadas principais: a camada mucosa, denominada endométrio; a camada intermediária, o miométrio, composto por tecido muscular liso; e a camada serosa, o perimetério, constituída por mesotélio e tecido conjuntivo (KÖNIG; LIEBICH, 2016; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2018). No plano histológico, o endométrio é composto por epitélio ciliado secretor, que é organizado em três estratos distintos: compacto, esponjoso e basal, além de uma lámina própria subjacente. O epitélio é de tipo simples colunar, no entanto, sua estrutura pode sofrer variações conforme o estágio do ciclo estral, com modificações características em resposta às flutuações hormonais (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2018).

O primeiro mecanismo de defesa uterina contra infecções é composto por barreiras físicas que incluem a vulva, o esfínter vaginovestibular e o cérvix, as quais desempenham um papel essencial na prevenção da entrada de microrganismos, detritos e ar para o interior do trato reprodutivo (MCCUE, 2014). A correta conformação anatômica da vulva, orientada verticalmente em relação ao períneo, impede que material fecal expelido durante a defecação atinja diretamente a região vulvar (BRINSKO; BLANCHARD 2011).

Além disso, a adequada coaptação dos lábios vulvares promove um selamento eficiente da abertura vulvar, prevenindo a aspiração de ar e contaminantes para o interior da vagina (MCCUE, 2014). O esfínter vaginovestibular, situado na junção do vestíbulo vaginal, constitui uma segunda barreira funcional, reforçando a proteção contra a entrada de agentes infecciosos mesmo em condições de ligeira separação vulvar (LEBLANC; CAUSEY, 2009).

O cérvix desempenha função dinâmica na defesa uterina: encontra-se relaxado durante o estro para permitir a passagem de sêmen e facilitar a drenagem de fluidos uterinos, e permanece firmemente fechado durante o diestro e a gestação, restringindo a entrada de microrganismos e contribuindo para a retenção do conceito (TROEDSSON, 1999).

A integridade anatômica e funcional dessas barreiras físicas é fundamental para a manutenção da saúde uterina e para o sucesso reprodutivo em éguas. Alterações conformacionais, como a inclinação excessiva da vulva ou a incompetência dos mecanismos de vedação, podem predispor a infecções ascendentes, como a pneumovagina e a endometrite (BRINSKO; BLANCHARD 2011).

A endometrite em éguas caracteriza-se como um processo inflamatório do endométrio que pode ser de natureza aguda ou crônica, comprometendo negativamente a fertilidade (LEBLANC; CAUSEY, 2009). Tal processo inflamatório pode evoluir para uma condição degenerativa irreversível, denominada endometriose, agravando ainda mais o prognóstico reprodutivo.

Durante a cobertura natural ou inseminação artificial, o útero da égua é exposto a antígenos alogênicos presentes no sêmen, desencadeando uma resposta inflamatória fisiológica mediada por infiltração de leucócitos polimorfonucleares (PMNs) no lúmen uterino. Essa resposta atinge seu pico entre 4 a 8 horas após o evento e, em éguas saudáveis, resolve-se dentro de 24 a 36 horas (REBORDÃO *et al.*, 2014). Esse mecanismo é crucial para a remoção de espermatozoides excedentes, plasma seminal e possíveis agentes contaminantes, preparando o útero para a implantação embrionária.

Entretanto, em éguas suscetíveis, a inflamação persiste além de 48 horas, caracterizando a endometrite persistente induzida por cobertura (PBIE), associada ao desequilíbrio entre citocinas pró e anti-inflamatórias, levando à inflamação crônica e à redução da fertilidade (TROEDSSON, 1999; REBORDÃO *et al.*, 2014)

Diversos fatores predisponentes têm sido descritos, como alterações anatômicas do períneo, idade avançada, incompetência na contratilidade miometrial e presença de biofilmes bacterianos, principalmente de *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* (TROEDSSON, 1999). Essas condições favorecem a instalação e a manutenção da inflamação no ambiente uterino.

Recentemente, estudos destacaram o papel de microRNAs (miRNAs) na regulação da resposta inflamatória do endométrio. MiRNAs como eca-miR-223 e eca-miR-155 estão implicados na modulação da expressão gênica de citocinas e da resposta imune inata em éguas (CANISSO *et al.*, 2020), sugerindo novas perspectivas para o diagnóstico e manejo da endometrite.

Compreender os mecanismos imunológicos e moleculares envolvidos na endometrite equina é essencial para o desenvolvimento de abordagens terapêuticas mais eficazes e para a melhoria dos índices reprodutivos em equinos.

A endometrite em éguas é frequentemente causada por bactérias e, em menor proporção, por fungos, sendo que, na maioria dos casos, a infecção ocorre por via ascendente, especialmente durante períodos em que a cérvix se apresenta relaxada, como no estro (DÍAZ-BERTRANA *et al.*, 2021). Os microrganismos envolvidos são majoritariamente oportunistas e inespecíficos, comumente encontrados no ambiente (PIATTI *et al.*, 2023).

Entre as bactérias isoladas em casos de endometrite, *Streptococcus equi* subespécie *zooepidemicus* destaca-se como o agente mais frequente (DÍAZ-BERTRANA *et al.*, 2021). Além deste, *Escherichia coli*, *Staphylococcus Aureus*, *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa* são frequentemente identificados, todas associadas à formação de biofilme, o que dificulta o tratamento e favorece a persistência da infecção (CARNEIRO 2023; DÍAZ-BERTRANA *et al.*, 2021).

Embora as infecções fúngicas sejam menos prevalentes em comparação às bacterianas, elas representam um desafio terapêutico maior, caracterizando-se por uma resposta menos favorável ao tratamento e, consequentemente, um prognóstico reprodutivo reservado (BELTAIRE *et al.*, 2012; DASCANIO 2007). A detecção dessas infecções é dificultada pela necessidade de meios de cultura específicos e tempos de incubação prolongados, que podem variar de três a quatro semanas (STOUT, 2008; BELTAIRE *et al.*, 2012).

Entre os fatores predisponentes à infecção fúngica destacam-se a imunossupressão, traumas uterinos, pneumovagina, utilização prolongada de antibióticos e administração de corticosteroides (DASCANIO 2007). Essas condições são mais comumente observadas em éguas idosas. Dentre os fungos isolados, *Candida spp.* e *Aspergillus spp.* são os mais prevalentes, ambos também capazes de formar biofilme, seguidos por *Mucor spp.* (STOUT, 2008; CARNEIRO 2023).

A presença de biofilme, tanto em infecções bacterianas quanto fúngicas, representa um importante obstáculo ao tratamento convencional, demandando abordagens terapêuticas específicas e contínuos avanços na pesquisa clínica veterinária.

O exame de cultura microbiológica constitui uma ferramenta fundamental para a identificação de agentes bacterianos envolvidos nos quadros de endometrite infecciosa (SEGABINAZZI, 2021). Esse método é essencial para o diagnóstico preciso de infecções e para a determinação da sensibilidade dos patógenos aos antimicrobianos, orientando terapias eficazes e contribuindo para o controle da disseminação de bactérias resistentes.

A realização da cultura bacteriana envolve a coleta asséptica da amostra, seguida da inoculação em meios de cultura apropriados que fornecem os nutrientes necessários para o crescimento das bactérias. Após a incubação em condições controladas de temperatura e umidade, as colônias bacterianas formadas são examinadas quanto às suas características morfológicas e submetidas a testes

adicionais, como a coloração de Gram e provas bioquímicas, para a identificação precisa do microrganismo (LABVITAL 2024).

Além da identificação, a cultura bacteriana permite a realização do antibiograma, que determina a sensibilidade da bactéria a diferentes antibióticos. Esse teste é crucial para a escolha do tratamento mais eficaz, especialmente em casos de infecções causadas por bactérias multirresistentes (LABVITAL 2024).

Apesar de ser uma técnica amplamente utilizada, a cultura bacteriana apresenta algumas limitações, como o tempo necessário para a obtenção dos resultados e a dificuldade de cultivo de certos microrganismos. No entanto, avanços tecnológicos, como a espectrometria de massa e a sequenciação genômica, têm contribuído para a identificação mais rápida e precisa dos patógenos, complementando os métodos tradicionais (LABORATÓRIO GOES 2024).

Portanto, a cultura bacteriana permanece como uma ferramenta indispensável na microbiologia, sendo vital para o diagnóstico de infecções, para a orientação terapêutica e para o controle da disseminação de bactérias resistentes em diversos contextos.

Bordetella é um gênero de bactérias Gram-negativas, aeróbias obrigatórias, que inclui espécies importantes tanto para a saúde humana quanto para a veterinária. *Bordetella bronchiseptica* é um patógeno respiratório comum em cães, gatos, suínos e coelhos, frequentemente associado a quadros como a traqueobronquite infecciosa canina (tosse dos canis) e à rinite atrófica suína. Em estudo conduzido por (FELIZARDO, 2015), verificou-se que a resistência antimicrobiana varia entre as cepas isoladas de diferentes espécies animais, sendo as cepas suínas mais resistentes do que as de animais de companhia. Embora a infecção por *B. bronchiseptica* em humanos seja considerada rara, casos graves de pneumonia têm sido descritos em indivíduos imunossuprimidos, como relatado por (GRAZZIOLI *et al.* 2014).

Além de *B. bronchiseptica*, *Bordetella pertussis* é responsável pela coqueluche, uma doença infecciosa respiratória aguda que, apesar da vacinação em massa, continua sendo endêmica em diversas regiões. A redução da imunidade conferida pelas vacinas acelulares está associada ao aumento de casos entre adolescentes e adultos, conforme apontam (SILVA *et al.* 2021). Diante disso, novas formulações vacinais têm sido propostas, buscando induzir uma resposta imune mais duradoura e eficaz (ARAÚJO; ARAÚJO, T. M. S; BARBOSA, 2019).

O perfil de resistência antimicrobiana das espécies de *Bordetella* é motivo de crescente preocupação. (FELIZARDO, 2015) identificou padrões de multirresistência em cepas de *B. bronchiseptica*, sendo isoladas amostras de diversas categorias de animais, o que reforça a necessidade de estratégias de controle mais eficazes e de vigilância epidemiológica contínua. Assim, tanto a

persistência da coqueluche em humanos quanto a resistência antimicrobiana em infecções animais reforçam a importância do monitoramento constante dessas bactérias.

5 MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas amostras de 52 éguas da raça Mangalarga Marchador compreendendo uma faixa etária entre 5 a 24 anos, todas com histórico clínico de endometrite recorrente e subfertilidade, avaliadas em diferentes fases do ciclo estral, durante a estação de momba de 2024/2025. Os animais eram oriundos do município de Campos dos Goytacazes no Estado do Rio de Janeiro, região com coordenadas geográficas aproximadas de 21°45'41"S e 41°19'23"W, e altitude média de 14 metros acima do nível do mar. A região apresenta clima tropical do tipo Aw, segundo a classificação de Köppen-Geiger, caracterizado por verões quentes e chuvosos e invernos mais secos. As amostras uterinas foram obtidas por meio de lavagem com solução de Ringer com lactato, utilizando técnica asséptica.

A avaliação ultrassonográfica do aparelho reprodutivo das éguas foi realizada por via transretal, utilizando transdutor linear de alta frequência (adicionar aparelho US), seguido da caracterização da condição uterina, a qual, foi realizada por meio da análise do padrão de intensidade do edema endometrial. A presença de edema endometrial acentuado e acúmulo de fluido intrauterino configura um indicativo de susceptibilidade das éguas à inflamação uterina (PYCOCK, et al., 2019; METCALF, et al., 2015). A presença de fluido intrauterino, identificada por meio de exame ultrassonográfico (FIGURA 1, itens Be C).

Figura 1: Avaliação uterina por imagem ultrassonográfica de acordo com a presença de líquido intraluminal; Imagem A (útero com edema e ausência de líquido), Imagem B (pequena quantidade de líquido disposta no lúmen), Imagem C (grande quantidade de líquido intraluminal).



Fonte: Elaborado pelos autores.

A obtenção das amostras foi realizada por meio da técnica de lavagem uterina transcervical, empregando-se uma sonda uterina de silicone provida de balão insuflável com capacidade de 100 mL

(Figura 3). Inicialmente, procedeu-se à contenção higiênica da cauda com atadura, seguida de antisepsia criteriosa da região perineal e vulvar com solução de digliconato de clorexidina a 0,5%.

Utilizando luva estéril de palpação, a sonda previamente esterilizada foi introduzida via vaginal e conduzida manualmente através do canal cervical até atingir a cavidade uterina. Uma vez posicionada, o balão foi insuflado com 40 mL de ar, promovendo o adequado vedamento do lúmen cervical e permitindo a infusão retrógrada do líquido. Posteriormente, foi administrado 1 litro de solução estéril de Ringer com lactato no interior do útero, onde permaneceu por um período de 5 minutos. Ao término desse intervalo, o conteúdo uterino foi recuperado de maneira asséptica por meio de sistema fechado, estabelecido entre a sonda e a bolsa coletora, assegurando a integridade microbiológica da amostra para as análises subsequentes.

Figura 3: Processo de lavagem uterina via sonda transcervical para a obtenção de amostra para exame bacteriológico de uma égua Mangalarga Marchador.



Fonte: Elaborado pelos autores.

O exame de cultura microbiológica constitui uma ferramenta fundamental para a identificação de agentes bacterianos envolvidos nos quadros de endometrite infecciosa (SEGABINAZZI, 2021).

O material uterino coletado foi transferido para tubos Falcon de 15 mL e submetido à centrifugação a 5.000 rpm, por um período de 10 minutos, com o objetivo de concentrar os elementos celulares no sedimento (“pellet”). Após esse processo, o sobrenadante foi cuidadosamente descartado, e o sedimento resultante foi semeado assepticamente, com auxílio de alças de platina, em placas de Petri contendo os meios de cultura ágar MacConkey, ágar sangue de cordeiro e ágar Sabouraud, por meio da técnica de semeadura por esgotamento. As amostras foram incubadas em estufa bacteriológica

a 36 °C por um período inicial de 24 horas, para posterior análise do crescimento microbiano. Após a observação do crescimento bacteriano nas placas de cultivo (Figura 4), foram realizados testes bioquímicos convencionais com o objetivo de identificar os microrganismos isolados.

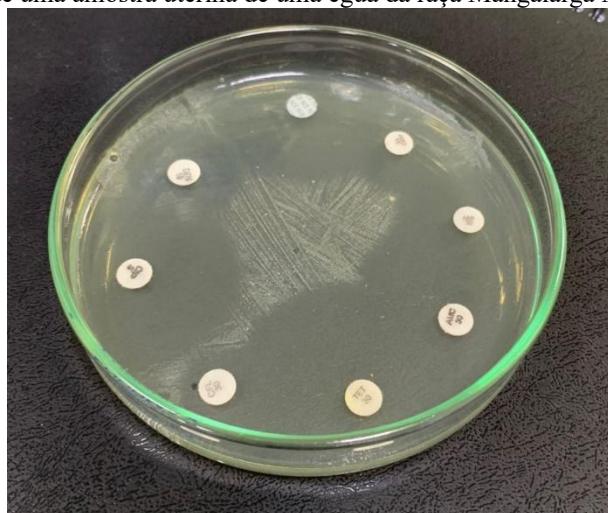
Figura 4: Colônia bacteriana de amostras uterinas de éguas da raça Mangalarga Marchador disposta em placa de petri contendo meio de cultura ágar sangue.



Fonte: Elaborado pelos autores.

Após a identificação microbiológica, procedeu-se à realização do teste de sensibilidade aos antimicrobianos por meio do antibiograma. As bactérias isoladas foram inoculadas em solução fisiológica estéril, acondicionada em tubos de ensaio de vidro, até atingirem uma turbidez equivalente ao padrão 0,5 da escala de McFarland, verificada com auxílio de um turbidímetro (Densimat, bioMérieux, França). Em seguida, utilizando um swab estéril, a suspensão bacteriana foi semeada em placas de Petri contendo ágar Mueller-Hinton; para o gênero *Streptococcus*, utilizaram-se ágar sangue ou Mueller-Hinton com suplementação de sangue. Após um período de 5 minutos, suficientes para a absorção do inóculo pelo meio de cultura, foram aplicados os discos de papel impregnados com os antibióticos a serem testados, conforme o método de difusão descrito por Kirby-Bauer. A análise do teste de sensibilidade antimicrobiana é realizada por meio da mensuração dos halos de inibição formados ao redor dos discos impregnados com antibióticos (Figura 5), os quais indicam a eficácia do agente antimicrobiano frente ao microrganismo testado. A bateria de antibióticos utilizada foi composta por: Amicacina, Amoxicilina, Amoxicilina com Clavulanato, Tetraciclina, Cefalotina, Gentamicina, Enrofloxacina e Ciprofloxacino.

Figura 5: Meio de cultura ágar Mueller-Hinton, com discos de antibiótico e crescimento bacteriano formando halos de inibição de uma amostra uterina de uma égua da raça Mangalarga Marchador.



Fonte: Elaborado pelos autores.

6 RESULTADOS

6.1 BACTÉRIAS ISOLADAS

Foram incluídas no estudo 52 éguas com diagnóstico clínico de endometrite, das quais foram coletadas amostras de lavado uterino sob condições assépticas para a realização de cultura microbiológica. A partir dessas amostras, foi possível isolar um total de 35 microrganismos, enquanto 17 amostras não apresentaram crescimento microbiano após o período de incubação. Dentre os 35 isolados, 11 (31,4%) corresponderam a fungos, sendo os gêneros *Candida* spp os mais frequentemente observados. Os outros 24 isolados (68,6%) corresponderam a bactérias, predominantemente bacilos Gram-negativos e cocos Gram-positivos. A identificação dos microrganismos foi realizada por meio de cultivo em meios seletivos e diferenciais, seguida de análise morfológica, coloração de Gram e testes bioquímicos específicos, conforme protocolos microbiológicos padronizados. Destaca-se o achado inédito da detecção de *Bordetella* spp. em amostras uterinas provenientes de éguas com diagnóstico clínico de endometrite. A confirmação da presença do agente foi realizada por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR), evidenciando a participação desse patógeno, até então não descrito na literatura como associado a infecções uterinas em equinos.

Figura 6: Tipos de microrganismos e quantidades de colônia isoladas de amostras uterinas de éguas Mangalarga-Marchador, da região do Norte Fluminense.

Microrganismo	Quantidade
<i>Candida sp</i>	7
<i>Geotrichium candidum</i>	3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6
<i>Bordetella sp</i>	1
<i>Escherichia coli</i>	7
<i>Trichosporon sp</i>	1
<i>Streptococcus equi</i>	5
<i>Enterobacter sp</i>	2
<i>Serratia marcescens</i>	1
<i>Edwardsiella sp</i>	1
<i>Streptococcus canis</i>	1

Fonte: Elaborado pelos autores.

6.2 RESISTÊNCIA BACTERIANA A ANTIBIÓTICOS

Dentre os 24 isolados bacterianos obtidos, os antimicrobianos que apresentaram os maiores índices de resistência foram a cefalexina, a cefotaxima e a enrofloxacina. Por outro lado, a neomicina, a doxiciclina e a amicacina demonstraram maior eficácia in vitro, evidenciando sensibilidade significativa por parte das cepas testadas.

Figura 7: Número de amostras resistentes frente ao antibiograma de amostras uterinas de éguas Mangalarga Marchador na região do Norte Fluminense.

Antibiótico	Amostras Resistentes
Cefalexina	8
Cefotaxima	4
Enrofloxacina	4
Penicilina	3
Sulfazotrim	3
Amoxicilina com clavulanato	2
Ciprofloxacina	2
Gentamicina	2

Tetraciclina	2
Neomicina	1
Doxiciclina	1
Amicacina	1

Fonte: Elaborado pelos autores.

7 DISCUSSÃO

A endometrite equina continua sendo uma das principais causas de subfertilidade em éguas, tendo como fator determinante a colonização do útero por microrganismos patogênicos oportunistas (LE BLANC, 2008). Neste estudo, os principais agentes isolados foram *Escherichia coli*, *Streptococcus equi subsp. zooepidemicus*, *Pseudomonas aeruginosa*, e *Staphylococcus spp.*, o que está de acordo com achados prévios (KÖHNE *et al.*, 2024; CARVALHO *et al.*, 2025).

A alta prevalência de *E. coli* e *S. zooepidemicus* é particularmente preocupante, uma vez que essas bactérias possuem mecanismos de virulência que favorecem a adesão ao epitélio endometrial e a formação de biofilmes, os quais reduzem a eficácia de antimicrobianos e promovem infecções persistentes (H A Morris L; M McCue P; Aurich C, 2020; MORRELL *et al.*, 2022).

O isolamento de *Bordetella spp.* em lavado uterino de égua, conforme observado neste estudo, representa um achado inédito e de considerável importância clínica. Até o momento, este gênero bacteriano é predominantemente associado a infecções do trato respiratório de diferentes espécies, incluindo equinos, sendo *Bordetella bronchiseptica* a espécie mais frequentemente implicada (VAN CLEEMPUT *et al.*, 2022). Contudo, sua presença no ambiente uterino equino não havia sido relatada na literatura recente, o que sugere uma possível ampliação do seu espectro ecológico. Uma das hipóteses para a introdução desse microrganismo no trato reprodutivo é a falha nos protocolos de assepsia durante procedimentos de biotecnologia da reprodução, como a inseminação artificial. A manipulação inadequada de instrumentos, cateteres, material genético ou mesmo a aplicação do sêmen sem condições assépticas pode permitir a inoculação de patógenos oportunistas no lúmen uterino (LE BLANC *et al.*, 2020). A presença de *Bordetella spp.* em um ambiente uterino estéril reforça essa possibilidade, sendo plausível a contaminação iatrogênica, especialmente em situações de manejo reprodutivo intensivo. Além disso, estudos demonstram que *B. bronchiseptica* possui diversos fatores de virulência, como a toxina adenilato ciclase e mecanismos de evasão imunológica, que facilitam a colonização de tecidos e contribuem para a persistência da infecção (VAN CLEEMPUT *et al.*, 2022). Embora o papel patogênico da *Bordetella spp.* no útero equino ainda não esteja estabelecido, sua

deteção em meio a um quadro de endometrite justifica a investigação de seu potencial envolvimento em processos inflamatórios uterinos.

O presente achado ressalta a necessidade de protocolos rigorosos de biossegurança em programas de reprodução assistida, bem como da inclusão de métodos diagnósticos mais amplos, como a identificação molecular, para a detecção de microrganismos não usuais. A caracterização fenotípica e genotípica de isolados atípicos, como *Bordetella spp.*, pode contribuir para a compreensão da microbiota uterina equina em diferentes contextos clínicos.

A presença de resistência significativa a antibióticos como cefalexina, penicilina e cefotaxima observada nas bactérias isoladas nas endometrites neste estudo evidencia a crescente preocupação com o uso indiscriminado de antimicrobianos na prática veterinária, o que pode estar selecionando cepas resistentes (SILVA *et al.*, 2021; SCOTT, 2018). Esses dados reforçam a necessidade do uso criterioso de antibiogramas para direcionar o tratamento e evitar falhas terapêuticas. Além dos patógenos tradicionais, o isolamento de fungos como *Geotrichum candidum* e *Trichosporon sp.*, embora menos frequente, chama atenção para a importância de considerar infecções fúngicas em éguas submetidas a terapias intrauterinas repetidas ou com histórico de imunossupressão (SCOTT, 2018).

Dessa forma, os resultados do presente estudo destacam a importância do diagnóstico microbiológico completo, incluindo culturas aeróbias, anaeróbias e fúngicas, bem como a realização de testes de sensibilidade para a escolha racional de antibióticos. A abordagem individualizada para cada caso clínico e a compreensão dos mecanismos de resistência e virulência bacteriana é essencial para o controle eficaz da endometrite equina.

8 CONCLUSÃO

O presente estudo contribui significativamente para o entendimento da microbiota uterina associada à endometrite em éguas, destacando a diversidade de microrganismos isolados em lavados uterinos, incluindo bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e fungos oportunistas. A alta frequência de isolamento de agentes como *Escherichia coli*, *Candida spp.*, *Streptococcus equi* e *Pseudomonas aeruginosa* corrobora a literatura quanto à etiologia multifatorial da endometrite, reforçando a importância da identificação microbiológica para direcionamento terapêutico eficaz.

O achado inédito de *Bordetella spp.* em amostra uterina de uma égua doadora de embrião da raça Mangalarga Marchador amplia o conhecimento sobre potenciais agentes envolvidos na patogênese da doença, especialmente em casos refratários. Tal ocorrência levanta preocupações quanto à possível introdução de microrganismos por meio de práticas de reprodução assistida, como a inseminação artificial, destacando a necessidade de reforço nos protocolos de biossegurança e assepsia.

Além disso, o perfil de resistência antimicrobiana observado entre os isolados reforça a importância da realização de testes de sensibilidade antes da escolha do tratamento, evitando o uso empírico e indiscriminado de antibióticos. Diante do aumento da resistência bacteriana na medicina veterinária, medidas de vigilância microbiológica e racionalização do uso de antimicrobianos tornam-se essenciais.

Portanto, este trabalho evidencia a complexidade da endometrite equina e a necessidade de uma abordagem diagnóstica ampla, que inclua cultura microbiológica, antibiograma e análise crítica dos procedimentos reprodutivos realizados. Investigações futuras com maior número de amostras e aplicação de técnicas moleculares poderão aprofundar a compreensão da ecologia uterina e seus impactos sobre a fertilidade das éguas.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, T. M. S. de; ARAÚJO, T. M. S. de; BARBOSA, K. L. Mecanismos efetores da resposta imune na infecção por *Bordetella pertussis*. Arquivos de Saúde, v. 23, n. 2, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.25110/arqsaude.v23i2.2019.6558>. Acesso em: 05 set. 2025.

BELTAIRE, K.A.; JORGENSEN, J.S.; FREEMAN, D.E. Fungal endometritis in the mare: a review. Journal of Equine Veterinary Science, v. 32, n. 10, p. 643-649, 2012. Disponível em: www.researchgate.net/publication/285842627_Fungal_endometritis_in_the_mare

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

CANISSO, Igor F.; SEGABINAZZI, Lorenzo G.T.M.; FEDORKA, Carleigh E. Persistent breeding-induced endometritis in mares – a multifaceted challenge: From clinical aspects to immunopathogenesis and pathobiology. International Journal of Molecular Sciences, v. 21, n. 4, p. 1432, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms21041432>.

CARNEIRO, F.R. Biofilmes bacterianos na endometrite equina: implicações clínicas e terapêuticas. Veterinary Research Communications, v. 47, p. 1-13, 2023.

CARVALHO IB, BRANCO S, LARANJO M, QUEIROGA MC, BETTENCOURT E. Characteristics of the Mare-Uterine-Culture-Based Bacterial Composition Using Practical Clinical Evaluation Methods. Pathogens. 2025 Apr 7;14(4):357. doi: 10.3390/pathogens14040357. PMID: 40333165; PMCID: PMC12030173.

CHRISTOFFERSEN, M.; WOODWARD, E.M. Inflammation and fertility in the mare. Reproduction in Domestic Animals, v. 52(S3), p. 14-20, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/rda.13013>, Acesso em: 04/04/2025.

DASCANIO, J.J. Fungal infections of the reproductive tract. In: YOUNGQUIST, R. S.; THRELFALL, W. R. Current Therapy in Large Animal Theriogenology. 2. ed. St. Louis: Saunders Elsevier, 2007. p. 227-233.

DÍAZ-BERTRANA, M.L.; DELEUZE, S.; PITTI RIOS, L.; YESTE, M.; MORALES FARIÑA, I.; RIVERA DEL ALAMO, M.M. Prevalência microbiana e sensibilidade antimicrobiana na endometriose equina em condições de campo. Animals (Basileia), [S.I.], v. 11, n. 5, p. 1476, 20 maio 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ani11051476>, Acesso em 04/04/2025.

FELIZARDO, MARIA ROBERTA. Caracterização fenotípica e genotípica de isolados de *Bordetella bronchiseptica* provenientes de diferentes espécies animais. 2015. Tese (Doutorado em Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.11606/T.10.2015.tde-01092015-143702>.

GRAZZIOLI, V.S. et al. Pneumonia por *Bordetella bronchiseptica* em paciente HIV positivo: relato de caso. São Paulo Medical Journal, v. 132, n. 2, p. 122-124, 2014. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/spmj/a/Jp8xhYQ5zt5DTMYBYQXcGC/>, Acesso em: 28/04/2025.

H A Morris L, M McCue P, Aurich C. Equine endometritis: a review of challenges and new approaches. *Reproduction*. 2020 Nov;160(5): R95-R110. doi: 10.1530/REP-19-0478. PMID: 32805710.

Hurtgen JP. Pathogenesis and treatment of endometritis in the mare: a review. *Theriogenology*. 2006 Aug;66(3):560-6. doi: 10.1016/j.theriogenology.2006.04.006. Epub 2006 Jul 7. PMID: 16824588.

KÖHNE, M. et al. Frequency of potentially pathogenic bacterial and fungal isolates among 28,887 endometrial samples from mares, with an emphasis on multi-drug resistant bacteria in Germany (2018-2022). *Journal of Equine Veterinary Science*, v. 133, p. 105008–105008, 1 fev. 2024.

KONIG, E.H.; LIEBICH, H.G. Anatomia dos Animais Domésticos: Texto e Atlas Colorido. 6. ed. São Paulo: ARTMED EDITORA LTDA., 2016.

LABVITAL. Exame de Cultura de Bactérias: identifica microrganismos patogênicos em diferentes amostras. 2024.

LEBLANC MM, CAUSEY RC. Clinical and subclinical endometritis in the mare: both threats to fertility. *Reprod Domest Anim*. 2009 Sep;44 Suppl 3:10-22. doi: 10.1111/j.1439-0531.2009.01485.x. PMID: 19660076.

MAZZUCHINI, M.P.; LISBOA, F.P.; DE CASTRO, J.I.; ALVARENGA, M.A.; SEGABINAZZI, L.G.T.M.; CANISSO, I.F. Atividade antimicrobiana in vitro de terapias não tradicionais para endometrite infecciosa em éguas. *Equine Veterinary Journal*, v. 56, n. 1, p. 1–9, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/evj.14423>, Acesso em: 06/05/2025.

McCUE, P.M. The Problem Mare: Uterine Abnormalities II. In: AAEP Resort Symposium, 2014, Puerto Rico. Proceedings... [S.l.]: American Association of Equine Practitioners, 2014. Disponível em: <https://www.ivis.org/library/aaep/aaep-resort-symposium-puerto-rico-2014/problem-mare-uterine-abnormalities-ii>. Acesso em: 25/05/2025.

McCUE, P. M. Reproductive evaluation of the mare. In: EQUINE REPRODUCTIVE PROCEDURES. Chapter 1. First published: 27 June 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/9781118904398.ch1>. Acesso em: 05 set. 2025.

MORRELL, J. M.; ROCHA, A. A novel approach to minimising acute equine endometritis that may help to prevent the development of the chronic state. *Frontiers in Veterinary Science*, v. 8, p. 799619, 6 jan. 2022. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8770823/>. Acesso em: 05 set. 2025.

MOUNCEY, R.; ARANGO-SABOGAL, J.C.; RATHBONE, P.; SCOTT, C.J.; DE MESTRE, A.M. Prevalência de isolados microbianos cultivados a partir de amostras de swab endometrial coletadas de éguas de puro-sangue do Reino Unido de 2014 a 2020. *Veterinary Sciences*, [S.l.], v. 11, n. 2, p. 82, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/vetsci11020082>, Acesso em: 21/03/2025.

PASOLINI, M.P.; DEL PRETE, C.; FABBRI, S.; AUDETÀ, L. Endometritis and infertility in the mare – the challenge in equine breeding industry – a review. In: DARWISH, A. (ed.). *Genital infections and infertility*. London: IntechOpen, 2016. p. 285–328. Disponível em: <https://www.intechopen.com/chapters/50058>, Acesso em 27/03/2025.

PIATTI, A. T.; MATEUS, H. B.; BACARO, V. B. de G. Endometrite equina. *Brazilian Journal of Veterinary Dentistry*, v. 9, n. 9, 2023. DOI: <https://doi.org/10.34117/bjdv9n9-078>.

PYCOCK, J.F.; ALLEN, W.E. Inflammatory components in uterine fluid from mares with experimentally induced bacterial endometritis. *Equine Veterinary Journal*, v. 22, n. 6, p. 422–425, 1990. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1990.tb04309.x>. Acesso em 27/03/2025.

REBORDÃO MR, GALVÃO A, SZÓSTEK A, AMARAL A, MATEUS L, SKARZYNSKI DJ, FERREIRA-DIAS G. Physiopathologic mechanisms involved in mare endometrosis. *Reprod Domest Anim*. 2014 Oct;49 Suppl 4:82-7. doi: 10.1111/rda.12397. PMID: 25277436.

SCOTT, C. J. A review of fungal endometritis in the mare. *Equine Veterinary Education*, v. 32, n. 8, p. 444-448, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/eve.13010>. Acesso em: 05 set. 2025.

SEGABINAZZI, L.G.; FRISO, A.M.; CORREAL, S.B.; CRESPHILHO, A.M.; DELL'AQUA, J.A.; MIRÓ, J.; PAPA, F.O.; ALVARENGA, M.A. Uterine clinical findings, fertility rate, leucocyte migration, and COX-2 protein levels in the endometrial tissue of susceptible mares treated with platelet-rich plasma before and after AI. *Theriogenology*, v. 104, p. 120–126, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.08.007>.

SILVA, A. B. DA et al. Perfil microbiológico e de resistência antimicrobiana in vitro de bactérias isoladas do útero de éguas subférteis. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v. 45, n. 2, p. 82–90, 2021.

SILVA, A.B.; FREIRE, L.Q.B.; MORAES, W.S.; BRANDÃO, I.S.L. Perfil microbiológico e de resistência antimicrobiana in vitro de bactérias isoladas do útero de éguas subférteis. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, São Paulo, v. 45, n. 2, p. 82–90, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.21451/1809-3000.RBRA2021.010>. Acesso em 23/03/2025.

SILVA, R.A. et al. Epidemiologia da coqueluche no Brasil: panorama recente e desafios futuros. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, v. 80, p. 1-7, 2021. Disponível em: <https://periodicos.saude.sp.gov.br/RIAL/article/view/39712/>. Acesso em: 28/04/2025.

SOARES, Carlos Mattos Teixeira. Desafios diagnósticos e terapêuticos da endometrite em éguas: estudos experimentais e meta-análise. 2023. 173 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) — Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2023. Disponível em: <https://locus.ufv.br/bitstreams/35bf90be-f1e1-483b-9085-200ed9f47fac/download>. Acesso em: 05 set. 2025.

STOUT, T. A. E. Fungal endometritis in the mare. *Pferdeheilkunde Equine Medicine*, v. 24, n. 1, p. 83–87, jan. 2008. DOI: 10.21836/PEM20080117. Universidade de Kentucky.

TROEDSSON MH. Uterine clearance and resistance to persistent endometritis in the mare. *Theriogenology*. 1999 Aug;52(3):461-71. doi: 10.1016/S0093-691X(99)00143-0. PMID: 10734380.

VAN CROMBRUGGE E, VANBEYLEN E, VAN CLEEMPUT J, VAN DEN BROECK W, LAVAL K, NAUWYNCK H. Bacterial Toxins from *Staphylococcus aureus* and *Bordetella bronchiseptica* Predispose the Horse's Respiratory Tract to Equine Herpesvirus Type 1 Infection. *Viruses*. 2022 Jan 14;14(1):149. doi: 10.3390/v14010149. PMID: 35062352; PMCID: PMC8778808.