

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA FACULDADE  
DE MEDICINA VETERINÁRIA

GUILHERME GONÇALVES DE FARIA

**PERFIL MICROBIOLÓGICO E CITOLÓGICO DO AMBIENTE UTERINO E  
VAGINAL DE CADELAS EM DIFERENTES FASES DO CICLO ESTRAL**

Uberlândia

2025

GUILHERME GONÇALVES DE FARIA

**PERFIL MICROBIOLÓGICO E CITOLÓGICO DO AMBIENTE UTERINO E  
VAGINAL DE CADELAS EM DIFERENTES FASES DO CICLO ESTRAL**

Trabalho de Conclusão de Curso à Faculdade de  
Medicina Veterinária da Universidade Federal de  
Uberlândia, como requisito parcial para aprovação na  
disciplina Trabalho de Conclusão de Curso II.  
Área de concentração: Cirurgia e Obstetrícia Veterinária  
Orientadora: Profa. Dra. Aracelle Alves de Avila  
Fagundes

Uberlândia

2025

GUILHERME GONÇALVES DE FARIA

**PERFIL MICROBIOLÓGICO E CITOLÓGICO DO AMBIENTE UTERINO E  
VAGINAL DE CADELAS EM DIFERENTES FASES DO CICLO ESTRAL**

Trabalho de Conclusão de Curso à Faculdade de  
Medicina Veterinária da Universidade Federal de  
Uberlândia, como requisito parcial para aprovação na  
disciplina Trabalho de Conclusão de Curso II.  
Área de concentração: Cirurgia e Obstetrícia Veterinária  
Orientadora: Profa. Dra. Aracelle Alves de Avila  
Fagundes

Uberlândia, 15 de setembro de 2025. Banca Examinadora:

---

Aracelle Alves de Avila Fagundes – Pós-doutorado (FMVZ - UFU)

---

Belchiolina Beatriz Fonseca – Doutorado (FMVZ - UFU)

---

Elisa Sant Anna Monteiro da Silva – Doutorado (FMVZ - UFU)

## RESUMO

O ciclo estral das fêmeas caninas desencadeia uma série de alterações hormonais, comportamentais e modificações no trato reprodutivo. Durante a transição do proestro para o estro, ocorre a abertura e o relaxamento da cérvix, facilitando a migração de microorganismos da vagina para o útero. Dependendo do estado imunológico do animal, esses microorganismos podem desencadear doenças tais como a piometra. O objetivo deste estudo foi avaliar o ambiente uterino e vaginal de cadelas híginas por meio da análise das seguintes avaliações: avaliação macroscópica do útero, da citologia vaginal, citologia endometrial, microbiologia do lumen uterino e vaginal. Foram utilizadas 10 cadelas híginas, de diferentes raças, em diferentes fases do ciclo estral, submetidas a ovariosalpingohisterectomia (OSH) eletiva provenientes do Projeto de Castração e do atendimento do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia (UFU). A determinação da fase do ciclo estral foi realizada por meio de citologia vaginal. A avaliação da citologia endometrial foi realizada por meio de coleta do material utilizando escova do tipo cytobrush, posteriormente imersa em solução fisiológica sendo o conteúdo levado para cultura em meios ágar sangue, ágar MacConkey, ágar MRS e Caldo BHI. Na análise macroscópica dos úteros não foram identificadas alterações significativas. Por meio da citologia vaginal foi identificado que 40% dos animais se encontravam em fase não folicular e os outros 60% estavam em fase folicular. Já com a citologia endometrial não foram identificadas diferenças na média de células inflamatórias encontradas entre as fases do ciclo estral. Nas culturas bacterianas não foram encontrados microorganismos no lumen uterino, enquanto no canal vaginal foram identificadas diversas bactérias. Dessa forma, não foi encontrado bactérias no lúmen do útero das cadelas do presente estudo, sendo encontrados agentes apenas no canal vaginal, não sendo identificada influência das fases do ciclo estral nos achados encontrados no estudo.

**Palavras-chave:** imunidade uterina, microbiota, caninos.



## ABSTRACT

The estrous cycle of female dogs triggers a series of hormonal and behavioral changes, as well as modifications to the reproductive tract. During the transition from proestrus to estrus, the cervix opens and relaxes, facilitating the migration of microorganisms from the vagina to the uterus. Depending on the animal's immune status, these microorganisms can trigger diseases such as pyometra. The objective of this study was to evaluate the uterine and vaginal environment of healthy female dogs through the following evaluations: macroscopic evaluation of the uterus, vaginal cytology, endometrial cytology, and microbiology of the uterine and vaginal lumens. Ten healthy female dogs of different breeds, in different phases of the estrous cycle, underwent elective ovariohysterectomy (OSH) from the Spaying Project and the Veterinary Hospital of the Federal University of Uberlândia (UFU) were used. The estrous cycle phase was determined using vaginal cytology. Endometrial cytology was performed by collecting material using a cytobrush, which was subsequently immersed in saline solution and then cultured in blood agar, MacConkey agar, MRS agar, and BHI broth. Macroscopic analysis of the uteri revealed no significant changes. Vaginal cytology revealed that 40% of the animals were in the non-follicular phase, while the remaining 60% were in the follicular phase. Endometrial cytology revealed no differences in the mean number of inflammatory cells between the phases of the estrous cycle. Bacterial cultures revealed no microorganisms in the uterine lumen, while several bacteria were identified in the vaginal canal. Therefore, no bacteria were found in the uterine lumen of the bitches in this study, with pathogens found only in the vaginal canal, with no influence of the estrous cycle phases being identified in the findings found in the study.

**Keywords:** uterine immunity, microbiota, canine.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - A. Coleta de amostra para a realização do exame de citologia vaginal. B. Preparo da lâmina com distribuição do material coletado por meio do rolamento do swab. ....	21
Figura 02 – A. Coleta de amostra para a realização do exame de citologia endometrial. B. Preparo da lâmina com distribuição do material coletado por meio do rolamento do swab .....	21
Figura 03 – A. Imagem da incisão longitudinal do corno uterino alcançando o lumen utilizando lâmina de bisturi. B. Coleta de material do lumen uterino utilizando escova do tipo cytobrush.....	22
Figura 04 – A. Imagem da lavagem da escova cytobrush em seringa contendo solução fisiológica. B. Imagem da seringa contendo amostra da citologia em meio líquido do endométrio para análise de cultura microbiológica .....	23
Figura 05 – A. Imagem da introdução de escova do tipo cytobrush no canal vaginal. B. Imagem da seringa contendo amostra da citologia em meio líquido do canal vaginal para análise de cultura microbiológica.....	24
Figura 06 – Imagem dos cornos uterinos e corpo do útero após remoção por OSH, revelando aspecto macroscópico sem alterações B. Imagem da secção do corno uterino mostrando o seu interior revelando a ausência de alterações macroscópicas.....	26
Figura 07 – A. Imagem da citologia vaginal de animal em fase folicular com predominantemente células superficiais (núcleo pequeno e picnótico, pode estar presente ou não, citoplasma abundante e bordas irregulares, seta preta). B. Imagem da citologia vaginal de animal em fase não folicular com predominantemente, células basais (intensamente basofílicas, seta preta), células parabasais, neutrófilos (seta vermelha) e, em menor quantidade, células intermediárias. Coloração Panótico rápido® e aumento de 40x .....	27
Figura 08 – Imagem da citologia endometrial. A. Células do epitélio endometrial (seta). B. Células do epitélio endometrial (seta vermelha) e neutrófilos (seta preta). Coloração Panótico rápido® e aumento de 10x.....	28
Figura 09 – A. Imagem de uma placa com meio ágar sangue, com o crescimento de colônias de bactérias (manchas brancas, seta). B. Imagem do crescimento bacteriano (manchas brancas após repique, seta) em placa com meio ágar sangue .....	29
Figura 10 - Imagem de uma placa com meio MRS, com o crescimento de colônias de bactérias (pontos brancos, seta preta).....	29

## LISTA DE TABELAS

Tabela 01 – Resultados da análise de citologia endometrial dos animais em fase não folicular do ciclo estral. ....	28
Tabela 02 – Resultados da análise de citologia endometrial dos animais em fase folicular do ciclo estral .....	28
Tabela 03 – Bactérias identificadas e sua frequência após cultura da citologia em meio líquido do canalvaginal submetido em ágar sangue, MRS em condições de aerobiose e microaerofilia. ....	30
Tabela 04 – Bactérias identificadas e sua frequência após cultura da citologia em meio líquido do canal vaginal de cadelas em fase não folicular; submetido em ágar sangue, MRS em condições de aerobiose e microaerofilia. ....	30
Tabela 05 – Bactérias identificadas e sua frequência após cultura da citologia em meio líquido do canal vaginal de cadelas em fase folicular; submetido em ágar sangue, MRS em condições de aerobiose e microaerofilia .....	31

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	<b>9</b>
<b>2. OBJETIVOS</b>	<b>11</b>
<b>2.1. GERAL</b>	<b>11</b>
<b>2.2. ESPECÍFICOS</b>	<b>11</b>
<b>3. REVISÃO DE LITERATURA</b>	<b>12</b>
<b>3.1 Fisiologia reprodutiva das cadelas</b>	<b>12</b>
<b>3.2 O Ciclo Estral nas Cadelas</b>	<b>13</b>
<b>3.2.1 Proestro</b>	<b>13</b>
<b>3.2.2 Estro</b>	<b>13</b>
<b>3.2.3 Diestro</b>	<b>13</b>
<b>3.2.4 Anestro</b>	<b>14</b>
<b>3.3 Microbiologia do útero</b>	<b>14</b>
<b>3.3.1 Microbiota Habitual</b>	<b>14</b>
<b>3.4 Citologia Vaginal</b>	<b>15</b>
<b>3.5 Citologia Endometrial</b>	<b>16</b>
<b>3.6 Citologia em meio líquido do canal vaginal</b>	<b>17</b>
<b>3.7 Citologia em meio líquido do endométrio</b>	<b>17</b>
<b>3.8 Afecções inflamatórias uterina e vaginais de cadelas</b>	<b>18</b>
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>20</b>
<b>4.1. Animais</b>	<b>20</b>
<b>4.2. Análise macroscópica dos cornos uterinos</b>	<b>20</b>
<b>4.3. Citologia vaginal</b>	<b>20</b>
<b>4.4. Citologia endometrial</b>	<b>22</b>
<b>4.5. Citologia em meio líquido do endométrio e Cultura microbiológica</b>	<b>23</b>
<b>5. ANÁLISE ESTATÍSTICA</b>	<b>25</b>
<b>6. RESULTADOS</b>	<b>26</b>
<b>7. DISCUSSÃO</b>	<b>32</b>
<b>8. CONCLUSÃO</b>	<b>36</b>



## 1. INTRODUÇÃO

O sistema reprodutivo feminino apresenta mecanismos imunológicos para protegê-lo contra patógenos invasores. A resposta imunológica do útero é fornecida por células imunes do endométrio e por células endometriais do estroma e epitélio (Sheldon et al., 2009). O sistema de defesa uterina deve ser bem específico, pois ao mesmo tempo em que responde a estímulos patogênicos deve propiciar ambiente adequado à reprodução (Bartoskova et al., 2012; Chapwanya et al., 2013). Os hormônios sexuais modificam o microambiente uterino por promover o influxo e a localização de células de defesa no endométrio (Chotimanukul; Sirivaidyapong, 2011). A presença da imunidade uterina local e seu mecanismo de resposta, desempenham um papel importante no desenvolvimento da piometra. As doenças do sistema reprodutor de cães são frequentes na rotina de clínicas e hospitais veterinários. As patologias que acometem o sistema reprodutor das cadelas podem apresentar diferentes graus de morbidade e mortalidade e são influenciadas conforme o histórico reprodutivo, tratamentos farmacológicos e condições ambientais (Goldoni, 2017).

Pouco se conhece sobre as células imunes no útero canino, diferentemente das outras espécies como bovinos, suínos e equinos (Bartoskova et al., 2012). O estudo realizado por Watts, Wrigth e Lee (1998) em cães trouxe uma visão geral sobre as variações na citologia endometrial de cadelas com úteros normais durante as fases do ciclo estral, enquanto Groppetti et al. (2010) abordaram em condições patológicas, como a piometra. Esta é dentre as patologias reprodutivas das fêmeas a mais comum e se desenvolve devido a alterações hormonais e frequentemente é associada a infecções bacterianas (Silva et al., 2013). O estudo do ambiente uterino tem sido realizado por meio de diferentes técnicas, buscando identificar, quantificar e qualificar a celularidade normal e patológica do endométrio para melhor compreensão dos mecanismos de defesa do sistema reprodutivo.

Há na literatura relatos de que a vagina abriga uma microbiota bacteriana, e existem divergências quanto a população bacteriana uterina, alguns autores afirmam que o útero é estéril, no entanto esse conhecimento vem sendo dismistificado e contrariado com novos estudos (Holyoak et al., 2019).

Diante desse contexto, torna-se essencial a caracterização dos microrganismos presentes na vagina e no útero das cadelas, uma vez que o equilíbrio da microbiota reprodutiva pode atuar tanto como fator protetor quanto predisponente a processos infecciosos. A identificação dos patógenos nesses compartimentos não apenas contribui para o esclarecimento da fisiologia local e das interações com a imunidade uterina, mas também permite compreender

com maior profundidade a origem e o desenvolvimento das principais afecções reprodutivas, como a piometra e outras infecções ascendentes. Dessa forma, o estudo da microbiota genital canina representa uma ferramenta fundamental para a prevenção, diagnóstico e manejo adequado das patologias que comprometem a saúde reprodutiva das fêmeas.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. GERAL**

O objetivo geral deste estudo foi estudar a microbiota e a citologia do ambiente uterino e vaginal de cadelas híginas e correlacionar com as fases do ciclo estral.

### **2.2. ESPECÍFICOS**

- Avaliar se há correlação do ciclo estral na interpretação da citologia endometrial;
- Identificar bactérias presentes no útero e vagina por meio de crescimento em ágar Sangue, ágar MacConkey, ágar MRS e Caldo BHI;
- Relacionar resultados da microbiologia do lumen uterino e vaginal com citologia endometrial, e resultados dos diferentes meios de cultura com as fases do ciclo estral reveladas pela citologia vaginal.



### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Fisiologia reprodutiva das cadelas

As fêmeas quando entram em seus ciclos reprodutivos, precisam passar por um estágio conhecido como Puberdade, uma palavra empregada para descrever o começo da capacidade reprodutiva, especificamente o momento da primeira ovulação. Esse momento começa por volta de 6 a 12 meses nas cadelas (Cunningham, 2004).

A regulação do ciclo estral acontece por mecanismos endócrinos e neuroendócrinos que são os hormônios hipotalâmicos, as gonadotrofinas produzidas pela adenohipófise e os esteróides secretados pelos ovários. A secreção das gonadotrofinas durante o ciclo estral exige um controle delicado na estabilidade entre as complexas interações hormonais. Núcleos hipotalâmicos secretam o hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), por meio de um sistema circulatório especial, chamado sistema porta hipotalâmico-hipofisário, estimulam a adeno-hipófise a secretar o hormônio luteinizante (LH) e o hormônio folículo-estimulante (FSH), que na corrente circulatória chega até os ovários estimulando o crescimento folicular e consequentemente iniciando a produção de estrógeno, já o LH estimula a luteinização do folículo e em seguida a sua ovulação, ovócitos não fecundados vão formar corpos lúteos que vão iniciar a síntese de progesterona. Estes dois últimos desempenham ações, através de mecanismos de feedback positivo ou negativo, diretamente na hipófise ou no hipotálamo, tornando possível a continuidade dos eventos cíclicos que caracterizam o ciclo estral (Mc'donald, 1989).

Na cadela, o ciclo estral é segmentado em quatro estágios, os quais são discernidos por alterações comportamentais e hormonais, sendo estes: Proestro, Estro, Diestro e Anestro. Além disso, com base na função ovariana pode ser separado em: fase folicular, fase da luteinização pré-ovulatória e ovulação, fase luteínica e anestro (Schaefer-Okkens, 2004).

Ao longo de todo o ciclo estral, cada fase é caracterizada por diferentes concentrações e funções hormonais. Durante todo o anestro, ocorrem picos esporádicos de secreção do hormônio luteinizante (LH) e variações na secreção do hormônio folículo-estimulante (FSH) liberados pela hipófise, frequentemente semelhantes em relevância ao pico periovulatório. Desde o começo do anestro, há um aumento na secreção de FSH, não acompanhado pela secreção de LH, até o fim do anestro. O LH transcorre com uma gradação na frequência e amplitude de seus pulsos. As mudanças na pulsatividade de FSH e LH está relacionado com o final do anestro, bem como da maior probabilidade de resposta ovariana às gonadotrofinas (Reece, 1996).

A despeito das causas iniciantes, durante o proestro os folículos ovarianos se desenvolvem, amadurecem e liberam 17- $\beta$ -estradiol. A redução na concentração sérica de estradiol e o aumento na concentração de progesterona no término do proestro são encarregados pelo

começo da mudança comportamental relacionada ao início do estro e pela indução do pico pré-ovulatório na secreção de FSH e LH. O LH e a prolactina hipofisários controla a secreção de progesterona pelo corpo lúteo. Após o pico de LH e a ovulação, eleva aceleradamente a concentração sérica de progesterona no decorrer das duas primeiras semanas (Johnson, 2006).

### **3.1 O Ciclo Estral nas Cadelas**

#### **3.1.1 Proestro**

A durabilidade do proestro é em torno de 9 dias, podendo variar entre 3 a 17 dias. Ao longo desse tempo, a fêmea manifesta a vulva edemaciada e hipertrofiada, a cérvice dilatada, o endométrio espessado, acréscimo na atividade glandular e um escoamento vaginal hemorrágica, provocada pela diapedese eritrocitária por meio do endométrio e ruptura capilar subepitelial. De acordo com seu comportamento a fêmea demonstra atração pelo macho, porém sem permitir a cópula (Feldman; Nelson, 1996).

#### **3.1.2 Estro**

O estro é o período de cruzamento, sua duração é de 9 dias, com oscilação de 3 a 21 dias. Ao longo do estro, a vulva vai diminuindo e fica macia. O corrimento vaginal reduz, porém, na maioria das vezes continua podendo permanecer serosanguinolento ou adquirir coloração amarelo-palha (Schaefer-Okkens, 2004).

Quando a concentração de estrógeno circulante reduz e a progesterona sérica aumenta, a fêmea começa a apresentar os sinais do estro. Isso ocorre devido à luteinização das células da granulosa dos folículos maduros, que começam a secretar progesterona, acompanhando no sangue o aumento da sua concentração. Quanto ao comportamento da cadela em relação ao macho, ela leva a região posterior em direção ao animal, abaixa o dorso e eleva a região pélvica, exibindo a região perineal e ondulando a cauda para um dos lados (Oliveira; Marques; Neves, 2003).

#### **3.1.3 Diestro**

O diestro é determinado como espaço de tempo entre o fim do estro até o momento em que a progesterona é secretada pelo corpo lúteo. Geralmente, o período médio leva de 56 a 58 dias. Durante esse período, a vulva involui e retornando ao seu tamanho de origem. (Musolino; Ghirelli; Moreno, 2000).

#### **3.1.4 Anestro**

O anestro é a fase de involução e reparo uterino, que acontece do termino da fase lútea até o começo da fase folicular subsequente. Clinicamente, não existem modificações distintas que diferenciam o final do diestro e o começo do anestro em fêmeas que não engravidaram. O anestro em fêmeas prenhes dura em torno de 4,5 meses, iniciando-se após o parto e se estendendo até perto do proestro (Rodrigues; Rodrigues, 2002).

pré-ovulatório na secreção de FSH e LH. O LH e a prolactina hipofisários controla a secreção de progesterona pelo corpo lúteo. Após o pico de LH e a ovulação, eleva aceleradamente a concentração sérica de progesterona no decorrer das duas primeiras semanas (Johnson, 2006).

### **3.2 Microbiologia do útero**

#### **3.2.1 Microbiota Habitual**

A presença de uma microbiota bacteriana habitante no útero ainda permanece ainda em discussão entre pesquisadores, não sendo encontrado um consenso sobre a caracterização da população do ambiente uterino.(Lyman et al., 2019). Estudos não apresentam consenso quanto à sua ocorrência, frequência e estágios do ciclo reprodutivo mais propensos à presença de bactérias. É reconhecido que a fase do ciclo estral e a permeabilidade cervical desempenham um papel importante no desenvolvimento dessas bactérias no útero de cadelas clinicamente saudáveis (Maksimovic et al., 2012).

As primeiras pesquisas realizadas para isolar e identificar bactérias presentes no útero de cadelas sem uteropatias foi conduzida por Olson e Mather em 1978. Esses autores propuseram que o útero de cadelas híginas geralmente não contém bactérias aeróbicas. No entanto, estudos realizados por Schultheiss et al., 1999 e por Maksimovic et al., 2012, chegaram à conclusão de que bactérias podem ser isoladas no órgão durante todas as fases do ciclo estral, tornando-se mais prevalentes durante o diestro, e que essas bactérias não correspondem à microbiota vaginal habitual.

No estudo conduzido por Baba, Furkata e Arakawa (1983), ao analisarem 78 amostras do útero, descobriram que 48 delas exibiam isolamento de microorganismos, incluindo estafilococos e micoplasma. Ademais, notaram características em comum entre as microbiotas do útero e da vagina, já que algumas amostras continham um único isolado identificado, o qual raramente resultava em infecções uterinas.

Watts, Wright e Whithear (1986) propuseram que o útero abriga uma população bacteriana durante os períodos de proestro e estro. Isso se deve ao fato de que a maioria das bactérias foi isolada nesta fase, e elas são parecidas às encontradas na vagina. .

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1. Animais

Para este estudo foram selecionadas 10 cadelas (*Canis familiaris* - Linnaeus 1758) híginas, de diferentes raças; submetidas a ovariosalpingohisterectomia (OSH) eletiva. Os animais utilizados foram provenientes do Projeto de Castração aprovado por meio de processo n. 23117.009741/2023-49 (UFU) submetido e aprovado pelo Comitê de Ética na Utilização de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Uberlândia (UFU).

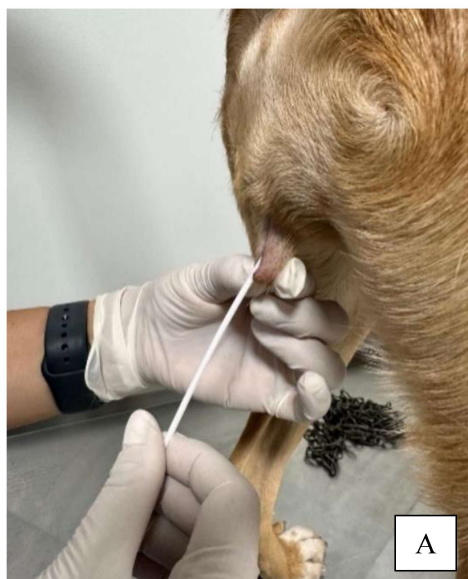
### 4.2. Análise macroscópica dos cornos uterinos

A análise macroscópica dos cornos uterinos provenientes das fêmeas híginas foi realizada imediatamente após ovariosalpingohisterectomia (OSH), sendo realizada tanto externamente quanto internamente após secção longitudinal dos cornos até o lumen uterino, sendo observadas macroscopicamente quanto a presença de alterações inflamatórias (hiperemia, exudato purulento, espessamento de parede) e presença de cistos na superfície endometrial.

### 4.3. Citologia vaginal

As amostras de material vaginal foram obtidas utilizando-se swab estéril quando o animal se encontrava em plano anestésico em decúbito lateral ou com o animal acordado em estação, sendo o swab introduzido pela comissura dorsal da vagina em um ângulo de 45°(Figura 01); sendo o swab rotacionado objetivando atingir as paredes laterais da vagina, como em técnica relatada por (Costa et al., 2025). Em seguida, se realizou o processo de fixação (imprint) por meio do rolamento do swab com células do epitélio vaginal presente em lâmina de vidro, sendo posteriormente coradas com panótipo rápido, seguindo as recomendações de Grandi & Vannucchi (2014). Após este procedimento as lâminas foram lavadas pequeno sob jato de água corrente, e submetidas ao processo de secagem em posição vertical em temperatura ambiente. O material foi examinado em microscópio óptico (40x) para identificação de células parabasais, basais, intermediárias e superficiais (anucleadas ou nucleadas), para a identificação da fase do ciclo estral de acordo com Post (1985). Para maior acurácia os resultados foram agrupados em fase folicular (animais em proestro ou estro com maioria de células superficiais), e fase não folicular (animais em diestro ou anestro, com maioria de células basais e parabasais).

Figura 01 – A. Coleta de amostra para a realização do exame de citologia vaginal. B. Preparo da lâmina com distribuição do material coletado por meio do rolamento do swab.



Fonte: Autoral

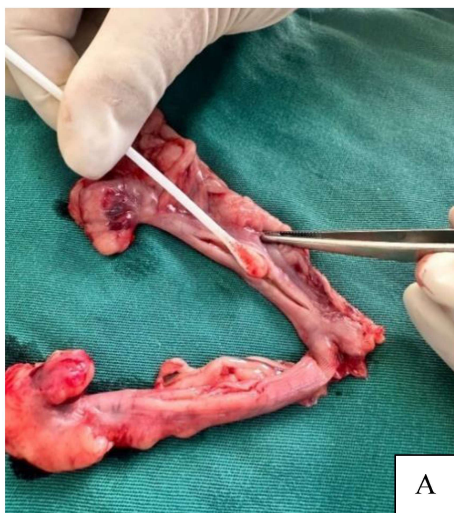


Fonte: Autoral

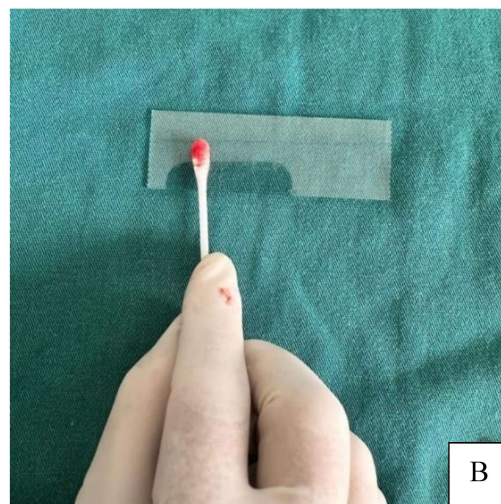
#### 4.4. Citologia endometrial

O estudo citológico para avaliação da citologia endometrial foi realizado nos cornos uterinos por meio de swab estéril rolado sob leve pressão sobre a superfície endometrial (Figura 02), e em seguida rolado sobre duas lâminas de vidro por animal. As lâminas foram coradas utilizando coloração do tipo panótico de acordo com Silva et al. (2015). A leitura das lâminas foi realizada em microscópio óptico de luz, com magnificação de 40 vezes. Cada leitura compreendeu por contagens de 100 células (incluindo células superficiais endometriais e neutrófilos) conforme Krimer e Miller (2021). Após as aferições foi determinado os valores de cada tipo de célula analisada.

Figura 02 – A. Coleta de amostra para a realização do exame de citologia endometrial. B. Preparo da lâmina com distribuição do material coletado por meio do rolamento do swab.



Fonte: Autoral



Fonte: Autoral

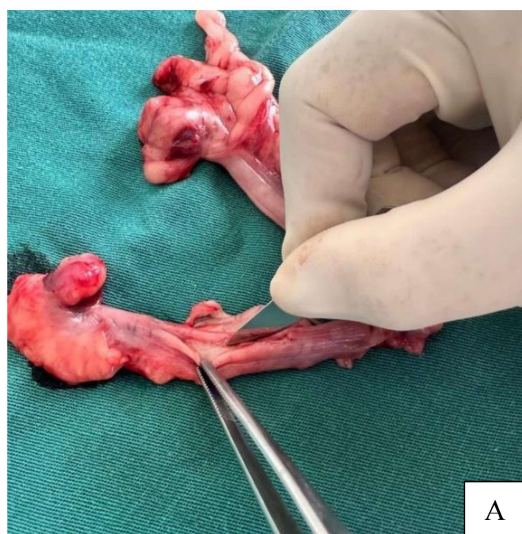


#### 4.5. Citologia em meio líquido do endométrio e Cultura microbiológica

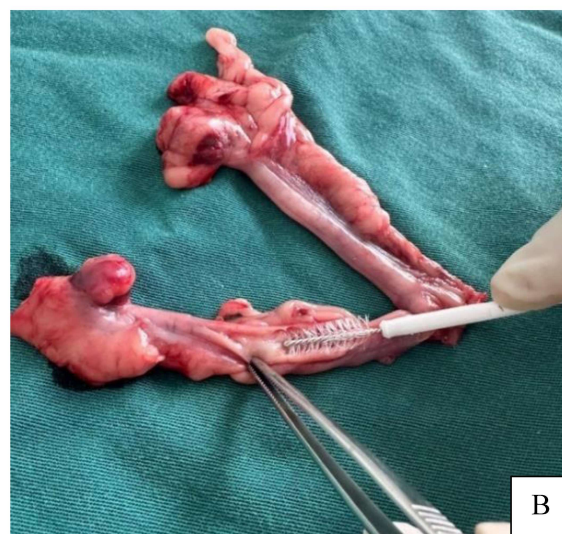
Para a análise da microbiologia endometrial foram coletadas amostras dos cornos uterinos por meio da rolagem de escova ginecológica do tipo “cytobrush” no endométrio (Figura 3). Em seguida a escova foi mergulhada no interior de uma seringa de 3 mL contendo 2 mL de solução fisiológica 0,9% em temperatura ambiente (Figura 4), sendo o conteúdo levado ao laboratório de Doenças Infectocontagiosas UFU, acondicionado em caixa térmica com gelo em temperatura de 4 °C, para cultura microbiológica.

Ato contínuo, a amostra foi dividida nos meio de ágar sangue, ágar MacKonkey, ágar MRS (de Man Rogosa & Sharpe), e caldo BHI (Brain Heart Infusion), para a verificação de crescimento bacteriano nos seus devidos intervalos de tempo de acordo com cada meio (Vinhas, 2019). Nos casos em que não teve crescimento bacteriano em nenhum tipo de ágar, mas que teve o turvamento do caldo BHI, foi feito um repique da amostra do caldo BHI nos ágar para posterior análise do crescimento de colônias bacterianas .

Figura 03 – A. Imagem da incisão longitudinal do corno uterino alcançando o lumen utilizando lâmina de bisturi. B. Coleta de material do lumen uterino utilizando escova do tipo cytobrush.



Fonte: Autoral



Fonte: Autoral

Figura 04 – A. Imagem da lavagem da escova cytobrush em seringa contendo solução fisiológica. B. Imagem da seringa contendo amostra da citologia em meio líquido do endométrio para análise de cultura microbiológica.



Fonte: Autoral



Fonte: Autoral

#### 4.6. Citologia em meio líquido do canal vaginal e Cultura microbiológica

Para a análise da microbiologia vaginal foram colhidas amostras do canal vaginal por meio da rolagem de escova ginecológica cytobrush na mucosa da parede do lumen vaginal (Figura 5 - A).

Em seguida a escova foi mergulhada no interior de uma seringa de 3 mL contendo 2 mL de solução fisiológica 0,9% (Figura 5 - B), sendo o conteúdo levado ao laboratório de Doenças Infectocontagiosas UFU, acondicionada em caixa térmica com gelo em temperatura de 4 °C, para cultura microbiológica.

Ato contínuo, a amostra foi dividida nos meio de ágar sangue, ágar MacKonkey, ágar MRS (de Man Rogosa & Sharpe), e caldo BHI (Brain Heart Infusion), para a verificação de crescimento bacteriano nos seus devidos intervalos de tempo de acordo com cada meio (Vinhas, 2019).

Nos casos de ausência de crescimento bacteriano em todos os tipos de ágares, mas com presença de turvamento do caldo BHI, foi feito uma nova semeadura da amostra do caldo BHI nos ágares (Sangue, MRS, MacKonkey) para posteriormente verificação da ocorrência e identificação; ou ausencia do crescimento de colônias bacterianas submetidas em condições de aerobiose e microaerofilia.

Figura 05 – A. Imagem da introdução de escova do tipo cytobrush no canal vaginal. B. Imagem da seringa contendo amostra da citologia em meio líquido do canal vaginal para análise de cultura microbiológica.



Fonte: Autoral



Fonte: Autoral



## 5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

As análises dos dados obtidos neste estudo foram avaliadas na forma qualitativa, e de acordo com a identificação da microbiota uterina e vaginal das cadelas com o objetivo de identificar a diversidade de microrganismos presentes e avaliar possíveis padrões associados ao estado fisiológico do trato reprodutivo. A descrição dos resultados foi conduzida de forma comparativa, considerando a frequência relativa de ocorrência e a relevância clínica das espécies detectadas, possibilitando uma interpretação do equilíbrio entre microbiota residente e oportunista no ambiente vaginal.

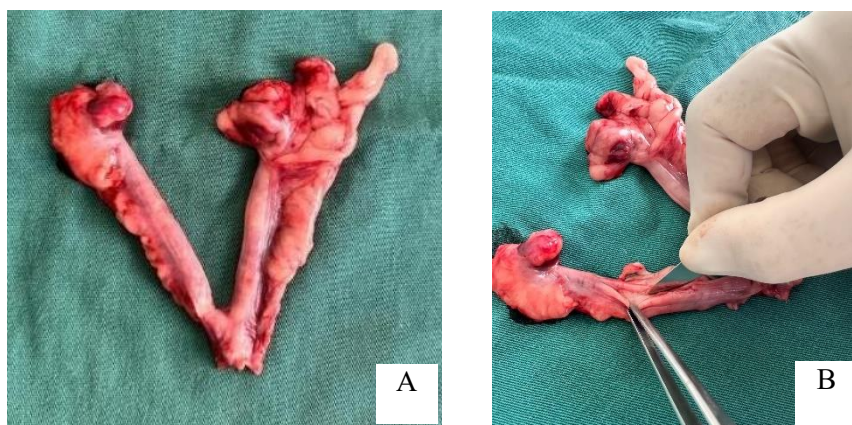
A análise do número de leucócitos na citologia foi realizada por meio do teste *t*, adotando-se nível de significância de  $p < 0,05$ , utilizando o software GraphPad Prism versão 10.5.0. Os resultados indicaram ausência de diferença significativa entre o número de leucócitos em cadelas nas fases foliculares e não foliculares ( $p = 0,89$ ).

## 6. RESULTADOS

### 6.1. Avaliação macroscópica dos cornos uterinos

De acordo com a análise macroscópica dos cornos uterinos coletados, não foi encontrada nenhuma alteração, também não foi verificada a presença de alterações inflamatórias tais como: hiperemia, exudato purulento, espessamento de parede e presença de cistos na superfície endometrial.

Figura 06 – A. Imagem dos cornos uterinos e corpo do útero após remoção por OSH. B. Imagem da secção do corno uterino mostrando o seu interior revelando a ausência de alterações macroscópicas..

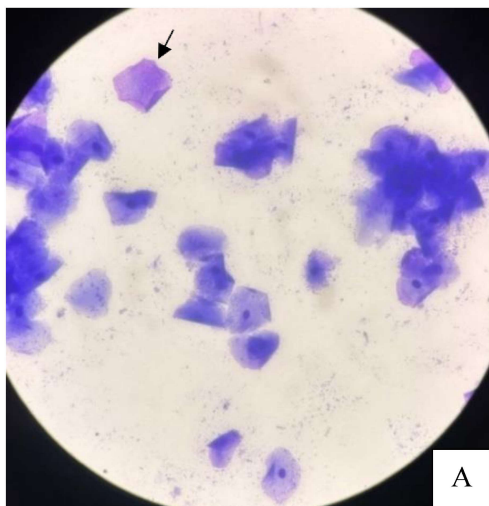


Fonte: Autoral

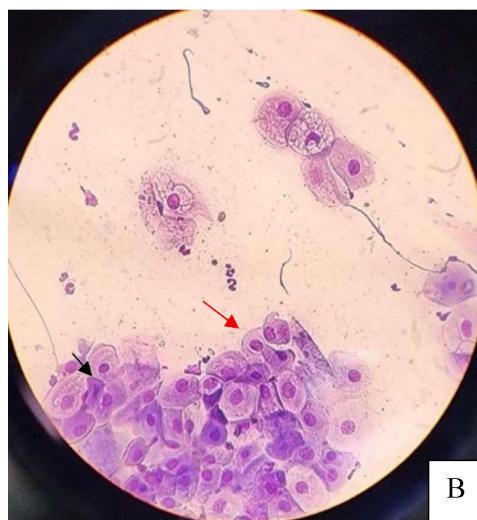
### 6.2. Citologia Vaginal

A análise de citologia vaginal revelou que 60% dos animais se encontravam em proestro ou estro (fase folicular), com a maioria das células presentes na lâmina do tipo superficiais (Figura 07 - A); e 40% estavam em diestro ou anestro com a maioria das células presentes na lâmina do tipo parabasais e basais (fase não folicular) (Figura 07- B).

Figura 07 – A. Imagem da citologia vaginal de animal em fase folicular com predominância de células superficiais (núcleo pequeno e picnótico, pode estar presente ou não, citoplasma abundante e bordas irregulares, seta preta). B. Imagem da citologia vaginal de animal em fase não folicular com predominantemente, células basais (intensamente basofílicas, seta preta), células parabasais, neutrófilos (seta vermelha) e, em menor quantidade, células intermediárias. Coloração Panótico rápido® e aumento de 40x.



Fonte: Autoral

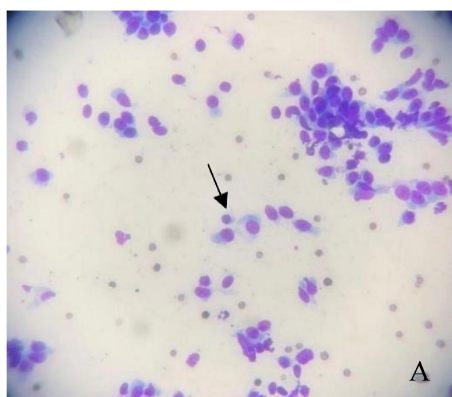


Fonte: Autoral

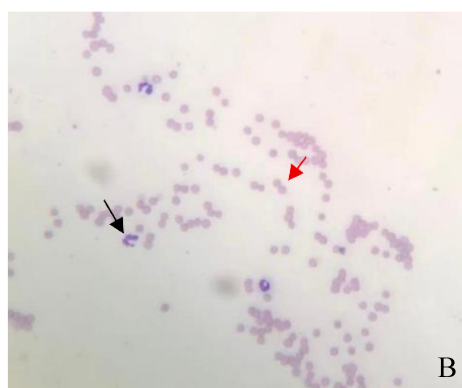
### 6.3. Citologia Endometrial

Para o estudo da citologia endometrial, foi realizada a contagem de 100 células por lâmina, sendo contadas além das células endometriais, células inflamatórias (Figura 08). Foram encontrados neutrófilos, eosinófilos e monócitos durante a análise. Nas cadelas que se encontravam na fase folicular, foi observado 2,6% de leucócitos em 100 células, já nas cadelas que se encontravam na fase não folicular foi verificado 2,5% de leucócitos em 100 células. Os resultados encontrados estão descritos nas tabelas 01 e 02.

Figura 08 – Imagem da citologia endometrial. A. Células do epitélio endometrial (seta). B. Células do epitélio endometrial (seta vermelha) e neutrófilos (seta preta). Coloração Panótico rápido® e aumento de 10x.



Fonte: Autoral



Fonte: Autoral

**Tabela 01 – Resultados da análise de citologia endometrial dos animais em fase não folicular do ciclo estral.**

<b>Diestro/anestro</b>	<b>(40% dos animais)</b>
Animal 01	5 leucócitos
Animal 02	3 leucocitos
Animal 05	0 leucocitos
Animal 08	2 leucocitos
<b>Média:</b>	<b>2,5% de células inflamatórias</b>

Fonte: Autoral

**Tabela 02 – Resultados da análise de citologia endometrial dos animais em fase folicular do ciclo estral.**

<b>Estro</b>	<b>(60% dos animais)</b>
Animal 03	5 leucócitos
Animal 04	1 leucócito
Animal 06	2 leucócitos
Animal 07	1 leucócito
Animal 09	4 leucócitos
Animal 10	3 leucócitos
<b>Média:</b>	<b>2,6% de células inflamatórias</b>

Fonte: Autoral

#### **6.4. Resultado da cultura microbiológica da citologia em meio líquido do endométrio**

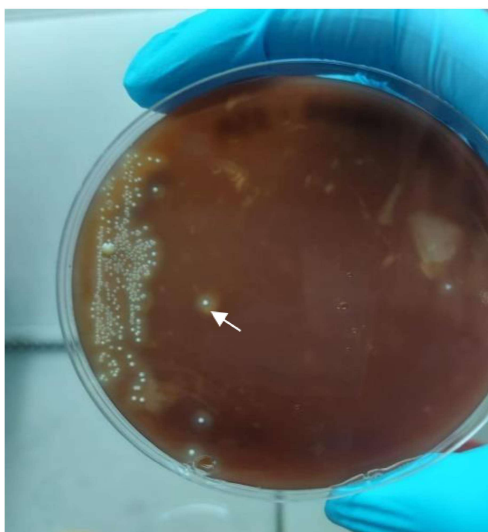
De acordo com os resultados obtidos da cultura dos lavados uterinos, verificou-se que não houve crescimento bacteriano em nenhuma amostra, em nenhum dos meios utilizados tanto em condição de aerobiose quanto em microaerofilia.

#### **6.5. Resultado da cultura microbiológica da citologia em meio líquido do canal vaginal**

Por meio do lavado vaginal foi possível realizar a análise da cultura microbiológica bem como o isolamento bacteriano nos meios de cultura, tanto em condições de aerobiose,

quanto na microaerofilia (Figuras 9 e 10). Foram identificadas algumas bactérias sendo que a *Staphylococcus pseudintermedius* foi encontrada com maior recorrência tanto em aerobiose quanto em microaerofilia. Sob a condição de aerobiose foi isolado um unico microorganismo que não foi encontrado na microaerofilia, sendo a *Buchananella hordeovulneris* (destacado em negrito), já na microaerofilia foram isoladas duas bactérias que não foram encontrados na aerobiose, sendo a *Staphylococcus chromogenes* e a *Staphylococcus schleiferi* (destacados em negrito). Os resultados encontrados estão descritos na tabela 03.

Figura 09 – A. Imagem de uma placa com meio ágar sangue, com o crescimento de colonias de bactérias (manchas brancas, seta branca). B. Imagem do crescimento bacteriano (manchas brancas após repique, seta branca) em placa com meio ágar sangue.



Fonte: Autoral



Fonte: Autoral

Figura 10: Imagem de uma placa com meio MRS, com o crescimento de colônias de bactérias (pontos brancos, seta preta).



Fonte: Autoral

**Tabela 03 – Bactérias identificadas e sua frequência após cultura da citologia em meio líquido do canal vaginal submetido em ágar sangue, MRS em condições de aerobiose e microaerofilia.**

AEROBIOSE			MICROAEROFILIA		
	Á. Sangue	Á. MRS		Á. Sangue	Á. MRS
<b>BACTÉRIAS</b>					
<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	3	1	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	4	2
<i>Streptococcus canis</i>	2	1	<i>Streptococcus canis</i>	1	1
<i>Schaalia canis</i>	2		<i>Citrobacter koseri</i>	1	
<i>Citrobacter koseri</i>	1		<i>Malassezia pachydermatis</i>	1	
<i>Staphylococcus cohnii</i>	1		<i>Corynebacterium sp</i>		1
<i>Streptococcus lutetiensis</i>	1		<i>Frederiksenia canicola</i>	1	
<i>Malassezia pachydermatis</i>	1		<b><i>Staphylococcus chromogenes</i></b>	1	
<i>Corynebacterium sp</i>	1		<b><i>Staphylococcus schleiferi</i></b>	1	
<i>Frederiksenia canicola</i>	1				1
<b><i>Buchananella hordeovulneris</i></b>	1				

Fonte: Autoral

Agrupando as cadelas que estavam na fase não folicular, sendo diestro e anestro, foi possível indentificar quais bactérias foram isoladas nos meios ágar Sangue e MRS em aerobiose e microaerofilia. Encontramos uma série de microorganismos em comum tanto na aerobiose quanto na microaerofilia. Na aerobiose foi encontrada uma bactéria que não foi identificado na microaerofilia que foi a *Staphylococcus cohnii* (destacado em negrito), já na microaerofilia foi identificado dois microorganismos que não foram isolados na aerobiose que foram a *Staphylococcus chromogenes* e *Staphylococcus schleiferi* (destacado em negrito). Das bactérias encontradas, a *Staphylococcus pseudintermedius* foi a encontrada com maior recorrência, tanto em aerobiose, quanto em microaerofilia. Os resultados encontrados estão descritos na tabela 04.

**Tabela 04 – Bactérias identificadas e sua frequência após cultura da citologia em meio líquido do canal vaginal de cadelas em fase não folicular; submetido em ágar sangue, MRS em condições de aerobiose e microaerofilia.**

AEROBIOSE			MICROAEROFILIA		
	Ágar Sangue	Ágar MRS		Ágar Sangue	Ágar MRS
<b>BACTÉRIAS</b>					
<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	2		<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	3	
<i>Streptococcus canis</i>	1	1	<i>Streptococcus canis</i>	1	1
<i>Citrobacter koseri</i>	1		<i>Citrobacter koseri</i>	1	
<i>Corynebacterium sp</i>	1		<i>Corynebacterium sp</i>	1	
<b><i>Staphylococcus cohnii</i></b>	1		<b><i>Staphylococcus chromogenes</i></b>	1	
			<b><i>Staphylococcus schleiferi</i></b>	1	

Fonte: Autoral

Agrupando as cadelas que estavam na fase folicular, foi possível indentificar quais bactérias foram isoladas nos meios ágar em aerobiose e microaerofilia. Encontramos uma série de bactérias em comum tanto na aerobiose quanto na microaerofilia. Foi possível identificar na aerobiose três que não foram identificados na microaerofilia, sendo, *Streptococcus canis*, *Streptococcus lutetiensis* e *Buchananella hordeovulneris*. Na fase folicular em aerobiose a bactéria mais recorrente foi a *Schaalia canis* e na microaerofilia a bactéria mais recorrente foi a *Staphylococcus pseudintermedius*. Os resultados estão descritos na tabela 05.

**Tabela 05 – Bactérias identificadas e sua frequência após cultura da citologia em meio líquido do canal vaginal de cadelas em fase folicular; submetido em ágar sangue, MRS em condições de aerobiose e microaerofilia.**

<b>AEROBIOSE (FOLICULAR)</b>			<b>MICROAEROFILIA (FOLICULAR)</b>		
	<b>Ágar Sangue</b>	<b>Ágar MRS</b>		<b>Ágar Sangue</b>	<b>Ágar MRS</b>
<b>BACTÉRIAS</b>					
<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	1		<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	1	2
<i>Schaalia canis</i>	2		<i>Schaalia canis</i>		1
<i>Frederiksenia canicola</i>	1		<i>Frederiksenia canicola</i>		1
<i>Malassezia pachydermatis</i>	1		<i>Malassezia pachydermatis</i>		1
<i>Streptococcus canis</i>	1				
<i>Streptococcus lutetiensis</i>	1				
<i>Buchananella hordeovulneris</i>	1				

Fonte: Autoral

## 7. DISCUSSÃO

A análise macroscópica dos úteros não revelou nenhuma alteração, não apresentando hiperemia, presença de muco, espessamento da parede uterina ou cistos endometriais. Acredita-se que essa ausência de alterações, seja devido ao fato de todos os animais incluídos no estudo estarem hígidos e sem nenhuma comorbidade. Além disso, a fase do ciclo estral parece não ter influenciado para a manifestação destas alterações, uma vez que foi possível identificar que 40% dos animais se encontravam em fase não folicular, e o restante dos animais estavam em fase folicular. Portanto, as alterações hormonais parecem não influenciar nos aspectos macroscópicos do útero. Entretanto de acordo com Nogueira et al., (2016), durante o estro os altos níveis de estrógeno podem acarretar o aumento da vascularização uterina e consequentemente hiperemia, fato este que não foi verificado nos animais do estudo provavelmente pelo útero não ter sofrido alterações o suficiente que fossem notáveis até o momento em que foi coletado.

A cultura microbiológica do esfregaço uterino não revelou crescimento bacteriano em todas as amostras. O cuidado na utilização de material asséptico provavelmente impediu a contaminação secundária, favorecendo que não fosse encontrado bactérias no ambiente uterino das cadelas selecionadas no presente estudo.

De acordo com Watts et al. (1996) bactérias são frequentemente encontradas no útero de cadelas, principalmente nas fases de proestro e estro que transformam o útero em um ambiente irrigado e associada a abertura da cérvix torna o ambiente propício para crescimento bacteriano (Schultheiss et al., 1999). Segundo Bukowska et al., (2020), descreveu que 51,1% das culturas de microbiologia uterina realizadas não apresentaram crescimento bacteriano, sendo em sua maior parte de cadelas em anestro, já nas cadelas em proestro e estro foram encontrados alguns microorganismos, como, *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Micrococcus* spp. e *Bacillus* spp.

Diante do estudo de Mogheiseh et al., (2020), foi relatado que 19 amostras do lúmen uterino foram coletadas e submetidas a cultura em meios de cultura tradicionais, no entanto apenas 7 delas tiveram crescimento bacteriano, logo apenas 36,8% de crescimento bacteriano no endométrio, associada também com resultados da citologia endometrial que foi negativa para a presença de neutrófilos. Ao analisar os dados encontrados na literatura, fica evidente que não há consenso entre os resultados obtidos sobre a microbiota uterina. Porém é notável que estudos mais antigos relatam que o ambiente uterino possui uma grande e diversa microbiota bacteriana residente, o que diverge de hipóteses de estudos atuais que passaram a encontrar menores populações bacterianas no interior do útero, uma hipótese seria a ocorrência de falhas na técnica de preparação das culturas apresentadas pelos estudos. De acordo com Watts et al., (1996), foram realizadas canulações transcervicais para obtenção do lavado endometrial, sendo que no momento da passagem da cânula pode haver a disseminação de bactérias do canal vaginal para o interior do lúmen uterino, assim alterando os resultados e levando a observação



de maior quantidade de patógenos encontrados dentro do útero.

No presente estudo, as amostras foram manipuladas utilizando materiais e técnicas assépticas a fim de se evitar contaminação das amostras, além disso foi realizada uma incisão longitudinal nos cornos uterinos e posteriormente a passagem de escova cytobrush estéril no lúmen para coleta de amostra destinada à cultura. Dessa forma fica evidente que diferenças nas técnicas de preparo dessas amostras podem alterar os resultados das culturas microbiológicas.

Durante o preparo das amostras das citologias em meio líquido, aptou-se por utilizar a escova cytobrush por apresentar na leitura das lâminas maior quantidade de celularidade e com baixo grau de distorção da morfologia celular, esse fato justifica-se pela presença das cerdas rígidas rasparem o endométrio em maior profundidade, colhendo uma maior quantidade de células e microorganismos (Martin-hirsch et al., 2007).

A citologia endometrial em cadelas sem patologias reprodutivas e sem isolamento bacteriano durante o proestro indicou uma média de 0,64% de neutrófilos e 0,07% de eosinófilos, já no estro foi identificado 1,76% de neutrófilos e 0,83% de eosinófilos (Silva et al., 2013). Dessa forma pode-se inferir que fisiologicamente encontramos uma quantidade de células inflamatórias no endométrio do útero, mesmo na ausência de patologias reprodutivas.

Resultados diferentes foram verificados após a cultura da citologia em meio líquido do canal vaginal onde foi possível observar uma diversidade de microorganismos. Segundo Leps et al., (2024), a busca pela caracterização da microbiota vaginal até hoje pode ser obtida por meio de cultura de swabs vaginais, além de novas técnicas para identificação das bactérias, sendo uma delas o sequenciamento de DNA, no entanto é preciso maior disponibilidade financeira pra realizar esses testes, o que não aconteceu neste estudo.

Analisando e comparando os resultados obtidos pela cultura da citologia em meio líquido do canal vaginal das fêmeas em fase folicular e não folicular, houve uma similaridade entre estas fases quanto a identificação dos microorganismos bem como em seu número, estando de acordo com Maksimovic et al., (2012). No entanto Lyman et al., (2019), relataram dados diferentes afirmando que existe diferença significativa, sendo encontrada população bacteriana mais rica na fase do estro, além disso foi relatado que existem falhas no método de cultura bacteriano, sendo tendencioso favorecendo microorganismos que crescem bem em meio de cultura, sendo o mais indicado técnicas de extração de DNA. As culturas da citologia em meio líquido do canal vaginal de animais em fase folicular e não folicular, revelaram grande frequência de *Staphylococcus pseudintermedius* e *Streptococcus canis*, estando de acordo com estudo de Goliyska et al., (2021). De acordo com Leps et al., (2024), as bactérias encontradas com maior recorrência em aerobiose foram as *Staphylococcus spp* e *Streptococcus spp*, estando de acordo com os resultados do presente estudo, no entanto encontramos também esses patógenos em microaerofilia.

Sendo assim parece que estes microorganismos conseguem sobreviver em ambientes com oxigênio abundante ou em escassez. Segundo Golinska et al., (2021), os isolados

bacterianos mais comuns obtidos do trato vaginal de cadelas híidas foram *Escherichia Coli*, *Staphylococcus pseudintermedius* e *Streptococcus canis*, dados que corroboram com o presente estudo que também identificou *Staphylococcus pseudintermedius* e *Streptococcus canis* na maioria das amostras coletadas, sendo estes os patógenos encontrados com alta frequência.

Das culturas realizadas em ágar MRS, com intuito de pesquisar bactérias ácido lácticas, foi identificado uma menor população bacteriana comparada as encontradas em cultura de ágar sangue, sendo encontrado principalmente *Staphylococcus pseudintermedius* e *Streptococcus canis*. Segundo Morales et al., (2022), estudos focados na procura de bactérias ácido lácticas em cadelas são escassos, situação diferente se tratando dos humanos, já que se conhece a ampla quantidade dessas bactérias encontradas no canal vaginal de mulheres férteis. Nesse mesmo estudo, foram coletadas amostras do canal vaginal de cadelas e cultivadas em ágar MRS, foi encontrado crescimento de bactérias ácido lácticas em 60,6% das amostras cultivadas. Diante do estudo de Delucchi et al., (2008), também foi feita pesquisa de bactérias ácido lácticas no canal vaginal de cadelas, foi encontrado crescimento desses microorganismos em 41 de 42 amostras cultivadas. No entanto, os resultados encontrados no presente estudo não foram os mesmos encontrados nos estudos anteriores, uma vez que foi encontrada uma população menor dessas bactérias. Acredita-se que essa discordância se deu pelo fato de que nos estudos anteriores foram incluídas cadelas que possuíam diversas enfermidades e patologias reprodutivas junto de cadelas saudáveis, podendo assim ter alteração desses resultados, em contra partida no nosso estudo foram utilizadas apenas cadelas saudáveis, por isso foi encontrado uma menor quantidade dessas bactérias no canal vaginal.

Microorganismos isolados de vaginas saudáveis são também identificados em cadelas com inflamação do trato genitourinário de fêmeas com vaginite, sendo comumente isolados *Staphylococcus spp*, *Streptococcus spp* e *E. Coli* (Antonov, 2019). De acordo com Anna et al., (2012), identificou-se que as principais bactérias causadoras da vaginite são, *Staphylococcus coagulase-positivo*, *Proteus spp* e *Streptococcus spp*.

Em estudos com piometra, foram isoladas bactérias como, *E.Coli*, *Staphylococcus*, *Klebsiela pneumoniae*, *Enterobacter spp* e *Proteus spp* (Camozzi, 2020). Diante do estudo de Ferreira e Lopes (2000), estudos sobre complexo hiperplasia cística endometrial, verificaram por meio de citologia e cultura que as bactérias associadas a piometra são encontradas fisiologicamente no ambiente vaginal. No período de proestro e estro com a dilatação da cérvix, bactérias do canal vaginal que possuem capacidade de ascender a região uterina podem se proliferar, muitas dessas bactérias são comumente relacionadas a piometra (Souza, 2022).

Comparando os microorganismos existentes na microbiota residente do canal vaginal com os isolados em casos de piometra, é possível perceber uma relação entre esses microorganismos que em condições de alteração do endométrio é estabelecido um ambiente propício para proliferação, no entanto, nem sempre esses microorganismos são os responsáveis pela patogênese da doença (Souza, 2022).

Dessa forma, de acordo com os achados de isolamento bacteriano do canal vaginal em cadelas híginas do presente estudo utilizando diferentes meios de cultura microbiológica, constatou que os patógenos encontrados em sua grande maioria também foram identificados em estudos anteriores.

Assim é notória a hipótese de que a população bacteriana vaginal residente e em desequilíbrio pode ascender para o interior do ambiente uterino e desencadear patologias reprodutivas tais como piometra, metrite e vaginite (Camozi, 2020; et al., 2004). No entanto, hipóteses já foram levantadas de que apenas a presença do patógeno em si não desencadeia a patogênese de determinadas doenças, nos levando a pensar que fatores individuais da imunidade de cada indivíduo é de suma importância ser levada em consideração para analisar a situação como um todo.

## 8. CONCLUSÃO

Conclui-se que os úteros das cadelas deste estudo revelaram que não foi possível isolar bactérias do lúmen uterino,, entretanto no lúmen vaginal foram identificadas populações bacterianas diversas e sem influência das fases do ciclo estral. Os resultados obtidos reforçam a necessidade da continuidade de mais estudos e análises em diferentes metodologias, explorando um número maior de amostras, distintas condições das fêmeas, diferentes tipos de técnicas de coletas, a fim de se obter dados mais amplos sobre a microbiota uterina e vaginal, e ainda considerar o estado imunológico do indivíduo como um todo e não apenas considerear a presença do patógeno como o agente etiológico desencadeador das patologias reprodutivas.

## 9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANTONOV, A. Physiological and Pathological Vaginal Microflora in the Bitch. **Innovations In Microbiology And Biotechnology**, v. 8, p. 62–69, 2022.
- BABA, E. H.; FURKATA, T.; ARAKAWA, A. Vaginal and uterine microflora of adult dogs. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v.44, n.4, p.606, 1983.
- BASTAN, A; CETIN, Y; GÜNGÖR, O; BASARAN, D.A. Köperklerde Seksüel Siklus Dönemleri, gebelikve pyometrada endometrial sitoloji bulgulari. **Journal of Veterinary Research and Animal Science**, Turk, v.27, p.893-897, 2003.
- BEZERRA, F. C.; PINA, V. M. L. Diagnóstico das fases do ciclo estral através de citologia vaginal em cadelas apreendidas pelo Centro de Vigilância Ambiental da Cidade do Recife-PE. **Revista CFMV**, n. 37, 2004.
- BIGLIARDI, E.; PARMIGIANI, E.; CAVIRANI, S.; LUPPI, A.; BONATI, L.; CORRADI, A. Ultrasonography and cystic hyperplasia-pyometra complex in the bitch. **Reproduction in Domestic Animals**, San Diego, v.39, n.3, p.136-140, 2004.
- BOSSCHERE, H.; DUCATELLE, R.; TSHAMALA, M. Hiperplasia Endometrial Cística e Piometra em Cães. **The Veterinary Journal**, v.166, n.2, p.129–136, 2003.
- BROECK, W. Histopathologic, bacterial, and endotoxin findings in control versus antibiotic-treated canine pyometra. **Theriogenology**, v.53, n.1, p.51-61, 2000.
- BUKOWSKA, B.; JURCZAK, A.; TOBOLSKI, D.; JANOWSKI, T. Prevalence of subclinical uterine pathologies diagnosed by biopsy and cytological and bacteriological findings in cyclic bitches. **Polish Journal of Veterinary Sciences**, v. 23, n. 4, p. 595–603, 2020.
- CAMOZZI, M. G. M. Piometra em cadelas: agentes bacterianos, perfil de susceptibilidade antimicrobiana, histopatologia uterina e população folicular. 2020. 85 f. Dissertação (Mestrado em Biociência Animal) — Universidade Federal de Jataí, Jataí, 2020
- CARNEIRO, A. P.; TONIOLO, G. H.; SCHOCKEN- ITURRINO, R. P. Avaliação case-control study of potential risk-factors for canine pyometra. **Theriogenology**, Stoneham, v.75, n.7, p. 1251-1257, 2011.
- CARNEIRO, A. P.; TONIOLO, G. H.; SCHOCKEN- ITURRINO, R. P. Avaliação microbiológica da flora vaginal e corpo uterino de cadelas (*Canis familiaris*) submetidas a ovariossalpingohisterectomia. **ARS Veterinaria**, Jaboticabal, v.21, n.3, p. 361-367, 2004.
- CHMURSKA-GĄSOWSKA, Maria; BOJARSKI, Bartosz; SOWIŃSKA, Natalia; STRUS, Magdalena. Changes in leukogram and erythrogram results in bitches with vaginitis. **Animals**, v. 11, n. 5, p. 1403, 2021.
- COCCHIA, N.; PACIELLO, O.; AULETTA, L.; UCCELLO, V.; SILVESTRO, L.; CORYN, M. Cystic endometrial hyperplasia-pyometra complex in the bitch: Should the two entities be disconnected. **Theriogenology**, Stoneham, v. 55, ed.7 , p. 1509- 1519, 2001.
- COSTA, A. Estudo retrospectivo e in vitro da resposta imune uterina em cadelas com desordens reprodutivas no município de Uberlândia - MG. 2018. 75 f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) — Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2018.

COSTA, J. R. et al. A citologia vaginal como ferramenta para monitoramento do ciclo estral em cadelas. **Revista Multidisciplinar de Educação e Meio Ambiente**, v. 6, n. 2, p. 1-10, 2025

CUNNINGHAM, J.G. **Tratado de Fisiologia Veterinária**. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A, 2004. Cap 36, p 402.

DE BOSSCHERE, H.; DUCATELLE, R.; TSHAMALA, M. Uterine oestrogen and progesterone receptor expression in experimental pyometra in the bitch. **Journal of Comparative Pathology**, v.128, p. 99-106, 2003.

DE BOSSCHERE, H.; DUCATELLE, R.; VERMEIRSCH, H.; SIMOENS, P.; CORY, M. Estrogen-alpha and progesterone receptor expression in cystic endometrial hyperplasia and pyometra in the bitch. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 70, ed.3-4, p. 251-259, 2002.

DE BOSSCHERE, H.; DUCATELLE, R.; VERMEIRSCH, H.; VAN DEN BROECK, W.; CORYN, M. Cystic endometrial hyperplasia-pyometra complex in the bitch: Should the two entities be disconnected. **Theriogenology**, Stoneham, v. 55, ed.7, p. 1509- 1519, 2001.

DE BOSSECHERE, H.; DUCATELLE, R; CROUBELS, S; VERVLOESEM, J; VAN DEN BROECK, W. Histopathologic, bacterial, and endotoxin findings in control versus antibiotic-treated canine pyometra. **Theriogenology**, v.53, n.1, p.51-61, 2000.

DHALIWAL, G. K.; WRAY, C.; NOAKES, D. E. Uterine bacterial flora and uterine lesions in bitches with cystic endometrial hyperplasia (pyometra). **Veterinary Record**, v. 143, n. 22, p. 659-661, 1998.

DOW, C. The cystic hyperplasia-pyometra complex in the bitch. **Journal of Comparative Pathology**, London, v. 69, p. 237-250, 1959.

DOW, C. The cystic hyperplasia-pyometra complex in the bitch. **Journal of Comparative Pathology**, v. 69, n. 2, p. 237-250, 1959.

EGENVALL, A.; HAGMAN, R.; BONNETT, B. N.; HEDHAMMAR, A.; OLSON, P.; LAGERSTEDT, A. S. Breed risk of pyometra in insured dogs in Sweden. **Journal of Veterinary Intern Medicine**, v.15, ed.6, p.530-538, 2001.

EGENVALL, A.; HAGMAN, R.; BONNETT, B. N.; HEDHAMMAR, A.; OLSON, P.; LAGERSTEDT, A. S. Breed risk of pyometra in insured dogs in Sweden. **Journal of Veterinary Intern Medicine**, v. 15, ed. 6, p. 530-538, 2001.

FUKUDA, S. Incidence of pyometra in colony-raised beagle dogs. **Experimental animals**, Tokyo, v.50, n.4, p.325-329, 2001.

GIBSON, A.; DEAN, D.; YATES, D.; STAVISKY, J. A retrospective study of pyometra at five RSPCA hospitals in the UK: 1728 cases from 2006 to 2011. **The Veterinary Record**, v.173, n.16, 2013.

GOLIŃSKA, Edyta; SOWIŃSKA, Natalia; TOMUSIAK-PLEBANEK, Anna; et al. The vaginal microflora changes in various stages of the estrous cycle of healthy female dogs and the ones with genital tract infections. **BMC Veterinary Research**, v. 17, n. 1, p. 8, 2021.

GROPPEITI, D.; PECILE, A.; ARRIGHI, S.; DI GIANCAMILLO, A.; CREMONESI, F. Endometrial cytology and computerized morphometric analysis of epithelial nuclei: A useful

tool for reproductive diagnosis in the bitch. **Theriogenology**, Stoneham, v.73, n.7, p.927–941, 2010.

HAGMAN, R.; LAGERSTEDT, A.; HEDHAMMAR, A.; EGENVALL, A. A breed-matched case-control study of potential risk-factors for canine pyometra. **Theriogenology**, Stoneham, v.75, n.7, p. 1251-1257, 2011. HÄHN, W. Ultrasonography in dogs and cats. In: HÄHN, W. **Veterinary Reproductive Ultrasonography**. Schlütersche: Germany. cap.5, p. 227-252, 2003.

HENSON, K. L.; RASKIN, R. E.; MEYER, D. J. **Atlas de Citologia de cães e gatos: Sistema reprodutor**. Tradução José Jurandir Fagliari. São Paulo: Roca, 2003. cap. 11, p. 243-24.

HOLST, B. S.; GUSTAVSSON, M. H.; LILLIEHÖÖK, I.; MORRISON, D.; JOHANNISSON, A. Induction of canine pyometra by inoculation of *Escherichia coli* into the uterus and its relationship to reproductive features. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v.87, n.3, p.301-308, 2005.

HOLST, B. S.; GUSTAVSSON, M. H.; LILLIEHÖÖK, I.; MORRISON, D.; JOHANNISSON, A. Leucocyte phagocytosis during the luteal phase in the bitches. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam, v.153, p.77-82, 2013.

JITPEAN, S. et al. Breed variations in the incidence of pyometra and mammary tumours in Swedish dogs. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 47, n. 2, p. 347-350, 2012.

JITPEAN, S.; PETTERSSON, A. et al. Outcome of pyometra in female dogs and predictors of peritonitis and prolonged postoperative hospitalization in surgically treated cases. **BMC Veterinary Research**, v. 10, p. 13, 2014.

JITPEAN, S.; STRÖM-HOLST, B. et al. Outcome of pyometra in female dogs and predictors of peritonitis and prolonged postoperative hospitalization in surgically treated cases. **BMC Veterinary Research**, v. 10, p. 6, 2014.

JOHNSON, C. A. Canine vaginitis. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v. 13, p. 1749-1756, 1991.

JOHNSON, C. A. Vaginitis in the bitch. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 39, n. 3, p. 559-571, 2009.

JOHNSON, C. A.; NELSON, R.W.; COUTO, C.G. Medicina interna de pequenos animais: Distúrbios do Ciclo Estral. Rio de Janeiro: **Elsevier**, 2006. cap. 56, p.811-814

JOHNSTON, S. D.; KUSTRITZ, M. V. R.; OLSON, P. N. S. Disorders of the Canine Vagina, Vestibule, and Vulva. In: JOHNSTON, S. D.; KUSTRITZ, M. V. R.; OLSON, P. N. S. **Canine and Feline Theriogenology**. Philadelphia: W.B. Saunders, 2001.

JUBB, K. V. F.; KENNEDY, P. C.; PALMER, N. Pathology of Domestic Animals. 4 ed. Harcourt: Brace Jovanovich, **Publishers**, p.653, 1993.

KASIMANICKAM, R.; DUFFIELD, T. F.; FOSTER, R. A.; GARTLEY, C. J.; LESLIE, K. E.; WALTON, J. S.; JOHNSON, W. H. A comparison of the cytobrush and uterine lavage techniques to evaluate endometrial cytology in clinically normal postpartum dairy cows. **Canadian Veterinary Journal**, Ottawa, v.46, n.3, p. 255-259, 2005.

KUSTRITZ, M. V. R. Collection of tissue and culture samples from the canine reproductive tract. **Theriogenology**, v.66, p.567-574, 2006.

LAGERSTEDT, A. S. Breed risk of pyometra in insured dogs in Sweden. **Journal of Veterinary Intern Medicine**, v.15, ed.6, p.530-538, 2001.

LEPS, A. S.; KLEIN, B.; SCHNEIDER, M.; MEYER, C.; ŠOBA, A.; SIMON, C.; DYACHENKO, V.; SIESENOP, U.; VERSPOHL, J.; GOERICKE-PESCH, S. The Canine Vaginal Flora: A Large-Cohort Retrospective Study. **Veterinary Sciences**, v. 11, n. 2, p. 55, 2024.

LOPES, M.D. Imunohistoquímica de útero e cérvix de cadelas com diagnóstico de piometra. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Belo Horizonte, v. 64, n.5, p. 1109-1117, 2012.

LYMAN, C. C.; HOLYOAK, G. R.; MEINKOTH, K.; WIENEKE, X.; CHILLEMI, K. A.; DESILVA, U. Canine endometrial and vaginal microbiomes reveal distinct and complex ecosystems. **Plos One**, v. 14, n. 1, p. e0210157, 2019.

MAKSIMOVIĆ, A.; MAKSIMOVIĆ, Z.; FILIPOVIĆ, S.; BEŠIROVIĆ, H.; RIFATBEGOVIĆ, M. Vaginal and uterine bacteria of healthy bitches during different stages of their reproductive cycle. **Veterinary Record**, v. 171, n. 15, p. 375, 2012.

MAKSIMOVIC, A.; MAKSIMOVIC, Z.; FILIPOVIC, S.; BESIROVIC, H.; MALLARDO, K.; PARAGGIO, G.; PASOLINI, M. P. Comparison of the citobrush, cottonswab, and low-volume uterine flush techniques to evaluate endometrial cytology for diagnosing endometritis in chronically infertile mares. **Theriogenology**, v.77, p.89-98, 2012.

MARTIN, R. A. "Portosystemic Shunts." **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v.23, n.3, p.621-635, 1993.

MARTIN-HIRSCH; JARVIS, G.; KITCHENER, H.; LILFORD, R. Collection devices for obtaining cervical cytology samples. *Cochrane Database Syst Rev*, Oxford, 2007.

McDONALD, L. E; PINEDA, M. H. **Veterinary endocrinology and reproduction**. 4.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1989.

MIR, F. et al. The bitch and the diagnosis of endometritis. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 48, Suppl. 1, p. 64-71, 2013.

MOGHEISEH, A.; DERA KHSHANDEH, A.; HEIDARIFAR, S.; BANDARIYAN, E. Direct endoscopic lavage and biopsy collection and evaluation of uterine microflora at various stages of the canine estrous cycle. **Veterinary Research Forum**, v. 11, n. 1, p. 89–92, 2020.

MOXON, R.; WHITESIDE, H.; ENGLAND, G. C. W. Risk factors for pyometra in the bitch: a case-control study. **Journal of Small Animal Practice**, v. 57, n. 8, p. 453-457, 2016.

MUSOLINO, C.; GHIRELLI, C. O.; MORENO, L. M. Alterações do Ciclo Estral em Cadelas. USP- São Paulo 2000.

NASCIMENTO, E. F; SANTOS, R. L. Hiperplasia endometrial cística em cadelas: revisão de literatura. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.1, n.2, p.50-55, 2007.

OLIVEIRA, E.C.S.; MARQUES JÚNIOR, A. P.; NEVES, M. M. Endocrinologia Reprodutiva e Controle da Fertilidade da Cadela – Revisão. **Archives of Veterinary Science**, v.8, n.1, p.1-12, 2003.

OLSON, P. N.; THRALL, M.A.; WYKES, P. M. Vaginal cytology: Part I. A useful tool for staging the canine estrous cycle. **Compendium on Continuing Education Practice**, v.6, p. 288-297, 1984.



PURSWELL, B. J. Clinical evaluation of the vagina and vestibule. **Theriogenology**, v. 62, n. 3-4, p. 511-516, 2004.

REECE, W. O.; DUKES, H. **Fisiologia dos Animais Domésticos**. Tradução Nelson Penteado Júnior. São Paulo: Roca, 1996. cap. 12, p. 297.

RIFATBEGOVIC, M. Vaginal and uterine bacteria of healthy bitches during different stages of their reproductive cycle. **Veterinary Record**, London, v.171, n.15, 2012.

RODRIGUES, B. A.; RODRIGUES, J. L. Endocrinologia reprodutiva na cadela. **Clínica Veterinária**, v.40, p. 50-58, 2002.

SANT'ANNA, Marcos Cezar; FABRETTI, Andrei Kelliton; MARTINS, Maria Isabel Mello. Abordagem clínica da vaginite canina. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 4, p. 1543–1554, jul./ago. 2012.

SCHAEFERS-OKKENS, A.C. Ciclo estral e Manejo Reprodutivo da cadela sadia. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN E. C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária: Doenças do cão e do gato**. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A, 2004. Cap 157, v.2.

SCHLAFER, D. H. Diseases of the uterus in the bitch. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 47, Suppl. 6, p. 318-322, 2012.

SCHLAFER, D. H.; GIFFORD, A. T. Cystic endometrial hyperplasia, pseudo-pregnancy and infertility in the bitch. **Theriogenology**, v. 70, n. 3, p. 349-358, 2008.

SCHULTHEISS, P. C.; JONES, R. L.; KESEL, M. L.; OLSON, P. N. Normal bacterial flora in canine and feline uteri. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 11, n. 6, p. 560–562, 1999

SCHULTHEISS, P. C.; JONES, R. L.; LYNNE KESEL, M.; OLSON, P. N. Normal bacterial flora in canine and feline uteri. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.11, n.6, p.560-562, 1999

SILVA, B. F. Avaliação da citologia endometrial em cadelas clinicamente saudáveis durante as fases do ciclo estral e com piometra. 2013. 41 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) — Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2013.

SILVA, L. D. M.; SILVA, A. R.; CARDOSO, R. C. S. Anatomia e fisiologia do aparelho reprodutor feminino de cadelas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 26, n. 3, p. 141-146, 2002.

SIQUEIRA, A. K. **Fatores de virulência em linhagens de *Escherichia coli* isoladas de infecção de trato urinário, piometra e fezes de cães**. 111f. Dissertação de mestrado – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2006.

SMITH, F.O. Canine pyometra. **Theriogenology**, Stoneham, v.66, p.610-612, 2006.

SODERBERG, S. F. Vaginitis in the bitch. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 16, n. 3, p. 535-546, 1986.

SOUZA, U. R. L. Estudo da microbiota residente e grupos de microrganismos relacionados a piometra em caninos. 2022. 258 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Ciências Biológicas) — Universidade Federal de Rondonópolis, Rondonópolis, 2022.

- STUDER, E.; MORROW, D. A. Postpartum evaluation of bovine reproductive potential: Comparison of findings from genital tract examination per rectum uterine culture and endometrial biopsy. **Journal American Veterinary Medicine Association**, n.172, p.489-494, 1978.
- SUGIURA, K.; NISHIKAWA, M.; ISHIGURO, K.; TAJIMA, T.; INABA, M.; TORII, R.; HATOYA, S.; WIJEWARDANA, V.; KUMAGAI, D.; TAMADA, H.; SAWADA, T.; IKERA, S.; INABA, T. Effect of ovarian hormones on periodical changes in immune resistance associated with estrous cycle in the beagle bitch. **Immunobiology**, v.209, n.8, p.619-627, 2004
- THRALL, M. A.; OLSON, P. N. The Vagina. In: COWELL, R. L.; TYLER, R. D.; MEINKOTH, J. M. **Diagnostic Citology and Hematology of the Dog and Cat**. CV Mosby: St. Louis, 1999. p. 240-248
- TSUMAGARI, S.; ISHINAZAKA, T.; KAMATA, H.; OHBA, S.; TANAKA, S.; ISHII, M. Ultrasonography and cystic hyperplasia-pyometra complex in the bitch. **Reproduction in Domestic Animals**, San Diego, v.39, n.3, p.136-140, 2004.
- VERSTEGEN, J.; DHALIWAL, G.; VERSTEGEN-ONCLIN, K. Mucometra, cystic
- VINHAS, M. C. C. V. Práticas de microbiologia: relato de candida albicans em calopsita (nymphicus hollandicus). Orientador: Francisco Marlon Carneiro Feijó. 2019. 79 f. Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2019. Calopsita??
- VOLPATO, R.; MARTIN, I.; RAMOS, R. S.; TSUMENI, M.H.; LAUFER-AMORIN, R.; WALTON, J. S.; JOHNSON, W. H. A comparison of the cytobrush and uterine lavage techniques to evaluate endometrial cytology in clinically normal postpartum dairy cows. **Canadian Veterinary Journal**, Ottawa, v.46, n.3, p. 255-259, 2005.
- WATTS, J. L.; WRIGHT, P. J.; LEE, C. S. Endometrial cytology of the normal bitch through the reproductive cycle. **Journal of small animal practice**, Oxford, n.39, p.2-9, 1998.
- WATTS, J. R.; WRIGHT, P. J.; WHITHEAR, K. C. Uterine, cervical and vaginal microflora of the normal bitch throughout the reproductive cycle. **Journal of Small Animal Practice**, Oxford, v.37, p.54-60, 1996.
- WATTS, J. R.; WRIGHT, P. J.; WHITHEAR, K. C. Uterine, cervical and vaginal microflora of the normal bitch throughout the reproductive cycle. **Journal of Small Animal Practice**, v. 37, n. 2, p. 54–60, fev. 1996.
- WEISS, R. R.; CALOMENO, M. A.; SOUSA, R. S.; BRIERSDORF, S. M.; CALOMENO, R.
- WHITEHEAD, M. L. Risk of pyometra in bitches treated for mismating with low doses of oestradiol benzoate. **Veterinary Record**, London, v.162, n. 23, p.746-749, 2008.
- WEISS, R. R.; CALOMENO, M. A.; SOUSA, R. S.; BRIERSDORF, S. M.; CALOMENO, R. A.; MURADÁS, P. Avaliação histopatológica, hormonal e bacteriológica da piometra na cadela. **Archives of Veterinary Science**, v.9, n.2, p.81 – 87, 2004.









