

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

MICHELLE BORGES SILVA

IDENTIFICAÇÃO BACTERIANA E PERFIL DE SENSIBILIDADE ANTIMICROBIANA
DE ISOLADOS UTERINOS DE ÉGUAS VIRGENS, RESISTENTES E SUSCETÍVEIS À
ENDOMETRITE

Uberlândia

2026

MICHELLE BORGES SILVA

IDENTIFICAÇÃO BACTERIANA E PERFIL DE SENSIBILIDADE ANTIMICROBIANA
DE ISOLADOS UTERINOS DE ÉGUAS VIRGENS, RESISTENTES E SUSCETÍVEIS À
ENDOMETRITE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Uberlândia como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias.

Área de concentração: Produção Animal

Orientador: Elisa Sant'Anna Monteiro da Silva

Uberlândia

2026

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

S586 Silva, Michelle Borges, 2000-
2026 IDENTIFICAÇÃO BACTERIANA E PERFIL DE SENSIBILIDADE
ANTIMICROBIANA DE ISOLADOS UTERINOS DE ÉGUAS VIRGENS,
RESISTENTES E SUSCETÍVEIS À ENDOMETRITE [recurso eletrônico]
/ Michelle Borges Silva. - 2026.

Orientadora: Elisa Sant'Anna Monteiro da Silva.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Pós-graduação em Ciências Veterinárias.
Modo de acesso: Internet.
DOI <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2026.5>
Inclui bibliografia.
Inclui ilustrações.

1. Veterinária. I. Silva, Elisa Sant'Anna Monteiro da,1985-,
(Orient.). II. Universidade Federal de Uberlândia. Pós-graduação
em Ciências Veterinárias. III. Título.

CDU: 619

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:

Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091
Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Secretaria da Coordenação do Programa de Pós-Graduação em
Ciências Veterinárias

Rodovia BR 050, Km 78, Bloco 1CCG, Sala 209 A e B - Bairro Glória, Uberlândia-MG, CEP
38400-902

Telefone: (34) 2512-6811 - www.ppgcv.fmvz.ufu.br - mesvet@ufu.br



ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Ciências Veterinárias				
Defesa de:	Dissertação de Mestrado Acadêmico PPGCVET Nº 03/2026				
Data:	14 de janeiro de 2026	Hora de início:	09h:00	Hora de encerramento:	12:00
Matrícula do Discente:	12412MEV024				
Nome do Discente:	Michelle Borges Silva				
Título do Trabalho:	IDENTIFICAÇÃO E COMPARAÇÃO DO PERFIL BACTERIANO DO ÚTERO DE ÉGUAS VIRGENS, RESISTENTES E SUSCETÍVEIS A ENDOMETRITE				
Área de concentração:	Produção Animal				
Linha de pesquisa:	Biotécnicas e Eficiência Reprodutiva				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Técnicas laboratoriais e moleculares na reprodução animal				

Reuniu-se no formato híbrido, por videoconferência e presencial no Anfiteatro do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, assim composta: Professores Doutores: Lara Reis Gomes - (FMVZ/UFU); Julio Cesar Ferraz Jacob - (UFRRJ) e Elisa Sant'Anna Monteiro da Silva - (FMVZ/UFU), orientadora da candidata.

Iniciando os trabalhos a presidente da mesa, Dra. Elisa Sant'Anna Monteiro da Silva, apresentou a Comissão Examinadora e a candidata, agradeceu a presença do público, e concedeu à Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação da Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir a senhora presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos examinadores, que passaram a arguir a candidata. Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando a candidata:

Aprovada.

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Elisa Sant'anna Monteiro da Silva, Professor(a) do Magistério Superior**, em 14/01/2026, às 17:11, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Lara Reis Gomes, Técnico(a) de Laboratório**, em 15/01/2026, às 09:13, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Julio Cesar Ferraz Jacob, Usuário Externo**, em 15/01/2026, às 13:11, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **6987957** e o código CRC **9FB9D8B4**.

MICHELLE BORGES SILVA

IDENTIFICAÇÃO BACTERIANA E PERFIL DE SENSIBILIDADE ANTIMICROBIANA
DE ISOLADOS UTERINOS DE ÉGUAS VIRGENS, RESISTENTES E SUSCETÍVEIS À
ENDOMETRITE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Uberlândia como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias.

Área de concentração: Produção Animal

Uberlândia, 14 de janeiro de 2026

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Elisa Sant'Anna Monteiro da Silva – FMVZ/UFU

Prof. Dr. Julio Cesar Ferraz Jacob – DRAA/UFRRJ

M.V. Dra. Lara Reis Gomes – FMVZ/UFU

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família e ao meu companheiro pelo apoio incondicional que me foi dado, por todo o incentivo e suporte nos momentos mais desafiadores ao longo de toda essa trajetória.

Aos meus amigos, colegas de pesquisa, técnicos de laboratório e residentes, agradeço a colaboração neste trabalho, seja por meio do apoio emocional, seja pelas contribuições para o meu aprendizado e crescimento científico.

À minha orientadora, Profa. Dra. Elisa, serei sempre grata por todos os ensinamentos, oportunidades, paciência e todo apoio ao longo desses anos, desde a graduação. Quero expressar minha sincera admiração pela profissional e pessoa que é, cuja dedicação será sempre um espelho para mim.

À Profa. Dra. Bia, agradeço a disponibilidade em colaborar com esta pesquisa, por compartilhar seu conhecimento (às vezes de uma forma meio doida, mas que nos cativa, rs) e por viabilizar recursos essenciais para a realização desse projeto, que certamente ainda nos renderá muitos frutos científicos.

Por fim, agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de estudos concedida, fundamental para a realização deste trabalho e permanência no programa de pós-graduação.

RESUMO

A endometrite, caracterizada pela inflamação do endométrio, é uma importante causa de infertilidade em éguas e está associada a alterações na microbiota uterina. Este estudo teve como objetivo identificar e comparar a microbiota uterina e o perfil de sensibilidade antimicrobiana de bactérias isoladas de éguas sem endometrite (ES), com endometrite (EE) e éguas virgens (EV). Foram avaliadas 17 éguas por meio de lavagem uterina de baixo volume, utilizando técnica adaptada com duas sondas para minimizar contaminações, com posterior cultivo microbiológico em ágar sangue, MacConkey e MRS. Foram isolados 92 microrganismos, dos quais 78 foram identificados, por MALDI-TOF ou Vitek, pertencentes principalmente aos filos Firmicutes e Proteobacteria. O gênero *Streptococcus* foi o mais frequente, seguido por *Escherichia* e *Staphylococcus*, entre outros com menor ocorrência. O ágar sangue apresentou maior taxa de recuperação bacteriana. Nos testes de sensibilidade, 52,2% dos isolados apresentaram multirresistência, com maior sensibilidade geral ao sulfametoxazol-trimetoprim e ao ceftiofur, e elevada resistência à penicilina e eritromicina. Os resultados evidenciam a complexidade da microbiota uterina equina, o avanço da resistência antimicrobiana e a necessidade de abordagens complementares no manejo da endometrite.

Palavras-chave: Reprodução equina; Microbiota uterina; Resistência antimicrobiana; Endometrite.

ABSTRACT

Endometritis, characterized by inflammation of the endometrium, is an importante cause of infertility in mares and is associated with alterations in the uterine microbiota. This study aimed to identify and compare the uterine microbiota and the antimicrobial susceptibility profile of bacteria isolated from mares without endometritis (ES), mares with endometritis (EE) and virgin mares (EV). Seventeen mares were evaluated using low-volume uterine lavage, applying an adapted double-catheter technique to minimize contamination, followed by microbiological culture on blood agar, MacConkey agar, and MRS agar. A total of 92 microorganisms were isolated, of which 78 were identified by MALDI-TOF or Vitek, mainly belonging to the phyla Firmicutes and Proteobacteria. The genus *Streptococcus* was the most frequently isolated, followed by *Escherichia* and *Staphylococcus*, among other less prevalent genera. Blood agar showed the highest bacterial recovery rate. In antimicrobial susceptibility testing, 52.2% of the isolates exhibited multidrug resistance, with higher overall susceptibility to sulfamethoxazole-trimethoprim and ceftiofur, and high resistance to penicillin and erythromycin. These results highlight the complexity of the equine uterine microbiota, the concerning antimicrobial resistance scenario, and the need for complementary approaches in the management of endometritis.

Keywords: Equine reproduction; Uterine microbiota; Antimicrobial resistance; Endometritis.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	10
2 REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1 Endometrite Equina	12
2.2 Diagnóstico da Endometrite Equina	15
2.3 Tratamentos para a Endometrite Equina.....	17
2.4 Microbiota Uterina e Probióticos como Tratamento Alternativo para a Endometrite Equina	19
3 METODOLOGIA.....	22
3.1 Animais.....	22
3.2 Ultrassonografia Transretal e Coleta das Amostras.....	22
3.3 Cultivo e identificação bacteriana.....	24
3.4 Resistência aos Antimicrobianos	27
3.5 Análise Estatística.....	28
4 RESULTADOS	29
4.1 Bactérias isoladas.....	29
4.2 Resistência Antimicrobiana	33
5 DISCUSSÃO.....	36
6 CONCLUSÃO	42
REFERÊNCIAS.....	43

1 INTRODUÇÃO

O Brasil possui um dos maiores rebanhos equinos do mundo, ocupando a quarta posição no ranking global (ABCCM, 2023), com um efetivo estimado em aproximadamente seis milhões de animais (IBGE, 2024). Nesse contexto, a equinocultura nacional apresenta expressiva relevância econômica e zootécnica, e a eficiência reprodutiva assume papel central, uma vez que impacta diretamente a produtividade, a sustentabilidade da atividade e a obtenção de animais de elevado valor genético. Assim, o avanço de pesquisas voltadas à reprodução equina torna-se essencial para o fortalecimento do setor.

Entre os principais fatores limitantes da eficiência reprodutiva em éguas, destaca-se a endometrite, considerada uma das enfermidades mais prevalentes do trato reprodutivo e a principal causa de infertilidade e subfertilidade nessa espécie (Troedsson, 1999; Piatti; Mateus; Bacaro, 2023). A doença compromete as taxas de concepção e a sobrevivência embrionária, além de gerar elevados custos com tratamentos e, em casos mais graves, culminar no descarte de matrizes e receptoras, acarretando prejuízos econômicos significativos (Canisso; Segabinazzi; Fedorka, 2020; Mattos *et al.*, 2021; Machado; Araújo; Miranda, 2023).

A endometrite é um processo inflamatório multifatorial do endométrio, podendo manifestar-se nas formas aguda, crônica ou degenerativa (Canisso; Segabinazzi; Fedorka, 2020; Piatti; Mateus; Bacaro, 2023). Clinicamente, pode ser classificada como infecciosa ou não infecciosa e apresentar-se de forma clínica ou subclínica, sendo que a sobreposição dos sinais frequentemente dificulta a identificação do agente etiológico, etapa determinante para o diagnóstico e a escolha terapêutica (Canisso; Segabinazzi; Fedorka, 2020). Seu desenvolvimento está associado principalmente a infecções bacterianas, e mais raramente fúngicas, bem como a respostas inflamatórias fisiológicas transitórias após a cobertura natural ou inseminação artificial (IA) (Canisso; Segabinazzi; Fedorka, 2020). Alterações anatômicas do trato reprodutivo, como incompetência vulvar, pneumoútero e acúmulo de urina ou líquido intrauterino (LIU), comprometem os mecanismos de defesa uterina, favorecendo a colonização bacteriana e a persistência da inflamação (Trotter; McKinnon, 1988; Canisso; Stewart; Coutinho, 2016).

Embora o útero das éguas não seja um ambiente estéril, a microbiota uterina residente contribui, em condições fisiológicas, para a manutenção da homeostase local. Alterações nesse ecossistema podem resultar em disbiose, favorecendo a proliferação de patógenos oportunistas, a formação de biofilmes e o estabelecimento de infecções persistentes (Holyoak; Lyman, 2021; Heil *et al.*, 2023; Beckers *et al.*, 2025). Os microrganismos mais frequentemente associados à

endometrite equina incluem *Streptococcus* spp., *Escherichia coli*, *Staphylococcus* spp., *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa* (Carneiro *et al.*, 2021; Díaz-Bertrana *et al.*, 2021), enquanto as infecções fúngicas são predominantemente atribuídas a *Candida* spp. e *Aspergillus* spp. (Morris; McCue; Aurich, 2020).

O tratamento da endometrite envolve agentes ecbólicos, anti-inflamatórios, antimicrobianos e lavagens uterinas, entretanto, o uso recorrente e, muitas vezes, empírico de antibióticos tem contribuído para o agravamento da resistência microbiana, reconhecida como um problema de saúde global (Canisso; Segabinazzi; Fedorka, 2020; Piatti; Mateus; Bacaro, 2023; OMS, 2024). Nesse cenário, terapias alternativas, como os probióticos, vêm sendo investigadas. Cepas de *Lactobacillus* spp. demonstram capacidade de inibir microrganismos patogênicos, modular a resposta inflamatória e competir por sítios de adesão, tanto em estudos experimentais em éguas e vacas (Gartner *et al.*, 2015; Peter *et al.*, 2018; Silva *et al.*, 2024; Bernabe *et al.*, 2025) quanto em pesquisas conduzidas na medicina humana (Russo; Karadja; Seta, 2019), além de produzirem metabólitos com potencial bactericida, fungicida e imunomodulador, como ácido acético, ácido lático, peróxido de hidrogênio e bacteriocinas (Heikkila; Saris, 2003; Bernabe *et al.*, 2025).

Diante do exposto, hipotetiza-se que o útero de éguas virgens e/ou resistentes à endometrite apresente uma microbiota caracterizada pela presença de bactérias ácido-láticas (BAL) com atividade antagonista frente a microrganismos patogênicos, exercendo papel protetor na homeostase uterina. Em contrapartida, postula-se que éguas suscetíveis à enfermidade apresentem alterações qualitativas e quantitativas na microbiota uterina, favorecendo a disbiose e a predominância de patógenos potencialmente envolvidos na patogênese da endometrite.

Destarte, o presente estudo objetivou identificar e comparar a microbiota uterina de éguas virgens (EV), éguas sem endometrite (ES) e com endometrite (EE), a partir de amostras coletadas por meio de lavado uterino de baixo volume (LUBV). Adicionalmente, buscou-se avaliar o perfil de resistência antimicrobiana das bactérias isoladas por meio de testes de antibiograma pelo método de difusão em ágar, bem como avaliar o crescimento bacteriano em diferentes meios de cultivo, incluindo ágar sangue, ágar MacConkey e ágar MRS, este sob distintas condições de oxigenação (aerobiose, microaerofilia e anaerobiose), sendo que, nesta última, empregou-se também o método de cultivo em profundidade no ágar. Por fim, objetivou-se investigar a presença de bactérias com potencial probiótico residentes no útero dessas éguas, contribuindo para o melhor entendimento da dinâmica microbiana uterina e de seu papel na saúde reprodutiva equina.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Endometrite Equina

A endometrite é uma das principais afecções do trato reprodutivo das éguas e figura entre as causas mais relevantes de infertilidade e subfertilidade na espécie equina (Piatti; Mateus; Bacaro, 2023; Blanc *et al.*, 2025). Ao comprometer diretamente o ambiente uterino, essa enfermidade reduz as taxas de concepção e a sobrevivência embrionária, impedindo que a fêmea expresse plenamente seu potencial reprodutivo (Canisso; Segabinazzi; Fedorka, 2020). Em casos recorrentes ou de difícil tratamento, a endometrite pode culminar no descarte reprodutivo das éguas, gerando impactos negativos tanto para o bem-estar animal quanto para a sustentabilidade econômica da equinocultura (Mattos *et al.*, 2021; Morris; McCue; Aurich, 2020; Machado; Araújo; Miranda, 2023).

Anatomicamente, o útero é um órgão muscular oco, conectado às tubas uterinas e à cérvix, constituído por corpo e dois cornos uterinos. Sua parede é composta por 3 camadas: perimetrio, miométrio e endométrio (Bettencourt *et al.*, 2018). O perimetrio, também chamado de porção serosa, corresponde à camada mais externa, enquanto o miométrio é formado por fibras musculares responsáveis pelas contrações uterinas, fundamentais tanto no parto quanto nos mecanismos de depuração uterina. O endométrio, camada mais interna, apresenta glândulas endometriais e desempenha papel central na implantação e manutenção do conceito, sendo, portanto, essencial para o sucesso reprodutivo (Bettencourt *et al.*, 2018).

Atualmente, sabe-se que o útero não é um ambiente estéril, mesmo em condições fisiológicas. Ele abriga uma microbiota residente que, em equilíbrio, estabelece uma relação simbiótica e contribui para a manutenção da saúde uterina (Beckers *et al.*, 2025). Esse equilíbrio é sustentado por mecanismos anatômicos e imunológicos, como a conformação vulvar adequada, competência do esfincter vestíbulo-vaginal, integridade cervical e a resposta imune inata, que atuam como barreiras à ascensão de microrganismos patogênicos (Canisso; Segabinazzi; Fedorka, 2020; Beckers *et al.*, 2025).

Como já citado, a cérvix também atua como barreira à entrada de contaminantes no útero. Anatomicamente, esta é revestida por um epitélio que contém células secretoras de muco, o qual, durante o estro, facilita a lubrificação e, no diestro, se torna mais espesso a fim de funcionar como defesa (Bettencourt *et al.*, 2018). Quanto à genitália externa, a vulva é a primeira barreira de proteção do sistema reprodutivo, devendo, assim, apresentar boa coaptação dos lábios vulvares, o que tende a não ocorrer em éguas mais velhas e com várias gestações

(Bettencourt *et al.*, 2018). Com relação à conformação perineal, que se dá pela avaliação da altura da vulva x ângulo de inclinação (índice de *Caslick*), para que seja adequada, a angulação com a vertical não deve ser maior que 10 graus e pelo menos 80% da abertura vulvar deve estar abaixo do assoalho pélvico, evitando contaminação vaginal e uterina por proteger da entrada de ar, acúmulo de urina ou entrada de fezes (Bettencourt *et al.*, 2018).

Entretanto, alterações anatômicas e funcionais, como má conformação vulvar, lacerações do esfíncter vestíbulo-vaginal, incompetência cervical, útero penduloso, contrações uterinas ineficientes, atrofia das dobras endometriais e acúmulo de líquido ou urina no lúmen uterino, aumentam significativamente a suscetibilidade à endometrite (Trotter; McKinnon, 1988; Canisso; Stewart; Coutinho, 2016; Canisso; Segabinazzi; Fedorka, 2020; Piatti; Mateus; Bacaro, 2023). Além disso, manipulações excessivas e, por vezes, realizadas de forma inadequada no trato reprodutivo, como IAs, lavagens uterinas, deposição intrauterina de fármacos e procedimentos de transferência de embrião (TE), favorecem a transposição de microrganismos da vagina para o útero, contribuindo para o desenvolvimento de processos inflamatórios (Squires 2013; Mattos *et al.*, 2021). Assim, para diminuir os riscos de contaminação, deve-se atentar para uma boa higienização prévia à manipulação, com limpeza da vulva e períneo e utilização de materiais devidamente esterilizados, observando ainda que processos inadequados de higienização e manipulação podem induzir a resistência de microrganismos aos agentes antissépticos, antibióticos e antifúngicos (Canisso; Segabinazzi; Fedorka, 2020).

Nesse contexto, destaca-se que éguas doadoras de embrião são especialmente predispostas ao desenvolvimento de endometrite, uma vez que são submetidas a múltiplas manipulações intrauterinas ao longo de uma mesma estação reprodutiva e por várias estações consecutivas (Squires, 2013). Esses animais passam repetidamente por inseminações e lavagens uterinas, o que aumenta o risco de contaminação e de falhas nos mecanismos de depuração, favorecendo o estabelecimento de processos inflamatórios e/ou infecciosos persistentes (Squires, 2013; Canisso; Segabinazzi; Fedorka, 2020).

Diante do exposto, a endometrite caracteriza-se como um processo inflamatório do endométrio de etiologia multifatorial, podendo manifestar-se de forma aguda, crônica ou degenerativa (Canisso; Segabinazzi; Fedorka, 2020; Piatti; Mateus; Bacaro, 2023). A enfermidade pode ser classificada em infecciosa ou não infecciosa, sendo que, clinicamente, os sinais podem ser semelhantes entre ambas, tornando necessária a identificação do agente etiológico para um diagnóstico preciso (Canisso; Segabinazzi; Fedorka, 2020).

Após a cobertura natural ou IA, as éguas desenvolvem uma resposta inflamatória uterina transitória, considerada fisiológica, que ocorre rapidamente e tem como objetivo a remoção de espermatozoides excedentes, plasma seminal, diluentes, microrganismos e debris celulares do lúmen uterino (Troedsson; Liu; Crabo, 1998). Em éguas que apresentam eficiência nos processos de limpeza, a inflamação é resolvida em até 48 horas por meio de contrações uterinas, resposta imune local e adequada drenagem do conteúdo uterino (Canisso; Segabinazzi; Fedorka, 2020).

No entanto, falhas nos mecanismos de depuração uterina podem resultar na persistência da inflamação, levando ao desenvolvimento da endometrite persistente pós-cobertura (EPPC) (Katila, 2016; Santos; Alessi, 2016; Canisso; Segabinazzi; Fedorka, 2020). Nesses casos, observa-se retenção de LIU, infiltração neutrofílica prolongada e produção contínua de citocinas pró-inflamatórias, criando um ambiente embriotóxico e que compromete a fertilização, a implantação e a sobrevivência embrionária (Santos; Alessi, 2016; Morris; McCue; Aurich, 2020; Mattos *et al.*, 2021).

Clinicamente, a enfermidade pode se manifestar de forma evidente ou subclínica, sendo que, nos casos clínicos, os sinais incluem LIU, edema endometrial patológico, encurtamento do ciclo estral, inflamação vaginal ou cervical, presença de exsudato mucopurulento e perda embrionária precoce (Amorim *et al.*, 2016; Carneiro; Silva-Filho; Carneiro, 2020). Já as formas subclínicas demandam maior atenção diagnóstica, uma vez que podem passar despercebidas e ainda assim comprometer significativamente a fertilidade.

A endometrite equina está geralmente associada a bactérias aeróbicas, embora microrganismos anaeróbicos também sejam capazes de invadir o útero e participar do processo infeccioso (Ricketts; Mackintosh, 1987; Riddle; LeBlanc; Stromberg, 2007). Estima-se que entre 25-60% das éguas que apresentam falhas em se tornarem prenhas possuam infecção bacteriana uterina (Bain, 1966; Canisso; Segabinazzi; Fedorka, 2020), sendo *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* e *Escherichia coli* as principais causas de endometrite aguda e crônica, respectivamente e, geralmente, acessam o útero durante os procedimentos reprodutivos (Albihn; Baverud; Magnusson, 2003; Frontoso *et al.*, 2008; Canisso; Segabinazzi; Fedorka, 2020). Além disso, esses dois agentes, frequentemente isolados, têm sido relatados como multirresistentes aos antimicrobianos comumente utilizados na prática clínica (Benko *et al.*, 2015).

Estudos prévios demonstram que alguns microrganismos específicos são comumente isolados em endometrites, em que *Streptococcus equi*, com destaque para *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e

Staphylococcus spp., principalmente *Staphylococcus aureus*, são os mais frequentes, considerado o fato de que a infecção bacteriana é bastante comum (Carneiro *et al.*, 2021; Díaz-Bertrana *et al.*, 2021). E, no caso de acometimento fúngico, com cerca de 1-5% dos casos e que pode ocorrer em associação com infecções bacterianas, os principais relatos são de *Candida* spp. e *Aspergillus* spp., cabe destacar que a endometrite fúngica é frequentemente relacionada ao uso repetido de antimicrobianos intrauterinos (Canisso; Segabinazzi; Fedorka, 2020; Morris; McCue; Aurich, 2020). Em éguas suscetíveis, essas infecções tendem a assumir caráter crônico, particularmente associadas à formação de biofilmes bacterianos e ao desenvolvimento de resistência antimicrobiana, dificultando o tratamento e a resolução do quadro clínico (Canisso; Segabinazzi; Fedorka, 2020).

2.2 Diagnóstico da Endometrite Equina

O diagnóstico da endometrite equina representa um desafio clínico considerável, em virtude da diversidade de agentes etiológicos envolvidos, da variabilidade na intensidade da resposta inflamatória e da frequente ausência de sinais clínicos evidentes, especialmente nos casos subclínicos. Embora existam diferentes métodos diagnósticos disponíveis, nenhum deles, isoladamente, reúne alta sensibilidade, baixo custo, facilidade de execução e rapidez na obtenção dos resultados (Carneiro; Silva-Filho, Carneiro, 2020). Dessa forma, a abordagem diagnóstica mais eficaz baseia-se na associação criteriosa de múltiplas avaliações, sempre sustentadas por um histórico clínico detalhado da égua, o que é fundamental para a identificação precoce da enfermidade e para a prevenção da progressão do processo inflamatório para formas crônicas ou degenerativas, como a endometriose (Canisso; Segabinazzi; Fedorka, 2020), além de diminuir os prejuízos para a equinocultura (Ferris *et al.*, 2016; Blanc *et al.*, 2025).

Nesse contexto, o diagnóstico da endometrite envolve a integração de diferentes ferramentas, incluindo avaliação do histórico clínico e reprodutivo, inspeção do trato reprodutivo, com avaliação da conformação vulvar e perineal, palpação e ultrassonografia transretal (USTR) para detecção de LIU, espessamento endometrial e alterações uterinas, além de exames complementares como citologia endometrial, cultura bacteriológica, biópsia uterina e LUBV (Piatti; Mateus; Bacaro, 2023). Dentre as técnicas citadas, o LUBV e swab endometrial são as mais utilizadas, na qual as amostras recuperadas podem ser utilizadas para exames de citologia e microbiologia (LeBlanc; Magsig; Stromberg, 2007; Morris *et al.*, 2020).

Éguas consideradas suscetíveis à endometrite frequentemente apresentam histórico compatível com a enfermidade, incluindo acúmulo recorrente de LIU antes ou após a

reprodução, perdas embrionárias repetidas, retornos precoces ao estro, falhas de prenhez mesmo quanto submetidas a boas práticas reprodutivas e, em alguns casos, presença de secreção vulvar (Woodward *et al.*, 2012; Canisso; Segabinazzi; Fedorka, 2020). Esses achados reforçam a importância da associação entre dados clínicos e exames complementares para o correto diagnóstico.

A citologia endometrial pode ser realizada por meio de swab, escova ginecológica ou LUBV e permite a avaliação do tipo e da proporção de células inflamatórias em relação às células epiteliais endometriais presentes no lúmen uterino (LeBlanc; Magsig; Stromberg, 2007; Piatti; Mateus; Bacaro, 2023). Além disso, a citologia pode, ocasionalmente, detectar a presença de bactérias, hifas fúngicas, leveduras e cristais urinários, contribuindo para a caracterização do processo inflamatório ou infeccioso (Ferris; Bohn; McCue, 2015).

As técnicas de swab e escova ginecológica consistem na introdução destes materiais através da cérvix, preferencialmente durante o estro, permitindo contato direto com o endométrio para posterior análise citológica ou microbiológica (LeBlanc; Magsig; Stromberg, 2007). Contudo, essas técnicas possibilitam a coleta de amostras focais, o que pode não representar a totalidade do ambiente uterino, além de apresentarem maior risco de contaminação cruzada com a vulva e a vagina (LeBlanc; Magsig; Stromberg, 2007).

A cultura endometrial é amplamente utilizada para identificação dos agentes infecciosos envolvidos na endometrite equina, devendo sempre ser realizada antes de qualquer procedimento uterino ou vaginal, a fim de evitar contaminações que possam comprometer os resultados (Canisso; Segabinazzi; Fedorka, 2020). A associação entre cultura microbiológica e citologia endometrial aumenta a acurácia diagnóstica, permitindo diferenciar a simples presença bacteriana de uma infecção clinicamente relevante e, ainda, avaliar o grau de inflamação (Bettencourt *et al.*, 2018).

A biópsia uterina, por sua vez, é realizada mediante a coleta de um fragmento do endométrio por meio de uma pinça introduzida via cérvix, sendo posteriormente avaliada por exame histopatológico (Buczkowska *et al.*, 2014; Pasolini *et al.*, 2016; Bettencourt *et al.*, 2018). Essa técnica possibilita uma avaliação aprofundada do tecido endometrial, incluindo a identificação de processos inflamatórios crônicos, fibrose e alterações degenerativas, sendo fundamental para o prognóstico reprodutivo da égua (Pasolini *et al.*, 2016; Bettencourt *et al.*, 2018).

O LUBV consiste na infusão de 60 a 120mL de solução de Ringer Lactato (RL), soro fisiológico (SF) ou tampão fosfato-salino (PBS) no lúmen uterino, seguida de massagem transretal dos cornos uterinos ou de um período de repouso de aproximadamente dois minutos,

permitindo que o fluido seja distribuído, e, por fim, recuperação do fluido por sucção ou gravidade (Piatti; Mateus; Bacaro, 2023). Essa técnica permite a coleta de amostras representativas de toda a cavidade uterina, sendo considerada superior a outros métodos focais para a realização de citologia e cultura microbiológica (Heil *et al.*, 2023; Piatti; Mateus; Bacaro, 2023). Além disso, o LUBV apresenta elevada sensibilidade na detecção de processos inflamatórios subclínicos, especialmente em éguas subférteis, configurando-se como uma ferramenta valiosa no diagnóstico da endometrite equina (LeBlanc; Magsig; Stromberg, 2007; Lection *et al.*, 2024).

2.3 Tratamentos para a Endometrite Equina

O tratamento da endometrite equina varia de acordo com a idade do animal, grau de acometimento, intensidade dos sinais clínicos, agente etiológico envolvido e anatomia do trato reprodutivo. Tradicionalmente, são empregados medicamentos ecbólicos, anti-inflamatórios, antimicrobianos, lavagens uterinas, correções cirúrgicas como a vulvoplastia e, em alguns casos, tratamentos químicos complementares (Canisso; Segabinazzi; Fedorka, 2020; Blanc *et al.*, 2025). No entanto, éguas suscetíveis à endometrite frequentemente apresentam resposta limitada aos tratamentos convencionais e, como consequência, podem desenvolver infecções persistentes, subclínicas ou crônicas, com prejuízos significativos à fertilidade (Cabrera; Pastorello; Alvarenga, 2016; Canisso; Segabinazzi; Fedorka, 2020; Díaz-Bertrana *et al.*, 2021).

Considerando a elevada prevalência de endometrites de origem bacteriana, o uso de antimicrobianos é amplamente adotado na prática clínica. Dada a alta frequência de isolamento de *Streptococcus* spp., *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp., *Pseudomonas* sp. e *Staphylococcus* sp., os princípios antimicrobianos mais comumente empregados no tratamento da endometrite equina incluem os β-lactâmicos, como ceftiofur, ampicilina e penicilina, e os aminoglicosídeos, como gentamicina e amicacina (Bettencourt *et al.*, 2018; Canisso; Segabinazzi; Fedorka, 2020).

Éguas suscetíveis à endometrite apresentam maior propensão ao desenvolvimento de infecções crônicas, muitas vezes associadas à formação de biofilmes. Essas estruturas são complexos organizados de microrganismos aderidos a superfícies e envolvidos por uma matriz extracelular polimérica, composta por substâncias produzidas pelos próprios microrganismos, que conferem maior capacidade de evasão do sistema imune do hospedeiro e atuam como uma barreira física à difusão de antimicrobianos (Ferris, 2017). Dessa forma, a penetração dos fármacos é limitada, resultando em menor eficácia terapêutica e favorecendo o desenvolvimento da resistência antimicrobiana, especialmente quando comparadas às bactérias

planctônicas, que permanecem livres no lúmen uterino, sem aderência a superfícies ou formação de biofilmes (Ferris, 2017; Canisso; Segabinazzi; Fedorka, 2020). Estima-se que aproximadamente 80% das bactérias isoladas do útero equino sejam capazes de formar biofilmes, o que representa um grande desafio terapêutico na endometrite equina (Beehan *et al.*, 2015; Ferris *et al.* 2016; Canisso; Segabinazzi; Fedorka, 2020).

O uso irracional e indiscriminado de antimicrobianos tem sido associado ao rápido desenvolvimento de resistência antimicrobiana, tornando fundamental a correta identificação dos microrganismos envolvidos, bem como a realização de testes de sensibilidade aos antimicrobianos, a fim de instituir um tratamento eficaz da endometrite e, simultaneamente, prevenir a seleção e disseminação de cepas resistentes (OMS, 2024). Os mecanismos pelos quais as bactérias se tornam resistentes aos antibióticos incluem modificações no alvo celular que impedem a ligação do fármaco, síntese de enzimas capazes de digerir ou inativar o agente antimicrobiano, ativação de vias metabólicas alternativas que contornam o mecanismo de ação do antibiótico, regulação negativa ou eliminação de porinas transmembranares responsáveis pela entrada do fármaco na célula bacteriana e eliminação ativa dos antimicrobianos por meio de bombas de efluxo (Vila; Martí; Sánchez-Céspedes, 2007; Alekshun; Levy, 2007).

Nesse contexto, há uma crescente preocupação mundial em relação à resistência antimicrobiana, considerada um importante risco à saúde única, conceito que integra a saúde humana, animal e ambiental. Relatórios e listas publicadas pela OMS evidenciam um cenário alarmante de disseminação de bactérias resistentes aos antimicrobianos, com impactos diretos na saúde pública e veterinária, além de expressivos prejuízos sociais e econômicos (OMS, 2024; Blanc *et al.*, 2025). Diante desse cenário, métodos terapêuticos alternativos ou complementares aos tratamentos convencionais vêm ganhando destaque, como a ozonioterapia e a hemoterapia, que têm sido estudadas como estratégias promissoras no manejo da endometrite equina (Zhao *et al.*, 2021; Piatti; Mateus; Bacaro, 2023).

Portanto, em um cenário de utilização indiscriminada e irracional de antibacterianos, com indução à resistência antimicrobiana e produção de bactérias multirresistentes, o uso de probióticos como tratamento alternativo nas endometrites bacterianas vem sendo descrito por pesquisadores. Em estudos anteriores, cepas de *Lactobacillus* spp. têm demonstrado ser eficaz na supressão de bactérias patogênicas em diversas espécies (Aroutcheva *et al.*, 2001; Peter *et al.*, 2018; Russo; Karadja; Seta, 2019; Bernabe *et al.*, 2025), demonstrando potencial para utilização no tratamento da endometrite e até mesmo na modulação da resposta imune do hospedeiro.

2.4 Microbiota Uterina e Probióticos como Tratamento Alternativo para a Endometrite Equina

Considerando a prevalência de endometrites bacterianas e a utilização indiscriminada de antibióticos, o uso de probióticos emerge como alternativa terapêutica, sendo descrito por pesquisadores como potenciais adjuvantes no restabelecimento da saúde uterina (Silva *et al.*, 2024; Bernabe *et al.*, 2025). Embora alguns microrganismos sejam comumente isolados em endometrites bacterianas, estes também podem compor a microbiota fisiológica uterina, o que reforça a importância da compreensão dos microrganismos que residem no útero ao longo do ciclo estral, uma vez que o microbioma uterino sofre variações de acordo com o estágio do ciclo estral (Canisso; Segabinazzi; Fedorka, 2020). Essa compreensão é fundamental para elucidar os mecanismos envolvidos na disbiose que culmina na endometrite, bem como para identificar bactérias benéficas com potencial para restabelecer a saúde uterina.

Neste sentido, Holyoak *et al.* (2022) investigaram o microbioma uterino de éguas saudáveis por meio do sequenciamento de RNA bacteriano, identificando a predominância dos gêneros *Pseudomonas*, *Londsdalea*, *Lactobacillus*, *Escherichia* e *Prevotella*, com variações associadas à região geográfica. Os autores reforçam que, embora existam diferenças regionais, um conjunto central de microrganismos é consistentemente observado, incluindo *Lactobacillus*, *Escherichia/Shigella*, *Streptococcus*, *Blautia*, *Staphylococcus*, *Klebsiella*, *Acinetobacter* e *Peptoanaerobacter*. Esses achados corroboram a existência de um microbioma uterino central em éguas saudáveis, considerado semelhante independentemente do método de coleta da amostra (Heil *et al.*, 2023).

Estudos demonstram que o microbioma uterino pode apresentar diferenças conforme a técnica de coleta, sendo que a lavagem uterina de baixo volume mostrou maior sensibilidade na detecção de táxons de baixa biomassa, embora os resultados possam depender da região geográfica dos animais avaliados (Holyoak *et al.*, 2022). Ainda assim, há consenso de que, utilizando o LUBV, o microbioma uterino predominante em éguas é representado principalmente pelos filos Proteobacteria e Firmicutes (Holyoak *et al.*, 2022; Heil *et al.*, 2023). Outros estudos também descrevem um microbioma diverso, incluindo Proteobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes e Actinobacteria. (Virendra *et al.*, 2024).

Pesquisas indicam similaridades entre os microbiomas uterinos de éguas saudáveis e daquelas com endometrite, no entanto, observa-se maior riqueza bacteriana em animais saudáveis, o que possivelmente está relacionado à manutenção da homeostase uterina (Guo;

Holyoak; DeSilva, 2025). Em estudo conduzido por Virendra *et al.* (2024), amostras coletadas por meio de LUBVs e sequenciadas por 16S rRNA demonstraram similaridades na proporção dos principais táxons, com diferenças atribuídas, principalmente, à localização geográfica.

De forma consistente, pesquisas mostram que o microbioma uterino de éguas acometidas por endometrite difere, em proporções, significativamente daquele observado em éguas saudáveis, caracterizando um estado de disbiose (Virendra *et al.*, 2024). Estudo conduzido por Virendra *et al.* (2024) na Índia, avaliando éguas saudáveis e com endometrite, foi observada maior abundância de Firmicutes, Bacilli, Bacillales e Paenibacillaceae nos níveis de filo, classe, ordem e família, respectivamente, enquanto em éguas com endometrite houve predominância de Proteobacteria, Gammaproteobacteria, Enterobacteriales e Enterobacteriaceae. Em nível de gênero, éguas saudáveis apresentaram maior abundância de *Brevibacillus* e *Paenibacillus*, enquanto aquelas acometidas mostravam maior prevalência de *Escherichia*, *Salmonella* e *Klebsiella*. Esses achados reforçam que éguas com endometrite apresentam um microbioma uterino desequilibrado, característico de disbiose. Padrões semelhantes de alteração do microbioma também foram descritos em mulheres e vacas com endometrite, quando comparadas a indivíduos saudáveis, sugerindo que a enfermidade está associada a um desequilíbrio do microbioma comensal (Benner *et al.*, 2018; Heil; Paccamonti; Sones, 2019).

Em estudo conduzido por Silva *et al.* (2024), os pesquisadores realizaram o isolamento de 257 cepas bacterianas de 77 éguas saudáveis a partir de swabs do vestíbulo vaginal. Destas, 88,76% (228/257) foram consideradas BAL, as quais 65,79% foram capazes de inibir pelo menos uma cepa de cada um dos gêneros bacterianos comumente isolados em endometrite equina. Vale ressaltar que os microrganismos ácido láticos com propriedades benéficas mais significativas selecionados neste estudo foram do gênero *Enterococcus*, ponderando, ainda, que bactérias autóctones da espécie, por apresentarem especificidade, podem ser mais eficazes no restabelecimento do equilíbrio ecológico da microbiota do hospedeiro do que aquelas isoladas em espécies diferentes. Os autores sugerem a necessidade de novos estudos para avaliação da segurança e potencial biotecnológico do desenvolvimento de uma fórmula probiótica para uso na endometrite equina.

Resultados semelhantes foram observados em estudos com vacas leiteiras, nos quais cepas de *Lactobacillus* spp. isoladas da vagina demonstraram eficácia na inibição do crescimento de bactérias patogênicas *in vitro*, evidenciando a ação probiótica na prevenção de afecções urogenitais de vacas (Laurencio-Silva *et al.*, 2017). Em sequência, Peter *et al.* (2018) objetivaram avaliar a administração intrauterina de *Lactobacillus buchneri* e seu efeito em fatores relacionados à reprodução de vacas com evidências de endometrite subclínica, como

resultado, observaram que os animais tratados com a cepa probiótica tiveram maior taxa de prenhez em relação àqueles tratados com placebo, ainda, a expressão de fatores pró-inflamatórios endometriais também foi menor, sugerindo que o uso destes microrganismos é benéfico para o ambiente uterino, resultando em melhor desempenho reprodutivo.

Em outro estudo, Bernabe *et al.* (2025) investigaram as propriedades antimicrobianas de *Lactobacillus acidophilus* (LA) e *Lactiplantibacillus plantarum* (LP) por meio do isolamento de vesículas extracelulares (VEs) e metabólitos totais. Os testes de inibição *in vitro* demonstraram que os metabólitos totais apresentaram efeito inibitório eficaz contra a maioria das bactérias potencialmente patogênicas isoladas do útero de éguas, incluindo aquelas envolvidas em endometrites clínicas. As VEs também apresentaram potencial antimicrobiano, com destaque para inibição de uma cepa de *E. coli* multirresistente, sugerindo que essas bactérias probióticas representam alternativas promissoras na prevenção e no tratamento da endometrite equina.

Adicionalmente, Silva *et al.* (2026) avaliaram as características de 24 BAL isoladas da vagina de éguas clinicamente saudáveis, com o objetivo de investigar suas propriedades antimicrobianas. Os isolados foram identificados como *Pediococcus pentosaceus*, *Enterococcus hirae*, *Enterococcus faecalis* e *Weissella cibaria*. A maioria das cepas demonstrou capacidade de autoagregação, adesão a células epiteliais e formação de biofilme, além da produção de exopolissacarídeos. As BAL também foram avaliadas quanto à capacidade de inibir 17 bactérias associadas à endometrite equina, sendo observado que 17 BAL foram capazes de inibir todos os patógenos testados. Destacou-se a inibição de *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* por 21 BAL, bem como a inibição de *E. coli*, microrganismos comumente associados à enfermidade. Os autores reforçam que as cepas isoladas apresentam potencial para uso como probióticos na prevenção da endometrite equina, embora estudos adicionais sejam necessários para determinar sua viabilidade tecnológica, segurança e eficácia *in vivo*.

3 METODOLOGIA

3.1 Animais

O estudo foi submetido ao Comitê de Ética na Utilização de Animais (CEUA) da UFU e obteve aprovação sob o protocolo 23117.048127/2025-64. Os animais avaliados neste experimento pertenciam ao Setor de Equídeos da Universidade Federal de Uberlândia (Sequi – UFU), localizado na Fazenda Experimental do Glória, da UFU, bem como de outros haras da região, com devida aprovação dos proprietários.

Foram avaliadas 17 éguas mestiças, com idade entre 2,5 e 15 anos, pesando aproximadamente 350 a 500 kg. O experimento foi conduzido durante a fase cíclica das éguas e as coletas ocorreram ao longo de duas estações de monta consecutivas. A seleção dos animais incluiu avaliação clínica geral, anamnese detalhada para identificação de histórico reprodutivo e possíveis episódios de endometrite, além de USTR para confirmação da ciclicidade – evidenciada pela presença de folículo pré-ovulatório e/ou corpo lúteo – e para detecção de sinais compatíveis com endometrite, como a presença de LIU.

Após as avaliações, as éguas foram distribuídas em três grupos experimentais, conforme suas características reprodutivas:

- ES: éguas sem endometrite ($n = 7$) – éguas de 5 a 13 anos, previamente expostas a sêmen ou contaminantes, mas que não desenvolviam endometrite clínica e apresentavam histórico reprodutivo favorável, produzindo embriões ou estabelecendo gestação;

- EE: éguas com endometrite ($n = 5$) – éguas de 7 a 15 anos, com histórico de endometrite clínica recorrente, com presença de líquido intrauterino, perdas embrionárias ou falhas de fertilização, apresentando repetidos resultados negativos de prenhez;

- EV: éguas virgens ($n = 5$) – animais entre 2,5 e 5 anos, nunca submetidos à cobertura ou IA, condição confirmada por histórico e pela presença íntegra do hímen.

3.2 Ultrassonografia Transretal e Coleta das Amostras

Após a definição dos grupos experimentais, as éguas foram monitoradas por USTR com o objetivo de determinar o início do estro e o momento apropriado para a coleta das amostras por meio do LUBV. Apenas ciclos regulares com ovulações consecutivas foram considerados para inclusão dos dados.

Durante o acompanhamento reprodutivo, procedeu-se à avaliação dinâmica do crescimento folicular e do edema uterino por palpação retal e USTR. O grau de edema endometrial foi classificado em escala de 0 a 3, conforme McCue *et al.* (2011), com adaptações, permitindo a utilização de valores intermediários (0,5) quando necessário para melhor precisão. As coletas foram realizadas quando identificado folículo dominante ou pré-ovulatório medindo entre 28 e 34 mm, associado a edema uterino grau 2 a 2,5, momento este que coincide com o início do estro, em que a cérvix está parcialmente relaxada, permitindo a coleta da amostra uterina sem extravasamento para a vagina.

A partir da confirmação do início do estro, realizou-se o LUBV, seguido do processamento microbiológico das amostras. Para a coleta, as éguas foram contidas em tronco apropriado, assegurando a segurança dos animais e da equipe. A região perineal e vulvar foi higienizada com sabão neutro e água.

Em seguida, utilizou-se uma sonda uterina de silicone nº 36, em cujo lúmen foi introduzida uma sonda nasogástrica humana nº 16, ambas estéreis. À sonda nasogástrica foi acoplada uma bolsa contendo 250 mL de solução de Ringer Lactato (RL). Inicialmente, o conjunto formado pela sonda uterina e nasogástrica foi introduzido transcervicalmente até o posicionamento completo do cuff na região cervical. Em seguida, a sonda nasogástrica foi avançada até que a maior parte de seu comprimento estivesse posicionada no lúmen uterino. Posteriormente, a sonda uterina foi cuidadosamente retirada e mantida na vagina, de modo que a infusão e a recuperação do fluido uterino ocorressem exclusivamente pela sonda nasogástrica, reduzindo o risco de contaminação vaginal e cervical na amostra. A solução de RL foi então infundida no lúmen uterino e, após cerca de 2 minutos, recuperada por gravidade para a mesma bolsa (Fig. 1).



Fig. 1 Procedimento de lavado uterino de baixo volume empregando o sistema de duas sondas. Observa-se a égua posicionada e contida adequadamente durante a coleta.

O uso combinado de duas sondas foi padronizado neste estudo com o objetivo de minimizar a contaminação por microrganismos da vagina e garantir que o material coletado refletisse, de forma fidedigna, a microbiota uterina. Após o procedimento, as amostras foram imediatamente vedadas, acondicionadas em caixas isotérmicas com gelo reciclável e encaminhadas ao LADOC – UFU para processamento no mesmo dia.

As éguas foram reavaliadas por USTR ao término do procedimento para confirmar a completa recuperação do líquido infundido. Nos casos em que foi observada retenção residual, administrou-se 2 mL de ocitocina por via intramuscular para facilitação da evacuação uterina.

3.3 Cultivo e identificação bacteriana

As amostras uterinas foram processadas no LADOC – UFU. Após a chegada ao laboratório, a bolsa contendo a solução de RL foi homogeneizada, e 20 mL do conteúdo foram aspirados com agulha e seringa estéreis. Esse volume foi dividido em dois tubos Falcon estéreis de 50 mL (10 mL/tubo). A cada tubo foram adicionados 10 mL de caldo Brain Heart Infusion (BHI) e 10 mL de caldo Man, Rogosa & Sharpe (MRS), previamente esterilizados. Ambos os caldos foram feitos em dupla concentração. O volume remanescente da amostra foi transferido para tubos Falcon livres de DNase e RNase, submetidos a duas etapas de centrifugação e

posteriormente à extração de DNA com kit Qiagen®, conforme instruções do fabricante, para envio a laboratório parceiro que será responsável pelo sequenciamento bacteriano.

Após adição dos caldos, os tubos foram incubados a 37°C por 24h. Ambos os caldos são translúcidos e límpidos quando estéreis; assim, a turbidez após a incubação foi utilizada como indicativo de crescimento bacteriano. Passado o período inicial de 24h, caso não houvesse turbidez, a incubação era estendida por mais 24h. Se, ao final das 48h, os caldos ainda se mantivessem límpidos, constatava-se a ausência de crescimento bacteriano.

O caldo BHI, um meio de cultura líquido rico e não seletivo, foi utilizado para favorecer o crescimento de ampla variedade de bactérias, incluindo microrganismos fastidiosos frequentemente associados a infecções uterinas. Já o caldo MRS, meio seletivo desenvolvido para o cultivo de BAL, foi empregado com o objetivo de estimular o crescimento de BAL, para, assim, permitir a recuperação de microrganismos com potencial probiótico presentes no ambiente uterino.

Após a incubação dos caldos, e mediante a constatação de crescimento bacteriano, procedeu-se ao repique em placas de ágar utilizando alça microbiológica. Cada caldo foi previamente homogeneizado e, com auxílio da alça estéril, aproximadamente 10 µL foram transferidos para as respectivas placas, utilizando a técnica de estria em 4 direções, favorecendo o isolamento de colônias.

Para o caldo BHI, os repiques foram realizados em placas de Ágar Sangue (AS) e Ágar MacConkey (MC), que foram incubadas em estufa microbiológica a 37°C por 24 a 48h. A utilização desses meios justifica-se por suas propriedades complementares: o AS, por ser um meio rico e não seletivo, permite o crescimento de uma ampla diversidade de bactérias, incluindo microrganismos fastidiosos, além de possibilitar a observação de padrões de hemólise importantes para a caracterização preliminar. Já o MC é um meio seletivo e diferencial destinado ao isolamento de bactérias Gram-negativas.

As amostras enriquecidas em caldo MRS foram repicadas em ágar MRS, por 48 a 72h, sob três condições de oxigenação:

1. Aerobiose (MRSA);
2. Microaerobiose (MRSMA);
3. Repique em profundidade sob anaerobiose (MRSPA);

Para a técnica de repique em profundidade, o ágar MRS foi preparado e esterilizado previamente. Após a autoclavagem, o meio foi resfriado até aproximadamente 37°C para evitar danos térmicos às bactérias. Em uma placa de Petri estéril, foi dispensado, com auxílio de pipeta

volumétrica, 1 mL do caldo MRS contendo a amostra uterina. Em seguida, o ágar MRS foi vertido sobre o inóculo, sendo a placa homogeneizada por movimentos circulares suaves, a fim de garantir a distribuição uniforme do material em todo o interior do meio. Após a solidificação completa, as placas foram incubadas em condição anaeróbia, favorecendo o crescimento de microrganismos anaeróbios facultativos e microaerófilos, que se desenvolvem mais eficientemente na baixa tensão de oxigênio existentes nas camadas internas do ágar.

Após os períodos de incubação, as colônias obtidas foram avaliadas quanto à morfologia macroscópica. Nos casos em que havia mais de um tipo morfológico de colônia na mesma placa, cada colônia foi isolada individualmente com auxílio de uma alça microbiológica estéril e repicada em nova placa, mantendo-se as condições de incubação utilizadas originalmente, a fim de garantir o crescimento de culturas puras.

Obtendo-se os isolados puros, procedeu-se à caracterização morfológica por meio da coloração de Gram. Para isso, uma pequena porção da colônia foi suspensa em solução salina estéril e distribuída sobre uma lâmina de microscopia, formando um esfregaço. A coloração foi realizada utilizando kit comercial NEWPROV®, seguindo as etapas convencionais:

1. Aplicação do cristal violeta, com tempo de ação de 1 minuto;
2. Lavagem suave em água corrente;
3. Aplicação da solução de lugol 1% por 1 minuto, seguida de nova lavagem;
4. Aplicação do descorante por aproximadamente 5 segundos;
5. Aplicação da fucsina fenificada, utilizada como corante de contraste, seguida de enxague.

Após a secagem, as lâminas foram analisadas em microscópio óptico para determinação da morfologia bacteriana e da reação tintorial (Gram-positiva ou Gram-negativa), permitindo a classificação preliminar dos microrganismos isolados.

Depois de classificadas, as colônias isoladas nos meios AS e MC foram submetidas à avaliação do perfil de resistência aos antimicrobianos. Além disso, todas as colônias isoladas, em todos os meios, foram enviadas ao Laboratório de Pesquisa em Qualidade do Leite (Qualileite) do Departamento de Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo – FMVZ/USP em Pirassununga, SP. No Qualileite as amostras foram caracterizadas quanto à espécie pela técnica de MALDI-TOF. Algumas colônias crescidas em AS e MC e classificadas como bacilos Gram-negativos e cocos Gram-positivos foram enviadas ao Laboratório de Biotecnologia Animal Aplicada (LABIO) da UFU para serem identificadas por sistema VITEK® 2 Compact.

3.4 Resistência aos Antimicrobianos

Após a obtenção e classificação das colônias puras nos meios AS e MC, estas foram submetidas ao teste de resistência aos antimicrobianos conforme o método de Kirby-Bauer, também conhecida como método de difusão em disco em ágar (Bauer; Kirby; Sherris, 1966). Os microrganismos testados foram suspensos em solução salina (0,85% NaCl) e ajustados até obter turbidez equivalente a aproximadamente 10^8 UFC na escala de McFarland. Após o ajuste da suspensão, foi utilizado swab estéril para inocular as superfícies das placas de ágar Muller-Hinton (MH). As placas permaneceram abertas, em fluxo laminar, por 5 minutos, à temperatura ambiente, para absorção do inóculo antes da aplicação dos discos.

Em seguida, com o auxílio de pinça estéril, os seguintes discos de antibióticos foram aplicados na placa: amicacina (30 µg; AMI), ceftiofur (30 µg; CTF), ceftriaxona (30 µg; CRO); cotrimoxazol (sulfametoxazol + trimetoprima - 25 µg; SUT), enrofloxacino (5 µg; ENO), eritromicina (15 µg; ERI), gentamicina (10 µg; GEN), penicilina (10 µg; PEN) e tetraciclina (30 µg; TET). Os princípios antimicrobianos foram escolhidos com base na utilização clínica a campo (Canisso; Segabinazzi; Fedorka, 2020).

As placas de antibiograma foram incubadas a 37°C por 24 a 48 horas e, por fim, os diâmetros dos halos de inibição (em milímetros) formados ao redor dos discos (Fig. 2) foram medidos com régua milimetrada. Os microrganismos foram classificados em sensíveis ou resistentes conforme diretrizes CLSI (2024). Os microrganismos que apresentaram resistência a três ou mais classes de antibióticos testados foram enquadrados como multirresistentes, conforme Magiorakos *et al.* (2012).

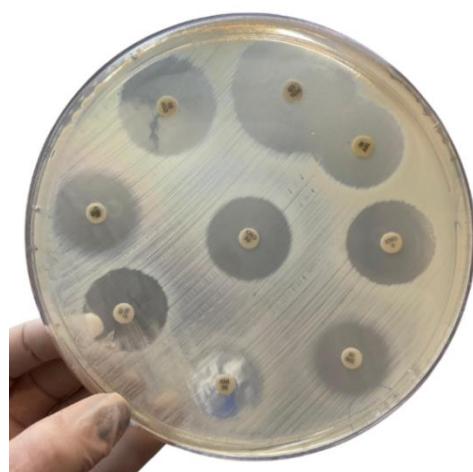


Fig. 2 Halos de inibição obtidos no teste de sensibilidade antimicrobiana pelo método de difusão em disco (Kirby-Bauer) em ágar Mueller-Hinton.

3.5 Análise Estatística

Inicialmente, os dados foram organizados e tabulados em planilhas do Microsoft Excel®. A análise descritiva foi utilizada para caracterizar a composição bacteriana das amostras uterinas e o perfil de sensibilidade aos antimicrobianos. Ainda, no software GraphPad Prism® versão 10.4.1, foi realizado o teste de correlação de Pearson para avaliar se a quantidade de bactérias encontradas estava correlacionada com os respectivos grupos. Foi adotado nível de significância de $P < 0,05$.

4 RESULTADOS

4.1 Bactérias isoladas

Neste estudo, foram avaliadas 17 éguas distribuídas nos grupos ES ($n = 7$), EE ($n = 5$) e EV ($n = 5$). A partir das amostras uterinas coletadas por meio do LUBV e submetidas à microbiologia convencional, foram obtidos 92 microrganismos crescidos a partir do método de pré-enriquecimento em caldos, seguido do cultivo em placas de ágar. Destas, 78 (84,78%) foram identificadas e se enquadram em 20 espécies bacterianas. Além disso, 10 microrganismos foram enviados para os laboratórios parceiros para análise por MALDI-TOF ou Vitek mas não foram identificados e outros 4 não foram enviados para identificação em razão da indisponibilidade de tempo hábil para conclusão das análises. Dentre as espécies, foi identificada *Enterococcus faecalis*, descrita em estudo anterior (Silva *et al.*, 2026), após análise genômica e testes funcionais, como uma bactéria probiótica, porém, a ausência de sequenciamento e testes de inibição no presente estudo impede seu enquadramento nesta categoria.

A porcentagem de espécies bacterianas identificadas, em nível de espécie, por grupo pela quantidade total de espécies encontrada foi de 65% (13/20), 60% (12/20) e 45% (9/20) para ES, EE e EV. Além disso, o teste de correlação de Pearson revelou que não houve correlação entre as espécies encontradas e os diferentes grupos ($P > 0,05$). Ainda, as razões entre o total de bactérias encontradas por grupo sobre o total de bactérias encontradas foram de 39,2% (36/92), 34,7% (32/92) e 26,1% (24/92), para ES, EE e EV. Quanto à proporção de bactérias identificadas por grupo em relação ao total de bactérias identificadas, observaram-se valores de 37,2% (29/78), 33,3% (26/78) e 29,5% (23/78) para ES, EE e EV, respectivamente.

As bactérias NI totalizaram 7 isolados em ER e 3 em ES. Por fim, entre os microrganismos isolados, porém não encaminhados para identificação, observou-se 1 em ES, 1 em EE e 3 em ES.

Quanto às avaliações por grupo, estas foram realizadas com base no número de éguas, em cada grupo, que apresentaram crescimento bacteriano de determinadas espécies. Dentro desse contexto, ao se considerar especificamente os isolados classificados como bactérias não identificadas (NI), observou-se sua ocorrência em 4 éguas do grupo ES (4/7 – 57,14%) e em 2 do grupo EE (2/5 – 40%), totalizando 6 amostras (6/17 – 35,29%) contendo as 7 bactérias NI.

Quanto às espécies isoladas, *Streptococcus* spp. foi a mais frequente, observando-se uma distribuição ampla e heterogênea das espécies entre os grupos experimentais. *Streptococcus dysgalactiae* foi a espécie mais prevalente, com maior detecção no grupo ES, sendo identificada em 3 éguas (3/7 – 42,86%), seguida pelos grupos EE, com duas éguas positivas (2/5 – 40%), e EV, com uma égua (1/5 – 20%). *Streptococcus uberis* foi encontrado em 1 uma égua do grupo ES (1/7 – 14,29%) e em uma do grupo EE (1/5 – 20%), enquanto *Streptococcus pluranimalium* apresentou ocorrência exclusiva no grupo ES, sendo isolado em três éguas (3/7 – 42,86%). *Streptococcus equi* foi identificado em duas éguas de ES (2/7 – 28,57%), uma de EE (1/5 – 20%) e uma de EV (1/5 – 20%). *Streptococcus thoralensis* foi isolado em duas éguas do grupo ES (2/7 – 28,57%) e em uma EE (1/5 – 20%), ao passo que *Streptococcus gallolyticus* foi identificado em uma égua do grupo EE (1/5 – 20%) e em duas EV (2/5 – 40%). Por fim, as espécies *Streptococcus lutetiensis* e *S. infantarius* foram identificadas exclusivamente no grupo EV, em uma égua de cada (1/5 – 20%).

Em sequência, *E. coli* foi isolada em três éguas do grupo ES (3/7 – 42,86%), quatro do EE (4/5 – 80%) e quatro do EV (4/5 – 80%).

Entre os *Staphylococcus* spp., *Staphylococcus epidermidis* foi a única espécie presente em todos os grupos, sendo isolada em uma égua de cada grupo (ES: 1/7 – 14,29%; EE: 1/5 – 20%; EV: 1/5 – 20%). Já *Staphylococcus delphini*, *S. gallinarum* e *S. cohnii* ocorreram exclusivamente no grupo ES, cada uma isolada em uma égua (1/7 – 14,29%). *S. schleifeiri* foi identificado no grupo EE, em uma égua (1/5 – 20%).

Em menor frequência, foram identificados *Enterococcus faecalis* e *Bacillus cereus*, apenas no grupo EV, cada um em uma égua (1/5 – 20%). *Pseudomonas aeruginosa* e *Actinobacillus porcitonsillarum* foram detectadas exclusivamente em EE, também em uma égua cada (1/5 – 20%). *Klebsiella aerogenes* foi isolada em uma égua do grupo ES (1/7 – 14,29%) e em uma do EE (1/5 – 20%), enquanto *Citrobacter amalonaticus* ocorreu em uma égua do grupo ES (1/7 – 14,29%).

Assim, considerando o total de colônias bacterianas isoladas e identificadas, e não o número de éguas positivas, observou-se que, no grupo ES, foram isoladas 6 colônias de *E. coli*, 15 *Streptococcus* spp., 5 *Staphylococcus* spp., 2 *Klebsiella aerogenes* e 1 *Citrobacter amalonaticus*, não havendo isolamento de *Enterococcus faecalis*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Actinobacillus porcitonsillarum*. No grupo EE, foram isoladas 9 *E. coli*, 10 *Streptococcus* spp., 2 *Staphylococcus* spp., 2 *Pseudomonas aeruginosa*, 2 *Klebsiella aerogenes* e 1 *Actinobacillus porcitonsillarum*, não tendo nenhuma colônia das outras espécies.

Já no grupo EV, identificaram-se 8 colônias de *E. coli*, 8 *Streptococcus* spp., 4 *Enterococcus faecalis*, 2 *Staphylococcus* spp. e 1 *Bacillus cereus*.

Na tabela 1 é possível observar o perfil de isolamento geral das espécies em cada grupo, demonstrando a prevalência de *Streptococcus* spp. seguido de *E. coli*, *Staphylococcus* spp. e as demais espécies encontradas em menor frequência.

Tabela 1. Perfil de isolamento bacteriano geral por grupo de éguas: Éguas sem endometrite (ES, n = 7), Éguas com endometrite (EE, n = 5) e Éguas virgens (EV, n = 5)

ESPÉCIES	GRUPOS		
	ES (7 éguas)	EE (5 éguas)	EV (5 éguas)
<i>Escherichia coli</i>	6	9	8
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	3	4	1
<i>Streptococcus uberis</i>	1	1	0
<i>Streptococcus pluranimalium</i>	5	0	0
<i>Streptococcus thoraltensis</i>	4	1	0
<i>Streptococcus equi</i>	2	1	1
<i>Streptococcus gallolyticus</i>	0	3	2
<i>Streptococcus lutetiensis</i>	0	0	2
<i>Streptococcus infantarius</i>	0	0	2
<i>Staphylococcus delphini</i>	1	0	0
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1	1	2
<i>Staphylococcus gallinarum</i>	2	0	0
<i>Staphylococcus cohnii</i>	1	0	0
<i>Staphylococcus schleiferi</i>	0	1	0
<i>Enterococcus faecalis</i>	0	0	4
<i>Bacillus cereus</i>	0	0	1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	2	0
<i>Klebsiella aerogenes</i>	2	2	0
<i>Actinobacillus porcitasillarum</i>	0	1	0
<i>Citrobacter amalonaticus</i>	1	0	0
TOTAL	29	26	23

Considerando o total de colônias isoladas e identificadas em nível de espécie em cada grupo, observou-se que, entre as éguas clinicamente saudáveis (ES e EV), no grupo ES, das 29 colônias isoladas, 20 (68,97%) pertenciam ao filo Firmicutes, classe Bacilli, e 9 (31,03%) ao filo Proteobacteria, classe Gammaproteobacteria, enquanto no grupo EV, de um total de 23 colônias, 15 (65,22%) foram classificadas como Firmicutes, Bacilli, e 8 (34,78%) como Proteobacteria, classe Gammaproteobacteria. Já no grupo EE, das 26 colônias isoladas, observou-se predominância de Proteobacteria, classe Gammaproteobacteria (14/26 – 53,85%), em relação às Firmicutes, classe Bacilli (12/26 – 46,15%).

Quanto ao crescimento bacteriano em cada meio de cultivo, AS foi o que mais apresentou crescimento, totalizando 29 colônias (29/92 – 31,52%). Destas, 22 foram identificadas em nível de espécie (22/29 – 75,86%), 5 classificadas como NI (5/29 – 17,24%) e 2 não foram enviadas para identificação (2/29 – 6,9%). O ágar MC apresentou 17 colônias no total (17/92 – 18,48%), das quais 15 foram identificadas (15/17 – 88,24%) e 2 NI (2/17 – 11,76%). No MRSA, foram isoladas 16 colônias bacterianas (16/92 – 17,39%), sendo 14 identificadas (14/16 – 87,5%), 1 NI (1/16 – 6,25%) e 1 não enviada para identificação (1/16 – 6,25%). Em MRSMA e MRSP foram isoladas 15 colônias em cada (15/92 – 16,3%). No MRSMA foram identificadas 13 colônias (13/15 – 86,67%), além de 1 NI (1/15 – 6,67%) e 1 não enviada (1/15 – 6,67%), enquanto no MRSP houve 14 identificadas (14/15 – 93,33%) e 1 NI (6,67%). A distribuição do número de bactérias isoladas por meio de cultivo encontra-se apresentada na Tabela 2.

Tabela 2. Quantidade de bactérias identificadas, não identificadas e não enviadas para identificação, quanto ao meio de cultivo, sendo: AS (Ágar Sangue, n = 29), MC (Ágar MacConkey, n = 17), MRS (Ágar MRS em Aerobiose, n = 16), MRSMA (Ágar MRS em Microaerofilia, n = 15) e MRSP (Ágar MRS em Profundidade em Anaerobiose, n = 15)

ESPÉCIES	MEIOS DE CULTIVO				
	AS	MC	MRSA	MRSMA	MRSP
<i>Escherichia coli</i>	10	11	1	1	0
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	3	0	2	1	2
<i>Streptococcus uberis</i>	2	0	0	0	0
<i>Streptococcus pluranimalium</i>	0	0	2	1	2
<i>Streptococcus thoraltensis</i>	0	0	2	2	1
<i>Streptococcus equi</i>	0	0	0	1	3
<i>Streptococcus gallolyticus</i>	0	0	1	1	3
<i>Streptococcus lutetiensis</i>	0	0	1	1	0
<i>Streptococcus infantarius</i>	0	0	0	1	1
<i>Staphylococcus delphini</i>	1	0	0	0	0
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0	0	3	0	1
<i>Staphylococcus gallinarum</i>	0	0	1	1	0
<i>Staphylococcus cohnii</i>	0	0	0	1	0
<i>Staphylococcus schleiferi</i>	0	0	0	1	0
<i>Enterococcus faecalis</i>	1	0	1	1	1
<i>Bacillus cereus</i>	1	0	0	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	1	0	0	0
<i>Klebsiella aerogenes</i>	2	2	0	0	0
<i>Actinobacillus porcitonsillarum</i>	1	0	0	0	0
<i>Citrobacter amalonaticus</i>	0	1	0	0	0
<i>NÃO IDENTIFICADAS</i>	5	2	1	1	1
<i>NÃO ENVIADAS</i>	2	0	1	1	0
TOTAL	29	17	16	15	15

4.2 Resistência Antimicrobiana

Dos 74 microrganismos identificados, 40 foram submetidos ao teste de resistência antimicrobiana pelo método de disco difusão em ágar MH, sendo 15 do grupo ES, 13 EE e 12 EV. Foram utilizados 9 princípios antimicrobianos de 7 classes distintas, sendo elas: aminoglicosídeos, cefalosporinas, fluoroquinolonas, β -lactâmicos, macrolídeos, sulfonamidas e tetraciclinas. Com relação a multirresistência, 21 bactérias (52,5%) apresentaram resistência a 3 ou mais classes de antibióticos.

Dos antibióticos utilizados, o SUT foi o que apresentou maior eficácia na inibição das bactérias isoladas (90% - 36/40), seguido por CTF (85% - 34/40). Já a ERI foi o princípio que menos inibiu (17,5% - 7/40), seguido da PEN (25% - 10/30). Na tabela 3, é possível observar o perfil de resistência geral a cada princípio utilizado.

Tabela 3. Distribuição dos perfis de sensibilidade e resistência dos isolados bacterianos aos antimicrobianos testados, independentemente dos grupos experimentais (n = 40)

CLASSE	ANTIMICROBIANO	SENSIBILIDADE n (%)	RESISTÊNCIA n (%)
Aminoglicosídeos	Amicacina (AMI)	30 (75%)	10 (25%)
	Gentamicina (GEN)	31 (77,5%)	9 (22,5%)
Cefalosporinas	Ceftiofur (CTF)	34 (85%)	6 (15%)
	Ceftriaxona (CRO)	31 (77,5%)	9 (22,5%)
Fluoroquinolonas	Enrofloxacina (ENO)	31 (77,5%)	9 (22,5%)
β-lactâmicos	Penicilina (PEN)	10 (25%)	30 (75%)
Macrolídeos	Eritromicina (ERI)	7 (17,5%)	33 (82,5%)
Sulfonamidas	Cotrimoxazol (SUT)	36 (90%)	4 (10%)
Tetraciclinas	Tetraciclina (TET)	31 (77,5%)	9 (22,5%)
TOTAL (n = 40 - 100%)			

Quanto ao perfil de resistência antimicrobiana por grupo, em ES os princípios mais eficazes foram o CTF e SUT, ambos com 93% (14/15) das bactérias sensíveis. Por outro lado, ERI foi o antibiótico menos eficaz, com apenas 20% (3/15) das bactérias sendo sensíveis. Os resultados podem ser observados na tabela 4. Além disso, dos 15 microrganismos testados, 8 foram multirresistentes.

Tabela 4. Distribuição dos perfis de sensibilidade e resistência dos isolados bacterianos aos antimicrobianos testados no grupo de éguas sem endometrite (ES) (n = 15)

CLASSE	ANTIMICROBIANO	SENSIBILIDADE n (%)	RESISTÊNCIA n (%)
Aminoglicosídeos	Amicacina (AMI)	10 (67%)	5 (33%)
	Gentamicina (GEN)	11 (73%)	4 (27%)
Cefalosporinas	Ceftiofur (CTF)	14 (93%)	1 (7%)
	Ceftriaxona (CRO)	13 (87%)	2 (13%)
Fluoroquinolonas	Enrofloxacina (ENO)	11 (73%)	4 (27%)
β-lactâmicos	Penicilina (PEN)	5 (33%)	10 (67%)
Macrolídeos	Eritromicina (ERI)	3 (20%)	12 (80%)
Sulfonamidas	Cotrimoxazol (SUT)	14 (93%)	1 (7%)
Tetraciclinas	Tetraciclina (TET)	11 (73%)	4 (27%)
TOTAL (n = 15 - 100%)			

Para as éguas do grupo EE, SUT foi o antibiótico mais eficaz, inibindo 92% (12/13) das bactérias, seguido por CTF, CRO e TET, todos com 85% das bactérias sendo inibidas (11/13). Assim como em ER, ERI foi o princípio menos eficaz, com apenas 2 bactérias apresentando sensibilidade (15%) (tabela 5). Neste grupo, houve 7 bactérias multirresistentes.

Tabela 5. Distribuição dos perfis de sensibilidade e resistência dos isolados bacterianos aos antimicrobianos testados no grupo de éguas com endometrite (EE) (n = 13)

CLASSE	ANTIMICROBIANO	SENSIBILIDADE n (%)	RESISTÊNCIA n (%)
Aminoglicosídeos	Amicacina (AMI)	10 (77%)	3 (23%)
	Gentamicina (GEN)	10 (77%)	3 (23%)
Cefalosporinas	Ceftiofur (CTF)	11 (85%)	2 (15%)
	Ceftriaxona (CRO)	11 (85%)	2 (15%)
Fluoroquinolonas	Enrofloxacina (ENO)	9 (69%)	4 (31%)
β-lactâmicos	Penicilina (PEN)	4 (31%)	9 (69%)
Macrolídeos	Eritromicina (ERI)	2 (15%)	11 (85%)
Sulfonamidas	Cotrimoxazol (SUT)	12 (92%)	1 (8%)
Tetraciclinas	Tetraciclina (TET)	11 (85%)	2 (15%)
TOTAL (n = 13 - 100%)			

Por fim, em EV, ENO foi o princípio mais eficaz, com 92% das bactérias sendo sensíveis (11/12) e PEN o menos eficaz, com apenas 1 bactéria sendo sensível (8%). Neste grupo, 6 dos microrganismos apresentaram multirresistência. É possível observar o perfil de resistência antimicrobiana das bactérias isoladas no grupo EV na tabela 6.

Tabela 6. Distribuição dos perfis de sensibilidade e resistência dos isolados bacterianos aos antimicrobianos testados no grupo de éguas virgens (EV) (n = 12)

CLASSE	ANTIMICROBIANO	SENSIBILIDADE n (%)	RESISTÊNCIA n (%)
Aminoglicosídeos	Amicacina (AMI)	10 (83%)	2 (17%)
	Gentamicina (GEN)	10 (83%)	2 (17%)
Cefalosporinas	Ceftiofur (CTF)	9 (75%)	3 (25%)
	Ceftriaxona (CRO)	7 (58%)	5 (42%)
Fluoroquinolonas	Enrofloxacina (ENO)	11 (92%)	1 (8%)
β-lactâmicos	Penicilina (PEN)	1 (8%)	11 (92%)
Macrolídeos	Eritromicina (ERI)	2 (17%)	10 (83%)
Sulfonamidas	Cotrimoxazol (SUT)	10 (83%)	2 (17%)
Tetraciclinas	Tetraciclina (TET)	9 (75%)	3 (25%)
TOTAL (n = 12 - 100%)			

5 DISCUSSÃO

No presente estudo, o isolamento bacteriano a partir de amostras de LUBV de éguas sem endometrite (ES), com endometrite (EE) e virgens evidenciou uma microbiota uterina diversa, composta por 20 espécies bacterianas pertencentes majoritariamente aos filos Firmicutes (classe Bacilli) e Proteobacteria (classe Gammaproteobacteria). Em éguas clinicamente saudáveis (ES e EV), observou-se maior representação de Firmicutes, enquanto no grupo EE houve predominância de Proteobacteria, padrão compatível com estados de disbiose uterina previamente descritos na literatura (Virendra *et al.*, 2024). Esses achados corroboram o conceito de que a resistência à endometrite não está relacionada à esterilidade uterina, mas à manutenção de um microbioma equilibrado (Holyoak *et al.*, 2022; Heil *et al.*, 2023).

Embora o grupo ES tenha apresentado maior número absoluto de isolamentos, esse resultado deve ser interpretado com cautela em função do maior número de animais amostrados e da variabilidade individual, reconhecendo-se a limitação estatística imposta pelo tamanho amostral reduzido. Ainda que sem diferença estatística, a maior proporção de espécies distintas observadas em ES (65%), seguida por EE (60%) e EV (45%), sugere uma tendência de maior diversidade bacteriana em éguas submetidas a manejo reprodutivo repetido, como coberturas, IAs e manipulações intrauterinas, o que aumenta a exposição a microrganismos ao longo das estações reprodutivas (LeBlanc; Magsig; Stromberg, 2007; Woodward *et al.*, 2012; Canisso; Segabinazzi; Fedorka, 2020).

A composição microbiana observada em ES e EV caracterizou-se pela ausência de patógenos classicamente associados à endometrite crônica, como *Pseudomonas aeruginosa*, e pela presença de bactérias pertencentes a grupos descritos como potenciais BAL, incluindo espécies de *Enterococcus* (Silva *et al.*, 2024; Silva *et al.*, 2026). Nesse contexto, destaca-se o isolamento de *Enterococcus faecalis* em uma égua virgem, visto que espécies de *Enterococcus* têm sido relatadas em pesquisas sobre a microbiota reprodutiva de equinos e demonstraram características como autoagregação, aderência ao epitélio e atividade antimicrobiana contra microrganismos patogênicos, reforçando seu interesse como candidata em formulações probióticas, embora possam também ocorrer como patógenos oportunistas (Fraga *et al.*, 2008; Silva *et al.*, 2024; Silva *et al.*, 2026). No entanto, a ausência de sequenciamento genômico e de testes funcionais no presente estudo impede a classificação dessas cepas como probióticas, limitando sua interpretação funcional e reforçando a necessidade de investigações futuras.

O perfil taxonômico identificado é consistente com estudos que descrevem Firmicutes e Proteobacteria como os principais filos do trato reprodutivo equino, independentemente do

método de amostragem (Holyoak *et al.*, 2022; Heil *et al.*, 2023; Gil-Miranda *et al.*, 2024; Virendra *et al.*, 2024). Diferenças nas proporções relativas entre os estudos podem ser atribuídas às metodologias empregadas, uma vez que técnicas baseadas em cultivo, como o LUBV, favorecem microrganismos viáveis e cultiváveis, especialmente bactérias facultativas aeróbias (Thomson *et al.*, 2022; Heil *et al.*, 2023).

Holyoak *et al.* (2022) relataram predominância do filo Proteobacteria (48%), seguido por Firmicutes (30%), no microbioma uterino de éguas clinicamente saudáveis. Ainda, foram identificados representantes dos filos Bacteroidetes (12%), Actinobacteria (5%), Tenericutes (2%) e Kiritimatiellaeota (1%), sendo observadas variações nas proporções de acordo com a região geográfica dos animais avaliados. Em contrapartida, Virendra *et al.* (2024) observaram, em éguas clinicamente saudáveis, predominância de Firmicutes seguida por Proteobacteria, enquanto em éguas com endometrite foi verificada inversão dessa proporção, achados semelhantes ao observado neste estudo. Ademais, à exceção de Proteobacteria, os demais filos relatados no estudo de Holyoak *et al.* (2022) não apresentaram representantes entre os isolados obtidos, o que pode ser atribuído às limitações da técnica de cultivo convencional utilizada nesta pesquisa.

A predominância de Firmicutes, especialmente da classe Bacilli, ordem Lactobacillales e família Streptococcaceae, com destaque para o gênero *Streptococcus*, corrobora estudos que apontam esses microrganismos como os mais frequentemente isolados no trato reprodutivo equino, tanto em éguas saudáveis quanto naquelas com endometrite (Carneiro *et al.*, 2021; Holyoak *et al.*, 2022; Heil *et al.*, 2023; Gil-Miranda *et al.*, 2024; Virendra *et al.*, 2024). A ampla distribuição de *Streptococcus* spp. entre os grupos avaliados reforça o conceito de que a endometrite está mais associada a alterações qualitativas do microbioma, ou seja, à disbiose, do que à simples presença bacteriana (Canisso; Segabinazzi; Fedorka, 2020).

A identificação de *Streptococcus dysgalactiae*, especialmente em EE, está de acordo com achados que associam essa espécie à endometrite equina, ainda que com baixa frequência (Torres *et al.*, 2022). Em contraste, a detecção exclusiva de *S. pluranimalium* em ES pode refletir colonização oportunista sem necessariamente desencadear inflamação clínica, hipótese já sugerida para espécies menos estudadas do gênero (Pan *et al.*, 2018). A presença de *S. gallolyticus*, *S. lutetiensis* e *S. infantarius* em EV reforça a noção de que o útero equino, mesmo em éguas virgens, não é estéril, mas abriga uma microbiota transitória ou residente de baixa patogenicidade (Heil; Paccamonti; Sones, 2019; Holyoak *et al.*, 2022; Virendra *et al.*, 2024).

O isolamento de *Streptococcus equi* nos três grupos avaliados, com maior frequência em éguas resistentes à endometrite, merece consideração específica. Embora *S. equi* subsp. *equi*

seja classicamente reconhecido como o agente etiológico do garrotinho, importante enfermidade nos equinos, sua subespécie *zooepidemicus* é amplamente descrita como comensal oportunista das mucosas respiratória e genital dos equinos, podendo atuar como patógeno uterino sob condições favoráveis, como falhas no mecanismo de defesa uterina ou inflamação pré-existente (Díaz-Bertrana *et al.* 2021; Torres *et al.*, 2022), sendo importante a diferenciação por métodos moleculares. Estudos prévios demonstram que cepas de *S. equi* subsp. *zooepidemicus*, frequentemente associada a quadros de endometrite, apresentam ampla variabilidade de virulência, o que pode explicar sua presença tanto em úteros clinicamente saudáveis quanto em quadros de endometrite (Gil-Miranda *et al.*, 2024).

A detecção de *Escherichia coli* em todos os grupos confirma seu papel como bactéria oportunista relevante no útero equino, frequentemente associada à endometrite persistente, especialmente em função de sua capacidade de formação de biofilme e resistência antimicrobiana, embora sua presença isolada não determine necessariamente doença (Ferris *et al.*, 2016; Canisso; Segabinazzi; Fedorka, 2020; Díaz-Bertrana *et al.*, 2021; Gil-Miranda *et al.*, 2024). Os *Staphylococcus* spp. identificados refletem a diversidade desse gênero no trato reprodutivo equino, sendo descritos como patógenos oportunistas, especialmente em contextos de inflamação crônica ou imunidade uterina comprometida (LeBlanc; Causey, 2009; Blanc *et al.*, 2025).

As bactérias isoladas em menor frequência, como *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella aerogenes*, *Citrobacter amalonaticus* e *Actinobacillus porcitasillarum*, pertencentes majoritariamente ao filo Proteobacteria, são descritas como microrganismos oportunistas do trato reprodutivo equino, com relevância clínica em casos de inflamação persistente e histórico de intervenções reprodutivas ou tratamentos antimicrobianos prévios (Ferris *et al.*, 2017; Canisso; Segabinazzi; Fedorka, 2020; Díaz-Bertrana *et al.*, 2021). A identificação exclusiva de *P. aeruginosa* em EE, ainda que pontual, é compatível com sua associação clássica a quadros de endometrite refratária ao tratamento (Gil-Miranda *et al.*, 2021), vale ressaltar que essa bactéria foi isolada de uma égua com frequentes falhas de fertilização e presença de LIU, mesmo após tratamentos com antibióticos baseados em testes de antibiograma, demonstrando o potencial patogênico de tal espécie e chamando atenção para a importância do desenvolvimento de métodos alternativos de tratamento, como os probióticos, que vêm sendo descritos como eficazes na inibição de patógenos (Silva *et al.*, 2024; Bernabe *et al.*, 2025).

As limitações observadas quanto à recuperação bacteriana refletem aspectos metodológicos inerentes à microbiologia convencional baseada em cultivo, que pode subestimar microrganismos de crescimento lento, exigentes ou presentes em baixa abundância,

especialmente na presença de espécies dominantes (Sathe *et al.*, 2017; Holyoak *et al.*, 2022; Heil *et al.*, 2023). Ademais, a discrepância entre o número de colônias isoladas e aquelas efetivamente identificadas por MALDI-TOF ou Vitek pode estar relacionada à baixa representatividade de determinadas espécies nas bases de dados, além de variações fenotípicas intraespécie (Seng *et al.*, 2009).

Quanto aos meios de cultivo, a maior recuperação bacteriana em ágar sangue confirma sua versatilidade como meio enriquecido e não seletivo, capaz de sustentar o crescimento de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, fastidiosas e não fastidiosas, além de permitir a avaliação de padrões hemolíticos relevantes do ponto de vista diagnóstico. Em contraste, o crescimento restrito observado em ágar MacConkey reflete adequadamente sua seletividade para bactérias Gram-negativas, reforçando a importância do uso combinado de meios seletivos e não seletivos para ampliar o espectro de recuperação bacteriana (Walter *et al.*, 2012; Ferris *et al.*, 2017). A utilização de meios MRS sob diferentes condições de oxigenação favoreceu a recuperação de bactérias aerotolerantes e microaerófilas, destacando o papel da atmosfera de incubação na composição do perfil de isolamento.

Quanto ao perfil de sensibilidade antimicrobiana, os resultados deste estudo confirmam um cenário preocupante de resistência entre bactérias isoladas do útero de éguas, reforçando a relevância clínica da caracterização do perfil de sensibilidade no manejo reprodutivo equino. Mais da metade dos isolados testados (21/40 – 52,5%) apresentou multirresistência, definida como resistência a três ou mais classes de antimicrobianos, achado compatível com relatos prévios que descrevem o aumento progressivo da resistência bacteriana em infecções uterinas equinas (Benko *et al.*, 2015; Ferris *et al.*, 2016; Díaz-Bertrana *et al.*, 2021).

As elevadas taxas de sensibilidade observadas para sulfametoxzol-trimetoprim (SUT) e ceftiofur (CTF) indicam que alguns antimicrobianos ainda permanecem eficazes frente a bactérias uterinas, embora a resistência expressiva à penicilina (PEN) e à eritromicina (ERI) seja alarmante. Essa resistência difusa, especialmente a β -lactâmicos e macrolídeos, pode estar associada ao uso repetido e empírico desses fármacos na prática clínica (Blanc *et al.*, 2025).

A elevada taxa de multirresistência observada está em consonância com os achados de Benko *et al.* (2015), que relataram alta frequência de cepas multirresistentes de *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* e *Escherichia coli*, principais agentes associados, respectivamente, à endometrite equina aguda e crônica. Esses autores destacam que o uso repetitivo de antibióticos no trato reprodutivo favorece a seleção de cepas resistentes, sobretudo em éguas submetidas a múltiplas intervenções reprodutivas.

No presente estudo, o SUT apresentou a maior eficácia global, inibindo 90% dos microrganismos testados, independentemente do grupo experimental. Esse achado é relevante, uma vez que as sulfonamidas potencializadas ainda são descritas como opções terapêuticas eficazes contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas associadas à endometrite equina, incluindo *E. coli* (Frontoso *et al.*, 2008). A elevada sensibilidade observada pode ser atribuída ao mecanismo de ação sinérgico dessa associação, que atua em etapas sequenciais da síntese do ácido fólico, reduzindo a probabilidade de sobrevivência bacteriana (Alekshun; Levy, 2007). Entretanto, a literatura descreve que a resistência ao SUT pode emergir por mutações cromossômicas ou superexpressão enzimática, reforçando a necessidade de uso racional e baseado em testes de sensibilidade (Alekshun; Levy, 2007).

Os aminoglicosídeos amicacina (AMI) e gentamicina (GEN) apresentaram sensibilidade geral moderada a elevada (75% e 77,5%, respectivamente), resultados compatíveis com estudos que relatam eficácia variável desses antimicrobianos em infecções do trato reprodutivo equino (Díaz-Bertrana *et al.*, 2021). A maior eficácia da GEN em isolados de éguas virgens pode refletir menor pressão seletiva antimicrobiana nesse grupo, embora a presença de resistência em parcela relevante dos isolados indique cautela no uso empírico (Frontoso *et al.*, 2008).

A tetraciclina (TET) apresentou sensibilidade relativamente elevada, indicando que essa classe ainda mantém atividade contra diversos microrganismos uterinos. No entanto, a resistência observada em parte dos isolados pode estar associada a mecanismos já descritos em Enterobacteriales, *Streptococcus* spp. e *Staphylococcus* spp., como bombas de efluxo e proteínas de proteção ribosomal (Alekshun; Levy, 2007; Vila; Martí; Sánchez-Céspedes, 2007; Benko *et al.*, 2015).

A enrofloxacina (ENO) demonstrou elevada eficácia geral, particularmente em isolados de éguas virgens, sugerindo menor exposição prévia a pressões seletivas. Contudo, a presença de resistência em aproximadamente 20–30% dos isolados evidencia a emergência de resistência às fluoroquinolonas, fenômeno já descrito em estudos anteriores e que pode comprometer a utilidade clínica dessa classe quando utilizada de forma indiscriminada (Albihn; Båverud; Magnusson, 2003; Frontoso *et al.*, 2008; Benko *et al.*, 2015).

Entre as cefalosporinas, o CTF apresentou elevada eficácia, corroborando estudos que o descrevem como uma das opções mais efetivas no tratamento da endometrite bacteriana, especialmente frente a *Streptococcus* spp. e Enterobacteriales (Torres *et al.*, 2022; Beckers *et al.*, 2025). Apesar disso, a literatura alerta para o uso criterioso desse antimicrobiano, devido à sua importância crítica na medicina veterinária e ao risco de resistência cruzada (OMS, 2024). A ceftriaxona (CRO) apresentou desempenho semelhante, embora com menor eficácia em

isolados de éguas virgens, reforçando a variabilidade de resposta conforme o agente e o histórico de exposição antimicrobiana (Díaz-Bertrana *et al.*, 2021).

A penicilina e a eritromicina apresentaram os piores desempenhos, com elevadas taxas de resistência em todos os grupos. A baixa eficácia da PEN sugere ampla disseminação de mecanismos clássicos de resistência aos β -lactâmicos, como produção de β -lactamases e alterações em proteínas ligadoras de penicilina, achado consistente com estudos prévios, inclusive em éguas sem histórico de tratamento antimicrobiano (Frontoso *et al.*, 2008; Alekshun; Levy, 2007). De forma semelhante, a elevada resistência à ERI confirma que os macrolídeos não devem ser considerados opções terapêuticas empíricas para infecções uterinas equinas (Frontoso *et al.*, 2008).

As diferenças observadas entre os grupos experimentais indicam que a resistência antimicrobiana não está exclusivamente relacionada à exposição prévia a antibióticos intrauterinos, uma vez que isolados de éguas virgens também apresentaram elevados níveis de resistência, sugerindo disseminação ambiental de cepas resistentes, conforme o conceito de Saúde Única (Blanc *et al.*, 2025). Por outro lado, os perfis semelhantes entre éguas com e sem endometrite reforçam que a persistência da inflamação uterina pode estar associada a mecanismos como evasão imunológica e formação de biofilmes, e não apenas ao perfil de resistência antimicrobiana.

Nesse contexto, os resultados reforçam a necessidade de substituir o tratamento empírico por abordagens baseadas em identificação bacteriana e antibiograma, além de estimular a investigação de estratégias terapêuticas alternativas ou adjuvantes, como o uso de probióticos, que têm demonstrado potencial na modulação do microbioma uterino e na inibição de patógenos multirresistentes (Guo; Holyoak; DeSilva, 2025; Silva *et al.*, 2024; Bernabe *et al.*, 2025; Silva *et al.*, 2026).

6 CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou que o útero de éguas sem endometrite, com endometrite e virgens abriga uma microbiota bacteriana diversa, reforçando que esse ambiente não é estéril. A comparação entre os grupos evidenciou diferenças no perfil microbiano, com maior predominância de Firmicutes em éguas clinicamente saudáveis e de Proteobacteria em éguas acometidas, sugerindo associação entre desequilíbrios da microbiota uterina e a endometrite. Quanto aos meios de cultivo, o ágar sangue mostrou maior eficiência no isolamento bacteriano, enquanto os meios seletivos atuaram de forma complementar, embora o cultivo convencional tenha se mostrado limitado para a caracterização completa da microbiota uterina, evidenciando a necessidade de abordagens complementares, como o sequenciamento. Por fim, a elevada frequência de resistência antimicrobiana observada reforça a importância da identificação bacteriana associada ao antibiograma e da busca por estratégias alternativas no manejo da endometrite equina.

REFERÊNCIAS

- ABCCM – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS CRIADORES DO CAVALO
MANGALARGA MARCHADOR. **24 de novembro:** Dia Nacional do criador de Cavalos.
Belo Horizonte, 2023. Disponível em: <https://www.abccmm.org.br/leitura?id=11235>. Acesso em: 10 nov. 2025.
- ALBIHN, A.; BÅVERUD, V.; MAGNUSSON, U. Uterine Microbiology and Antimicrobial Susceptibility in Isolated Bacteria from Mares with Fertility Problems. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 44, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1186/1751-0147-44-121>.
- ALEKSHUN, M. N.; LEVY, S. B. Molecular Mechanisms of Antibacterial Multidrug Resistance. **Cell**, v. 128, p. 1037-1050, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.03.004>.
- AMORIM, M. D. *et al.* Comparision of Clinical Signs, Endometrial Culture, Endometrial Cytology, Uterine Low-Volume Lavage, and Uterine Biopsy and Combinatiois in the Diagnosis of Equine Endometritis. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 44, p. 54-61, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2015.10.012>.
- AROUTCHEVA, A. *et al.* Defense factors of vaginal lactobacilli. **American Journal of Obstetrics & Gynecology**, v. 185, p. 375-379, 2001. DOI: <https://doi.org/10.1067/mob.2001.115867>.
- BAIN, A. M. The rôle of infection in infertility in the thoroughbred mare. **The Veterinary Record**, n. 78, p. 168-173, 1966. DOI: <https://doi.org/10.1136/vr.78.5.168>.
- BAUER, A. W.; KIRBY, W. M. M.; SHERRIS, J. C. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 45, p. 493-496, 1966. DOI: https://doi.org/10.1093/ajcp/45.4_ts.493.
- BECKERS, K. F. *et al.* Effects of Intra-uterine Ceftiofur on the Equine Uterine Microbiome. **Veterinary Sciences**, v. 12, 2025. DOI: <https://doi.org/10.3390/vetsci12090837>.
- BEEHAN, D. P. *et al.* The evaluation of biofilm-forming potential of *Escherichia coli* collected from the equine female reproductive tract. **Journal of Equine Veterinary Science**, n. 35, p. 935-939, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2015.08.018>.
- BENKO, T. *et al.* Incidence of bacterial pathogens in equine uterine swabs, their antibiotic resistance patterns, and selected reproductive indices in English thoroughbred mares during the foal heat cycle. **Veterinární medicina**, v. 60, p. 613-620, 2015. DOI: <https://doi.org/10.17221/8529-VETMED>.
- BENNER, M. *et al.* How uterine microbiota might be responsible for a receptive, fertile endometrium. **Human Reproduction Update**, v. 24, p. 393-415, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/humupd/dmy012>.
- BERNABE, M. C. M. *et al.* Equine endometrial bacteria inhibition by metabolite and extracellular vesicles of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactiplantibacillus plantarum*. **Veterinary Research Communications**, v. 49, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11259-024-10626-3>.

BETTENCOURT, E. M. V. et al. **Reprodução em Equinos: Manual Prático.** 96 p.

Universidade de Évora, Évora, p. 47-52, 2018. Disponível em:

<http://hdl.handle.net/10174/26399>. Acesso em: 23 nov. 2025.

BLANC, F. C. et al. Antimicrobial and antibiofilm *in vitro* effect of Oxygen-ozone gas Against *Staphylococcus aureus*. **Research in Veterinary Science**, v. 194, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2025.105814>.

BUCZKOWSKA, J. et al. Endometrosis – significance for horse reproduction, pathogenesis, diagnosis, and proposed therapeutic methods. **Polish Journal of Veterinary Sciences**, v. 17, p. 547-554, 2014. DOI: <https://doi.org/10.2478/pjvs-2014-0083>.

CABRERA, T.; PASTORELLO, M.; ALVARENGA, M. A. Prevalência e perfil de sensibilidade bacteriana em éguas com endometrite. **Enciclopédia Biosfera**, v. 13, 2016. DOI: https://doi.org/10.18677/Enciclopedia_Biosfera_2016_087.

CANISSO, I. F.; SEGABINAZZI, L. G. T. M.; FEDORKA, C. E. Persistent breeding-induced endometritis in mares – a multifaceted challenge: from clinical aspects to immunopathogenesis and pathobiology. **Internacional Journal of Molecular Science**, v. 21, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21041432>.

CANISSO, I. F.; STEWART, J.; COUTINHO, M. A. S. Endometritis: Managing Persistent Post-Breeding Endometritis. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 32, p. 465-480, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2016.08.004>.

CARNEIRO, G. F. et al. Endometrite: resistência antimicrobiana e suas abordagens diagnósticas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 45, p. 492-499, 2021. DOI: <https://doi.org/10.21451/1809-3000.RBRA2021.066>.

CARNEIRO, G. F.; SILVA-FILHO, A. B.; CARNEIRO, L. C. Endometrite em éguas: diagnóstico e tratamentos convencionais e/ou alternativos. **Ciência Animal**, v. 30, p. 113-122, 2020.

DÍAZ-BERTRANA, M. L. et al Microbial prevalence and antimicrobial sensitivity in equine endometritis in field conditions. **Animals**, v. 11, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/ani11051476>.

FERRIS, R. A. Current understanding of bacterial biofilms and latente infections: A clinical perspective. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 41, p. 74-80, 2017.

FERRIS, R. A. et al. In Vitro Efficacy of Nonantibiotic Treatments on Biofilm Disruption of Gram-Negative Pathogens and an In Vivo Model of Infectious Endometritis Utilizing Isolates from the Equine Uterus. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 54, p. 631-639, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1128/jcm.02861-15>.

FERRIS, R. A. et al. Model of chronic equine endometritis involving a *Pseudomonas aeruginosa* biofilm. **Infection and Immunity**, v. 85, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1128/iai.00332-17>.

- FERRIS, R. A.; BOHN, A.; McCUE, P. M. Equine endometrial cytology: Collection techniques and interpretation. **Equine Veterinary Education**, v. 27, p. 316-322, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1111/eve.12280>.
- FRAGA, M. *et al.* Vaginal lactic acid bacteria in the mare: evaluation of the probiotic potential of native *Lactobacillus* spp. and *Enterococcus* spp. strains. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 93, p. 71-78, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10482-007-9180-4>.
- FRONTOSO, R. *et al.* Retrospective study of bacterial isolates and their antimicrobial susceptibilities in equine uteri during fertility problems. **Research in Veterinary Science**, v. 84, p. 1-6, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2007.02.008>.
- GARTNER, M. A. *et al.* Detection and Characterisation of *Lactobacillus* spp. in the Bovine Uterus and Their Influence on Bovine Endometrial Epithelial Cells *In Vitro*. **PLoS ONE**, v. 10, n. 3, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119793>.
- GIL-MIRANDA, A. *et al.* Reproductive Tract Microbiota of Mares. **Veterinary Sciences**, v. 11, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/vetsci11070324>.
- GUO, L.; HOLYOAK, R.; DESILVA U. Endometrial microbiome in mares with and without clinical endometritis. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 12. DOI: <https://doi.org/10.3389/fvets.2025.1588432>.
- HEIKKILA, M. P.; SARIS, P. J. Inhibition of *Staphylococcus aureus* by the commensal bacteria of human milk. **Journal of Applied Microbiology**, v. 95, p. 471-478, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2003.02002.x>.
- HEIL, B. A. *et al.* Effect of Sampling Method on Detection of the Equine Uterine Microbiome during Estrus. **Veterinary Sciences**, v. 10, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/vetsci10110644>.
- HEIL, B. A. *et al.* Metagenomic Characterization of the Equine Endometrial Microbiome During Anestrus. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 140, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2024.105134>.
- HEIL, B. A.; PACCAMONTI, D. L.; SONES, J. L. Role for the mammalian female reproductive tract microbiome in pregnancy outcomes. **Physiological Genomics**, v. 51, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00045.2019>.
- HOLYOAK, G. R. *et al.* The healthy equine uterus harbors a distinct core microbiome plus a rich and diverse microbiome that varies with geographical location. **Scientific Reports**, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-18971-6>.
- HOLYOAK, G. R.; LYMAN, C. C. The equine endometrial microbiome: A brief review. **American Journal of Biomedical Science & Research**, v. 11, 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.34297/AJBSR.2021.11.001689>.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Rebanho de Equinos (Cavalos)**, 2024. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/equinos/br>. Acesso em: 12 dez. 2024.

KATILA, T. Evaluation of diagnostic methods in equine endometritis. **Reproductive Biology**, v. 198, n. 1, p. 8, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.repbio.2016.06.002>.

LAURENCIO-SILVA, M. *et al.* In vitro probiotic potential of Lactobacillus spp. strains from the vagina of dairy cows. **Pastos y Forrajes**, Matanzas, v. 40, n. 3, p. 206-215, 2017.

LEBLANC, M. M. Advances in the diagnosis and treatment of chronic infectious and post-mating-induced endometritis in the mare. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 45, p. 21-27, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2010.01634.x>.

LEBLANC, M. M.; MAGSIG, J.; STROMBERG, A. J. Use of a low-volume uterine flush for diagnosing endometritis in chronically infertile mares. **PubMed**, v. 68, p. 403-412, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.04.038>.

LEBLANC, M.M.; CAUSEY, R. R. Clinical and Subclinical Endometritis in the Mare: Both Threats to Fertility. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 44, p. 10-22, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2009.01485.x>.

LECTION, J. *et al.* Inflammatory markers for differentiation of endometritis in the mare. **Equine Veterinary Journal**, v. 56, p. 678-687, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1111/evj.14058>.

MACHADO, G. A.; ARAÚJO, A. C. S.; MIRANDA, C. A. P. Endometrite equina: Uma revisão de literatura. **DSpace Doctum**, 2023. <http://hdl.handle.net/123456789/4733>.

MAGIORAKOS, A. P. et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 18, n. 3, p. 268–281, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x>.

MATTOS, F. S. *et al.* Efeito da antisepsia da genitália externa sobre a microbiota da fossa clitoriana, vestíbulo e útero de éguas. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 7, n. 2, p. 15161-15167, 2021. DOI: <https://doi.org/10.34117/bjdv7n2-235>.

MCCUE, P. M. *et al.* **Equine Reproduction**. 2nd ed. Ames, IA: Blackwell Publishing, 2011.

MORRIS, L. H. A.; McCUE, P. M.; AURICH, C. Equine endometritis: a review of challenges and new approaches. **Reproduction**, v. 160, n. 5, p. 95-110, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1530/REP-19-0478>.

OMS – ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Lista de patógenos bacterianos prioritários da OMS, 2024**: Patógenos bacterianos de importância para a saúde pública, com o objetivo de orientar a pesquisa, o desenvolvimento e as estratégias para prevenir e controlar a resistência antimicrobiana, 2024. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240093461>. Acesso em: 15 dez. 2025.

PAN, Y. *et al.* Characterization of *Streptococcus pluranimalium* from a cattle with mastites by whole genome sequencing and functional validation. **BMC Microbiology**, v. 18, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12866-018-1327-0>.

PASOLINI, M. P. *et al.* Endometritis and Infertility in the Mare – The Challenge in Equine Breeding Industry – A Review. In: Genital Infections and Infertility, 2016. DOI: <https://doi.org/10.5772/62461>.

PETER, S. *et al.* Influence of intrauterine administration of *Lactobacillus buchneri* on reproductive performance and pro-inflammatory endometrial mRNA expression of cows with subclinical endometritis. **Scientific Reports**, v. 8, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-22856-y>.

PIATTI, A. T.; MATEUS, H. B.; BACARO, V. B. G. Endometrite equina. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 9, n. 9, p. 26711-26724, 2023. DOI: <https://doi.org/10.34117/bjdv9n9-078>.

RICKETTS, S. W.; MACKINTOSH, M. E. Role of anaerobic bacteria in equine endometritis. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 35, p. 343-351, 1987.

RIDDLE, W. T.; LEBLANC, M. M.; STROMBERG, A. J. Relationships between uterine culture, cytology and pregnancy rates in a Thoroughbred practice. **Theriogenology**, v. 68, p. 395-402, 2007. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.05.050>.

RUSSO, R.; KARADJA, E.; SETA, F. Evidence-based mixture containing *Lactobacillus* strains and lactoferrin to prevent recurrent bacterial vaginosis: a double blind, placebo controlled, randomised clinical trial. **Beneficial Microbes**, v. 10, n. 1, p. 19-26, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3920/BM2018.0075>.

SANTOS, R. L.; ALESSI, A. C. **Patologia veterinária**. 2ed. Rio de Janeiro: Grupo Gen, Editora Roca Ltda., v. 1, 2016.

SATHE, S; LEIKEN, A.; PLUMMER, P. Metagenomic Sequencing of the Uterine Microbial Environment during Estrus and Early Pregnancy in Mares. **Clinical Theriogenology**, v. 9, 2017.

SENG, P. *et al.* Ongoing Revolution in bacteriology: routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. **Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 49, p. 543-551. DOI: <https://doi.org/10.1086/600885>.

SILVA, J. A. *et al.* Characterization of surface Properties and microbial activity of autochthonous lactic acid bacteria isolated from the reproductive tract of healthy mares. **Theriogenology**, v. 252, 2026. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2025.117760>.

SILVA, J. A. *et al.* Isolation of lactic acid bactéria from the reproductive tract of mares as potentially beneficial strains to prevent equine endometritis. **Veterinary Research Communications**, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11259-024-10295-2>.

SQUIRES, E. L. Embryo transfer challenges and perspectives. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 37, n. 2, p. 105-107, 2013.

THOMSON, P. *et al.* Characterization of Microbial Communities and Predicted Metabolic Pathways in the Uterus of Healthy Mares. **Open Veterinary Journal**, v. 12, p. 797-805, 2022. DOI: <https://doi.org/10.5455/OVJ.2022.v12.i6.3>.

TORRES, M. C. *et al.* *Streptococcus* spp. in Equines – Infection and Antimicrobial Susceptibility Profiles. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 50, 2022. DOI: <https://doi.org/10.22456/1679-9216.125109>.

TROEDSSON, M. H. T. Uterine clearance and resistance to persistent endometritis in the mare. **Theriogenology**, n. 52, p. 461-471, 1999. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0093-691x\(99\)00143-0](https://doi.org/10.1016/s0093-691x(99)00143-0).

TROEDSSON, M.H. T.; LIU, I. K.; CRABO, B. Sperm transport and survival in the mare. **Theriogenology**, v. 49, p. 905-915, 1998. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0093-691X\(98\)00040-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0093-691X(98)00040-5).

TROTTER, G. W.; McKINNON, A. O. Surgery for Abnormal Vulvar and Perineal Conformation in the Mare. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 4, p. 389-405, 1988. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0749-0739\(17\)30618-1](https://doi.org/10.1016/S0749-0739(17)30618-1).

VILA, J.; MARTÍ, S.; SÁNCHEZ-CÉSPEDES, J. Porins, efflux pumps and multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 59, p. 1210-1215, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1093/jac/dkl509>.

VIRENDRA, A. *et al.* Metagenomic analysis unravels novel taxonomic differences in the uterine microbiome between healthy mares and mares with endometritis. **Veterinary Medicine and Science**, v. 10, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1002/vms3.1369>.

WALTER, J. *et al.* Cytological diagnosis of endometritis in the mare: Investigations of sampling techniques and relation to bacteriological results. **Animal Reproduction Science**, v. 132, p. 178-186, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.05.012>.

WOODWARD, E. M. *et al.* Susceptibility to persistente breeding-induced endometritis in the mare: relationship to endometrial biopsy score and age, and variations between seasons. **Theriogenology**, v. 78, p. 495-501, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.02.028>.

ZHAO, L. I. J. *et al.* Treatments for Endometritis in Mares Caused by *Streptococcus equi* Subspecies *zooepidemicus*: A Structured Literature Review. **Journal of Equine Veterinary Science**, n. 102, p. 103-430, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2021.103430>.