

AGRADECIMENTOS

Para que tenha sido atingido este objectivo, houve várias pessoas que dedicaram o seu tempo, trabalho, dedicação, e que me apoiaram de forma incondicional. A elas dedico estas breves linhas. Em primeiro lugar gostaria de expressar a minha elevada estima, consideração e apreço ao meu orientador de estágio, Dr. Luís Lima Lobo, que durante o período de estágio, inesgotavelmente paciente, me transmitiu vastos conhecimentos e ensinamentos, na área profissional, e na área humanitária. Sem a sua preciosa ajuda esta dissertação não teria acontecido. Por tudo isto queria expressar o meu mais especial e sincero agradecimento.

Em segundo plano, e não menos importante, ao meu co-orientador académico, Dr. Fausto Brandão, que durante todo o tempo do meu estágio curricular, e após este, durante a redacção da dissertação, se mostrou sempre disponível para esclarecer dúvidas, e demonstrou uma extraordinária eficácia na resolução de problemas, e na tomada de decisões para que em conjunto, conseguíssemos chegar aos objectivos propostos.

Um muito especial agradecimento, à Dra. Paula Brilhante Simões, representando o Laboratório INNO, especializado em medicina veterinária, ao demonstrar a inigualável simpatia e disponibilidade para me apoiar em questões de ordem profissional, relativamente ao processamento e envio das amostras enviadas para o laboratório. Refiro ainda que, de forma absolutamente desinteressada e voluntariosa suportou as despesas inerentes ao processamento integral das amostras deste pequeno estudo, realizando os isolamentos, culturas e antibiogramas. Assim, e de uma forma eternamente grata, expresso a mais alta consideração a todo o staff do Laboratório INNO.

Estou imensamente grato por ter tido a magnífica oportunidade de conhecer o Dr. Mário Santos, que me proporcionou esta experiência no Hospital Veterinário do Porto, e me fez repensar a visão da medicina veterinária. Sem dúvida que quer no âmbito pessoal, quer no profissional, tem uma excepcional e diferente visão de negócio enquanto prestador de serviços de saúde de alta qualidade, e, que de forma definitiva, me marcará bastante, na minha caminhada evolutiva para me tornar... médico veterinário.

Gostaria igualmente de agradecer às pessoas que me ajudaram diariamente na elaboração deste trabalho, e que de uma forma ou de outra, deram o seu importante contributo para a realização do mesmo. Assim agradeço ao: Dr. André Pereira, que foi desde o início para mim uma inspiração, pelo seu profissionalismo, e elevado conhecimento técnico; Dr Lénio Ribeiro, pela sua forma peculiar de estar na vida, e pelos inteligentes, críticos e por isso pertinentes comentários, contribuindo assim para um enriquecimento profissional deste trabalho; Dr. Hugo Gregório, pelo seu inequívoco método, disciplina de trabalho, e constante actualização de conhecimentos; Dr. Rui Ferreira, pela forma descontraída de partilha de conhecimento; colegas de estágio que se demonstraram sempre disponíveis para colaborar comigo aos mais diversos níveis; e todo o pessoal auxiliar, que constitui o pilar de funcionamento do hospital, e que de uma forma activa colaboraram nos procedimentos necessários não só relacionados com este estudo, mas com todas as questões relacionadas com o meu período de estágio curricular. Sem eles nada seria possível.

Fica também um agradecimento muito especial à Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias (FMV-ULHT), e em especial à Prof.^a Dra. Laurentina Pedroso, que indiscutivelmente esteve prestável para todas as situações que solicitei, com a brevidade e eficácia que são já o apanágio do Departamento.

Queria por fim agradecer à minha Mãe e família, que em todos os momentos, bons e menos bons, me apoiaram de forma estremosa e incondicional, quer a nível pessoal, quer profissional, ajudando-me cada dia a refinar o meu carácter enquanto indivíduo, em espírito e corpo físico. Um magnânime agradecimento final ainda, à minha falecida Avó, que esteve ao meu lado, particularmente na tomada de decisões, e que sempre me motivou a investir e dedicar empenho aos meus objectivos, sem a ajuda da qual, jamais poderia ter alcançado, o sonho... de ser... no que me tornei.

RESUMO

Este estudo teve como objectivos, determinar quais são as entidades microbiológicas envolvidas no Complexo Hiperplasia Quística Endometrial - Piómetra, e eventualmente responsáveis por este tipo de patologia em Portugal, estabelecendo uma comparação com estudos prévios publicados que reflectem a realidade de outros países; determinar e documentar a ocorrência de fenómenos de resistência bacteriana para antibióticos utilizados por rotina, para terapia de situações clínicas de piómetra, no norte de Portugal; e ainda com base nos aspectos anteriores, concluir acerca do uso empírico e racional de antibióticos em situações de piómetra, identificando assim os agentes que não são eficazes no combate à infecção.

As entidades envolvidas nesta patologia, são na sua maioria *Escherichia coli*, sendo isolada de 58% da população em estudo. No entanto, foram isoladas outras bactérias em menor número de amostras, que não tinham sido previamente identificadas como infectantes neste tipo de patologia. Pode destacar-se *Peptostreptococcus anaerobius*, *Enterobacter aerogenes* e *Bacteroides fragilis*.

Embora com base numa amostra populacional estatisticamente não significativa, demonstrou-se no presente estudo, a ocorrência de resistência a antibióticos por parte dos microorganismos envolvidos nos quadros clínico de piómetra. Duas culturas revelaram-se multiresistentes, o que representa uma séria condicionante para sucesso terapêutico, e que pode apresentar repercussões a nível de Saúde Pública. Dos antibióticos que estavam descritos como eficazes, e que no presente estudo se demonstraram ineficazes no combate à infecção, destacam-se; a amoxicilina, a associação de amoxicilina e ácido clavulânico, a ampicilina, a cefalexina, a cefalotina, a cefazolina, a cefoxitina, a penicilina G e as sulfonamidas potenciadas.

Palavras chave: Antibióticos, Piómetra, *Escherichia coli*, multirresistentes.

ABSTRACT

This study had as objectives, to determine the microbiological agents involved in clinical Pyometra, establishing a comparison between the microbiological agents found in our study and in studies in other countries; evaluate the occurrence of antibiotic resistance in this clinical pathology, and to determine which antibiotic agents were effective against the bacterial agents involved.

In this study we isolated, in spite of the small sample, certain bacteria that showed resistance to several antibiotics, and concluded that the main bacterial agent involved was *Escherichia coli*, alike other previous studies. Certain bacterial agents, that weren't described as potential pathogens in this clinical occurrence, were isolated in this study, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Enterobacter aerogenes* and *Bacteroides fragilis* were the agents found in the samples.

Two cultures revealed to be multiresistant to drug therapy, which reflects a serious public health risk and a challenge to solve the pathology.

Some antibiotics that were described as efficient against the bacterial agents involved in pyometra, failed to solve the pathology in this study, more precisely, amoxicillin, amoxicillin associated with clavulanic acid, ampicillin, cefalexin, cefalotin, cefazolin, cefoxitine, G penicilline, potentiated sulfonamides and trimethoprim/sulfamethoxazole.

Key words: Antibiotics, Pyometra, *Escherichia coli*, multiresistant.

ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

%- percentagem

ALT- alanina aminotransferase

BUN- ureia

CMI- concentração mínima inibitória

ECG- electrocardiograma

FA- fosfatase alcalina

FSH- hormona folículo estimulante

GnRH- hormona libertadora de gonadotropinas

HQE- hiperplasia quística endometrial

HVP- hospital veterinário do Porto

LH- hormona luteinizante

mg/Kg- miligrama por quilo

mg/mL- miligrama por mililitro

mL/Kg- mililitro por quilo

mL/Kg/hora- mililitro por quilo ,por hora

mmol /mL- milimole por mililitro

°C- graus Célsius

PGF 2 α - prostaglandina 2 alfa

PMN's- neutrófilos polimorfonucleares

PT- proteínas totais

UVFs- factores de virulência uropatogénica

µg- micrograma

INDÍCE

INTRODUÇÃO	7
DECLARAÇÃO DE OBJECTIVOS	9
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	10
CICLO REPRODUTIVO	12
PRO-ESTRO	13
ESTRO	14
OVULAÇÃO	15
FERTILIZAÇÃO	15
METAESTRO	16
INCIDÊNCIA DE PIÓMETRA.....	16
BACTERIOLOGIA.....	18
BACTÉRIAS MAIS COMUNS	19
ANTIBIÓTICOS UTILIZADOS NO ESTUDO	23
SINAIS CLÍNICOS.....	29
DIAGNÓSTICO CLÍNICO	31
TRATAMENTO	33
MATERIAL E MÉTODOS.....	36
PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS.....	38
RESULTADOS.....	41
DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	45
CONCLUSÃO	51

BIBLIOGRAFIA 53

INTRODUÇÃO

O presente estudo foi realizado no Hospital Veterinário do Porto (HVP), no decurso do estágio curricular final para obtenção do Grau de Mestre em Medicina Veterinária, teve a duração de 6 meses, englobando o período decorrido entre Outubro de 2010 e Março de 2011.

Esta tese incide sobre uma patologia muito comum da prática clínica, e que tem suscitado alguma reflexão, por vezes controversa, que se denomina de Complexo de Hiperplasia Quística Endometrial-Piómetra. Em alguns países da União Europeia e nos Estados Unidos da América têm já sido realizados alguns estudos que analisam a eficácia da antibioterapia aplicada como tratamento desta patologia. Variados antibióticos têm sido utilizados na terapia da infecção associada a esta patologia na medicina veterinária, citando-se Penicilinas, Aminopenicilinas, Cefalosporinas, Macrólidos, Lincosamidas, Ácido-Fusídico, Tetraciclina, Cloranfenicol, Sulfonamidas potenciadas, Aminoglicosídeos e Fluoroquinolonas. O uso de antibióticos tem variado particularmente na última década, e tem estado relacionado com um aumento de resistência aos antibióticos por parte de estirpes *E. coli* multiresistentes (Normand et al.,2000b; Cohn et al.,2003; Guardabassi et al.,2004; Normand et al., 2000 a ; Shaheen et al.,2008).

A resistência a antibióticos apresenta um risco severo na remissão da doença, e representa um perigo para a Saúde Pública.

O presente trabalho pretende analisar se os antibióticos utilizados de forma rotineira no tratamento de piómetra, são os mais apropriados, ou se por outro lado, está a ser realizada uma terapêutica não apropriada. Pretende também identificar os microorganismos responsáveis por este tipo de infecção, e estabelecer uma comparação entre os resultados obtidos com outros estudos efectuados noutros países.

Na pesquisa realizada, não foi encontrado registo de estudos realizados em Portugal sobre a resistência a antibióticos usados no combate aos agentes etiológicos envolvidos em,

piómetra, bem como os respectivos agentes envolvidos na patologia. Desta forma este estudo é um contributo para a ciência, de forma a ajudar os clínicos a escolher uma antibioterapia mais eficaz.

A componente prática deste trabalho incluiu a obtenção de amostras do fluído uterino de cadelas com Hiperplasia Quística Endometrial – Piómetra, e a solicitação de realização de cultura e antibiograma, com o apoio de um laboratório. É importante o facto do laboratório ser especializado em medicina veterinária visto que está mais familiarizado com os agentes presentes em patologias específicas da área, podendo assim estabelecer diagnósticos mais precisos, fortalecendo deste modo o estudo.

A HQE-Piómetra, é o complexo de patologia uterina mais comum nas cadelas, a partir da maturidade até à fase geriátrica. Consiste num distúrbio endócrino que ocorre durante a fase de diestro, correspondente a uma actividade folicular lútea, consistentemente com níveis de progesterona elevados. A severidade da doença varia bastante, dependendo muito de indivíduo para indivíduo, e do curso de progressão da mesma. A apresentação de HQE refere-se a um estadio sub-clínico, mas indivíduos que se apresentem já numa fase concreta de piómetra, poderão apresentar-se clinicamente de forma extremamente variável, desde sem sintomatologia aparente ou significativa, a manifestações mórbidas com sinais de peritonite, choque séptico ou até mesmo estado comatoso que pode culminar em morte. Alguns académicos acreditam que uma endometrite sub-aguda, progride para uma HQE, que por sua vez, predispõe ao aparecimento da forma clínica denominada piómetra (Dow, 1958; Sandholm, Vasenius & Kivisto, 1975). Outros estudos referem que existem diferenças a nível clínico e histopatológico, que distinguem HQE de Piómetra, e fundamentam que estas duas patologias não estão necessariamente relacionadas, devendo ser classificadas como duas entidades distintas (Debosschere, Ducatelle, Vermeirsch, Van Den Broeck & Coryn, 2001).

Uma vez diagnosticado o complexo HQE-Piómetra pode ser resolvido cirurgicamente, através de ovariohisterectomia, ou através de tratamento médico com PGF 2 α e antibióticos (Crane, 2009).

DECLARAÇÃO DE OBJECTIVOS

Os objectivos deste trabalho são:

- 1) Determinar quais são as entidades microbiológicas envolvidas, e eventualmente responsáveis por este tipo de patologia no norte de Portugal, estabelecendo uma comparação com estudos prévios publicados que reflectem a realidade de outros países.
- 2) Determinar quais os sinais clínicos que ocorrem com maior frequência em piómetra .
- 3) Determinar e documentar a ocorrência de fenómenos de resistência bacteriana para antibióticos utilizados por rotina, na terapia de situações clínicas de Piómetra.
- 4) Estabelecer uma comparação entre os antibióticos utilizados empiricamente na prática de medicina veterinária e os antibióticos mais eficazes para tratamento da patologia.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Hiperplasia Quística Endometrial - Piómetra é uma patologia caracterizada pela proliferação e hipersecreção por parte das glândulas endometriais, tendo como resultado a formação de quistos repletos de líquido glandular dentro do útero (Crane, 2009). Trata-se de uma morbilidade que afecta cerca de 25 % da população de cadelas até aos 10 anos de idade (Egenvall, Hagman, Hedhammar & Olson, 2001). A patologia apresenta envolvimento hormonal, ocorrendo maioritariamente no diestro. No período de pró-estro e estro os níveis de lactoferrina estão mais elevados, e esta substância tem um efeito bactericida e bacteriostático, evitando a contaminação bacteriana e consequente infecção (Nuijens, van Berkel & Schanbacher, 1996). No entanto nestas duas fases do ciclo éstrico podem ser isoladas bactérias do útero, mesmo em fêmeas saudáveis (Watts, Wright & Whithear, 1996). Estudos anteriores provaram ainda, que com a realização de ovariectomia, sem remoção uterina, poderia ocorrer cura clínica da patologia em 5 a 7 dias (Lesboyries, Berthelon, 1936). Jansens and Jansens (1991) provaram num estudo retrospectivo em cadelas com mais de dez anos, que cadelas sujeitas a ovariectomia não correm o risco de desenvolver piómetra.

A ocorrência de HQE por si só, não apresenta implicações severas para o paciente, excepto estar directamente relacionada com índices de infertilidade mais elevados em cadelas. A HQE é por muitos considerada como um estadio inicial, que predispõe a ocorrência de piómetra proporcionando um mecanismo de invasão bacteriana (Crane, 2009; Dow, 1958; Sandholm, Vasenius & Kivisto, 1975), enquanto outros cientistas defendem que HQE e piómetra devem ser identificadas como duas entidades separadas (Johnston, Kustritz & Olson, 2001).

Existem ainda alguns cientistas que defendem que a causa primária de piómetra é apenas bacteriana (Nomura & Nishida, 1998; Kogura, Nomura, Fujiwara, Kawai & Okaniwa, 1995). O estado de piómetra consiste numa patologia que acarreta risco de vida para os animais, sendo caracterizada por uma acumulação de líquido purulento intraluminal, acompanhado de uma quimiotaxia importante, associado a uma infiltração do endométrio e miométrio por células inflamatórias (Crane, 2009). A libertação de partículas das membranas celulares da *E. coli* resulta numa disfunção nos neutrófilos e macrófagos, levando à inibição ou síntese excessiva e libertação de citocinas proinflamatórias como TNF, IL-1, IL-10

IL-6, bem como de medidores secundários- radicais livres, óxido nitroso e prostaglandinas. Este é um dos mecanismos para o aumento da inflamação e resposta imunitária (Fransson, Lagerstedt, Helllmen & Johnson, 1997).

Esta entidade clínica ocorre por norma na fase de diestro, quando os níveis de progesterona estimulam o crescimento endometrial, e existe uma secreção elevada de líquido por parte das glândulas endometriais. A progesterona diminui a contractabilidade do miométrio e mantém o cérvix fechado, e por outro lado diminui a imunidade através da redução da quimiotaxia e da capacidade fagocitária dos polimorfonucleares neutrófilos - PMN's, e aumenta a aderência bacteriana (Crane, 2009; Austad, Blom & Borresen, 1979; Chaffaux & Thibier, 1978). Apesar dos factos apontados, foi registado que os níveis de progesterona em fêmeas com piómetra não são significativamente mais elevados do que em fêmeas sem a condição clínica (Hardy & Osborne, 1974; Haralabos et al.,2004).

Estudos revelam que terapias com progestagénios provocam HQE que predispõe a ocorrência de infertilidade e piómetra (Wiebe & Howard, 2009). As bactérias têm acesso ao útero por via ascendente durante a dilatação do cérvix que ocorre durante o estro. As bactérias encontradas no útero de cadelas com piómetra e nas cadelas saudáveis são bactérias que fazem parte da microflora normal do útero e vagina (Vaden, Levine & Breitschwerdt, 1997). Várias cadelas com piómetra têm infecção urinária concomitante-22 a 72% (Crane, 2009; Sandholm, Vasenius & Kivisto, 1975).

É de grande importância um diagnóstico eficaz, e uma diferenciação entre Piómetra e HQE, visto que num estudo realizado por Bosschere, Ducatelle, Vermeirsch, Van Den Broeck & Coryn (2001) 12 de 42 fêmeas suspeitas de piómetra foram sujeitas a ovariectomia, comprovando-se na histopatologia que o útero não possuía infecção bacteriana, mas apenas HQE, não sendo indicada a ovariectomia. Ambas as patologias partilham características, embora a infecção bacteriana esteja documentada apenas em situações de piómetra.

CICLO REPRODUTIVO

O ciclo éstrico é um conjunto de alterações que ocorre nos ovários, no útero e na vagina, tal como alterações comportamentais que tem evoluído nos mamíferos para garantir a fertilização e levar à concepção. A maior parte dos animais domésticos exibem ciclos éstricos repetidos, cada um deles composto pelas seguintes etapas: estro, quando óvulos maduros se deslocam para as trompas uterinas e se dá a recepção sexual, tentando otimizar o processo de fertilização; diestro, quando ocorre a preparação para a fertilização, e finalmente se a fertilização falhar, um retorno ao proestro, quando um novo folículo se forma dando origem a um novo ciclo para que ocorra nova tentativa de fertilização. Animais como os porcos, o gado e cavalos voltam ao estro de 3 em 3 semanas aproximadamente se a gestação não ocorrer, porém se ocorrer fecundação ocorre um prolongamento do diestro devido aos requisitos por parte da gestação. O ciclo éstrico das cadelas difere das espécies supra citadas em alguns aspectos, em primeiro lugar cada ciclo éstrico tem a duração de aproximadamente 5 meses; em segundo lugar a gestação surge no diestro não prolongando esta fase; em terceiro lugar, um longo período de inactividade ovárica ocorre, que é denominado de anestro, quer a cadela esteja prenha ou não. Visto na maioria das espécies o proestro ser um período tão curto, é muitas vezes ignorado, sendo o diestro muitas vezes e incorrectamente utilizado para descrever o período decorrente entre dois cios. O diestro contém uma fase lútea e a fase de pró-estro. No entanto devido ao facto da fase inter estros da cadela ser composta não só pela fase lútea, mas também por uma fase prolongada de anestro, utiliza-se o termo metaestro para referir a fase lútea, em vez de diestro.

Contudo mesmo diferindo dos ciclos éstricos de outros animais, o ciclo éstrico de cadelas é similar a nível de controlo e interações hormonais; nomeadamente o hipotálamo e a glândula pituitária são centros de controlo primários; os ovários são a fonte de hormonas esteróides tal como estrogénios e progesterona; e a estrutura tubular reprodutiva, tal como as glândulas sexuais e os centros de controlo comportamental no cérebro são os últimos alvos das hormonas ováricas.

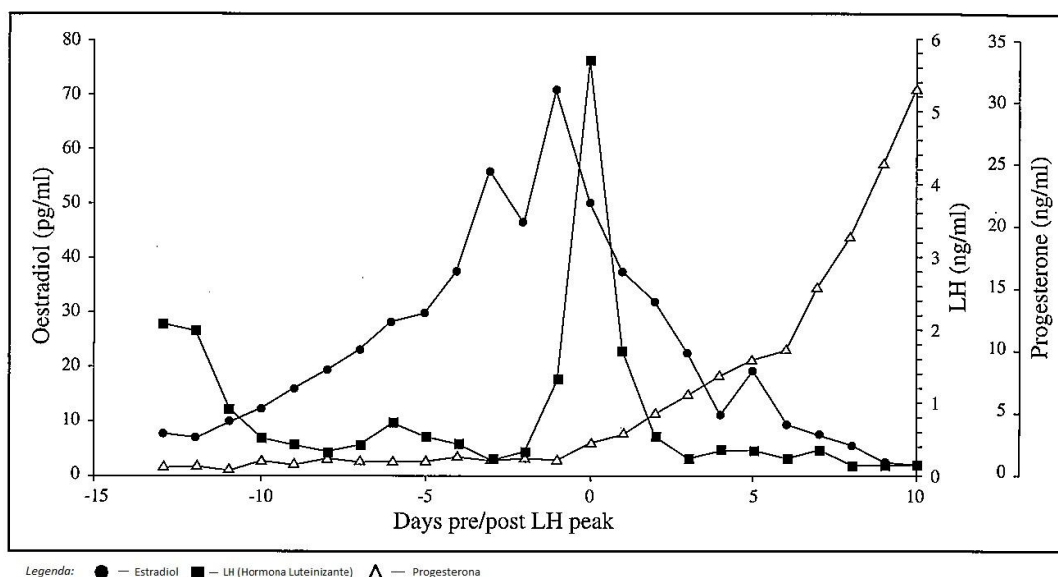


Gráfico 1- Adaptado de “BSAVA manual os small animal reproduction and neonatology”, ilustrando os níveis hormonais em diferentes etapas do ciclo éstrico.

PRO-ESTRO

Vários sinais clínicos podem ser utilizados como evidência de pró-estro. Os aspectos mais evidentes desta fase incluem, uma coloração avermelhada na zona vulvar, aumento de tamanho desta região anatômica e posteriormente presença de descarga sero-sanguinolenta, em quantidade variável individualmente. Este corrimento ocorre como marco do primeiro dia do pró-estro. Alterações comportamentais podem ocorrer nesta fase como produção de urina, nervosismo, desobediência e ainda a tendência para o aumento de atenção por parte dos machos. Estas alterações devem-se ao aumento do estradiol produzido pelo crescimento dos folículos ovários. O estradiol promove diversos eventos no tracto reprodutivo, estimulando o crescimento e actividade do epitélio glândular e promovendo a vascularização e edema da mucosa. Mais tarde ocorre uma fragilidade por parte dos capilares da mucosa provocando uma fragilidade nas junções celulares, ocorrendo passagem de plasma e de células para o lúmen uterino desenvolvendo-se assim um corrimento sanguinolento característico desta fase.

O pró-estro está associado a um desenvolvimento folicular estimulado pela hormona luteinizante -LH e pela hormona folículo-estimulante -FSH, ambas secretadas sob a influência da hormona libertada pelo hipotálamo GnRH -Gonadotrophin-releasing hormone. Na

cadela como em outros animais o pico de estradiol coincide com o período de cerca de 24 horas, pré pico de LH. Nas cadelas o pico de LH (no gráfico 1, representado pelo dia 0) ocorre sendo estimulado pela própria produção de estradiol, ao contrário de outros animais como os felinos, em que é necessária uma interacção entre sexos para que seja estimulado o pico de LH e desta forma ocorra ovulação. A hormona FSH- hormona estimulante dos folículos, tem também um papel importante no crescimento folicular e na conversão das células foliculares em células do corpo lúteo pós ovulação. Este processo é de importância elevada no ciclo éstrico da cadela, visto que ocorre um aumento da progesterona por parte dos folículos pré-ovulatórios, que parece ter um papel fundamental na activação da ovulação e na preservação do estro.

ESTRO

O estro ou “cio” é marcado pela alteração comportamental passando a fêmea a ter uma elevada receptividade para o macho adoptando uma postura de lordose e lateralização da cauda. Considera-se ainda que nesta fase existe uma libertação de feromonas, que são considerados sinais odoríferos químicos que marcam a transição de pró-estro para a fase de estro. As feromonas são produzidas pelas fêmeas nos rins e órgãos reprodutivos sob a influência do estradiol, com o objectivo de anunciar a fase de estro, e assim determinar o período de aceitação de macho, sendo que após secreção, são excretadas na urina ou no corrimento vaginal, e são detectadas pelos machos através do olfacto ou dos órgãos vomeronasais. Quando combinado com as alterações comportamentais, as feromonas aumentam a atracção sexual e estimulam a actividade sexual dos machos. Uma das feromonas femininas denomina-se, metil-p-hydroxibenzoato, e se aplicado na vulva de uma cadela em anestro ou mesmo em cadelas castradas, estimula a excitação sexual e tentativa de monta por parte dos machos. O efeito destas feromonas não se restringe a machos, visto em ambiente de canil por exemplo provocar alterações no ciclo éstrico de outras cadelas, avançando a sincronização do ciclo éstrico em outras cadelas, demonstrando assim que existe uma ligação entre a libertação de feromonas e a hormona GnRH secretada pelo hipotálamo.

OVULAÇÃO

A necessidade de níveis elevados de progesterona para manter a gestação é necessária no período imediatamente antes da ovulação, sendo que a elevação dos níveis de progesterona é um forte indicador do período pré pico de LH (como se vê no gráfico 1) muito perto do dia 0, verifica-se um aumento da progesterona,pré pico de LH). As cadelas normalmente têm múltiplas ovulações, ocorrendo a maior parte no período entre 30-48 horas pós pico de LH, embora alguns dos folículos possam não ovular num período de até 96 horas pós pico de LH. É necessária uma maturação dos oócitos caninos pré fertilização que pode demorar entre dois a três dias. Quando se junta este período ao período decorrente entre o pico de LH e a ovulação, entende-se que o período fértil da cadela pode não ocorrer até cerca de 4 dias pós pico de LH. Tendo em conta o intervalo entre o pico de LH e a ovulação, o período de maturação dos oócitos que é de 2 a 3 dias, e a viabilidade dos oócitos que é de um a dois dias estima-se que o período fértil da cadela seja entre 4 a 7 dias pós pico de LH.

FERTILIZAÇÃO

Os estrogénios estimulam secreções que favorecem a sobrevivência dos gametas sexuais e o seu transporte. São também estimulantes do músculo liso provavelmente directamente através de receptores adrenérgicos. Todos estes processos, conjuntamente com a estimulação ciliar dos cornos uterinos, promove o transporte do esperma através das junções uterinas e a colocação dos oócitos ovulados no local apropriado nos cornos uterinos para que se proceda a fertilização. Mais tarde e à medida que a luteinização dos folículos ocorre, a concentração elevada de progesterona é responsável por alterar o carácter das secreções por parte da mucosa, melhorando o transporte e sobrevivência dos espermatozóides através do cérvix. A progesterona por sua vez também diminui a excitabilidade muscular e pensa-se que diminui a passagem de óvulos e embriões através dos cornos uterinos, diminuindo a entrada de óvulos e embriões no útero até que as condições sejam mais apropriadas.

METAESTRO

Esta fase ocorre após o estro e é a fase em que a cadela se recusa a ser montada pelo macho, usualmente cerca de 6 a 8 dias após o estro, ou 8 a 10 dias após o pico de LH. A diferenciação entre o estro e metaestro pode ser estabelecida através de uma análise citológica obtida através de uma colheita vaginal, ou através da alteração a nível hormonal embora não muito significativa. Ocorre um aumento dos níveis de progesterona para valores na ordem dos 30-90 nmol/l (gráfico), 1 dia 10 pós pico de LH. O metaestro inclui as fases precoces de desenvolvimento embrionário nas cadelas gestantes. Até ao dia 60 pós pico de LH a diferença nos níveis de progesterona entre fêmeas gestantes e não gestantes não difere assim tanto, sendo que no dia 60 aproximadamente em fêmeas gestantes dá-se uma diminuição abrupta da progesterona visto que vai dar à luz, e em fêmeas não gestantes ocorre uma diminuição gradual dos níveis de progesterona visto não haver nenhum mecanismo luteolítico (Jeffcoate, 1997-98, p. 1-8). Os níveis de progesterona para que se mantenha a gravidez devem estar acima dos 2 ng/mL.

Como outro aspecto importante cita-se que a relaxina é a única hormona específica da gravidez canina, visto que esta hormona é libertada pela placenta que só está presente em cadelas gestantes. (Verstegen-Onclin, Verstegen, 2008).

INCIDÊNCIA DE PIÓMETRA

A incidência deste tipo de patologia nas comunidades caninas difere consoante o país e a cultura do mesmo. Num estudo realizado numa população de Beagles a incidência de piómetra foi de 15,2% em fêmeas com idade superior a 4 anos de idade (Fukuda, 2001).

Noutro estudo realizado por Tsumagari et al., (2005) a incidência foi de 62,5% em fêmeas de 1 a 5 anos e 41,7% em fêmeas com mais de 6 anos de idade. Foi concluído que existe uma maior incidência em animais com idade superior a 4 anos e que nunca estiveram gestantes (Chastain, Panciera & Waters, 1999), mas de acordo com Meyers-Wallen (1986), não existe prova da nuliparidade, irregularidade dos ciclos éstricos, ou pseudogestação estar directamente ligada com o aparecimento clínico de uma piómetra. Noutro estudo em 16

cães na Finlândia, a média de idades em que ocorreu piómetra foi de 9 anos de idade. As fêmeas nulíparas tiveram um risco acrescido de ocorrência de piómetra, tal como fêmeas pré tratadas com estrogénios (Niskanen & Thrusfield, 1998), opondo-se ao anteriormente descrito por Meyers-Wallen (1986). Cita-se ainda que noutros estudos a incidência de piómetra teve uma média de idades correspondente a 8,5 anos de idade (Pelander, Hagman & Haggstrom, 2008), 7,9 anos de idade (Hagman, Lagerstedt, Hedhammar & Egenvall, 2011), 7,1 anos de idade (Hagman, Reezigt, Bergstrom & Karlstam, 2009). Anedoticamente existem outros estudos, que registam que a patologia tenha ocorrido mais cedo na vida das cadelas, com uma média de idades correspondente a 2,4 anos de idade (Feldman & Nelson, 2004).

Num estudo realizado com base nos factores de risco de piómetra foi referido que piómetra ocorre com menor frequência em fêmeas que demonstram pseudogestação (Fidler, Brodey, Howson & Cohen, 1966; Dow, 1958; Dow, 1959).

Foi provado que existem raças com uma predisposição mais elevada à ocorrência da patologia do que outras, sendo que Rottweiler, São Bernardo, Chow Chow, Golden Retriever, Schnauzer miniatura, Irish Terrier, Airedale Terrier, Cavalier King Charles Spaniel, Collie de pelo cerdoso, e Pastor de Berna, representam as raças de maior risco (Smith, 2006; Krook & Rooney, 1960). Nas raças com menos predisposição destacou-se: Drevers, Pastor Alemão, Daschunds, e Swedish Hounds (Egenvall et al., 2001).

Apesar dos estudos citados, refere-se ainda a existência de outros estudos que demonstram não haver uma predisposição racial para esta patologia (Wheaton, Johnson, Parker & Kneller, 1989).

No que diz respeito à fase do ciclo éstrico em que é mais comum ocorrer piómetra, cita-se um estudo de Nomura et al., (1988), em que se procedeu à inoculação de *E. coli* em cadelas em diferentes alturas do ciclo éstrico, nomeadamente, pró-estro, estro, metaestro, e anestro, demonstrando que a ocorrência de piómetra foi mais elevada na fase de metaestro, sendo muito baixa nas outras fases do ciclo éstrico.

BACTERIOLOGIA

O agente bacteriano mais comum em situações de piómetra é *E. coli*, isolado de 57-96% dos exsudados uterinos em cadelas com a doença (Grindlay, Renton & Ramsay, 1973; Choi & Kawata, 1975; Osbaldiston, 1978; Nomura, 1984; Wheaton, Johnson, Parker & Kneller, 1989; Dhaliwal, Wray & Noakes, 1998). Outra referência cita que o agente foi isolado em nove de dez cadelas com piómetra no estudo de Hagman et al., (2006). Sandholm et al., (1975), verificou que cistite estava muitas vezes associado com piómetra e que a *E. coli* presente nas infecções urinárias era muito idêntica à *E. coli* presente em casos de piómetra. Posto isto suspeitou do mecanismo de infecção ascendente da bexiga e vagina como modelo explicativo da ocorrência de piómetra. Também Wadas, Kuhn, Lagerstedt & Jonsson (1996) provaram que em 6 amostras de *E. coli* recolhidas do recto de dez animais com piómetra, pelo menos uma era muito similar ou idêntica às bactérias presentes na infecção uterina, e quando era comparado as bactérias uterinas com aquelas presentes na urina, 88% eram idênticas ou muito similares. Foi demonstrado neste estudo haver uma ligação importante entre as fezes, a infecção urinária e a ocorrência de piómetra. Embora outras bactérias estejam também descritas como agentes infecciosos neste tipo de patologia, como é o caso da *Klebsiella*, *Pasteurella* e *Staphylococcus*.

Segundo o estudo publicado por Okano, Tagawaka & Takase (1998) num total de 22 análises de piómetra enviadas para laboratório, 16 tiveram crescimento de *E. coli*, 4 tiveram crescimento de *Streptococcus* para além de *E.coli*, uma amostra continha uma flora mista de *Streptococcus* e *Pasteurella*, outra amostra apresentou uma infecção isolada com *Pasteurella*. Refira-se que outra amostra do estudo apresentava flora constituída por *Klebsiella* e *Enterococcus*, e outras 2 amostras resultaram amicrobianas.

Outro estudo similar realizado por Wheaton et al., (1989), da cultura de 47 cadelas, *E.coli* estava presente em 34 cadelas-66%, sendo isoladas outras bactérias *Klebsiella*-11%, *Pseudomonas*-6%, *Proteus*-6%, *Staphylococcus*-6%, *Haemophilus*-4%, *Pasteurella*-4%, e *Serratia*-2%, deste estudo 3 dos animais tinham mais do que uma bactéria presente.

Num grupo de 10 cadelas presentes no estudo de Dabrowski, Kostro, Lisiecka, Szczubial & Krakowski, (2009), 80% das cadelas apresentaram infecção por *E. coli*, e 20 % estavam afectadas por *Staphylococcus*.

BACTÉRIAS MAIS COMUNS

Todas as bactérias que se seguem, estão descritas na bibliografia existente como infectantes em situações de piómetra clínica.

Escherichia coli

É uma bactéria muito frequente do tracto gastrointestinal em humanos e vários outras espécies. As espécies bacterianas de *E. coli* são divididas em seis estirpes distintas, relativamente a doença gastrointestinal:

Enteropatogénica - EPEC, enterohemorrágicas - EHEC, enterotoxigénicas - ETEC, enteroagregativas - EAEC, enteroinvasivas - EIEC e difusamente aderente - DAEC.

Esta classificação levou a um melhor entendimento da patogenicidade destas bactérias em humanos e animais. Trata-se da bactéria mais comum em infecções urinárias em humanos, cães e gatos (Marrs, Zhang & Foxman, 2005), tal como em situações de piómetra em cães (Chen, Wright, Lee & Browning, 2003).

E. coli uropatogénica difere da *E.coli* comensal do intestino, devido à presença de factores de virulência específicos, que promovem infecção em zonas exteriores ao intestino (Johnson et al., 2001; Sousa, 2006). Espécies uropatogénicas foram incluídas recentemente na classe ExPEC-*E.coli* extra intestinal, juntamente com outras *E.coli* isoladas de infecções intestinais, como a *E.coli* associada a sépsis – SEPEC, e a bactéria neonatal responsável por meningite - NEMEC, entre outras (Russo & Johnson, 2000). Estas estirpes de bactérias contêm factores de adesão celular, sistemas de obtenção de ferro, e citotoxinas que as distinguem da flora comensal. As toxinas mais comumente sintetizadas por bactérias da classe ExPEC são predominantemente representadas por: hemolisinas, e factor necrotizante

citotóxico, ambos promovendo a destruição de células eucarióticas, e especialmente contribuindo para a infecção extra intestinal.

FACTORES DE VIRULÊNCIA- A componente polisacárida capsular impede a fagocitose e protege a membrana celular dos danos por parte do complemento. A endotoxina lipídica A é a toxina associada com septicemias por parte da *E.coli* e toxémia em mastite provocada pelo grupo coliforme. A endotoxina lipídica A interfere com os componentes do complemento que são responsáveis por atacar a membrana exterior da bactéria. Algumas fímbrias são adesinas de proteínas, favorecendo a adesão por parte da bactéria a glicoproteínas na superfície das células epiteliais do jejuno e íleo com consequente colonização. Se este fenómeno não ocorresse, o peristaltismo removeria a bactéria para o intestino grosso, onde já não ocorre o risco de adesão e posterior infecção.

As espécies de *E.coli* produzem tanto α como β hemolisinas. A alfa hemolisina é uma proteína responsável pela destruição da membrana celular. A incapacidade de produzir alfa hemolisina por parte da bactéria diminui em muito a sua virulência. Os sideróforos são importantes para bactérias invasivas, na medida em que ajudam a remover o ferro das proteínas, sendo o ferro essencial para o crescimento bacteriano, ocorrendo assim uma concorrência pelo ferro entre o hospedeiro e a bactéria, visto ser necessário para as necessidades metabólicas de ambos.

As toxinas afectam o sistema adenilato ciclase, levando a diarreia, hipovolémia, acidose metabólica e hipercalémia se a acidose for severa (Quinn, 1999).

Staphylococcus spp

São cocos Gram positivos, que têm tendência para estar arrançados de forma irregular com um aspecto de “cacho de uvas”, anaeróbios facultativos-fermentativos, catalase positivo, oxidase negativos e que não apresentam motilidade. As espécies patogénicas incluem *S. aureus*, *S.intermedius*, e *S.hyicus*, sendo a maior parte destes coagulase positivos. O teste coagulase está bem correlacionado com a patogenicidade. Normalmente colonizam a cavidade nasal no homem, pele, mucosas, e podem também colonizar o intestino. A transmissão indirecta do agente torna-se possível devido ao longo período de sobrevivência no ambiente e devido ao facto de serem piogénicos e estarem muitas vezes associados ao

aparecimento de abscessos. A Proteína A é um componente da superfície bacteriana da maioria das bactérias virulentas de *S.aureus*, liga-se à região Fc da IgG e tem um papel importante na patogénese das infecções por estafilococos. Certas enzimas produzidas pela bactéria podem ter um papel importante na sua patogénese, como estafiloquinase, a coagulase causa coagulação do plasma *in vitro*, hyaluronidase, lipase, colagenase, proteases, nucleases e urease.

Pasteurella spp

As *Pasteurella spp* são cocobacilos Gram negativos, bactérias de pequena dimensão (0,2 µm - 2µm). Não têm mobilidade nem capacidade de esporulação, tendo um biótopo anaeróbio facultativo. Estes microorganismos são fermentativos na sua generalidade com excepção da variedade *Pasteurella anatipestifer*. Em termos de comportamento enzimático são oxidase positivos e catalase positivos, com excepção da *Pasteurella caballi*.

Estas bactérias são comensais do tracto respiratório superior, mucosas e tracto gastrointestinal de animais, sendo que o mecanismo de entrada no hospedeiro é através das vias aéreas, podendo assim transmitir-se de indivíduo para indivíduo.

Existem evidências que estas bactérias possuam endotoxinas e que as mesmas têm alguma participação em infecções mais severas, no entanto, o mecanismo de acção ainda permanece obscurecido. Em alguns casos pode ocorrer formação de imunocomplexos que contribuem para o agravamento da doença.

Klebsiella spp

Klebsiella spp é uma bactéria Gram negativa, que não apresenta mobilidade, encapsulada e em forma de bacilo, produtora de lisina descarboxilase, pertencente à família das *Enterobacteriaceae*. É um agente comum em infecções nosocomiais, estando em humanos relacionada com infecções no trato urinário e aparelho respiratório.

Em estudos realizados em humanos esta bactéria mostrou ser resistente a vários antibióticos. (Podschun & Ullmann, 1998).

Bacteroides fragilis

Bacteroides fragilis, trata-se de um bacilo Gram negativo, anaeróbio estrito, da família *Bacteroidaceae*. Esta bactéria constitui 1 a 2% da microflora normal do cólon em humanos (Moore, Cato & Holdeman, 1978; Simon & Gorbach, 1984). Está frequentemente associado a infecções extra-intestinais, como abscessos e infecções dos tecidos moles, como também está associado a infecções gastro intestinais, como diarreias em animais e humanos (Myers, Firehammer, Shoop & Border, 1984; Weikel, Grieco, Reuben, Myers & Sack, 1992).

A patogenia do *B.fragilis*, está relacionada com a produção de uma enterotoxina potente, uma metaloprotease contendo zinco, com um peso molecular de 20.000 D (Tassel, Tylerly & Wilkins, 1992). Esta enterotoxina é específica para as “tight junctions”, causando arredondamento, tumefacção e picnose dos enterócitos, induzindo uma diarreia líquida com origem nas ansas intestinais e também uma resposta citotóxica no cólon (Weikel, Grieco, Reuben, Myers & Sack, 1992).

Peptostreptococcus anaerobius

Peptostreptococcus anaerobius é uma bactéria anaeróbia, Gram positiva, não formadora de esporos, e pertence à família *Peptostreptococcaceae*. As células são de pequena dimensão, esféricas e podem apresentar-se em cadeias pequenas, em pares, ou isoladas. É uma bactéria comensal em humanos e animais, sendo encontrada na boca, pele, na microflora intestinal, vagina e trato urinário. A infecção ocorre quando o paciente se encontra imunodeprimido.

ANTIBIÓTICOS UTILIZADOS NO ESTUDO

Amoxicilina – é um antibiótico bactericida da família dos β lactâmicos. Tem o mesmo espectro de acção que a ampicilina, sendo ineficaz contra bactérias que produzem beta-lactamase. A diferença entre amoxicilina e ampicilina a nível de estrutura é apenas num grupo hidroxilo no anel de fenil. Quanto à absorção, a amoxicilina tem uma absorção mais elevada, quando administrada sob a forma oral, tendo uma absorção gástrica entre 74-92%. Tem actividade contra algumas estirpes de *Escherichia coli*, *Klebsiella*, e *Haemophilus*.

Devido ao facto de não ser eficaz contra bactérias produtoras de beta-lactamase, beneficia da associação com clavulonato de potássio, que aumenta o espectro de acção e torna esta associação eficaz contra bactérias produtoras de beta-lactamase. A excreção do fármaco é renal, e o tempo de semi-vida é de 45-90 minutos.

Algumas das contra-indicações são: hipersensibilidade ao grupo das penicilinas, estados avançados de septicémia, ou quadros de choque particularmente acompanhados de estados hipotensivos severos.

Ampicilina - é um antibiótico bactericida da família dos β lactâmicos. Partilha o mesmo espectro de acção do que a amoxicilina, não sendo também eficaz contra bactérias produtoras de beta lactamase. Quando administrado por via oral pode apresentar mais efeitos colaterais gastrointestinais que a amoxicilina, embora cause menos reacções de hipersensibilidade. Quando administrada por via oral tem uma absorção gástrica de 30-55 %, e o tempo de semi-vida deste antibiótico é de 45-80 minutos. As contra indicações são muito semelhantes às contraindicações da amoxicilina.

Cefalosporinas - As cefalosporinas são compostas por várias classes, com diferentes espectros de acção e perfis farmacocinéticos. Todas as verdadeiras cefalosporinas são derivadas da cefalosporina C, que por sua vez deriva de *Cephalosporium acremonium*. As cefalosporinas têm um efeito bactericida e funcionam inibindo a formação de mucopeptídeo parede celular. Exerce o seu maior efeito, tal como outros antibióticos beta-lactâmicos em bactérias em crescimento.

As cefalosporinas dividem-se em três classes ou gerações:

A primeira geração inclui- cefalotina, cefazolina, cefapirina, cefradina, cefalexina e cefadroxil. Embora possa haver diferenças nos CMI's - Concentração Mínima Inibitória, dos antibióticos presentes nesta classe, o seu espectro de acção é muito similar. Possuem um espectro de acção muito eficaz contra Gram positivos, e um espectro de acção moderado a pobre contra Gram negativos.

As cefalosporinas de segunda geração são compostas por: cefaclor, cefamandole, cefonicid, ceforanida e cefuroxima. Embora categoricamente não sejam consideradas como verdadeiras cefalosporinas, a cefamicina, cefoxitina e cefotetan são normalmente incluídas neste grupo. Esta classe de cefalosporinas tem igualmente espectro de acção contra Gram positivos, assim como um espectro alargado contra Gram negativos.

As cefalosporinas de terceira geração para além de possuírem um espectro contra Gram positivos e negativos como as cefalosporinas de primeira e segunda classe , têm um espectro de acção bastante mais alargado em relação aos Gram negativos, sendo esta classe composta por: Cefotaxime, moxalactam, cefoperazona, ceftizoxime, ceftazidima, ceftriaxona, ceftiofur, cefpodoxima e cefixima. Apenas ceftazidima e cefoperazona são eficazes contra *Pseudomonas aeruginosa*.

Devido a estas particularidades, actualmente são muito utilizadas na medicina veterinária, apresentando índices de toxicidade muito menores que outros antibióticos, como por exemplo os aminoglicosídeos. A excreção destas moléculas ocorre geralmente por via renal.

Imipenem – é um carbopenemo de largo espectro de acção, que é utilizado para infecções muito severas, nas quais a filosofia terapêutica visa apenas a utilização de apenas um agente

anti-microbiano, e após o recurso de um antibiótico de largo espectro de primeira escolha, que não é suficiente para exercer controlo sobre a infecção.

Este antibiótico tem poder bactericida contra algumas bactérias. Porém noutras espécies tem apenas um efeito bacteriostático. O seu espectro de acção inclui Gram positivos, apresentando acção bacterioestática contra *Listeria* e também contra alguns enterococos, exerce acção sobre Gram negativos, *Haemophilus*, *Enterobacteriaceae*, muitas estirpes de *Pseudomonas aeruginosa*, e ainda apresenta acção contra anaeróbios, incluindo alguns *Bacteroides*. O fármaco é excretado 75% via renal e 25% via extra renal, embora este último mecanismo ainda não estar muito bem clarificado. O seu tempo de semi-vida num animal com excreção normal é de cerca de 1 a 3 horas.

Pelo seu mecanismo fundamental de excreção é necessário ter particular cuidado no tratamento de pacientes com insuficiência renal, podendo ser necessário um ajuste da dose nestes casos. É igualmente necessário um especial cuidado com indivíduos portadores de alterações no sistema nervoso central, visto que este fármaco pode ter o potencial de agravar o estado clínico de pacientes por exemplo, com sintomatologia de trauma cerebral, convulsões ou outras. O imipenem pode acarretar manifestações gastrointestinais, ou ainda reacções adversas à administração, como o são as tromboflebites. Este fármaco é utilizado com pouca frequência em Portugal devido ao seu elevado custo, e também devido ao facto de ser um antibiótico de último recurso.

Meropenem - é um carbopenemo muito similar ao imipenem, que não apresenta as contra-indicações ao sistema nervoso central, e que é mais eficaz contra infecções multi-resistentes por bactérias Gram negativas. O seu uso deve estar limitado a infecções multi-resistentes, ou quando os aminoglicosídeos não forem eficazes no combate à infecção. O tempo de semi-vida é de cerca de 1 hora, e a excreção do fármaco ocorre igualmente por via renal.

Tobramicina - é um antibiótico que pertence aos aminoglicosídeos, com acção bactericida, cujo mecanismo de acção é a inibição de síntese proteica, através de ligação à unidade 30 S dos ribossomas. O seu espectro de acção inclui bactérias aeróbias Gram negativas, e bactérias aeróbias Gram positivas, o que inclui a maioria das estirpes de *E.coli*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Shigella*, *Mycoplasma* e *Staphylococcus*.

Devido à sua toxicidade, deve ser utilizada apenas como recurso, e em situações de infecções graves. Embora alguns autores defendam que é menos tóxica que a gentamicina,²⁵

é também significativamente nefrotóxica e ototóxica. Outro efeito secundário bastante deletério deste fármaco é a eventual produção de bloqueio neuromuscular que pode provocar. Deve por conseguinte ser utilizada com cuidado em animais com alterações neuromusculares, como por exemplo em indivíduos afectados com *Myasthenia gravis*.

A eliminação do fármaco ocorre na sua maioria no rim, sendo mais lenta em animais com problemas na filtração glomerular.

Gentamicina – como aminoglicosídeo que é, o seu espectro de acção assemelha-se muito aos congéneres da sua classe, é ineficaz contra *Klebsiella*, *E.coli*, e *Pseudomonas aeruginosa*. Tem efeitos secundários muito similares à tobramicina, apresentando classicamente nefrotoxicidade e ototoxicidade. Tal como a tobramicina não deve ser utilizado como primeira abordagem, devendo ser utilizado apenas quando está presente uma infecção severa que não se controla com compostos de escolha de primeira linha.

Amicacina - é um antibiótico que pertence aos aminoglicosídeos, com semelhante mecanismo de acção e de efeito bactericida, mas é eficaz contra as bactérias resistentes à gentamicina como por exemplo diversas estirpes de *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus* e *Serratia*. Tem efeito contra um conjunto de bactérias Gram negativas, e algumas Gram positivas, o que inclui a maioria das estirpes de *E.coli*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Shigella*, *Mycoplasma*, e *Staphylococcus*.

A amicacina tem uma elevada absorção através da pele e a excreção ocorre maioritariamente por via renal, através de filtração glomerular, sendo eliminada com a urina; o seu tempo de semi-vida em cães é de aproximadamente 0,5 a 2 horas. Como efeitos secundários destaca-se como os outros aminoglicosídeos a nefrotoxicidade, ototoxicidade, e ainda o bloqueio neuromuscular.

Ciprofloxacina - é uma fluroquinolona de medicina humana com efeito bactericida, com acção contra bactérias Gram positivas e também contra Gram negativas, incluindo a maior parte das estirpes de *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella spp.*, *E.coli*, *Enterobacter*,

Campylobacter, *Shigella*, *Salmonella*, *Aeromonas*, *Haemophilus*, *Proteus*, *Yersinia*, *Serratia* e *Vibrio spp.* Não tem uma absorção oral tão boa como outras fluoroquinolonas, porém está disponível para administração intravenosa.

Das quinolonas actualmente no mercado ciprofloxacina e enrofloxacina apresentam os valores de CMI mais baixos, quando utilizados nos agentes patogénicos mais frequentes, provando que são as quinolonas mais eficazes no tratamento das infecções mais vulgarmente encontradas, e que alcançam o objectivo terapêutico com menores doses administradas quando comparadas com outras moléculas da mesma família. A ciprofloxacina é um dos metabolitos da enrofloxacina, sendo excretada no rim e no fígado, e o seu tempo de semi-vida está estimado em cães, em cerca de 2,5 horas. Devido às alterações que pode provocar nas cartilagens, através da interferência no processo de formação cartilaginosa, assim como no crescimento normal dos indivíduos, não deve ser administrada a animais mais novos do que 8 meses.

Enrofloxacina- é uma fluoroquinolona com uma acção bactericida e muito similar no espectro de acção à ciprofloxacina. A maior diferença entre as duas formas é que a enrofloxacina tem uma maior absorção quando administrada por via oral do que a ciprofloxacina. Estudos revelam que a enrofloxacina tem mais do dobro da biodisponibilidade da ciprofloxacina, comparativamente, quando ambas são administradas *per os*. O tempo de semi-vida da enrofloxacina é de 4 a 5 horas.

Trimetropim+Sulfametoxazol- é uma sulfonamida potenciada, exercendo efeito bactericida sobre as bactérias. Têm um espectro de acção bastante alargado. As bactérias Gram positivas mais sensíveis incluem a maior parte dos estreptococos, muitos estafilococos e *Nocardia*. Muitas espécies da família das *Enterobacteriaceae* são sensíveis às sulfas potenciadas, à excepção de *Pseudomonas aeruginosa*. Esta sulfamida potenciada é metabolizada no fígado, e excretada de forma inalterada na urina através de filtração glomerular. Não deve ser administrada a animais com insuficiência hepática, e tem um possível efeito teratogénico. Entre outros efeitos secundários à administração de sulfamidas potenciadas, salienta-se a documentada associação ao desenvolvimento de queratoconjuntivite seca (Plumb, 2005)

Piperacilina+Tazobactan- é um antimicrobiano beta-lactâmico com um largo espectro de acção que engloba Gram positivo, Gram negativo e anaeróbios, exercendo acção bactericida, tem um tempo de semi-vida bastante curto, e é eficaz contra a maior parte das bactérias da família *Enterobacteriaceae*, e contra *Pseudomonas aeruginosa* (Lau et al., 2006).

Cloranfenicol - é um antibiótico bacteriostático de largo espectro, embora em doses elevadas ou contra alguns agentes particulares possa exercer acção bactericida. O seu mecanismo de funcionamento baseia-se na inibição da síntese proteica. O seu espectro incide sobre Gram positivos, como estafilococos e estreptococos, Gram negativos, como *Neisseria*, *Brucella*, *Salmonella*, *Shigella* e *Haemophilus*. Existem muitos anaeróbios que são sensíveis ao cloranfenicol, como o *Clostridium*, *Bacteroides* -inclusivé *B.fragilis*, *Fusobacterium*, e *Veillonella*. Tem ainda acção farmacológica sobre *Nocardia*, *Chlamydia*, *Mycoplasma*, e *Rickettsia*. É excretado numa fracção de 5 a 15% de forma inalterada na urina, e o restante é metabolizado no fígado. O seu tempo de semi-vida em cães é de 1,1 a 5 horas.

Clindamicina – trata-se de uma lincosamida, podendo desempenhar acção bacteriostática ou bactericida, consoante a dose administrada e a bactéria contra qual é direccionada. O seu modo de actuação consiste na inibição das ligações peptídicas, e por conseguinte inibição da síntese proteica. A maioria dos cocos Gram positivos são sensíveis à clindamicina, incluindo estafilococos e estreptococos, com excepção *Streptococcus faecalis*, que não é sensível à mesma. Outros que geralmente apresentam sensibilidade incluem: *Corynebacterium diphtheriae*, *Nocardia asteroides*, *Erysipelothrix*, *Toxoplasma*, e *Mycoplasma spp.* No que diz respeito a entidades anaeróbias sensíveis destacam-se: *Clostridium perfringens*, *Clostridium tetani*, *Bacteroides* incluindo muitas estirpes de *Bacteroides fragilis*, *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus*, *Actinomyces* e *Peptococcus*. O tempo de semi-vida é de 2 a 5 horas após administração oral e de 10-13 horas após administração subcutânea em cães. Pode promover alterações gastro intestinais, e provoca dor quando administrado via intramuscular.

Metronidazol – por ser uma molécula diferente não é englobada em nenhuma família habitual, este fármaco está disponível para administração oral e endovenoso, com acção bactericida, incide num espectro de anaeróbios. Tem acção contra *Bacteroides* -incluindo *Bacteroides fragili*), *Fusobacterium*, *Veillonella*, *Clostridium spp.*, *Peptococcus* e *Peptostreptococcus*, mas salienta-se que o género *Actinomyces* é frequentemente resistente a esta molécula. O metronidazol tem ainda acção amebacida, tendo por isso actividade acção contra *Entamoeba histolytica*, *Trichomonas*, *Giardia* e *Balantidium coli*. A sua metabolização ocorre maioritariamente no fígado, e é excretado na urina e fezes, e o seu tempo de semi-vida aproximado de 4 a 5 horas em cães. Em pacientes com hepatopatia deve atender-se a uma redução da posologia, uma vez que a maioria do processo de metabolização ocorre no fígado.

Penicilina G - penicilina é utilizada para o combate de Gram positivos aeróbios e anaeróbios. Exerce nas bactérias um efeito bactericida, através da inibição da síntese mucopeptídica na parede celular. Têm actividade contra *Bacillus anthracis*, *Clostridium spp*- excepto *C.difficile*, *Fusobacterium* e *Actinomyces*. Não deve ser administrada por via oral, sendo preconizada a administração parenteral, uma vez que em pH marcadamente ácido, como a nível gástrico, ocorre praticamente uma destruição total do fármaco. A Penicilina G é excretada na maior parte, de forma inalterada, por eliminação urinária (Plumb, 2005).

SINAIS CLÍNICOS

Os sinais clínicos mais comuns de piómetra são, anorexia, letargia, depressão, vômito, diarreia, poliúria/polidipsia (Dow, 1957; Hardy & Osborne, 1974; Borresen, 1979; Stone, Littman, Robertson & Bovée, 1988; Gilbert, Nothling, Oetlée, 1989; Sevelius, Tidholm & Thoren-Toling, 1990).

A poliúria/polidipsia ocorre essencialmente devido a dois fenómenos. Primeiro, devido ao facto de que as endotoxinas bacterianas comprometerem a função da ansa ascendente de Henle a nível do mecanismo de reabsorção de sódio e cloro. Por outro lado, as endotoxinas de *E.coli* têm a capacidade de diminuir francamente a sensibilidade das

células tubulares à hormona anti-diurética - ADH, interferindo com o normal funcionamento dos canais de Aquaporina-2, resultando assim no aparecimento de uma diabetes insípida nefrogénica secundária. Por conseguinte, este mecanismo resulta numa incapacidade do rim de concentrar urina, levando à ocorrência de poliúria com consequente polidipsia. (Verstegen, Dhaliwal & Verstegen-Onclin, 2008).

Num estudo realizado em 18 cadelas com piómetra 85,7% apresentaram polidipsia/poliúria (Kaymaz, Bastan, Erunal, Aslan & Findik, 1999), um resultado um pouco divergente do resultado obtido no estudo realizado por Sevelius et al.,(1990) em que registou poliúria/polidipsia em 70% dos 83 animais sujeitos ao estudo. Outros autores defendem que o sinal mais comum é o corrimento vaginal, que pode variar desde serosanguinolento, até um corrimento mucopurulento. Por vezes o corrimento vaginal é mínimo, e através da lambedura na zona vaginal por parte da cadela, como limpeza fisiológica característica, torna-se difícil a visualização por parte dos proprietários, de corrimento vaginal (Verstegen,Dhaliwal & Verstegen-Onclin, 2008).

Dabrowski et al., (2009) relatou que numa população de estudo de 20 cadelas com piómetra, 60 % apresentaram corrimento vaginal purulento. Sevelius et al., (2009) por sua vez registou um corrimento vaginal de 80% em 83 cadelas com piómetra. Hagman et al., (2011) no seu estudo em 87 cadelas com piómetra observou corrimento vaginal em 75% dos animais em estudo.

Existem também casos de piómetra em que não se desenvolve corrimento, denominando-se piómetra fechada. Este tipo de piómetra está normalmente associada a sinais marcados de depressão, letargia, poliúria, polidipsia, vômito, diarreia e possivelmente distensão abdominal. As piómetras com corrimento, são infecções normalmente menos severas a nível sistémico do que as piómetras fechadas, tendo um melhor prognóstico (Pretzer,2008). Verstegen et al.,(2009) refere que embora os sinais clínicos de piómetra sejam muito característicos, apenas 50% dos animais com piómetra os exibem, ou quando tal ocorre poderá ser numa expressão parcial do conjunto dos mesmos. Devido a este facto, qualquer fêmea após o estro que apresente alguma expressão da sintomatologia, de descarga vaginal, depressão, letargia, poliúria / polidipsia, vômito, acompanhados ou não de hipertermia deve ser considerada para um diagnóstico diferencial de piómetra.

Os animais podem ter hipertermia devido à infecção. Num estudo com 83 cadelas com piómetra, 30 % apresentava hipertermia (Sevelius et al.,1990). Os indivíduos afectados podem igualmente apresentar um estado de hipotermia quando consultados, maioritariamente associado a um processo decorrente de endotoxémia (Dow,1957). Porém Verstegen et al(2009) defende que hipertermia não é um sinal comum em situações de piómetra.

Alguns animais exibem um comportamento que caracteriza habitualmente uma pseudogestação, adoptando brinquedos, defendendo o ninho, e em muitas das ocorrências exibem galactorreia. Kaymaz, Bastan,Erunal, Aslan & Findik (1999) relataram que numa população de 18 casos de piómetra, 61,1% tinham história de pseudogestação nos ciclos éstricos anteriores, contrastando com teorias prévias que defendiam que cadelas com pseudogestação apresentavam um baixo risco de desenvolver uma piómetra (Fidler, Brodey, Howson & Cohen,1966; Dow,1958; Dow,1959).

Recentemente demonstrou-se que existe diferença entre o rim de um animal com piómetra , e de um animal saudável. Os rins dos animais com piómetra apresentavam fibrose intersticial e atrofia tubular (Heiene, Kristiansen, Teige & Jansen,2007), razão pela qual pode haver um aumento das enzimas renais, ureia e creatinina.

Estão descritas complicações no período pós cirúrgico que são graves , podendo causar a morte do animal. De entre as complicações descritas, salientamos tromboembolismo cerebral, e septicémia (Wheaton et al.,1989), enfarte esplénico e trombose vascular (Bloom, 1954). A peritonite séptica é uma complicação que ocorre associada a piómetra, sendo responsável por uma taxa de mortalidade de 68%. (Wheaton et at.,1989; Hosgood & Salisbury,1988).

A taxa de mortalidade em animais com piómetra é de 4 % (Egenvall et al,2001).

DIAGNÓSTICO CLÍNICO

O diagnóstico de piómetra é realizado através de várias metodologias, recorrendo a análises e exames complementares a fim de estabelecer um diagnóstico definitivo.

É consensual na actualidade que o exame citológico do corrimento vaginal, representa um instrumento bastante útil na diferenciação entre mucómetra e piómetra. Nas situações em que está presente piómetra, é possível visualizar neutrófilos degenerados em grande quantidade (Pretzer,2008).

Relativamente ao hemograma, é comum verificar-se uma leucocitose com desvio à esquerda (Dow,1957; Wheaton et al.,1989; Fransson, Lagersted, Hellmen & Jonsson,1997). Em piómetras fechadas a leucocitose é mais pronunciada (Gandotra, Singla, Kochhar, Chauhan & Dwivedi,1994; Feldman & Nelson,1989). Segundo Verstegen et al., (2008) cerca de 25% dos animais com piómetra apresentam leucogramas dentro dos valores de referência. Em alguns casos neutropenia também pode ser observada, em situações de endotoxémia (Johnston et al.,2001). A anemia, é também um achado bastante frequente em piómetra (Hardy & Osborne,1974; DeSchepper,Decock & Capiou,1989).

O achado bioquímico mais comum, é um aumento da fosfatase alcalina, presente em 50 a 75% dos animais. Por vezes a alanina aminotransferase pode também estar moderadamente aumentada. Estes valores reflectem dano hepato celular, devido a uma resposta à toxémia presente, ou devido a uma má perfusão hepática. Pode ocorrer hipoproteínémia devido à desidratação, e a hiperglobulinémia reflecte a presença do antigénio com estimulação crónica nesta patologia. Sevelius et al.,(1990) no seu estudo de piómetra em cadelas , registou num total de 83 cadelas com piómetra, um aumento da fosfatase alcalina em 43% destes animais.

A PGF 2 α tem demonstrado ser um indicador fiável de endotoxémia , e visto piómetra ser um patologia que está muitas vezes associada a endotoxémia , a medição da mesma, pode ser um instrumento útil no diagnóstico de piómetra (Hagman et al.,2009).

Estudos anteriores revelam que a forma definitiva de obter um diagnóstico de piómetra é através da realização de ultrasonografia, e da visualização de conteúdo anecogénico intraluminal (Threlfall,1995; Fayer-Hosken, Durham, Allen, Liebl & Caudle,1992; Alvarenga et al.,1995; Poffenbarger & Feeney,1986; Bigliardi, Prmigliani, Cavarani, Luppi, Bonati & Corradi,2004).

Alguns estudos foram realizados na medida de avaliar o comportamento do lactato em situações de piómetra. Foi demonstrado que o lactato não apresenta grandes divergências em animais com ou sem piómetra , não sendo um instrumento útil no diagnóstico clínico₃₂

(Hagman, Reezigt, Ledin & Karlstam,2009). A proteína C reactiva foi avaliada num outro estudo realizado na medida de avaliar o valor deste indicador para estabelecer prognósticos, não demonstrando ser um bom indicador de prognóstico (Hagman et al, 2009). Concluiu-se que eram necessários mais estudos na medida de avaliar o potencial deste indicador na elaboração de prognósticos (Nakamura,Takahashi, Ohno, Koshino, Nakashima,Setoguchi, Fujino & Tsujimoto,2008). Opondo-se a esta teoria está o estudo de Dabrowski, Wawron & Kostro, (2007), que demonstra que proteína C reactiva, amilóide sérica A, e haptoglobina são bons indicadores de prognóstico, visto a sua elevada sensibilidade para situações infecciosas.

TRATAMENTO

Os animais que se apresentam à consulta com piómetra estão normalmente deprimidos, com a sua condição física debilitada, e antes da realização de qualquer tratamento ou procedimento médico, devem ser estabilizados. A estabilização do paciente passa pela administração endovenosa de fluidos, e início de terapia com antibióticos na medida de controlar a infecção e possível endotoxémia ou choque (Verstegen et al.,2008).

O tratamento de eleição para piómetra continua até aos dias de hoje a ser a ovariectomia. Isto deve-se ao facto do tratamento médico realizado em situações de piómetra ter uma elevada recorrência, cerca de 70% em dois anos (Wiebe & Howard,2009). Porém existem alguns animais em que interessa manter o potencial reprodutivo, ou em situações em que os proprietários não estão a fim de prosseguir com a cirurgia, tornando-se necessário arranjar uma solução médica e não cirúrgica para o problema. A resolução cirúrgica através de ovariectomia, tem uma taxa de sucesso entre os 83 e os 100% (Ewald,1961; Fazale, Iqbal, Khan, Younis & Ahmed,1995). É uma forma de tratamento que resolve a situação definitivamente, sem ocorrer recorrências como ocorre no tratamento médico (Trasch, Wehrend & Bostedt, 2003). É recomendado que se realize antes e depois da cirurgia, durante cerca de dez dias uma boa antibioterapia. Yates, (1996) no seu estudo demonstrou que as bactérias envolvidas em piómetra são na sua maioria->90%- sensíveis a amoxicilina em associação com ácido clavulânico , cefalexina e enrofloxacin. Outros estudos referem que os antibióticos indicados em situações de piómetra são: aminoglicosídeos,

trimetropim associado a sulfametoxazol, amoxicilina com ácido clavulânico, cefalosporinas de terceira geração e cloranfenicol (Lee, Cho, Shin et al.,2000).

O tratamento médico de piómetra tem como principal objectivo reduzir os níveis plasmáticos de progesterona, quer seja por luteólise, ou pelo bloqueio dos receptores de progesterona (Verstegen et al., 2008).

Uma das opções a nível de tratamento médico envolve a administração repetida de PGF 2 α , que causa luteólise e reduz a concentração plasmática de progesterona (Meyers & Goldschmidt, 1986; Renton, Boyd & Harvey, 1993). O tratamento tem normalmente a duração de 7 a 10 dias (Fransson & Ragle,2003; Sridevi, Balasubramanian, Devanathan, et al.,2000; Gabor, Siver & Szenci, 1999), e pode ter como efeitos secundários, panting, vômito, aumento da frequência cardíaca e febre (Wiebe & Howard,2009). Pode ainda ser administrada em associação com agonistas da dopamina, potenciando o poder luteolítico das prostaglandinas, um dos exemplos é a Cabergolina (Onclin & Verstegen, 1996; Onclin & Verstegen, 1999). Deve-se ter cuidado na administração de prostaglandinas , visto estar associado com rupturas uterinas, principalmente em situações de piómetra fechada (Jackson, 1979).

Em alguns países estão disponíveis no mercado antagonistas dos receptores de progesterona, como a mifepristona e a aglepristona, que se ligam aos receptores da progesterona , competindo assim com a progesterona, não reduzindo os níveis séricos mas inibindo a produção de actividade biológica. Estes agentes são utilizados como tratamento médico de piómetra , visto a forte competição que causam nos receptores de progesterona, inibindo assim a sua acção.

Alguns autores realizaram o tratamento com aglepristona, resolvendo com sucesso a patologia, embora o tratamento com aglepristona em associação com prostaglandinas, como o cloprostenol , tenha apresentado maior eficácia . Posto isto , é recomendado o uso em associação dos dois agentes , em vez do tratamento isolado de aglepristona(Gobello, Castex, Rodriguez & Corrada, 2003; Fieni,2006). Um estudo realizado em 52 cadelas com piómetra, revelou que num prazo de 7 dias de tratamento, aglepristona teve uma taxa de sucesso de 92,3% , resolvendo a patologia clínica das cadelas, anulando os sinais clínicos, e levando os valores de leucócitos aos valores de referência, embora a longo prazo tenha tido uma taxa de sucesso de apenas 67%, devido a recorrências que se deram nas restantes cadelas (Trasch,

Wehrend & Bostedt, 2003). Ainda no mesmo estudo foi demonstrado que o tratamento em associação com cloprostenol tem maior taxa de sucesso do que o tratamento isolado com aglepristona. A associação dos dois agentes teve uma taxa de sucesso de 87% a longo prazo, contrastando com a taxa de 63% obtida através do tratamento isolado com aglepristona (Trasch, Wehrend & Bostedt, 2003). A aglepristona exerce melhor o seu efeito em cadelas que não apresentam quistos ováricos, sendo este um factor limitante do tratamento. Foi demonstrado num estudo, que cadelas com quistos ováricos respondiam pior ao tratamento com aglepristona, do que cadelas com os ovários normais, e que o tratamento com aglepristona está por isso indicado para cadelas que não apresentam quistos ováricos e com idade inferior a 5 anos (Jurka, Max, Hawrynska & Snochowski, 2010).

MATERIAL E MÉTODOS

POPULAÇÃO ALVO – O grupo de estudo neste trabalho, foram todos os animais que se apresentaram à consulta entre Outubro de 2010 e Março de 2011, aos quais foi diagnosticado Piómetra, e que se compôs de uma amostra total de 12 animais, com uma média de idades de 10,25 anos. De acordo com princípios de Ética e Deontologia, e apenas mediante autorização dos proprietários e da direcção clínica do hospital, foram incluídos nesta amostragem para efeitos de estudo.

PROCEDIMENTO

Os indivíduos que se apresentaram à consulta com exame físico, sintomatologia ou sinais clínicos suspeitos de piómetra, foram de forma protocolar avaliados do ponto de vista imagiológico com recurso a radiografia abdominal e ultrasonografia, sendo este último o determinante para a obtenção do diagnóstico definitivo, através da documentação visual de conteúdo líquido anecogénico ou hipocogénico intraluminal uterino.

Os animais com diagnóstico de hiperplasia quística endometrial ou piómetra foram posteriormente sujeitos a uma avaliação básica, consistindo em exame físico detalhado complementado por determinação das pressões arteriais não invasivas, através de método oscilométrico.

A avaliação complementar recorreu a obtenção da amostra de sangue, sistematicamente realizada através de venopunção na veia jugular externa, sendo dividida em duas alíquotas de 2 mL, colocadas em tubo com anticoagulante(EDTA), e Heparina-Lítio respectivamente. As amostras foram submetidas por sua vez, a determinação de hemograma por contagem automatizada, por técnica de impedância (Mindray BC 2800 Vet/Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronic Co ltd Nanshan China) a partir do tubo com³⁶

anticoagulante, e bioquímicas séricas englobadas num painel inicial de avaliação de acordo com o protocolo instituído pelo Hospital consistindo em, ALT/GPT -Alanina Aminotransferase, ALKP/FA-Fosfatase Alcalina, BUN-Ureia, e PT-Proteínas Totais, através de método espectrofotométrico (Fujifilm Dri-Chem 4000 i, Fuji Photo Film co, ltd Tokyo, Japan) a partir da amostra acondicionada em Heparina-Lítio. A todos os animais foi ainda posteriormente determinada a glicémia, uma vez que esta determinação faz parte obrigatória e integrante da avaliação de um painel anestésico, e que se realiza por sistema a todos os indivíduos que são submetidos a cirurgia.

Aos animais citados e encaminhados a tratamento cirúrgico foi colocado um acesso intravenoso através de catéter periférico na veia cefálica, sendo estes ainda submetidos a uma fluidoterapia parenteral intravenosa numa taxa de 10 ml/Kg/h, em todo o período perioperatório e intra-cirúrgico, sendo posteriormente esta taxa ajustada às necessidades individuais e acometidas às circunstâncias clínicas, estado de desidratação e perdas, de cada paciente.

O protocolo anestésico realizado nestes animais incluiu, como agentes pré-anestésicos, morfina na dose de 0,5 mg/Kg (Morfina 1% ®, B.Braun) sem conservantes, por via intra-muscular, e diazepam na dose de 0,2 mg/Kg (Diazepam Labesfal ® 20mg/2ml), por via intra-venosa, seguido de uma indução anestésica com agente hipnótico, propofol na dose de 4-6 mg/Kg (Propofol Lipuro 1% ® B.Braun), por via intra-venosa. A manutenção de inconsciência anestésica intra-operatória dos pacientes foi conseguida pela inalação de mistura vaporizada de agente halogenado isoflurano em oxigénio medicinal, por meio de entubação endotraqueal, em circuito aberto ou semi-aberto de acordo com o porte do paciente, e, em regime de ventilação espontânea. A monitorização anestésica intra-cirúrgica consistiu em registo dos seguintes parâmetros vitais: traçado electrocardiográfico em 2 derivações -I e II, pulsioximetria, capnografia, e pressões arteriais não invasivas por método oscilométrico, através de monitor multiparamétrico integrado (Datex-Ohmeda AS/5).

O procedimento cirúrgico consistiu em remoção do conjunto de ovários e útero por ovariohisterectomia completa. Para obtenção de amostra de líquido uterino, apropriada a envio para laboratório, procedeu-se a uma centese do órgão por técnica asséptica, e de forma reproduzida pré-protocolizada.

Os proprietários dos pacientes foram sujeitos a algumas questões agrupadas sob a forma de um pequeno questionário que se anexa, a fim de obter e complementar informações da história clínica do animal, que pudessem partilhar valor para o âmbito do estudo.

PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

O processamento e análise das amostras uterinas recolhidas no Hospital Veterinário do Porto, foi realizado com o apoio do laboratório INNO.

As amostras foram sistematicamente recolhidas no momento imediato pós-ovariohisterectomia, nas instalações do Hospital, e chegaram sem excepção ao laboratório indicado no prazo previsto inferior a 24 horas.

As amostras foram submetidas a uma coloração Gram para diferenciar entre entidades Gram positivas ou Gram negativas, e para fundamentar a posterior escolha de método e meio para realização da cultura para identificação de microorganismos. O teste Gram é realizado, recorrendo-se ao Cristal Violeta como primeiro corante, durante 60 segundos, e posteriormente lavado durante 15 segundos. Após lavagem, é feita uma coloração com Safronina ou Carbol Fuscina durante 60 segundos. Foi ainda realizada a observação microscópica das amostras a fim de concluir se estava presente resposta inflamatória, através de coloração Romanowsky.

As amostras foram cultivadas em regime de aerobiose, num meio de Gelose Sangue , e Gelose Mac Conkey sendo posteriormente incubadas em estufa à temperatura de 37 °C, durante um período de 24 a 48 horas. No caso em que foi registada uma ausência de crescimento de microorganismos nos meios convencionais citados anteriormente, as amostras foram como forma de recurso, igualmente cultivadas num meio de Gelose Trypticase de Soja.

A pesquisa de anaeróbios foi realizada através de cultura da amostra num meio de Gelose Sangue, enriquecido com Vitamina K -Fitomenadiona, e com aplicação de discos de Kanamicina -1000 µg/disco, Hemina, e Vancomicina -5 µg, por um período de 48 horas, com a atmosfera controlada de anaerobiose, produzida por meio de geradores.



Figurs 1- Ilustração da cultura em anaerobiose.(fotografia obtida pelo autor)

Todas as placas foram interpretadas através do aparelho de leitura VITEK 2 (Biomérieux), recorrendo-se à utilização de cartas multi-teste. As cartas utilizadas para aeróbios foram GN, e AST 26, sendo que para os anaeróbios foi utilizada a carta ANC.



Figura 2 – VITEK 2, aparelho no qual é realizada a cultura e antibiograma de aeróbios. Obtida através do laboratório INNO (fotografia recolhida pelo autor da tese).

A identificação do agente bacteriano foi realizada pela máquina, tal como a 39

selecção da bateria de antibióticos indicado para cada agente, mediante a colocação de uma carta específica para o agente microbiano suspeito.

Os anaeróbios foram identificados através da galeria Rapid ID 22 A (Biomérieux), ou através da carta do VITEK 2, ANC, sendo necessária a avaliação de aerotolerância, teste Gram, e a forma, se são cocos, bacilos ou cocobacilos, procedimento realizado no laboratório pelo operador, antes de se escolher a carta do VITEK 2. O VITEK 2 não apresenta uma grande sensibilidade para a leitura de anaeróbios, uma vez que estes microorganismos são muito sensíveis a oscilações de temperatura e presença de oxigénio. O antibiograma realizado nos anaeróbios, foi o ANA (Biomérieux).

Os antibióticos utilizados pelo laboratório na realização de antibiogramas foram: amoxicilina, ampicilina, cefalosporinas- primeira geração (cefalotina, cefazolina e cefalexina). Segunda geração- cefuroxima . Terceira geração- cefotaxima, ceftazidima, ceftriaxona, e cefixima, Imipenem, Meropenem, Tobramicina, gentamicina, amicacina, ciprofloxacina, enrofloxacina, trimetropim em associação com sulfametaxazol, piperacilina em associação com tazobactam, cloranfenicol, clindamicina, metronidazol e penicilina G.

RECOLHA DAS AMOSTRAS EM PIÓMETRA CANINA

Todas as amostras foram recolhidas através dos seguintes passos:

- Recolheram-se 5 mL de conteúdo líquido o mais fundo possível no útero, após OVH, utilizando uma seringa de 5 mL, agulha amarela 20 Gauge. Teve-se o cuidado de não deixar ar dentro da seringa. Se tal ocorresse, fez-se nova colheita, visto ser também para cultura de anaeróbios.
- Registou-se no questionário em anexo qual o antibiótico utilizado (Predefinido enrofloxacina).
- Por fim, preencheu-se um questionário em anexo (Proprietário), e a ficha com identificação das amostras para envio para laboratório.

RESULTADOS

Neste estudo foi realizada cultura e antibiograma do conteúdo uterino de 12 animais com piómetra , e foi também recolhido junto dos proprietários os dados relativos à história do animal, que de acordo com a bibliografia eram importantes para a resolução do caso clínico.

Quadro 1- Microorganismos isolados em aerobiose e anaerobiose, em 12 cadelas com piómetra, e resistências aos antibióticos .

<i>ANIMAIS</i>	<i>Microorganismo isolado em aerobiose</i>	<i>Microorganismo isolado em anaerobiose</i>	<i>Resistência aos antibióticos</i>
1	Escherichia coli	-	Resistente a Ampicilina,cefalotina, Trimetropim+sulfas
2	-	Peptostreptococcus anaerobius	Não apresentou resistências
3	Escherichia coli	Bacteroides fragilis	E.coli apresentou resistência intermédia a amoxicilina. B.fragilis não apresentou resistências.
4	Escherichia coli	-	Não apresentou resistências
5	Escherichia coli	-	Não apresentou resistências
6	Escherichia coli	-	Não apresentou resistências
7	-	-	-
8	Escherichia coli	-	Não apresentou resistências
9	-	Bacteroides fragilis	Apresentou resistência a Penicilina G , e Amoxicilina
10	-	-	-

11	Escherichia coli	-	Resistência intermédia a Amoxicilina+ácido clavulânico, e resistência a amoxicilina.
12	Enterobacter aerogenes	-	Resistente a Ampicilina, Amoxicilina, Amoxicilina+Ácido clavulânico, cefazolina, cefalotina, cefalexina, cefoxitina.

No presente estudo foi realizado um questionário aos proprietários, a fim de obter as informações inerentes á história do animal, que fossem fundamentais para a resolução do caso e para se proceder posteriormente a uma comparação com outros estudos previamente efectuados. Questionário em apêndice.

Quadro 2- Sinais clínicos observados numa população de 12 cadelas com piómetra, que foram utilizadas no presente estudo, obtido através de questionário realizado aos proprietários.

<i>Sinais clínicos</i>	<i>Número de animais</i>	<i>%</i>
Cio regular	10	83
PU/PD	9	75
Corrimento vaginal	8	67
Pseudogestação	10	83
Piómetra na história pregressa	0	0
Gestações anteriores	1	8
Vómito	4	33
Diarreia	6	50
Febre	2	16

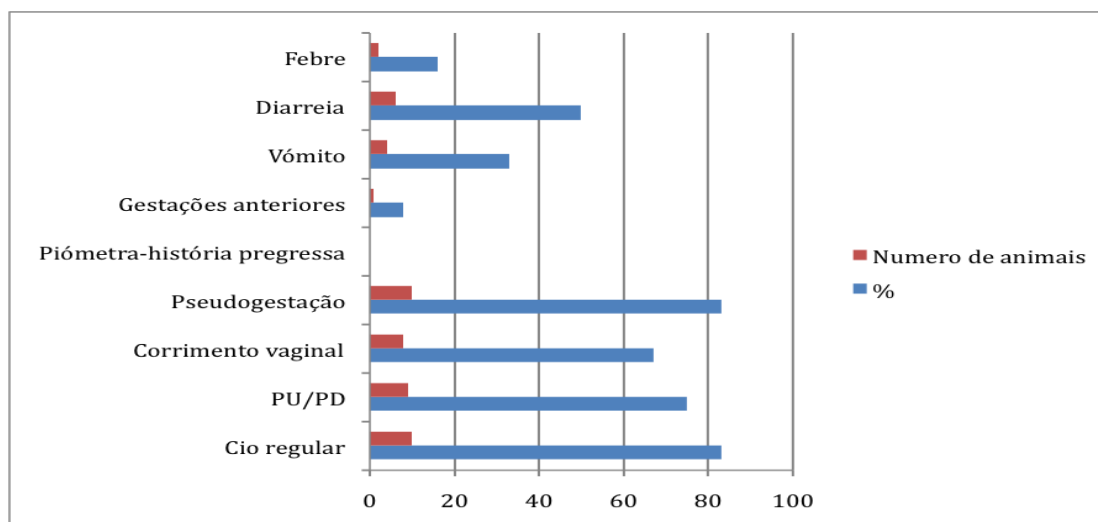


Gráfico 2- Sinais clínicos registados em 12 animais com piómetra, através de questionário ao proprietário.

Nos animais que se apresentaram á consulta na época de estudo, e nos quais foi diagnosticado piómetra , foi retirado sangue no dia 1, 2 e 7 , para realização de hemograma. Foram também realizadas bioquímicas sanguíneas , visto que faz parte do painel pré anestésico, e estes animais foram encaminhados para cirurgia.

Quadro 3- Parâmetros do hemograma e bioquímicas analisadas em 12 animais com piómetra.

<i>Parâmetro</i>	<i>Número de animais</i>	<i>%</i>
Leucocitose -dia 1	8	67
Leucocitose -dia 2	9	75
Leucocitose -dia 7	0	0
Anemia	4	33
Ureia	1	8
Fosfatase alcalina	7	58

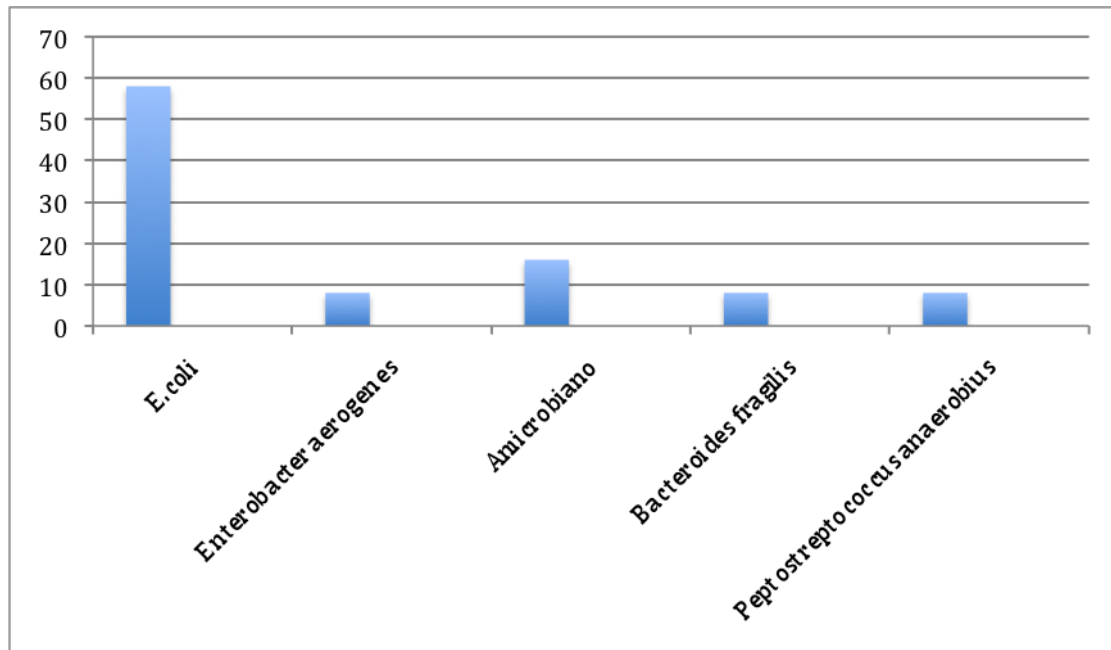


Gráfico 3- Bactérias que foram isoladas nas amostras de piómetra em percentagem.

DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

No estudo realizado, em 7 animais de um total de 12 em estudo, foi possível isolar *E. coli* no seu conteúdo uterino. Este resultado corresponde a 58% da população total, um resultado similar ao obtido por Wheaton et al., (1989), onde em 47 cadelas em estudo, o autor detectou a presença de *E.coli* em 66% da amostra. Outros autores obtiveram resultados mais elevados, na ordem dos 80%, em amostras de 10 cadelas com a patologia (Dabrowski et al.,2009).

Nos restantes animais foram detectados *Bacteroides fragilis*, num dos casos em associação com *E.coli*, e noutro caso isolamento puro de *Bacteroides fragilis*. Este agente não está descrito como um agente característico de piómetra. Este agente estava presente em dois animais, 16% da amostra total, e apresentou resistência a antibióticos. Num dos casos o agente não apresentou resistência a antibióticos, porém no outro caso , demonstrou ser resistente a Penicilina G e Amoxicilina. Esta ocorrência é fortemente sugestiva da capacidade das bactérias desenvolverem resistência a antibióticos, por diversos mecanismos. Certas estirpes da mesma bactéria podem ser resistentes a um ou mais antibióticos, enquanto outras estirpes da mesma bactéria podem não apresentar qualquer resistência.

Peptostreptococcus foi também isolado num caso deste estudo, não apresentando resistência aos antibióticos. Este agente é também um agente pouco comum em piómetra canina de acordo com a bibliografia. *Enterobacter aerogenes* foi isolado na cultura de conteúdo uterino de um animal, e apresentou resistência a ampicilina, amoxicilina, amoxicilina associada a ácido clavulânico, cefazolina, cefalotina, cefalexina e cefoxitina. Este agente não está descrito como um agente comum em piómetra canina.

De um total de 12 animais com piómetra, 9 destes casos eram piómetras abertas, apresentando corrimento vaginal, com a exceção de um caso em que não ocorreu corrimento. Este valor representa 75 % da população total. Os restantes três casos foram piómetras fechadas, não apresentando á consulta corrimento vaginal, 25% da população

estudada.

Dos animais apresentados á consulta no período do estudo, apenas um animal realizou tratamento hormonal, no sentido de prevenir uma eventual gravidez. Posto o reduzido número de animais a realizar terapia hormonal, não foi possível estabelecer neste estudo uma ligação entre terapia hormonal e a ocorrência de piómetra.

A média aritmética das idades dos animais em estudo foi de 10,25 anos de idade, um resultado superior aos estudos prévios realizados por outros autores. 9 anos de idade (Niskanen & Thursfield, 1998), 8,5 anos de idade (Pelander ,Hagman & Haggstrom,2008), entre outros estudos realizados onde a incidência a nível de idades foi em animais mais jovens.

Não foi possível neste estudo estabelecer uma predisposição racial, visto que uma elevada percentagem dos animais que se apresentaram com piómetra, não tinham raça definida. Para além deste facto, os restantes animais, representavam uma amostra muito heterogénea , do ponto de vista racial, sendo necessários outros estudos , e com amostras mais numerosas , no sentido de estabelecer uma predisposição racial para esta patologia.

Os animais analisados desenvolveram piómetra no período esperado, correspondendo a 60 dias pós estro. 10 animais- 73% apresentavam cios regulares, opondo-se á teoria que defende que animais com cios irregulares são mais afectados (Faldyna, Laznicka & Toman, 2001). Porém o facto dos animais afectados terem na sua maioria cios regulares, pode ser justificado provavelmente pelo tamanho limitado da amostra. Os dois animais restantes, não exibiram comportamento de cio, provavelmente por serem de idade avançada.

Polidipsia/Poliúria foi registada em 75% dos animais do presente estudo, contrastando com o estudo realizado por Kaymaz et al., (1999), em que obteve em resultado de 85,7 % de animais que exibiram polidipsia/poliúria numa amostra total de 18 casos. Os valores obtidos encontram-se mais próximos dos valores obtidos por Sevelius et al.,(1990), em que 70% de 83 cadelas com a patologia apresentaram polidipsia/poliúria.

A maioria dos animais que se apresentou à consulta, revelou corrimento vaginal. Um total de 8 animais em 12 presentes no estudo, representando 67% da amostra total. Dos restantes animais, 3 tinham piómetra fechada, representando 25% da população, e um deles

apresentava uma piómetra com ruptura e peritonite associada, só sendo diagnosticada piómetra com ruptura na realização da ovariohisterectomia. O presente estudo obteve valores muito similares ao estudo realizado por Dabrowski et al.,(2009), em que foi registado numa população de 60 cadelas corrimento purulento em 60% da população em estudo. Outros autores, obtiveram resultados um pouco divergentes, Sevelius et al, (2009) em 83 cadelas, registou corrimento em 80%, e Hagman et al, (2011) registou em 87 cadelas, corrimento vaginal em 75%.

Na presente amostra, 10 animais tinham história de pseudogestação no seu passado clínico, correspondendo este valor a 83% da população total em estudo. Este resultado demonstra que existe de facto uma associação entre pseudogestação na história pregressa do animal, e a ocorrência de piómetra. Esta associação contraria estudos que referem que a ocorrência de pseudogestação em ciclos éstricos anteriores , está associada a um baixo risco de ocorrência de piómetra (Fidler et al., 1966; Dow,1958; Dow,1959). Outros estudos verificaram que existia uma forte associação entre pseudogestação, e a ocorrência de piómetra. Kaymaz et al., (1999) no seu estudo em 18 cadelas com piómetra, registou pseudogestação na história pregressa em 61,1%.

Nenhum dos animais analisados tinha desenvolvido patologia uterina anteriormente. Apenas um dos animais analisados no estudo tinha estado gestante anteriormente. O animal em causa tinha 8 anos de idade, e tinha estado gestante à 6 anos atrás.

O vômito é um sinal clínico muito comum nesta patologia, e neste estudo foi registado vômito em 4 animais, 33% da população total. O mesmo resultado foi obtido por Wheaton et al., (1989), numa população de 80 animais. Jurka, Max, Hawrynska & Snochowski (2010) em 24 casos registados, relataram vômito em apenas 2 animais, correspondendo a 8,3 % da amostra.

Diarreia é também um sinal clínico que surge muitas vezes associado a animais que se apresentam à consulta com piómetra. No presente estudo foi registada diarreia em 6 animais, o correspondente a 50% da população em estudo, contrastando com resultados previamente obtidos onde foi registada diarreia em 26%, numa amostra de 80 casos(Wheaton et al., 1989).

Hipertermia pode ou não estar presente em animais afectados. Foi considerado que um animal apresentava hipertermia, quando a temperatura corporal estivesse acima de 39,5₄₇

° Celsius. No estudo realizado, 2 animais em 12 tinham hipertermia à chegada. Este valor representa 16% da população total. Na amostra, 2 dos 12 animais tinham hipertermia no acto de apresentação a consulta. Este valor corresponde a 16% da população total. Porém outros estudos registaram ocorrências de hipertermia na ordem dos 30, em amostras substancialmente maiores -83 casos (Sevelius et al., 1990), contrastando com estudos de outros autores que referem que hipertermia não é um sinal comum em casos de piómetra (Verstegen et al., 2009).

No estudo realizado 8 animais em 12, 67 % da amostra apresentou-se à consulta com um aumento significativo do valor dos leucócitos. Foi considerado como valor máximo $17 \times 10^9/L$, e como valor mínimo $6 \times 10^9/L$. Um animal apresentou-se à consulta com leucopenia, e este encontrava-se em mau estado geral, e em choque, com pressões arteriais muito baixas e temperatura abaixo do valor fisiológico.

No animal referido como tendo um estado clínico mais severo, foi realizado um bolo de 20 mL/Kg de cristalóide isotónico, durante um período de vinte minutos, com recurso a bomba infusora, sendo de imediato medicado com enrofloxacin no sentido de controlar a infecção. O animal registou melhoria clínica, e quando se encontrava hemodinamicamente estável, foi encaminhado para cirurgia. Durante o período de recobro e período pós cirurgico, o indivíduo foi constantemente monitorizado para os parâmetros básicos que contemplaram: tempo de repleção capilar, pressões arteriais não invasivas por método oscilométrico, temperatura, e pulso.

A causa mais provável deste animal ter entrado neste estado é ter entrado em endotoxémia(Johnston et al.,2001).

Estudos similares na avaliação dos parâmetros do hemograma de animais afectados, registaram valores muito parecidos com os obtidos no presente estudo, Wheaton et al., (1989) em 80 animais registou leucocitose em 68 % dos animais em estudo.

A realização de hemograma no segundo dia, tinha como propósito a avaliação do animal, uma vez que com esta condição clínica, e como sujeitos a cirurgia de ovariectomia, os indivíduos ficaram internados por um tempo mínimo de 48 horas. Neste hemograma de controlo ao segundo dia, é curioso observar que existe um maior número de animais com leucocitose do que no dia da apresentação à consulta. No dia 2, verificou-se assim leucocitose em 75% dos animais, por contraste à percentagem de 67%
48

registada para o dia 1. Uma hipótese provável para a explicação deste fenómeno, denomina-se de leucocitose “rebound”. Este processo ocorre no período que se segue à realização de ovariohisterectomia, e é caracterizado por um aumento muito significativo dos leucócitos, por vezes até valores como $70 \times 10^9/L$.

Devido ao facto que numa situação clínica de piómetra, existe uma extrema quimiotaxia dos neutrólios ao órgão-alvo –útero no caso presente, e simultânea estimulação medular para síntese granulocítica, após a realização da ovariohisterectomia, estes fenómenos mantêm-se, e uma vez que não ocorre acantonamento uterino das células inflamatórias, ficando estas em circulação, contribuindo para o registo significativo do aumento da leucocitose. Esta leucocitose após a ovariohisterectomia não está relacionada com um mau prognóstico e é transitória, demonstrando o estudo presente que no dia 7 após cirurgia, todos os animais da amostra registaram valores de leucócitos dentro dos valores de referência.

Este estudo demonstra ainda que, a par da revisão bibliográfica efectuada, a escolha de antibioterapia efectuada, se revelou eficaz, conjuntamente com a cirurgia de remoção uterina e os cuidados médicos adequados. A enrofloxacin que estava descrita na bibliografia como um agente eficaz no combate aos microorganismos presentes em situações de piómetra canina, provou-se eficaz clinicamente no combate à infecção num período de 7 dias, numa dose de 5 mg/Kg.

Está descrito na bibliografia que piómetra surge muitas vezes associado a anemia (Hardy & Osborne,1974; DeSchepper, Decock & Capiau,1989). No estudo realizado, foi registada anemia em 4 animais, o correspondente a 33% da população total de animais em estudo. Este valor encontra-se dentro do intervalo previamente descrito por Kaymaz et al., (1997) no seu estudo de achados laboratoriais em piómetra.

No presente estudo os indivíduos com piómetra, e que apresentavam anemia à entrada no hospital, registaram um agravamento da mesma com o passar do tempo, tendo uma recuperação mais lenta, atribuindo-se a explicação ao facto de ser uma anemia da doença crónica, normalmente pouco regenerativa ou não regenerativa.

Apenas um animal apresentou ureia acima dos valores de referência, correspondendo a 8 % do total de animais. Existe alguma bibliografia que associa dano renal á ocorrência

de piómetra , porém mais estudos são necessários para se poder obter resultados conclusivos.

O resultado bioquímico que apresentou alterações em maior número de animais foi a fosfatase alcalina, que estava aumentada em 7 animais, correspondendo a 58 % do total de animais. O aumento da fosfatase alcalina segundo Crane (2009) é devido a um factor citotóxico necrotizante produzido por *E.coli*, que é responsável por um dano hepatocelular ou hipóxia devido à desidratação, sendo responsável por um aumento reversível da fosfatase alcalina. Crane (2009) no seu estudo refere, que existe uma relação entre o aumento da fosfatase alcalina e a infecção por *E.coli*.

No presente estudo, de 7 animais com fosfatase alcalina elevada, 2 deles tiveram uma cultura estéril após 48 horas. Um destes animais obteve uma cultura positiva, com crescimento de *Bacteroides fragilis* na cultura anaeróbia e estéril na aeróbia. Os restantes quatro animais , 57% da amostra com fosfatase alcalina aumentada, obtiveram uma cultura positiva, com crescimento de *E.coli*, o que pode de acordo com Crane(2009) estar relacionado com o factor necrotizante citotóxico produzido por *E.coli*. Apesar de tudo, são necessários mais estudos, em amostras significativamente estatísticas, a fim de se obter resultados com fidelidade.

CONCLUSÃO

Apesar de termos em conta que a amostra é estatisticamente insignificante, com este pequeno estudo foi possível responder às questões colocadas como objectivos iniciais, tornando-se assim possível demonstrar que existe uma resistência por parte das bactérias envolvidas em piómetra canina, a certos agentes antibióticos utilizados na prática clínica. O microorganismo que se encontrou presente em maior número de animais foi *E. coli*, sendo este microorganismo isolado em 58% da população total, encontrando-se este resultado de acordo com a bibliografia existente.

Assim, conclui-se que as resistências a antibióticos existem em Portugal, e que é essencial a realização de cultura e antibiograma, na medida de seleccionar um antibiótico eficaz no combate à infecção. Pudemos ainda concluir que enrofloxacin a dose de 5 mg /Kg foi eficaz no combate à infecção em situações de piómetra canina, num período de 7 dias, acompanhado de ovariohisterectomia. Esta informação é bastante útil para a prática clínica, visto que os antibiogramas demoram normalmente cerca de 7 dias, e neste tipo de patologias ser muitas vezes necessária a realização de antibioterapia o mais rápido possível, na medida de estabilizar o paciente.

De acordo com a pesquisa bibliográfica efectuada, crê-se que este trabalho foi o primeiro trabalho em Portugal, que analisou os microorganismos envolvidos em piómetra e as respectivas resistências a antibióticos. A bactéria *E.coli*, foi à semelhança de estudos realizados noutros países a mais comum. Foram ainda isolados outros microorganismos que não foram descritos anteriormente como agentes característicos de piómetra canina. Dos microorganismos isolados, pode destacar-se *Peptostreptococcus anaerobius*, *Enterobacter aerogenes* e *Bacteroides fragilis*.

Duas das culturas isoladas em animais com a patologia, eram multiresistentes, sendo resistentes a pelo menos três agentes antimicrobianos. Jahdavi et al.(2011) descreve no seu estudo como multiresistência, bactérias que são resistentes a pelo menos 3 agentes⁵¹

antimicrobianos. Esta ocorrência é preocupante na medida em que a aplicação sistemática de antibióticos que anteriormente estavam descritos como agentes apropriados para o tratamento de piómetra, actualmente pode não ser eficaz no controlo da infecção.

A Amoxicilina, a amoxicilina em associação com ácido clavulânico, a ampicilina, a cefalexina, a cefalotina, a cefazolina, a cefoxitina, a penicilina G, e trimetropim-sulfas, são agentes que estavam descritos como agentes eficazes no tratamento de piómetra canina(Shaheen, Oyarzabal & Boothe,2010). Porém no estudo actual foi demonstrado que estes agentes foram ineficazes no combate a infecção, não sendo indicados no tratamento de piómetra em cadelas.

BIBLIOGRAFIA

- Alvarenga, F. C. L., Bicudo, S. D., Prestes, N.C, Ferreira, J. C. P., Lima, M. C. C., Fuck, E. J., et al. (1995). Ultrasonic Diagnosis of Pyometra in Bitches. *Brasilian Journal of Veterinary Research and Animal Sciences*, 32, 105-108.
- Austad, R., Blom, A. K., & Børresen, B. (1979). Pyometra in the dog. III.--A pathophysiological investigation. III. Plasma progesterone levels and ovarian morphology. *Nordisk Veterinaermedicin*, 31(6), 258-262.
- Bartoskova, A., Adlerova, L., Kudlackova, H., Leva, L., Vitasek, R., & Faldyna, M. (2009). Lactoferrin in canine sera: a pyometra study. *Reproduction in domestic animals Zuchthygiene*, 44 Suppl 2, 193-195.
- Bartoskova, A., Vitasek, R., Leva, L., & Faldyna, M. (2007). Hysterectomy leads to fast improvement of haematological and immunological parameters in bitches with pyometra. *The Journal of small animal practice*, 48(10), 564-568.
- Bigliardi, E., Parmigiani, E., Cavirani, S., Luppi, A., Bonati, L., & Corradi, A. (2004). Ultrasonography and cystic hyperplasia-pyometra complex in the bitch. *Reproduction in domestic animals Zuchthygiene*, 39(3), 136-140
- Børresen, B. (1979). Pyometra in the dog. II.--A pathophysiological investigation. II. Anamnestic, clinical and reproductive aspects. *Nordisk Veterinaermedicin*, 31(6), 251-257.
- Chaffaux, S., & Thibier, M. (1978). Peripheral plasma concentrations of progesterone in the bitch with pyometra. *Annales de recherches veterinaires Annals of veterinary research*, 9(3), 587-592.
- Chastain, C., Panciera, D., & Waters, C. (1999). Associations between age, parity, hormonal therapy and breed, and pyometra in Finnish dogs. *Small animal endocrinology*.
- Chen, Y. M. M., Wright, P. J., Lee, C.-S., & Browning, G. F. (2003). Uropathogenic virulence factors in isolates of Escherichia coli from clinical cases of canine pyometra and feces of healthy bitches. *Veterinary Microbiology*, 94(1), 57-69
- Choi, W. P., & Kawata, K. (1975). O group of Escherichia coli from canine and feline pyometra. *The Japanese journal of veterinary research*, 23(4), 141-143.
- Dabrowski, R., Kostro, K., Lisiecka, U., Szczubiał, M., & Krakowski, L. (2009). Usefulness of C-reactive protein, serum amyloid A component, and haptoglobin determinations in⁵³

- bitches with pyometra for monitoring early post-ovariohysterectomy complications. *Theriogenology*, 72(4), 471-476.
- Dabrowski, Roman, Wawron, W., & Kostro, Krzysztof. (2007). Changes in CRP, SAA and haptoglobin produced in response to ovariohysterectomy in healthy bitches and those with pyometra. *Theriogenology*, 67(2), 321-327.
- De Bosschere, H., Ducatelle, R., Vermeirsch, H., Van Den Broeck, W., & Coryn, M. (2001). Cystic endometrial hyperplasia-pyometra complex in the bitch: should the two entities be disconnected? *Theriogenology*, 55(7), 1509-1519.
- De Schepper, J., De Cock, I., & Capiiau, E. (1989). Urinary gamma-glutamyl transferase and the degree of renal dysfunction in 75 bitches with pyometra. *Research in Veterinary Science*, 46(3), 396-400.
- Dhaliwal, G. K., Wray, C., & Noakes, D. E. (1998). Uterine bacterial flora and uterine lesions in bitches with cystic endometrial hyperplasia (pyometra). *Veterinary Record*, 143(24), 659-661.
- Dow, C. (1958). The cystic endometrial hyperplasia-pyometra complex in the bitch. *Veterinary Record*, 69.
- Dow, C. (1959). The cystic hyperplasia-pyometra complex in the bitch. *Journal of Comparative Pathology*, 69, 237-50.
- Egenvall, A., Hagman, R., Bonnett, B. N., Hedhammar, A., Olson, P., & Lagerstedt, A. S. (2001). Breed risk of pyometra in insured dogs in Sweden. *Journal of veterinary internal medicine American College of Veterinary Internal Medicine*, 15(6), 530-538.
- Ewald, B. H. (1961). A survey of the cystic hyperplasia-pyometra complex in the bitch. *Small animal clinician*, 1, 383-386.
- Facts, K. E. Y. (2003). Canine Pyometra : An Update on Pathogenesis and Treatment, 25(8), 602-612.
- Faldyna, M., Laznicka, A., & Toman, M. (2001). Immunosuppression in bitches with pyometra. *The Journal of small animal practice*, 42(1), 5-10.
- Fayrer-Hosken, R. A., Durham, D. H., Allen, S., Miller-Liebl, D. M., & Caudle, A. B. (1992). Follicular cystic ovaries and cystic endometrial hyperplasia in a bitch. *Journal of the American Veterinary Medical Association*.
- Fazale, A., Iqbal, M., Khan, M. A., Younis, M., & Ahmed, I. G. (1995). Comparative efficacy of hormonal and surgical treatment for pyometra in the dog. *International Journal of Animal Sciences*, 10, 129-131.
- Feldman, E., & Nelson, R. (1989). Diagnosis and treatment alternatives for pyometra in dogs and cats. *Current Veterinary Therapy in Small Animal Practice*, 10, 1305-10.

- Feldman, E., & Nelson, R. (2004). *Canine and feline endocrinology and reproduction* (pp. 852-67). WB Saunders.
- Fidler, I. J., Brodey, R. S., Howson, A. E., & Cohen, D. (1966). Relationship of estrous irregularity, pseudopregnancy, and pregnancy to canine pyometra. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 149(8), 1043-1046.
- Fieni, F. (2006). *Clinical evaluation of the use of aglepristone, with or without cloprostenol, to treat cystic endometrial hyperplasia-pyometra complex in bitches. Theriogenology* (Vol. 66, pp. 1550-1556).
- Fransson, B., Lagerstedt, A. S., Hellmen, E., & Jonsson, P. (1997). Bacteriological findings, blood chemistry profile and plasma endotoxin levels in bitches with pyometra or other uterine diseases. *Zentralblatt für Veterinärmedizin Reihe A*, 44(7), 417-426
- Fukuda, S. (2001). Incidence of pyometra in colony-raised beagle dogs. *Experimental animals Japanese Association for Laboratory Animal Science*, 50(4), 325-329.
- Gandotra, V., Singla, V., Kochhar, H., Chauhan, F., & Dwivedi, P. (1994). Haematological and bacteriological studies in canine pyometra. *Indian Veterinary Journal*, 71, 816-818.
- Gobello, C., Castex, G., Klima, L., Rodríguez, R., & Corrada, Y. (2003). *A study of two protocols combining aglepristone and cloprostenol to treat open cervix pyometra in the bitch. Theriogenology* (Vol. 60, pp. 901-908).
- Grindlay, M., Renton, J. P., & Ramsay, D. H. (1973). O-groups of *Escherichia coli* associated with canine pyometra. *Research in Veterinary Science*, 14(1), 75-77.
- Gábor, G., Siver, L., & Szenci, O. (1999). Intravaginal prostaglandin F2 alpha for the treatment of metritis and pyometra in the bitch. *Acta Veterinaria Hungarica*, 47(1), 103-108.
- Hagman, R., Kindahl, H., Fransson, B. A., Bergström, A., Holst, B. S., & Lagerstedt, A.-S. (2006). Differentiation between pyometra and cystic endometrial hyperplasia/mucometra in bitches by prostaglandin F2alpha metabolite analysis. *Theriogenology*, 66(2), 198-206.
- Hagman, R., Kindahl, H., & Lagerstedt, A.-S. (2006). Pyometra in Bitches Induces Elevated Plasma Endotoxin and Prostaglandin F2α Metabolite Levels. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 47(1), 55-68. BioMed Central.
- Hagman, R., Lagerstedt, A., Hedhammar, A., & Egenvall, A. (2011). A breed-matched case-control study of potential risk-factors for canine pyometra. *Theriogenology*, 15.
- Hagman, Ragnvi, Reezigt, B. J., Bergström Ledin, H., & Karlstam, E. (2009). Blood lactate levels in 31 female dogs with pyometra. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 51(1), 2. BioMed Central.
- Hardy, R., & Osborne, C. (1974). Canine pyometrapathophysiology, diagnosis and treatment

- of uterine and extra-uterine lesions. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 10, 245-268.
- Heiene, R., Kristiansen, V., Teige, J., & Jansen, J. H. (2007). Renal histomorphology in dogs with pyometra and control dogs, and long term clinical outcome with respect to signs of kidney disease. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 49(1), 13. BioMed Central.
- Hosgood, G., & Salisbury, S. K. (1988). Generalized peritonitis in dogs: 50 cases (1975-1986). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 193(11), 1448-1450.
- Jackson. (1979). Treatment of canine pyometra with dinoprost. *Veterinary Record*, 105, 131.
- Jadhav, S., Hussain, A., Devi, S., Kumar, A., Parveen, S., Gandham, N., et al. (2011). Virulence Characteristics and Genetic Affinities of Multiple Drug Resistant Uropathogenic Escherichia coli from a Semi Urban Locality in India. *PLoS one*, 6.
- Jeffcoate, I. (1998). *BSAVA Manual of small animal reproduction and neonatology*. (G. M. Simpson, Ed.) (pp. 1-8). British Small Animal Veterinary Association.
- Johnston, S. D., Root Kustritz, M. V., & Olson, P. N. S. (2001). Disorders of the feline uterus and uterine tubes (oviducts). *Canine and Feline Theriogenology* (pp. 463-471). W.B. Saunders company.
- Jurka, P., Max, A., Hawryńska, K., & Snochowski, M. (2010). Age-related pregnancy results and further examination of bitches after aglepristone treatment of pyometra. *Reproduction in domestic animals Zuchthygiene*, 45(3), 525-529.
- Kaymaz, M., Bastan, A., Erunal, N., Aslan, S., & Findik, M. (1999). The use of laboratory findings in the diagnosis of CEH-Pyometra complex in the bitch. *Turkey Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 23, 127-133.
- Kida, K., Baba, E., Torii, R., Kawate, N., Hatoya, S., Wijewardana, V., et al. (2006). Lactoferrin expression in the canine uterus during the estrous cycle and with pyometra. *Theriogenology*, 66(5), 1325-1333.
- Koguchi, A., Nomura, K., Fujiwara, T., Kawai, Y., & Okaniwa, A. (1995). Maternal placenta-like endometrial hyperplasia in a beagle dog (Canine deciduoma). *Experimental animals Japanese Association for Laboratory Animal Science*.
- Krook, L., Larsson, S., & Rooney, J. R. (1960). The interrelationship of diabetes mellitus, obesity, and pyometra in the dog. *American Journal Of Veterinary Research*, 21, 120-127.
- Lau, W., Mercer, D., Itani, K. M., Nicolau, D. P., Kuti, J. L., Mansfield, D., et al. (2006). Randomized, Open-Label, Comparative Study of Piperacillin-Tazobactam Administered by Continuous Infusion versus Intermittent Infusion for Treatment of Hospitalized Patients with Complicated Intra-Abdominal Infection. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 50(11), 3556-3561. American Society for Microbiology
- Lee, S., Cho, J., & Shin, N. (2000). Identification and antimicrobial susceptibility of bacteria

- from the uterus of bitches with pyometra. *Korean Journal of Veterinary Research*, 40, 763-767.
- Marrs, C. F., Zhang, L., & Foxman, B. (2005). Escherichia coli mediated urinary tract infections: are there distinct uropathogenic E. coli (UPEC) pathotypes? *FEMS Microbiology Letters*, 252(2), 183-190.
- Meyers-Wallen, V. N., Goldschmidt, M. H., & Flickinger, G. L. (1986). Prostaglandin F2 alpha treatment of canine pyometra. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 189(12), 1557-1561.
- Moore, W. E., Cato, E. P., & Holdeman, L. V. (1978). Some current concepts in intestinal bacteriology. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 31(10 Suppl), S33-S42.
- Myers, L. L., Firehammer, B. D., Shoop, D. S., & Border, M. M. (1984). Bacteroides fragilis: a possible cause of acute diarrheal disease in newborn lambs. *Infection and Immunity*, 44(2), 241-244
- Nakamura, M., Takahashi, M., Ohno, K., Koshino, A., Nakashima, K., Setoguchi, A., et al. (2008). C-reactive protein concentration in dogs with various diseases. *The Journal of veterinary medical science the Japanese Society of Veterinary Science*, 70(2), 127-131.
- Niskanen, M., & Thrusfield, M. V. (1998). Associations between age, parity, hormonal therapy and breed, and pyometra in Finnish dogs. *Veterinary Record*, 143(18), 493-498.
- Nomura, K. (1983). Canine pyometra with cystic endometrial hyperplasia experimentally induced by E. coli inoculation. *Nippon Juigaku Zasshi The Japanese Journal Of Veterinary Science*, 45(2), 237-240.
- Nomura, K., Kawata, Y., & Shimada, Y. (1988). Experimental production of canine pyometra by inoculation with Escherichia coli into the uterus with special reference to no cervical ligation. *Journal of the Jpn. Veterinary Medical Association*, 41, 17-21.
- Nomura, K., & Nishida, A. (1998). Histological variations of canine deciduoma induced in non pregnant horn at different stages of unilateral pregnancy. *The Journal of veterinary medical science the Japanese Society of Veterinary Science*, 60(5), 623-626.
- Nuijens, J. H., Van Berkel, P. H., & Schanbacher, F. L. (1996). Structure and biological actions of lactoferrin. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 1(3), 285-295.
- Okano, S., Tagawa, M., & Takase, K. (1998). Relationship of the blood endotoxin concentration and prognosis in dogs with pyometra. *The Journal of veterinary medical science the Japanese Society of Veterinary Science*, 60(11), 1265-1267
- Onclin, K., & Verstegen, J. P. (1996). Practical use of a combination of a dopamine agonist and a synthetic prostaglandin analogue to terminate unwanted pregnancy in dogs. *The Journal of small animal practice*, 37(5), 211-216.
- Onclin, K., & Verstegen, J. P. (1999). Comparisons of different combinations of analogues of

- PGF2 alpha and dopamine agonists for the termination of pregnancy in dogs. *Veterinary Record*, 144(15), 416-419.
- Osbaldeston, G. W. (1978). Bacteriological studies of reproductive disorders of bitches. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 14, 363-367.
- Pelander, L., Hagman, R., & Häggström, J. (2008). Concentrations of cardiac Troponin I before and after ovariohysterectomy in 46 female dogs with pyometra. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 50(1), 35.
BioMed Central.
- Plumb, D. C. (2005). *Plumb's Veterinary Drug Handbook* (5th ed., pp. 2-1168). Iowa: Blackwell Publishing Ltd.
- Podschun, R., & Ullmann, U. (1998). Klebsiella spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. *Clinical Microbiology Reviews*, 11(4), 589-603. American Society for Microbiology
- Poffenbarger, E. M., & Feeney, D. A. (1986). Use of gray-scale ultrasonography in the diagnosis of reproductive disease in the bitch: 18 cases (1981-1984). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 189(1), 90-95.
- Pretzer, S. D. (2008). Clinical presentation of canine pyometra and mucometra: a review. *Theriogenology*, 70(3), 359-363.
- Quinn, P. J., Carter, M. E., Markey, B., & Carter, G. R. (1999). *Clinical Veterinary Microbiology* (pp. 220-225).
- Renton, J. P., Boyd, J. S., & Harvey, M. J. (1993). Observations on the treatment and diagnosis of open pyometra in the bitch (*Canis familiaris*). *Journal Of Reproduction And Fertility Supplement*, 47, 465-469.
- Russo, T. A., & Johnson, J. R. (2000). Proposal for a new inclusive designation for extraintestinal pathogenic isolates of *Escherichia coli*: ExPEC. *The Journal of Infectious Diseases*, 181(5), 1753-1754.
- Sandholm, M., Vasenius, H., & Kivistö, A. K. (1975). Pathogenesis of canine pyometra. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 167(11), 1006-1010.
- Sevelius, E., Tidholm, A., & Thoren-Toling, K. (1990). Pyometra in the dog. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 26, 36-38.
- Shaheen, B. W., Oyarzabal, O. A., & Boothe, D. M. (2010). The role of class 1 and 2 integrons in mediating antimicrobial resistance among canine and feline clinical *E. coli* isolates from the US. *Veterinary Microbiology*, 144(3-4), 363-370.
- Silverstein, D., & Hopper, K. (2009). *Small animal critical care medicine* (pp. 607-610). St Louis: Saunders elsevier.

- Simon, G. L., & Gorbach, S. L. (1984). Intestinal flora in health and disease. *Gastroenterology*, 86(1), 174-193.
- Siqueira, A. K., Ribeiro, M. G., Leite, D. D. S., Tiba, M. R., Moura, C. D., Lopes, Maria Denise, et al. (2009). Virulence factors in *Escherichia coli* strains isolated from urinary tract infection and pyometra cases and from feces of healthy dogs. *Research in Veterinary Science*, 86(2), 206-210. Elsevier Ltd
- Smith, F. O. (2006). Canine pyometra. *Theriogenology*, 66(3), 610-612.
- Sousa, C. P. (2006). The versatile strategies of *Escherichia coli* pathotypes: a mini review. *Journal of Venomous and Animal Toxins Including Tropical diseases*, 12, 363-373.
- Sridevi, P., Balasubramanian, S., & Devanathan, T. (2000). Low dose prostaglandin F2 alpha therapy in treatment of canine pyometra. *Indian Veterinary Journal*, 77, 889-890.
- Stone, E. A., Littman, M. P., Robertson, J. L., & Bovée, K. C. (1988). Renal dysfunction in dogs with pyometra. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 193(4), 457-464.
- Threlfall, W. R. (1995). Diagnosis and medical management of pyometra. *Seminars In Veterinary Medicine And Surgery Small Animal*, 10(1), 21-29.
- Trasch, K., Wehrend, A., & Bostedt, H. (2003). Follow-up examinations of bitches after conservative treatment of pyometra with the antigestagen aglepristone. *Journal of veterinary medicine A Physiology pathology clinical medicine*, 50(7), 375-379.
- Tsumagari, S., Ishinazaka, T., Kamata, H., Ohba, S., Tanaka, S., Ishii, M., et al. (2005). Induction of canine pyometra by inoculation of *Escherichia coli* into the uterus and its relationship to reproductive features. *Animal Reproduction Science*, 87(3-4), 301-308.
- Vaden, S. L., Levine, J., & Breitschwerdt, E. B. (1997). A retrospective case-control of acute renal failure in 99 dogs. *Journal of veterinary internal medicine American College of Veterinary Internal Medicine*, 11(2), 58-64. Blackwell Publishing Ltd
- Van Tassell, R. L., & Lyster, D. M. (1992). Purification and characterization of an enterotoxin from *Bacteroides fragilis*. *Infection and Immunity*, 58(4), 1343-1350.
- Verstegen, J., Dhaliwal, G., & Verstegen-Onclin, K. (2008). Mucometra, cystic endometrial hyperplasia, and pyometra in the bitch: advances in treatment and assessment of future reproductive success. *Theriogenology*, 70(3), 364-374.
- Verstegen-Onclin, K., & Verstegen, J. (2008). Endocrinology of pregnancy in the dog: a review. *Theriogenology*, 70(3), 291-299.
- Verstegen-Onclin, K., & Verstegen, J. (2008). Endocrinology of pregnancy in the dog: a review. *Theriogenology*, 70(3), 291-299

- Ververidis, H. N., Boscós, C. M., Stefanakis, A., Saratsis, P., Stamou, A. I., & Krambovitis, E. (2004). Serum estradiol-17 beta, progesterone and respective uterine cytosol receptor concentrations in bitches with spontaneous pyometra. *Theriogenology*, 62(3-4), 614-623.
- Wadås, B., Kühn, I., Lagerstedt, A. S., & Jonsson, P. (1996). Biochemical phenotypes of *Escherichia coli* in dogs: comparison of isolates isolated from bitches suffering from pyometra and urinary tract infection with isolates from faeces of healthy dogs. *Veterinary Microbiology*, 52(3-4), 293-300.
- Watts, J. R., Wright, P. J., & Whithear, K. C. (1996). Uterine, cervical and vaginal microflora of the normal bitch throughout the reproductive cycle. *The Journal of small animal practice*, 37(2), 54-60.
- Weikel, C. S., Grieco, F. D., Reuben, J., Myers, L. L., & Sack, R. B. (1992). Human colonic epithelial cells, HT29/C1, treated with crude *Bacteroides fragilis* enterotoxin dramatically alter their morphology. *Infection and Immunity*, 60(2), 321-327.
- Wheaton, L. G., Johnson, A. L., Parker, A. J., & Kneller, S. K. (1989). Results and complications of surgical treatment of pyometra: a review of 80 cases. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 25, 563-568.
- Wiebe, V. J., & Howard, J. P. (2009). Pharmacologic Advances in Canine and Feline Reproduction. *TCAM*, 24(2), 71-99. Elsevier Inc. doi: 10.1053/j.tcam.2008.12.004.

APÊNDICES



Figura 3- Imagem obtida pelo autor , ilustrando uma piómetra fechada-Novembro 2010



Figs 4- Imagem obtida pelo colega estagiário, do autor obtendo uma amostra de conteúdo uterino em ambiente estéril-Dezembro, 2010.

PROTOCOLO DE RECOLHA DE AMOSTRAS PIÓMETRA CANINA

- Recolher 5 mL de conteúdo líquido o mais fundo possível no útero, após OVH. Seringa de 5 mL, agulha amarela 20 Gauge. **Atenção** não deixar ar dentro da seringa. Se ocorrer fazer nova colheita, visto ser também para cultura de anaeróbios.
- Registrar no questionário em anexo qual o antibiótico utilizado (Predefinido enrofloxacina).
- Preencher questionário em anexo (Proprietário)
- Preencher ficha do INNO de envio de amostras

Protocolo elaborado pelo autor da tese e afixado no Hospital no sentido de demonstrar como recolher as amostras.

Nome do animal:

Raça:

Data de nascimento:

62

Nome do proprietário:

PIÓMETRA CANINA

-Tem cio regular?(2 vezes ao ano);Quando foi o último cio?

-Tem poliúria/polidipsia(bebe e urina muito)?desde quando?

-Tem descarga vaginal? Á quanto tempo?

-Teve pseudogestação alguma vez?Quando?

-Já teve alguma piómetra antes?

-Já esteve gestante?Quando?

-Tem vômito? Diarreia?

-Tem hipertermia(febre)?

-Já fez algum tratamento hormonal(pílula)?

-Realizou algum tratamento médico nos últimos seis meses?

Obrigado por ajudar neste estudo.

Atenciosamente

André Costa Pereira

Questionário dado ao proprietário de cada animal envolvido no estudo , no sentido de obter uma informação adicional acerca do animal.

ANEXOS

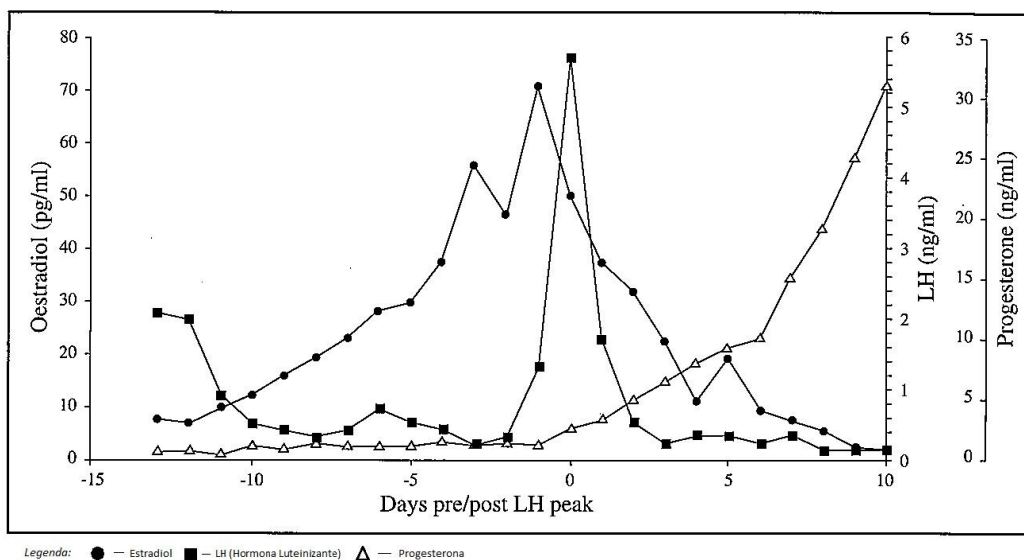


Gráfico 1- Adaptado de “BSAVA manual os small animal reproduction and neonatology”, ilustrando os níveis hormonais em diferentes etapas do ciclo estrico.