



## Endometrite: resistência antimicrobiana e suas abordagens diagnósticas

*Endometritis: antimicrobial resistance and its diagnostic approaches.*

Gustavo Ferrer Carneiro<sup>1\*</sup>, Antonio Brito da Silva Filho<sup>1</sup>, Luiza Campelo Carneiro<sup>2</sup>, Marcelo Mendonça<sup>3</sup>, Elizabete Rodrigues da Silva<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE, Departamento de Medicina Veterinária-DMV, Rua Dom Manoel de Medeiros, S/N, Dois Irmãos, Recife-PE, Brasil; <sup>2</sup>Universidade Católica de Pernambuco (UNICAP), Recife-PE, Brasil; <sup>3</sup>UFAPE, Garanhuns-PE, Brasil

### Resumo

A endometrite é a principal causa de infertilidade em éguas, além de gerar grandes transtornos econômicos e produtivos. Objetivou-se com esse trabalho, realizar uma revisão sistemática sobre endometrite equina, sua etiologia, os mecanismos próprios de defesa uterina mecânicos e quimiotáticos. Avaliando ainda os principais microrganismos envolvidos no processo bem como sua virulência e resistência antimicrobiana. Apresentamos ainda uma proposta de abordagem diagnóstica contemplando a identificação dos agentes, susceptibilidade farmacológica associadas a comprovação da produção de biofilme, assim como sua graduação, possibilitando assim em caso de comprovação de produção de biofilme uma terapia alternativa eficaz para a quebra desse biofilme associado a um tratamento antibacteriano específico. A correlação desses testes possivelmente fornecerá subsídios ainda mais importantes para melhorar a eficiência reprodutiva dos rebanhos equinos.

**Palavras-chave:** equino, bactéria, biofilme, virulência

### Abstract

*Endometritis is the main cause of infertility in mares, in addition to promote major economic and productive disorders. The objective of this work was to carry out a systematic review of equine endometritis, its etiology, mechanical and chemotactic uterine defense mechanisms. Also evaluating the main microorganisms involved in the process as well as their virulence and antimicrobial resistance. We also present a proposal for a diagnostic approach contemplating the identification of agents, pharmacological susceptibility associated with presence of biofilm production, as well as its graduation, thus enabling, in case of biofilm present, an effective alternative therapy to break this biofilm associated with an specific antibacterial treatment. The correlation of these tests will possibly provide even more important subsidies to improve reproductive efficiency of equine herds.*

**Keywords:** equine, bacterium, biofilm, virulence

### Introdução

Dentre as enfermidades que acometem o sistema reprodutivo das fêmeas equinas, a endometrite é considerada uma das mais importantes. As alterações causadas no endométrio uterino devido ao processo infeccioso e inflamatório levam à incapacidade de concepção, morte embrionária precoce ou ao encurtamento da fase lútea, exercendo um impacto econômico significativo na produção equina, já que os animais acometidos apresentam ciclo estral irregular, requerem manejo intensivo e exigem maior número de ciclos estrais para a obtenção de um produto viável, resultando consequentemente no incremento dos custos de produção (Diel de Amorim et al., 2015).

Na maioria das espécies domésticas o sêmen é depositado na vagina e os espermatozoides se direcionam ao útero. Já nos equinos devido às peculiaridades anatômicas da cérvix, os espermatozoides e demais componentes do sêmen são depositados no interior do útero. Este fato, torna a ocorrência das endometrites tão comuns (Traub-Dargatz et al., 1991).

A endometrite pode ser caracterizada de forma aguda, crônica, crônica degenerativa ou até induzida pós-cobertura (Leblanc, 2010). Esta enfermidade ocorre devido a contaminação do aparelho reprodutivo por microrganismos, em especial os bacterianos, considerados em sua maior parte como

\*Correspondência: gustavo.ferrer@ufrpe.br

Recebido: 18 de outubro de 2021

Aceito: 28 de dezembro de 2021



agentes patogênicos oportunistas (Wittenbrink, 2012), porém alguns fungos podem ser potencialmente patogênicos (Carneiro *et al.*, 2020). A enfermidade pode ainda estar associadas a fatores ligados a falhas nos mecanismos de defesa uterina, diminuindo o potencial da fertilidade na fêmea (Christoffersen & Troedsson, 2017).

O objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão sistemática acerca de endometrite equina, principais etiologias, mecanismos próprios de defesa uterina mecânicos e quimiotáticos. Avaliando ainda os principais microrganismos envolvidos nesse processo, sua virulência e resistência antimicrobiana assim como a abordagem de um sistema diagnóstico contemplando a identificação dos agentes, susceptibilidade farmacológica associadas a comprovação da produção de biofilme, bem como sua extensão, possibilitando assim uma terapia eficaz para a quebra desse biofilme associado a um tratamento antibacteriano específico.

### *Endometrite*

A endometrite pode ser definida como um processo inflamatório local, atingindo principalmente as camadas mais superficiais do útero em resposta a agentes estranhos como plasma seminal, espermatozoides, proteínas e bactérias presentes no sêmen. Geralmente ocorre durante a monta natural, inseminação artificial ou infecções bacterianas e/ou fúngicas oportunistas (Marth *et al.*, 2015).

Os sintomas clínicos mais observados na endometrite são a presença de líquido intrauterino (LIU), edema endometrial excessivo ou com padrão incomum ao ultrassom, encurtamento do ciclo estral, vaginite, cervicite, exsudato mucopurulento e perda embrionária precoce, sendo que essas alterações clínicas podem variar em intensidade de acordo com a causa e o tipo de patógeno envolvido (Carneiro *et al.*, 2020). Em quadros de endometrite subclínica, a égua, não apresenta alterações evidentes ao exame físico, o que necessita de prudência para realização do diagnóstico dessa enfermidade através da utilização de exames complementares, visto que alterações hormonais, anatômicas e nutricionais, também são causas para infertilidade na espécie. (Ferris, 2017).

A endometrite quando mal diagnosticada e tratada de forma inespecífica pode evoluir para um processo chamado de endometrite degenerativa crônica ou endometrose, que consiste em uma alteração degenerativa que surge como resultado de processos normais de envelhecimento, de multiparidade ou pode ser produto de reinfecção contínua. (Canisso *et al.*, 2016).

### *Resistência e Suscetibilidade nas Endometrites*

As éguas podem ser classificadas em dois grupos de acordo com a predisposição ao desenvolvimento da endometrite, aquelas consideradas suscetíveis e as resistentes. Éguas suscetíveis apresentam propensão para desenvolver endometrite persistente e uma capacidade restrita em eliminar os detritos inflamatórios rapidamente após o parto ou a cópula. As éguas resistentes são aquelas que não têm tendência para desenvolver uma infecção uterina, pois conseguem executar uma rápida e eficaz depuração do útero (Troedsson & Liu, 1993).

Woodward *et al.* (2013), ao avaliarem as diferenças relacionadas às respostas imunológicas entre éguas resistentes e suscetíveis, demonstraram que as éguas resistentes apresentaram maior expressão de mRNA para IL-6, IL-1 e IL-10, enquanto que éguas suscetíveis apresentaram um aumento significativo no número de neutrófilos. Este fato pode ser justificado devido a capacidade que as éguas suscetíveis possuem em expressar com maior quantidade mRNA endometrial para citocinas pró-inflamatórias e menor nível de citocinas anti-inflamatórias, o que favorece um elevado número de células em seu endométrio quando comparado às éguas resistentes (Fumuso *et al.*, 2007).

### *Mecanismos de defesa uterina*

As éguas dispõem de mecanismos de defesa físicos, mecânicos e celulares, capazes de eliminar os microrganismos e produtos inflamatórios causadores de endometrite. (Mattos *et al.*, 2003). A vulva, o esfíncter vestibulo-vaginal e a cérvix representam três barreiras físicas para prevenir infecções uterinas. Se uma dessas barreiras não é funcional, a égua estará propensa a pneumovagina, podendo levar a aspiração de bactérias e irritação do útero. A depuração uterina a partir das contrações miométriais, o relaxamento da cérvix e a drenagem linfática, são considerados formas de defesa mecânicas (Ferris, 2017).

A inflamação uterina em resposta à presença de sêmen e/ou microrganismos é uma reação



fisiológica que auxilia na expulsão de debris no útero (Kotilainen et al., 1994). Esta reação é imediata e ocorre através de um aporte de neutrófilos, que migram para a mucosa uterina e podem ser identificados com cerca de 30 minutos após a cobertura, atingindo o pico inflamatório em aproximadamente 12 horas (Katila, 2012). Em um útero saudável, o processo inflamatório apresenta uma redução em até 48 horas (Woodward et al., 2013). A resposta inflamatória no endométrio ocorre rapidamente após a entrada de patógenos no lúmen uterino, resultando na migração de neutrófilos para o interior do útero e do líquido intrauterino, o qual contém acúmulos de mediadores inflamatórios (Liu & Troedsson et al., 2008). O início da quimiotaxia de polimorfonucleares é rápido e a duração de infiltração é relativamente curta, assegurando a remoção dos agentes externos, com subsequente retorno do endométrio a um estado de normalidade, preparando-o para receber o embrião (Katila, 2012).

Durante os processos quimiotáticos nas infecções bacterianas, a resposta inicial do hospedeiro inclui uma produção exacerbada de citocinas, pró-inflamatórias e anti-inflamatórias. As citocinas pró-inflamatórias (TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-6, IL-17A e IFN- $\gamma$ ) promovem ativação e fagocitose de macrófagos, aumento de imunidade mediada por células e estimulação da síntese de proteínas de fase aguda. (Burton et al., 2009). As citocinas anti-inflamatórias (IL-4 e IL-10) têm função imunorregulatória e no desenvolvimento da resposta imunológica humoral pela promoção de diferenciação de células B e produção de anticorpos. Sabe-se que esses mediadores atraem maior quantidade de células de defesa para o sítio da inflamação, favorecendo o acesso dessas células e melhorando a competência da eliminação do agente. Sendo as prostaglandinas responsáveis por causar alterações na permeabilidade vascular, as citocinas por manter ativo o processo inflamatório e as elastases, colagenases e gelatinases por beneficiarem o aporte de células, promovendo um processo de reparação imediato. O óxido nítrico torna-se encarregado de promover a lise de bactérias já fagocitadas pelos neutrófilos (Woodward et al., 2013).

#### *Principais patógenos associados à endometrite*

Os microrganismos são os agentes infecciosos causadores da inflamação em todos os tipos de endometrite, exceto da endometrite persistente pós-cobertura, sendo mais comum a infecção por bactérias do que por fungos. As bactérias mais frequentemente isoladas do útero da égua são *Streptococcus spp.*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella pneumoniae*. Outras bactérias aeróbias isoladas do útero de éguas incluem *Corynebacterium spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Enterobacter spp.*, *Actinobacter spp.*, *Proteus spp.*, e *Citrobacter spp.* (Canisso et al., 2016). Apesar das infecções bacterianas em casos de endometrite na espécie equina serem mais comuns do que as fúngicas, a incidência de endometrite fúngica tem aumentado consideravelmente. Batista, et al. (2008) demonstram a prevalência de 60% de casos de endometrite fúngica, causada por *Candida sp.* em culturas microbiológicas de éguas. Assim como, Ribas et al. (2014) demonstraram resultados com prevalência de 20,8% de endometrite fúngica, sendo *Candida sp.* o fungo mais prevalente, houve também incidência de fungos filamentosos como o *Trichosporon penicillatum*. Nascimento Júnior et al. (2021) demonstraram prevalência de 30,2 % de endometrite fúngica, sendo *Aspergillus spp* e *Candida albicans*, *Curvalaria spp*, *Cladosporium spp.* e *Zygomices spp.* os fungos isolados nas amostras processadas.

#### *Virulência e Resistência Microbiana*

Define-se por virulência, a capacidade quantitativa de um agente infeccioso em provocar doença e permanecer dentro do hospedeiro. A sobrevivência desses patógenos sobre condições adversas impostas pelo ambiente é possível pela expressão de seus diferentes fatores de virulência, cujas funções primárias são inibir as respostas imunitárias do hospedeiro e contribuir para patogênese da infecção (Üna et al., 2012). Para a maioria das bactérias patogênicas, a virulência é multifatorial e requer duas classes de determinantes. Os determinantes de primeira classe que englobam genes que participam em processos fisiológicos necessários para a sobrevivência em ambientes, que podem ser em hospedeiros ou não; este tipo de gene é geralmente encontrado em bactérias patogênicas e não patogênicas. Na segunda classe de determinantes estão agrupados genes de virulência que são caracteristicamente relacionados a bactérias patogênicas (Groisman & Ochman, 1996). Dentre os fatores de virulência relacionados às bactérias patogênicas do útero equino, podemos citar a formação de biofilme, fato este de grande relevância tendo em vista que, estudos comprovam que *Streptococcus equi subsp. zooepidemicus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella pneumonia*, são capazes de produzir biofilme *in vitro* (Ferris et al., 2017). Da mesma forma, estudos também comprovaram essa mesma capacidade em *Aspergillus spp.* e *Candida spp.* (Nascimento Júnior et al., 2021).



Outro fator de fundamental importância como mecanismo de sobrevivência dos microrganismos é a resistência a agentes antimicrobianos. Através desta resistência, foram selecionadas características pelas quais as bactérias tornaram-se capazes de escapar da ação dos fármacos. Essa resistência vem sofrendo um aumento considerável, estabelecendo-se como umas das principais preocupações em saúde pública (Kuen, 1994).

As bactérias podem adquirir genes de resistência aos antimicrobianos através da mutação gênica ou como consequência da aquisição de genes de resistência. Neste último caso, os genes de resistência podem residir em plasmídeos que contêm outros genes que permitem sua seleção em ambientes nos quais haja a presença seletiva de antimicrobianos (Rodríguez & Menendez, 2005).

Em nosso laboratório, (dados submetidos para publicação) ao serem avaliadas 95 amostras positivas na cultura microbiológica de éguas da zona da mata e do agreste pernambucano, observou-se 100% de resistência para os antibióticos  $\beta$ -Lactâmicos, para bactérias do gênero *Klebsiella sp.* Além disso, todas as bactérias do gênero *Staphylococcus sp.* apresentaram 100% de resistência para todos os antibióticos testados (Tetraciclina, Neomicina, Estreptomicina, Azitromicina, Gentamicina e Penicilina). Diante desses dados, é possível afirmar que o uso de Penicilina para o tratamento de endometrite bacteriana em éguas, atualmente é ineficaz. Isso pode ocorrer devido ao uso indiscriminado de antimicrobianos no combate a esses microrganismos o que levou à seleção de cepas resistentes de *Staphylococcus spp.*, prejudicando a eficácia do tratamento com os  $\beta$ -Lactâmicos (Haveri et al., 2005), e o motivo mais comum para essas drogas deixarem de ser eficazes é a produção da enzima beta-lactamase pelos microrganismos resistentes, que é codificada pelo gene *blaZ* e dá origem a hidrólise do anel beta-lactâmico das penicilinas (Olsen et al., 2006).

### *Biofilmes Microbianos*

Biofilmes são comunidades complexas formadas por uma ou múltiplas espécies de microrganismos, os quais estão envolvidos por uma camada fina e viscosa composta por produtos extracelulares, particularmente polissacarídeos, além de proteínas e ácidos nucleicos. A formação do biofilme ocorre a partir de células planctônicas, que se fixam em superfícies, onde passam a produzir uma matriz de exopolissacarídeos, para que outros microrganismos possam se agregar e organizar funções dentro desta comunidade, favorecendo a sobrevivência de toda comunidade (Salimena, 2014).

São três as etapas desenvolvidas pelos microrganismos para formação do biofilme: adesão inicial a uma superfície sólida; formação de microcolônias e por fim, diferenciação de microcolônias envoltas por exopolissacarídeos (Costerton et al., 2002). Todos esses mecanismos são executados a partir de uma forma de comunicação intrínseca aos microrganismos chamada de “quorum sensing”, o qual permite que as bactérias coordenem atividades dentro da comunidade, contribuindo com sua estrutura e organização (Preda & Săndulescu, 2019).

Alguns estudos demonstram que os mecanismos que as bactérias utilizam para desenvolver os biofilmes são complexos e necessitam da participação de muitos tipos de proteínas e genes, dentre eles os antígenos capsulares PS/A chamado de polissacarídeo capsular/adesina, o qual confere a capacidade de os microrganismos se aderirem a superfícies bióticas e abióticas, e o PIA (polissacarídeo intercelular adesina) que está relacionado à capacidade multiplicação dos microrganismos para formar o biofilme. Estes polissacarídeos são sintetizados a partir da liberação de proteínas codificadas pelo gene *icaABCD*, sendo desta forma fundamental para formação de biofilme e de outros fatores de virulência (O’Toole et al., 2000; Nasr, et. al., 2012).

Ferris et al. (2017), utilizando um modelo de endometrite infecciosa em éguas, conseguiram evidenciar uma infecção uterina envolvida por biofilme, onde foi possível demonstrar que as microcolônias de exopolissacarídeos são multifocais, com a maior aderência ocorrendo entre as dobras do tecido e nos cornos uterinos e que as bactérias estão em maior número nas porções mais profundas das glândulas endometriais em comparação com a superfície luminal. Além disso, foi observado que há uma alteração na resposta imune do hospedeiro com uma redução da ação de neutrófilos polimorfonucleares em torno das áreas de biofilme aderente em comparação com áreas livres de bactérias. Isso pode levar a um diagnóstico de um animal falso negativo em virtude da dificuldade de isolamento dessas bactérias que se encontram nas porções mais profundas das glândulas endometriais (Vargas et al., 2019).

Os fungos possuem alta capacidade de aderência em superfícies, portanto são, excelentes candidatos à formação de biofilme. Muitos trabalhos e revisões sobre formação de biofilme fúngico foram publicados usando modelos de pesquisa de leveduras como *Candida spp.* e *Saccharomyces spp.* ou fungos semelhantes a leveduras, como *Aerobasidium pullulans* e *Cryptococcus neoformans* (Harding et



al., 2009). Vargas et al. (2019) ao relatarem o uso de ozonioterapia em um caso de endometrite crônica em uma égua de 19 anos, com endometrite causada por uma infecção mista em *Aspergillus spp.* e *E. coli*, observaram que ambos os agentes apresentaram capacidade de produzir biofilme *in vitro*, o que reforça ainda mais a severidade de um quadro de endometrite fúngica, no que diz respeito ao prognóstico e tratamento.

A formação do biofilme confere uma série de vantagens aos microrganismos como resistência aos agentes antimicrobianos, proteção contra o sistema imunológico do hospedeiro, virulência acentuada, cooperação metabólica, troca de material genético e comunicação (Akbari; Kjellerup, 2015; Mello et al., 2020). Isso ocorre devido ao fato de que os microrganismos que vivem em um biofilme apresentam, uma grande necessidade de adquirirem elementos genéticos transmissíveis a taxas aceleradas. A conjugação ocorre naturalmente entre as bactérias, mas parece ser acelerada quando as bactérias estão em um estilo de vida de biofilme. Isso permite a rápida transferência horizontal de material genético, tornando o biofilme um meio perfeito para o surgimento de novos patógenos por meio da aquisição de resistência a antibióticos, fatores de virulência e capacidade de sobrevivência ambiental (Ferris, 2017). James et al. (1995), mostraram em seu experimento que a espessura do biofilme depende do número de organismos que o compõe. Em culturas puras de *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa*, o biofilme tem 15µ e 30µ respectivamente. Entretanto, a espessura do biofilme contendo as duas espécies apresenta cerca de 40µ, o que leva a crer que uma espécie colabora com a outra. Este fato é importante, pois uma camada espessa de exopolissacarídeos contribui como fator de resistência antimicrobiana dos biofilmes, uma vez que impede o transporte de massa de antibióticos através do biofilme, provavelmente por se ligarem diretamente a estes agentes (Donlan, 2000).

Assim, uma das características mais impressionantes e consistentemente relatadas das populações microbianas que crescem como biofilmes é o aumento da resistência intrínseca aos agentes antimicrobianos. Como resultado, agentes antibióticos e biocidas convencionais frequentemente falham em erradicar microrganismos infecciosos de hospedeiros ou de superfícies duras inertes quando presentes em um biofilme (Nascimento Júnior et al., 2019).

#### Abordagem Diagnóstica

A tecnologia atualmente utilizada não contempla a medição da produção de biofilmes, fazendo com que o produtor tenha um custo maior com tratamentos ineficazes. Sabe-se que a resistência microbiana é uma preocupação para a medicina veterinária no mundo, uma vez que, a égua após ser infectada por patógenos resistentes, não só o tratamento se torna mais difícil, mas também o diagnóstico pode ser de certa forma mascarado ocasionando uma disseminação das bactérias resistentes em todo o rebanho (Carneiro et al., 2020).

A identificação do agente, assim como o conhecimento da suscetibilidade farmacológica são de fundamental importância, devido ao aumento da resistência bacteriana pelo uso indiscriminado de drogas antibacterianas sem o devido diagnóstico. A formação de biofilme é responsável pela infertilidade momentânea e pela refratariedade aos tratamentos prescritos. Dessa forma, nosso grupo propôs o desenvolvimento de um Sistema diagnóstico que contemple a identificação dos agentes, susceptibilidade farmacológica associadas a comprovação da produção de biofilme, assim como sua graduação, possibilitando assim em caso de comprovação de produção de biofilme uma terapia alternativa eficaz para a quebra desse biofilme associado a um tratamento antibacteriano específico. A correlação desses testes possivelmente fornecerá subsídios ainda mais importantes para melhorar a eficiência reprodutiva dos rebanhos equinos (PATENTE BR 10 2020 0241125).

#### Metodologia para a identificação da formação de Biofilme

A determinação da formação de biofilme é feita através de métodos visuais e espectrofotométricos pela técnica de cristal violeta descrita por Stepanovic et al (2000). Os organismos são cultivados por 24 h a 35 ° C. Utilizando-se uma cepa ATCC como controles em cada teste. A turbidez de cada suspensão é ajustada para o equivalente de  $3 \times 10^7$  CFU / ml com SDB, por leituras espectrofotométricas. Posteriormente cada poço de placas de microtitulação é inoculada com alíquotas de 20µl de suspensão de levedura e 180µl de SDB. O material é incubado a 35 °C durante 24 h sem agitação. Observando que todos os isolados testados cresceram bem neste meio. Nas placas de microtitulação, os isolados cultivados apresentam valores > 1,0 às 24 h para todas as espécies com um inóculo inicial de  $10^6$  CFU / ml. Após 24 h de incubação, o caldo é retirado por aspiração e os tubos lavados com água



destilada. O biofilme que ficar aderido será classificado como negativo, fraco (1+), moderado (2++ ou 3+++), ou fortemente positivo (4++++) como é classificado por Pfaller *et al.* (2002). Cada isolado é avaliado em triplicata de dias diferentes. As leituras espectrofotométricas são realizadas a 405 nm com leitor de placa de microtitulação, Como a porcentagem de transmitância (% T) medida com um comprimento de onda de 405 nm selecionado para leitura das placas para minimizar a absorbância. O valor de % de Transmitância para cada amostra de teste é subtraído do valor de % T para o reagente em branco para obter uma medida da quantidade de luz bloqueada ao passar pelos poços (% T bloc). A produção de biofilme de cada isolado é classificada como negativa (% T bloc, 5), 1 (% T bloc, 5 a 20), 2 (% T bloc, 20 a 35), 3 (% T bloc, 35 a 50), ou 4 (% T bloc, 50). Cada isolado é testado pelo menos duas vezes.

### Considerações finais

As endometrites de uma forma geral, são enfermidades muito importantes para o agronegócio equino. Um dos graves problemas é a dificuldade do diagnóstico e do tratamento. Biofilmes são um nicho de proteção para microrganismos, fornecendo resistência antibacteriana, antifúngica e criando uma fonte de persistência para a infecção. Tais biofilmes constituem potenciais reservatórios de patógenos, que servem como uma fonte contínua de infecções e contaminações cruzadas. O diagnóstico torna-se imprescindível, porém muitas vezes complexo e conseqüentemente agravante para a resolução do quadro clínico, tornando-o crônico e comprometendo a vida produtiva e reprodutiva do animal. A caracterização, identificação do agente associada a formação de biofilme e sua graduação são metodologias fundamentais no diagnóstico e terapia de tais enfermidades.

### Referências

- Akbari F, Kjellerup BV.** Elimination of Bloodstream Infections Associated with *Candida albicans* biofilm in intravascular catheters. *Pathogens*. v.4, p.457-469, 2015.
- Batista IO, Oliveira AAF, Pinheiro Júnior JW, Peixoto RM, Teles JAA, Mota RA.** Endometrite por *Candida sp.* e outros microrganismos associados em éguas doadoras de embrião na Zona da Mata do Estado de Pernambuco – Brasil. *Medicina Veterinária*, v.2, n.4, p.41-44, 2008.
- Burton AB, Wagner B, Erb HN, Ainsworth DM.** Serum interleukin-6 (IL-6) and IL-10 concentrations in normal and septic neonatal foals. *Veterinary immunology and immunopathology*, v.132, n.2-4, p.122–128, 2009.
- Canisso IF, Stewart J, Coutinho da Silva MA.** Endometritis: Managing Persistent Post-Breeding Endometritis. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 32(3): 465-80, 2016.
- Carneiro GF, Silva Filho AB, Carneiro LC.** Endometrite em éguas: diagnóstico e tratamentos convencionais e/ou alternativos. *Ciencia Animal*, vol.30, n.4, p.113-122, 2020.
- Nascimento Júnior JAA, Oliveira Filho EF, Melo AGP, Correia MTS, Carneiro GF.** Caracterização fúngica e formação de biofilme em éguas com endometrite. *Rev Bras Reprod Anim.*, v.45, n.1, p.33-38, jan./mar, 2021.
- Christoffersen M, Troedsson MHT.** Inflammation and fertility in the mare. *Reprod Dom Anim.* 52(Suppl. 3):14–20, 2017.
- Costerton JW, Stewart OS, Greenberg EP.** Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*, v.284, n.5418, p.1318-1322, 2002.
- Diel de Amorim M, Gartley CJ, Foster RA, Hill A, Scholtz EL, Hayes A, Chenier TS.** Comparison of clinical signs, endometrial culture, endometrial cytology, uterine low volume lavage, and uterine biopsy, and combinations in the diagnosis of Equine Endometritis. *Journal of Equine Veterinary Science*, v.44, p.54-61, 2015.
- Donlan RM, Costerton JW.** Biofilms: Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev*, v.15, p.167-193, 2002.
- Ferris RA, Wittstock SM, McCue PM, Borlee BR.** Evaluation of biofilms in gram-negative bacteria isolated from the equine uterus. *J Equine Vet Sci*, v.34, p.121, 2014.
- Ferris RA, McCue PM, Borlee GI, Glapa KE, Martin KH, Mangalea MR, Hennes MR, Wolfe LM, Broeckling CD, Borlee BR.** Model of chronic equine endometritis involving a *Pseudomonas aeruginosa* biofilm. *Infection and Immunity*, v.85, issue 12, p.1-14, 2017.
- Ferris RA.** Current understanding of bacterial biofilms and latent infections: A clinical perspective. *Rev. Bras. Reprod. Anim.* v.41, n.1, p.74-80, 2017.



- Fumuso EA, Aguilar J, Giguère S, Rivulgo M, Wade J, Rogan D.** Immune parameters in mares resistant and susceptible to persistent post-breeding endometritis: Effects of immunomodulation. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, v.1, p.830-39, 2007.
- Groisman EA, Ochman H.** Pathogenicity Islands: Bacterial Evolution in Quantum Leaps, *Cell*, vol.87, p.791-794, 1996.
- Harding MW, Marques LLR, Howard RJ, Olson ME.** Can filamentous fungi form biofilms? *Trends in Microbiology*, vol.17, n.11, 2009.
- Haveri M, Sujominen S, Rantala L, Honkanen-Buzalski T, Pyorala S.** Comparison of phenotypic and genotypic detection of penicillin G resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine intramammary infection. *Veterinary Microbiology*. v.106, p.97-102, 2005.
- James GA, Beaudette L, Costerton JW.** Interspecies bacterial interactions in biofilms. *Journal of Industrial Microbiology*. v.15, n.4, p. 257-262, 1995.
- Katila T.** Post-mating Inflammatory Responses of the Uterus. *Reproduction in Domestic Animals*. v.47, n.5, p.31-41, 2012.
- Kotilainen T, Huhtinen M, Katila T.** Sperm-induced leukocytosis in the equine uterus. *Theriogenology*, v.41, n.3, p.629-36, 1994.
- Kuen MJ.** Genetic, biochemical and structural studies of biogenesis of adhesive pill in bacteria. *Meth and Enzyme*. v.236, p.282-306, 1994.
- Leblanc MM.** Advances in the Diagnosis and Treatment of Chronic Infectious and Post-Mating-Induced Endometritis in the Mare. *Reproduction in Domestic Animals*, Berlin. v.45. n.2. p.21-27. Jun. 2010.
- Liu KM, Troedsson MHT.** The diagnosis and treatment of endometritis in the mare: Yesterday and today. *Theriogenology*, v.70, p.415-420, 2008.
- Marth CD, Young ND, Glenton LY, Noden DM, Browning GF, Krekeler N.** Deep sequencing of the uterine immune response to bacteria during the equine oestrous cycle. *BMC Genomics*, v.16, n.1, p.934, 2015.
- Mattos RC, Malschitzky E, Jobim MIM.** Endometrite na égua. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, Belo Horizonte, v.27, n.2, p.150-157, 2003.
- Mello TP, Branquinha MH, Santos ALS.** Biofilms formed by and species: focus on the extracellular matrix. *Biofouling*, v.36, p.308-318, 2020.
- Nascimento Júnior JAA, Oliveira Filho EF, Melo AGP, Correia MTS, Carneiro GF.** Caracterização fúngica e formação de biofilme em éguas com endometrite. *Rev. Bras Reprod Anim*, v.45, n1, p.33-38. 2021.
- Nasr RA, Abushadady HM, Hussein SH.** Biofilm formation and presence of icaAD gene in clinical isolates of staphylococci. *The Egyptian Journal of Medical Human Genetics*, vol.13, p.269-274, 2012.
- O'Toole G, Kaplan HB, Kolter R.** Biofilm formation as microbial development. *Annual Review Microbiology*, v.54, p.49-79, 2000.
- Olsen JE, Christensen H, Aarestrup FM.** Diversity and evolution of blaZ from *Staphylococcus aureus* and coagulase negative staphylococci. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, v.57, p.450-460, 2006.
- Pfaller MA, Diekema DJ, Jones RN, Messer SA, Hollis RJ.** Trends in antifungal susceptibility of *Candida spp.* isolated from pediatric and adult patients with bloodstream infections: SENTRY antimicrobial surveillance program, 1997 to 2000. *J. Clin. Microbiol*, v.40, p.852-856, 2002.
- Preda VG, Săndulescu O.** Communication is the key: biofilms, quorum sensing, formation and prevention. *Discoveries Journal* Jul-Sep, 7(3): e100, 2019.
- Ribas JA, Carvalho EQ, Stussi JP.** Endometrite fúngica em éguas: diagnóstico e implicações clínico-patológicas. *R. bras. Ci. Vet.*, v.21, n.3, p.204-212, jul./set. 2014
- Rodríguez JFL, Menendez JLM.** Resistencia a los antimicrobianos y virulência bacteriana. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* v.23, n.2, p.86-93, 2005.
- Salimena APS.** Formação de biofilme na indústria de alimentos por estirpes de *Staphylococcus aureus* isoladas de mastite bovina. *CES REVISTA*, v.28, n.1, p.88-102, 2014.
- Stepanovic S., Vukovic D, Dakic I, Savic B, Svabic-Vlahovic M.** A modified microtiter-pate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. *Journal of Microbiology and Methods*. v.40, p.175-179, 2000.
- Traub-Dargatz JL, Salman MD, Voss JL.** Medical problems of adult horses, as ranked by equine practitioners. *Journal of American Veterinary Association*. v.198 p.1745-1747. 1991.
- Troedsson MHT, Liu IKM.** Multiple site electromyography recordings of uterine activity following an intrauterine bacterial challenge in mares susceptible and resistant to chronic uterine infection. *Journal of*



*Reproduction and Fertility*, 99, p.307–313, 1993.

**Üna N, Askar S, Macun HC, Sakarya F, Altun B, Yildirim M.** Panton-valentine leukocidin and some exotoxins of *Staphylococcus aureus* and antimicrobial susceptibility profile of staphylococci isolated from milks of small ruminants. *Tropical Animal Health and Production*, v.44, p.573-579, 2012.

**Vargas H, Nascimento Júnior JAA, de Sobral GG, Viana AR, Vilar IJ, Carneiro GF.** Intrauterine Infusion of Ozone in susceptible mare. *Anim Reprod*, v.16, n.1, p.103, 2019.

**Wittenbrink MM.** Bacterial infections of the equine genital tract. *Pferdeheilkunde*, 28, p.30-32, 2012.

**Woodward EM, Christoffersen M, Campos J, Betancourt A, Horohov D, Scoggin KE, Squires EL, Troedsson MHT.** Endometrial inflammatory markers of the early immune response in mares susceptible or resistant to persistent breeding-induced endometritis. *Reproduction*, v.145, n.3, p.289–296, 2013.

---