

UNISA – UNIVERSIDADE DE SANTO AMARO  
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

**ERIKY AKIO DE OLIVEIRA TONGU**

Sensibilidade do laminocultivo (Dermatobac®) para o diagnóstico da  
endometrite fúngica em equinos.

**São Paulo**

**2013**

# ERIKY AKIO DE OLIVEIRA TONGU

Sensibilidade do laminocultivo (Dermatobac) para o diagnóstico da endometrite fúngica em equinos.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado para obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária pela Universidade de Santo Amaro, sob orientação do Prof. Dr. André Maciel Crespilho.

São Paulo

2013

ERIKY AKIO DE OLIVEIRA TONGU

Sensibilidade do laminocultivo (Dermatobac) para o diagnóstico da  
endometrite fúngica em equinos.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado para obtenção do título de Bacharel em  
Medicina Veterinária ao Curso de Medicina Veterinária da Universidade de Santo  
Amaro – UNISA.

Data de Aprovação: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

Professor Dr. André Maciel Crespilho

---

Professor Ms. Rodrigo Silvério Ferreira da Cruz

CONCEITO FINAL: \_\_\_\_\_

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Lâminocultivo Dermatobac® apresentando as três placas de microcultivo DTM, ágar Biggy e ágar *Saboraud glicose*.

Figura 2 – Foto ilustrativa de região de períneo do modelo animal utilizado respeitando os critérios de inclusão utilizados para triagem dos animais (A), com secreção vaginal mucopurulenta (B).

Figura 3 – Amostras padrões de *Candida albicans* e *Aspergillus spp* (ATCC) respectivamente crescidas no sistema Dermatobac após 48 horas de incubação.

Figura 4 – Amostras padrões de, *Cladosporium sp*, *Penicillium sp* (ATCC) respectivamente que cresceram no sistema Dermatobac após 80 horas.

Figura 5 – Bolores ambientais que cresceram no sistema Dermatobac devido à contaminação.

## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 – Aparecimento de crescimento fúngico nos meios do Dermatobac após 48 horas.

## SUMÁRIO

ABSTRACT	Pagina 6
RESUMO	Pagina 7
INTRODUÇÃO	Pagina 8
MATERIAL E MÉTODOS	Pagina 10
RESULTADOS	Pagina 12
DISCUSSÃO	Pagina 13
COCLUSÃO	Pagina 15
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	Pagina 16
ANEXO	Pagina 22

# SENSIBILIDADE DO LAMINOCULTIVO (DERMATOBAC®) PARA O DIAGNÓSTICO DE ENDOMETRITE FÚNGICA EM EQUINOS

## *SENSIBILITY EVALUATION OF MICROCULTIVATION ASSAY (DERMATOBAC®) FOR FUNGAL ENDOMETRITIS DIAGNOSIS IN THE MARES*

ERIKY AKIO TONGU<sup>1</sup>; CARLOS PELESCHI TABORDA<sup>3</sup>; SHIRLEI APARECIDA VIEIRA MARQUES<sup>3</sup>; GUSTAVO MENDES GOMES<sup>4</sup>; LETÍCIA PATRÃO DE MACEDO GOMES<sup>4</sup>; KLEBER DA CUNHA PEIXOTO JUNIOR<sup>2</sup>; ANDRÉ MACIEL CRESPILO<sup>2,3</sup>.

**ABSTRACT:** Endometritis is recognized as a major reproductive problems in equine species, causing damages related to decreased fertility, embryonic death, abortions and early animals disposal. Among the different etiologic factors, fungal endometritis is an often cause related to decreased mare's fertility. Accordingly, two experiments were conducted to evaluate the sensitivity of Dermatobac ® (Probac, São Paulo, Brazil), microculture system originally developed for the isolation of fungi that concerns Human Medicine at ambulatory conditions. In Experiment 1 standard (ATCC) strains of *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *Aspergillus* sp, were grown and visually analyzed for 7 days. For Experiment 2, 34 mares were selected and subjected to harvesting material for completion of uterine cytology as well as seeding with Dermatobac. After 24h of cultivation was possible macroscopic observation of *Candida* and *Aspergillus* strains (in experiment 1). From the 34 mares surveyed in Experiment 2, five animals showed the presence of yeast on cytologic slides (14.71 %), results also confirmed sowing in Dermatobac ® system (100% sensitivity). The Dermatobac ® system proved to be efficient for the macroscopic diagnosis of fungal endometritis in horses, showing information after 2 days of culture.

**KEY WORDS:** Dermatobac, Fungal endometritis, Mare, Uterine cytology

---

1 – Estudante de Medicina Veterinária da Universidade de Santo Amaro, UNISA, São Paulo, SP, Brasil. Rua Prof. Enéas de Siqueira Neto, 340, Cidade Dutra, São Paulo, SP, Brasil. CEP: 04829-300. Email: eriky\_tongu@live.com.

2 – Médico Veterinário, Professor Doutor da Universidade de Santo Amaro, UNISA, Rua Prof. Enéas de Siqueira Neto, 340, Cidade Dutra, São Paulo, SP, Brasil. CEP: 04829-300. Email: [andremacc@yahoo.com.br](mailto:andremacc@yahoo.com.br)

3 – Professor Doutor, Laboratório de Fungos Dimórficos Patogênicos - Depto.de Microbiologia Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo. Av. Prof. Lineu Prestes, 2415 - Cidade Universitária – São Paulo, SP, Brasil.

4 – Médico Veterinário, Professor Doutor do Curso de Medicina Veterinária, Universidade Severino Sombra, USS, Av. Expedicionário Oswaldo de Almeida Ramos, nº 280, Centro, Vassouras, RJ, Brasil CEP: 27700-000.

**RESUMO:** A endometrite é reconhecida como um dos principais problemas reprodutivos na espécie equina, determinando prejuízos relacionados à queda da fertilidade, morte embrionária, abortamentos e descarte precoce de animais. Dentre os diferentes fatores etiológicos, a endometrite fúngica representa uma causa frequentemente relacionada à redução de fertilidade na égua. Nesse sentido, dois experimentos foram realizados para avaliar a sensibilidade do Dermatobac® (Probac, São Paulo, Brasil), sistema de microcultivo originalmente desenvolvido para o isolamento de fungos de interesse em Medicina Humana em condições ambulatoriais. No *Experimento 1* cepas padrão (ATCC) de *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei* e *Aspergillus sp* foram semeadas no sistema Dermatobac®, acompanhando-se o crescimento fúngico visualmente por 7 dias. Para o *Experimento 2* foram selecionadas 34 éguas, submetidas à colheita de material uterino para o plaqueamento asséptico em sistema Dermatobac® e realização de esfregaços para pesquisa direta de fungos (Controle). Após 24 horas de cultivo foi possível a observação macroscópica das cepas de *Candida sp* e *Aspergillus sp* (*Experimento 1*). Das 34 éguas pesquisadas no *Experimento 2* foi constatada a presença de leveduras nas lâminas citológicas de 5 animais (14,71%), resultados também confirmados na semeadura no sistema Dermatobac® (sensibilidade de 100%). Houve crescimento microbiológico em 9 microcultivos não confirmados através citologia endometrial (especificidade de 86%), resultado que não comprometeu a eficiência do sistema Dermatobac® tendo em vista que todos os contaminantes apresentaram morfologia diferenciada e tempo de crescimento superior ( $p < 0,05$ ) ao apresentado pelos agentes etiológicos das endometrites fúngicas equinas. Conclui-se que o sistema Dermatobac® mostrou-se eficiente para o diagnóstico macroscópico da endometrite fúngica em equinos, gerando informações visuais a partir de 2 dias de cultivo.

**Palavras chave:** Endometrite fúngica, citologia uterina, Dermatobac®, éguas.

## INTRODUÇÃO

A endometrite corresponde a um processo inflamatório envolvendo a camada superficial do útero chamada endométrio (Brinsko *et al.*, 2011). A patologia pode ser classificada em endometrite infecciosa, endometrite persistente induzida pelo coito e endometrite crônica também denominada endometrose (Troedsson, 1999).

A etiologia e fatores predisponentes da endometrite na égua envolvem defeitos anatômicos na conformação vulvar, histórico de partos distócicos, retenção de placenta, infecções iatrogênicas e em animais suscetíveis pode ocorrer após a monta (Troedsson, 2006, Palm *et al.*, 2008).

Uma grande diversidade de fungos e bactérias podem estar envolvidos nos processos infecciosos do endométrio. De acordo Dascanio (2007), os fungos correspondem a microorganismos oportunistas frequentemente apontados como agentes etiológicos das endometrites em equinos. Alguns fatores de risco como imunossupressão, manipulação excessiva durante a realização de biotécnicas reprodutivas, abuso no uso de antibióticos, conformação perineal alterada, idade e multiparidade podem aumentar a incidência das endometrites fúngicas (Silva & Alvarenga, 2011). As espécies de fungos mais comumente isoladas dos quadros de endometrite pertencem ao gênero *Candida spp* e *Aspergillus spp* (Tibary *et al.*, 2007), espécies leveduriformes que podem ser identificadas através de exame microscópico direto realizado a parti de citologia esfoliativa endometrial.

O diagnóstico da endometrite pode ser realizado através de exame ginecológico, palpação retal, ultrassonografia transretal, citologia e cultura de conteúdo uterino (Card, 2005; Aguilar, 2006). Entretanto, a dificuldade de implantação de um método diagnóstico confiável tem sido um grande desafio, causando diagnósticos falso-positivos ou falso-negativos, comprometendo a avaliação clínica do animal (Nielsen, 2005; Overbeck *et al.*, 2011).

A citologia uterina tem sido descrita como um método rápido e confiável para obter informações sobre o estado de inflamação endometrial (Cocchia *et al.* 2012), sendo citado como o método mais sensível e precoce para o diagnóstico de endometrite, permitindo o diagnóstico de endometrites causadas por fungos e bactérias (Walter *et al.*, 2012; Woodward & Troedsson, 2013). Porém a falta

de familiaridade com a técnica e a dificuldade apresentada por muitos profissionais durante a avaliação dos esfregaços pode gerar avaliações pouco confiáveis (Liu & Troedsson, 2008; Woodward & Troedsson, 2013).

Para cultura uterina se utilizam amostras provenientes de lavagem, citologia ou biópsia endometrial (Troedsson 2011). A cultura deve ser realizada com muita higiene e cuidado pelo grande risco de contaminação (Liu & Troedsson, 2008). Embora a cultura tenha se mostrado uma ferramenta útil para o diagnóstico de endometrite, resultados falso-positivos relacionados à contaminação dos instrumentos durante as colheitas tem representado um problema frequente, limitando a aplicabilidade da técnica em condições de campo (Woodward & Troedsson, 2013). Como a maioria dos centros equestres encontra-se distante das grandes cidades, outra limitação importante representa a dificuldade de envio de amostras biológicas para o cultivo e isolamento laboratorial (LeBlanc, 2007; Overbeck et al, 2011).

Estudos anteriores demonstraram que a utilização de um único método muitas vezes é insuficiente para o diagnóstico preciso de infecções fúngicas (Dascanio, 2001; LeBlanc, 2009). Dessa forma, a combinação do exame citológico e cultura microbiológica representam uma ferramenta de grande utilidade para o diagnóstico de endometrite fúngica, conferindo maior sensibilidade diagnóstica (Overbeck et al, 2011; Troedsson, 2011 ).

Recentemente foi lançado no Brasil um kit comercial para diagnóstico de fungos de interesse em medicina humana denominando Dermatobac® (Probac, São Paulo, Brasil). O sistema possui 3 placas de microcultivo apresentando *ágar Sabouraud glicose*, Biggy e DTM (*Figura 1*), que permitem não apenas a identificação de fungos filamentosos dos gêneros *Microsporum*, *Epidermophyton* e *Trichophyton*, como também leveduras como *Candida albicans*. Em medicina veterinária esse sistema de cultivo já se mostrou efetivo para o diagnóstico rápido e preciso de dermatofitoses em felinos (Chaves, 2007) e caninos (Borba, 2010). Por apresentar baixo custo, facilidade de aquisição e dispensar uma estrutura laboratorial complexa para a identificação fúngica o sistema apresenta grande potencial para aplicação na prática clínica veterinária.

Este estudo tem por objetivos avaliar a sensibilidade do Dermatobac® para o diagnóstico macroscópico das infecções uterinas de origem micótica,

assim como avaliar a prevalência de endometrites fúngicas no grupo de risco para doença, composto por éguas idosas, múltiparas e com histórico reprodutivo de infertilidade.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Animais

Foram selecionadas 34 éguas utilizando-se três critérios de inclusão: Idade avançada (>12 anos); conformação anatômica da genitália externa defeituosa (horizontalização de vulva), de acordo com Souza (2008); histórico de infertilidade após inseminação artificial ou coberturas consecutivas. De acordo com Silva & Alvarenga (2011) todas as condições utilizadas para a seleção dos animais representam fatores de risco para a endometrite fúngica. Apenas os animais que apresentarem dois dos três critérios foram inclusos no experimento (Figura 2).

### *Experimento 1*

Para avaliação da sensibilidade do microcultivo no *Experimento 1* foram semeadas em duplicata e assepticamente no sistema Dermatobac® cepas padrão (ATCC) de *Candida albicans* (ATCC 10231), *C. glabrata* (ATCC 90030), *C. tropicalis* (ATCC 13803), *C. krusei* (ATCC 6258), *Aspergillus sp* (ATCC 16404), principais agentes etiológicos das endometrites fúngicas em equinos assim como os fungos contaminantes ambientais *Penicillium spp* (ATCC 46767) e *Cladosporium spp* (ATCC 32720). Todos os inóculos permaneceram em temperatura ambiente e foram acompanhados visualmente por 7 dias.

### *Experimento 2*

Para o *Experimento 2* foram selecionadas 34 éguas, de acordo com os critérios de inclusão adotados, submetidas à colheita de material uterino para realização do exame citológico e para semeadura no sistema Dermatobac®.

O material foi coletado assepticamente através de aparelho de citologia de aço inoxidável e escova citológica estéril que permaneceu em contato com a parede uterina por 15 segundos, realizando-se movimentos de rotação. As amostras de conteúdo endometrial foram transferidas para frascos contendo solução salina estéril e transportadas para a inoculação nos 3 meios de cultivo

que compõe o sistema Dermatobac® sob fluxo laminar em ambiente laboratorial. Todos os inóculos permaneceram sob temperatura ambiente (ao redor de 22°C) sendo avaliados visualmente por 3 semanas. Adicionalmente, as amostras que resultaram em crescimento no sistema Dermatobac® foram submetidas a cultivo microbiológico em Ágar Sabouraud Dextrose com corante Lactofenol Azul, microcultivo e prova em tubo germinativo (ANVISA, 2004) para a identificação da espécie fúngica.

Como grupo controle para o cultivo microbiológico foram utilizadas as amostras endometriais colhidas por meio de escova ginecológica. As amostras foram utilizadas para confecção de esfregaços em lâminas foscas de vidro, evitando-se a sobreposição de material durante o processamento citológico. Todas as lâminas foram fixadas em álcool metílico para posterior coloração com Panótico rápido (Defontis, 2011) e avaliação em microscopia de luz sob aumento de 1000x.

#### Análise Estatística

As análises comparativas dos exames diagnósticos foram realizadas pelo Índice Kappa de concordância, para o intervalo de confiança de 95% utilizando-se o software computacional BioEstat (versão 4.0) de acordo com AYRES et al., (2005). A velocidade média de crescimento fúngico no sistema Dermatobac® foi avaliada através de ANOVA (SAS, Cary, USA). Diferenças foram consideradas quando  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

Após 24 horas de cultivo microbiológico foi possível a observação macroscópica das cepas de *Candida spp* e *Aspergyllus spp* (colônias cremosas e lisas, respectivamente da cor marrom e creme; *Figura 3*) que cresceram em pelo menos 2 dos 3 laminocultivos do sistema Dermatobac® (*Experimento 1*; Tabela 1).

O desenvolvimento do fungo *Aspergyllus* também foi acompanhado pela mudança da coloração do meio de cultivo DTM (de amarelo tornou-se avermelhado), alteração macroscópica também evidenciada a partir de 48 horas de incubação.

Já as cepas de *Penicillium spp* e *Cladosporium spp*, ambos fungos contaminantes ambientais, precisaram em média de 80 horas para exibirem crescimento ( $p < 0,05$ ) caracterizado pela observação macroscópica de colônias da cor bege clara e verde escuro, respectivamente (*Figura 4*). Para nenhum dos fungos considerados como contaminantes foi evidenciado crescimento no meio DTM antes de 200 horas.

No *Experimento 2*, foi constatada a presença de leveduras nas lâminas citológicas de 5 das 34 éguas selecionadas (14,71%), resultados também confirmados na semeadura no sistema Dermatobac®, determinando um nível de sensibilidade de 100%. Entretanto 4 éguas apresentaram resultados negativos na citologia endometrial e positivas no sistema Dermatobac®. Esses resultados foram considerados como falsos positivos (FPs), e atribuídos ao crescimento de bactérias que apresentavam características morfológicas bem diferenciadas do crescimento fúngico padrão. No exame microscópico direto dos contaminantes foram visualizados bacilos, fechando-se o diagnóstico de cultura bacteriana.

Outros 5 casos falso positivos foram observados (crescimento em Dermatobac® sem confirmação citológica), determinando a especificidade de 86% para o sistema de cultivo em teste. No entanto, o aspecto macroscópico (aveludado e coloração verde escuro) e a taxa de crescimento dos contaminantes foram diferentes do observado para os fungos patogênicos. Em todos os casos FPs o início da observação macroscópica foi possível em média após 6,2 dias da semeadura, diferindo do padrão de crescimento observado

para as cepas padrão (*Experimento 1*) ou isoladas a partir das amostras de campo (*Experimento 1*;  $p < 0,05$ ).

Das 5 amostra positivas em ambos os testes diagnósticos 4 apresentaram hifas hialinas e ramificadas, sugestivas de leveduras do gênero *Candida* spp e uma foi identificada como *Aspergillus* spp. Das 4 amostras sugestivas de *Candida*, 2 desenvolveram clamidósporos que confirmaram o gênero como *Candida albicans*.

Na comparação dos dois métodos diagnósticos foi obtido um valor de Kappa de 64%, resultado que indica uma boa concordância entre a citologia e o resultado do cultivo ( $p < 0,05$ ).

## DISCUSSÃO

As amostras de *Candida* spp e *Aspergillus* spp que apresentaram crescimento no sistema dermatobac no experimento 1, se mostram compatíveis com o esperado quando comparado com estudos anteriores em tempo de crescimento e aparência macroscópica das colônias (Trabulsi & Alterthum, 2008). Essas características foram evidenciadas no experimento 2 e confirmadas em cultivo microbiológico dando maior confiabilidade no sistema Dermatobac.

As cepas de *Penicillium* spp e *Cladosporium* spp, como esperado formaram colônias filamentosas, algodonosas verde escuro e bege clara, com as mesmas características descritas por Lacaz (2002). Essas características também foram evidenciadas em cinco amostras do experimento 2, que foram atribuídas a crescimento de bolores contaminantes, e que podem estar relacionadas com essas espécies de fungos que estão frequentemente presentes no ambiente (Lacaz, 2002; Trabulsi & Alterthum, 2008)

Em nosso trabalho foi encontrada uma prevalência de 14,71% para os quadros de endometrite fúngica em equinos, resultados superiores aos reportados por estudos anteriores que indicam valores próximos a 5% (Dascanio, 2007). Tais resultados se justificam pelos critérios de inclusão adotados no presente estudo, utilizando apenas éguas com conformação perineal alterada e/ou idade avançada, características que representam os

principais fatores de risco para a doença (Dascanio, 2001; Silva & Alvarenga 2011).

Os agentes patogênicos identificados nas amostras positivas encontram-se em conformidade com os achados reportados por outros autores, que apontaram *Cândida spp* e *Aspergyllus spp* como os principais agentes etiológicos dos quadros de endometrite fúngica em equinos (Dascanio 2007, 2001; Tibary et al., 2007).

Os resultados falsos positivos atribuídos ao crescimento bacteriano podem ocorrer eventualmente em qualquer sistema de cultivo microbiológico comercial ou manufaturado para uso interno nos laboratórios de diagnóstico. De acordo com o fabricante, o sistema Dermatobac® suporta o crescimento de bactérias do gênero *Pseudomonas spp* ou *Streptococcus spp*, embora as características macro e microscópicas permitam uma diferenciação segura dos diferentes espécimes fúngicos. Como esses dois agentes usualmente estão envolvidos em quadros de endometrite (Maischberger et al 2008), pode-se especular que em 4 falso positivos as éguas apresentavam endometrite bacteriana. O grande envolvimento destes gêneros de microrganismos na endometrite equina provavelmente se justifica pelo comportamento oportunista dos estreptococos, visto que este agente é habitualmente encontrado na pele dos animais (Brinsko et al. 2011). O isolamento de *Pseudomonas aeruginosa* também tem sido observado em outros estudos envolvendo a endometrite na espécie equina. Tais bactérias podem ser transmitidas venereamente através da monta ou inseminação artificial levando a doença clínica e falhas reprodutivas na espécie (Tibary et al. 2007; Troedsson 2011).

Em 5 amostras foi observado crescimento de bolores ambientais, que se deve principalmente a dificuldade da manutenção da assepsia a campo, contaminação na hora da coleta nos órgãos genitais externos ou da vagina (LeBlanc, 2007; Troedsson, 2008; Overbeck et al, 2011). Essa dificuldade de manutenção de assepsia dificulta a utilização da cultura microbiológica como único método para diagnóstico (LeBlanc, 2009).

## **CONCLUSÃO**

O sistema Dermatobac® mostrou-se eficiente para o diagnóstico macroscópico da endometrite fúngica em equinos, gerando informações visuais a partir de 2 dias de cultivo. Problemas com contaminação podem ocorrer durante a colheita comprometendo a especificidade. No entanto, a baixa taxa de crescimento e características macroscópicas dos contaminantes favorece a identificação dos FPs, não comprometendo a aplicabilidade do sistema Dermatobac® para o diagnóstico da endometrites fúngica em equinos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aguilar J, Hanks M, Shaw DJ, Else R, Watson E. Importance of using guarded techniques for the preparation of endometrial cytology smears in mares. *Theriogenology*;66:423–30. 2006

Ayres M, Ayres Jr. M, Ayres DL. BioEstat: aplicações estatísticas nas áreas das ciências bio-médicas. Versão 4.0. Belém: Instituto de desenvolvimento sustentável Mamirauá, 2005.

Borba L. A. Coloração de esporos em pelos na dermatofitose em comparação de técnicas de diagnóstico. Dissertação Curitiba – PR. 2010

Brinsko SP, Blanchard TL, Varner DD, *et al.* “Endometritis” Manual of equine reproduction, 3rd edition, Mosby Elsevier, 59-68. 2011

Card C. Post-breeding inflammation and endometrial cytology in mares. *Theriogenology*;64:580–8. 2005

Chaves L. J. Q. Dermatomicoses em cães e gatos; Avaliação do diagnóstico clínico-laboratorial e dos aspectos epidemiológicos em uma população de portadores de lesões alopecias circulares. Dissertação de mestrado Fortaleza – CE. 2007

Cocchia N, Paciello O, Auletta L, *et al.* “Comparison of cytobrush, cottonswab, and low-volume uterine flush techniques to evaluate endometrial cytology for diagnosing endometritis in chronically infertile mares” *Theriogenology* 77, 89-98. 2012

Dascanio JJ, Schweizer C, Ley WB. Equine fungal endometritis. *Equine Vet Educ*;13:324-9. 2001

Dascanio JJ “Treatment of Fungal Endometritis” in Samper JC, Pycock JF, McKinnon AO (Ed.) Current Therapy in Equine Reproduction, Elsevier, 116-120. 2007

Defontis M.; Vaillancourt D.; Grand X. Comparison of three methods of sampling for endometrial cytology in the mare. Schattauer scientific journals 171 – 176. 2011.

LE BLANC, M.M.; MAGSIG, J; STROMBERG, A.J. Use of a low-volume uterine flush for diagnosing endometritis in chronically infertile mares. Theriogenology;68:403–12, 2007.

Leblanc M.M. “ Delay in uterine clearance chronic endometritis. Which does the mare have and how should it be treated. WEVA, 2009

Liu I.K.M; Troedsson M.H.T. The diagnosis and treatment of endometritis in the mare: Yesterday and today - Theriogenology 70 415–420 2008

Nielsen JM. Endometritis in the mare: A diagnostic study comparing cultures from swab and biopsy. Theriogenology; 64:510–8 – 2005

Overbeck W., Witte T.S. , Heuwieser W.. Comparison of three diagnostic methods to identify subclinical endometritis in mares. Theriogenology 75 1311–1318. 2011

PROBAC DO BRASIL . Laminocultivos – Dermatobac. [on line] Disponível em < [www.probac.com.br](http://www.probac.com.br) > Acesso em 08/05/14.

Silva ACS, Alvarenga MA “Fungal Endometritis” in McKinnon AO, Squires EL, Vaala WE, Varner DD (Ed.) Equine Reproduction 2nd edition, Wiley-Blackwell, 2643-2650. 2011

Souza A. M.; Gregory R. M. Variações da espessura da unidade útero placentária (EUUP) e características da conformação vulvar em éguas

gestantes da raça crioula. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Dissertação de mestrado. Porto Alegre 2008.

Tibary A, Fite, CL “Reproductive Tract Infections” in Sellon DC, Long MT Equine Infectious Diseases, Saunders Elsevier, 84-10. 2007

Troedsson MHT (2011) “Endometritis” in McKinnon AO, Squires EL, Vaala WE, Varner DD (Ed.) Equine Reproduction 2nd edition, Wiley-Blackwell, 2608-2619 2011

Troedsson, M.H., Loset, K., Alghamdi, A.M., Dahms, B. and Crabo, B.G.. Interaction between equine semen and the endometrium: the inflammatory response to semen. *Animal Reproduction Science* 68: 273-278. 2001

Troedsson, M.H.. Uterine clearance and resistance to persistent endometritis in the mare. *Theriogenology* 52: 461-471. 1999.

Troedsson, M.H. (2006) Breeding induced endometritis in mare. *Vet. Clin Equine* 22 705–712 Volume 22, Issue 3, pg 705 – 712. 2006

Walter J., Neuberg K.P., Failing K., Wehrend A. Cytological diagnosis of endometritis in the mare: Investigations of sampling techniques and relation to bacteriological results. *Animal Reproduction Science* 132 178– 186 2012.

Woodward E. M., Troedsson M. H. Equine Breeding-Induced Endometritis: A Review. *Journal of Equine Veterinary Science* 33 673-682. 2013.

Em 2013, Woodward & Troedsson realizaram uma grande revisão de literatura (Woodward & Troedsson, 2013)



Figura 1 – Lâminocultivo Dermatobac® apresentando as três placas de microcultivo DTM, ágar Biggy e ágar *Saboraud glicose*.

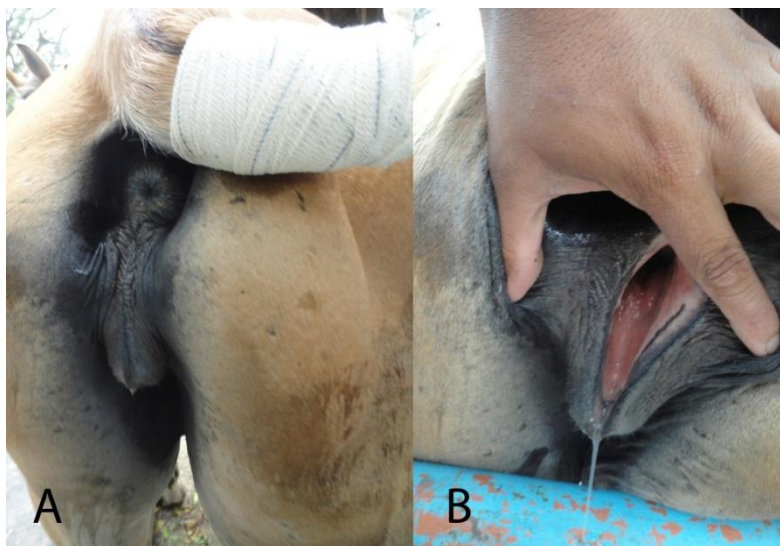


Figura 2 – Foto ilustrativa de região de períneo do modelo animal utilizado respeitando os critérios de inclusão utilizados para triagem dos animais (A), com secreção vaginal mucopurulenta (B).



Figura 3 – Amostras padrões de *Candida albicans* e *Aspergillus* spp (ATCC) respectivamente crescidas no sistema Dermatobac após 48 horas de incubação.



Figura 4 – Amostras padrões de, *Cladosporium* sp, *Penicillium* sp (ATCC) respectivamente que cresceram no sistema Dermatobac após 80 horas.

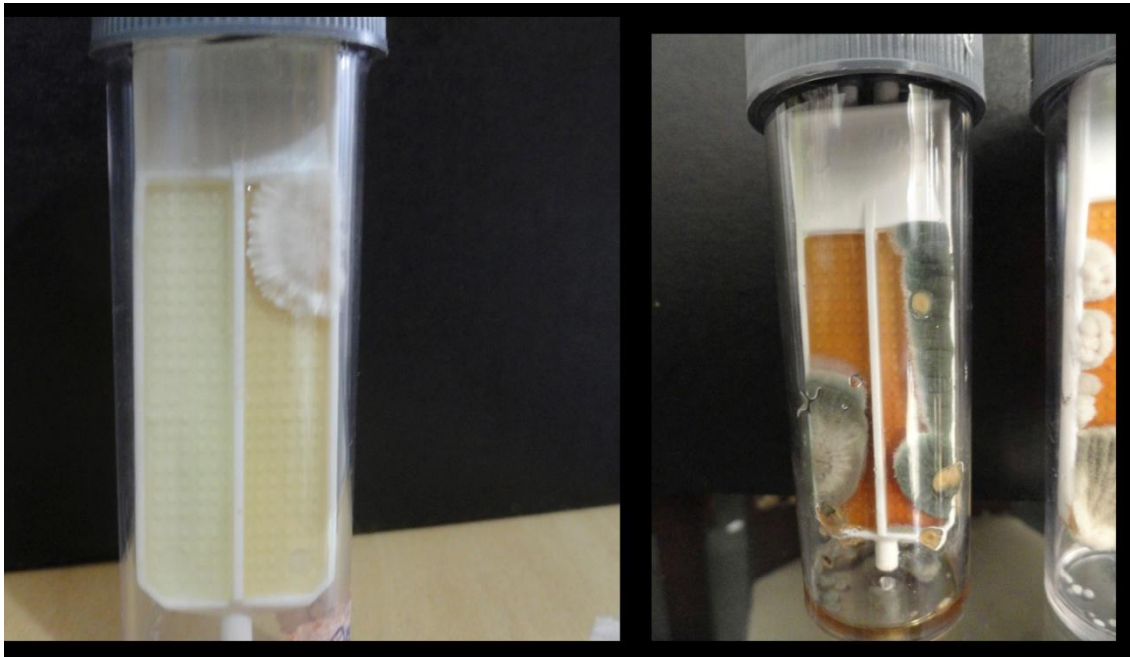


Figura 5 – Bolores ambientais que cresceram no sistema Dermatobac devido à contaminação.

Tabela 1 – Aparecimento de crescimento fúngico nos meios do Dermatobac após 48 horas.

Gênero	DTM	Agar Sabouraud	Biggy
<i>C. albicans</i>	X	X	X
<i>C. krusei</i>		X	X
<i>C. glabrata</i>		X	X
<i>C. tropicalis</i>			X
<i>Aspergillus sp</i>	X	X	X
<i>Cladosporium sp</i>			
<i>Penicillium sp</i>			

## ANEXO

Os arquivos presentes nesse anexo são as normas da Revista Brasileira de Medicina Veterinária, juntamente com um artigo publicado nessa revista que é deixado como exemplo disponível no site e a aprovação do projeto no comitê de ética.

**PARECER N.º 33 /2013**

**REGISTRO CEP UNISA N.º 33/2013 – PROJETO DE PESQUISA**

Coordenadora do Comitê de Ética no Uso de Animais – CEUA

**Projeto de Pesquisa:** "Sensibilidade do laminocultivo (Dermatobac R) para o diagnóstico da endometrite fúngica em equinos".

**Pesquisadores Responsáveis:** : André Maciel Crespilho

**Curso:** Medicina Veterinária

Prezado Pesquisador:

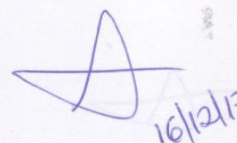
Ao se proceder à análise do processo em questão, coube a seguinte deliberação:

O Comitê de Ética em Pesquisa no Uso de Animais (**CEUA-UNISA**), esta de acordo com os Princípios Éticos, seguindo as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisa envolvendo animais, conforme a Lei federal nº 11.794 (Lei Arouca) que estabelece os procedimentos para o uso científico de animais no país e a Lei Estadual nº 11.977/05 que institui o Código de Proteção aos Animais do Estado de São Paulo, manifestando-se pela **APROVAÇÃO** do Projeto "**Sensibilidade do laminocultivo (Dermatobac R) para o diagnóstico da endometrite fúngica em equinos**".

**\* Prezados Pesquisadores o CEUA solicita:**

- Relatório da pesquisa ao término do prazo estipulado no cronograma do projeto.
- Ser informado sobre qualquer alteração na metodologia informada no Projeto de Pesquisa.

São Paulo, 11 de Dezembro de 2013.



16/12/13

---

*Andrea Barbosa*  
**PROFA. DRA. ANDREA BARBOSA**  
Coordenadora do Comitê de Ética no Uso de Animais - CEUA  
UNISA - Universidade de Santo Amaro

*A*