



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

MARCOS CEZAR SANT'ANNA

MARCADORES PROGNÓSTICOS DA PIOMETRA CANINA

Londrina
2012

MARCOS CEZAR SANT'ANNA

MARCADORES PROGNÓSTICOS DA PIOMETRA CANINA

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal (Área de concentração: Sanidade Animal) da Universidade Estadual de Londrina.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Maria Isabel Mello Martins

Londrina
2012

**Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da
Universidade Estadual de Londrina.**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

S232m	<p>Sant'Anna, Marcos Cezar. Marcadores prognósticos da piometra canina / Marcos Cezar Sant'Anna. – Londrina, 2012. 48 f. : il. + anexos no final da obra.</p> <p>Orientador: Maria Isabel Mello Martins. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, 2012. Inclui bibliografia.</p> <p>1. Cão – Doenças – Tratamentos – Teses. 2. Endométrio – Hiperplasia – Teses. 3. Piometra – Cão – Teses. 4. Ginecologia veterinária – Teses. I. Martins, Maria Isabel Mello. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. III. Título.</p> <p style="text-align: right;">CDU 619:636.7</p>
-------	--

MARCOS CEZAR SANT'ANNA

MARCADORES PROGNÓSTICOS DA PIOMETRA CANINA

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal (Área de concentração: Sanidade Animal) da Universidade Estadual de Londrina.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Maria Denise Lopes
UEP – Botucatu – SP

Prof. Dr. Lucas Alecio Gomes
UEL – Londrina – PR

Prof^a.Dr^a. Maria Isabel Mello Martins
UEL – Londrina – PR

Londrina, 28 de maio de 2012.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço à Deus que me deu a vida, triou meu caminho sempre na paz e me proporcionou a grande felicidade da minha vida, o nascimento do nosso Caio, fruto do mais verdadeiro amor.

Minha Mãe e meu Pai pelo apoio incondicional em todas as etapas da minha vida e pelo amor eterno que cerca nossa família. Fico muito feliz em acreditar que família é pra todo o sempre.

Minha esposa Adriane por enfrentar comigo essa grande empreitada que é a vida, sempre com muito amor, carinho, compreensão e sinceridade. Agradeço todos os dias por esse amor.

A professora Marial Isabel Mello Martins, que me acolheu desde a época dos estágios, residência e agora no mestrado com muita paciência e incentivo, sempre ampliando meus horizontes. Por se tornar uma “mãe” para mim e minha família. Nossos sinceros agradecimentos. Você sempre estará no meu coração.

Aos membros da comissão examinadora da banca de qualificação e defesa: Dra. Lucienne Garcia Pretto Giordano, Profa. Dra. Karina Keller Marques da Costa Flaiban, Profa. Dra. Maria Denise Lopes e Prof. Dr. Lucas Alecio Gomes.

A Universidade Estadual de Londrina e todos os professores do programa de Pós-graduação em Ciência Animal pela formação acadêmica e científica.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela concessão da bolsa de mestrado.

Ao Hospital Veterinário por permitir o desenvolvimento da minha pesquisa e meu crescimento profissional junto ao HV.

A todos os professores plantonistas do HV que sempre me receberam de braços abertos e colaboraram com mais essa etapa da minha vida. Especialmente as professoras Josmari Pirolo, Patricia Mendes Pereira e Mara Regina Stipp Balarin.

A todos os funcionários do HV, pela ajuda e amizade construída durante esses quatro anos.

A todos os Médicos Veterinário Residentes do HV – UEL pela grande ajuda durante meu experimento e momentos de descontração.

A todos os colegas de Pós-Graduação pela valiosa troca de experiências.

Aos técnicos dos laboratórios de Bacteriologia e Patologia Clínica pela ajuda durante minha pesquisa e amizade.

A todos os pacientes do HV-UEL por participarem do meu crescimento profissional e pelo mais sincero carinho, mesmo após uma medicação dolorosa.

Aos meus avós, pelo amor e legado de experiência.

A todos os colegas de Residência, em especial ao Amigo João Henrique pelos dois anos de convivência e crescimento profissional conjunto.

A todos aqueles que contribuíram de alguma forma para este trabalho.

Muito obrigado.

SANT' ANNA, M. C. **Marcadores prognósticos da piometra canina.** 2012. 48f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina. Londrina, 2012.

RESUMO

A piometra é uma doença que acomete fêmeas da espécie canina de meia idade a idosas durante o diestro. Aspectos hormonais e microbiológicos são bem descritos como parte da fisiopatogenia da piometra canina. Alterações hematológicas como leucocitose e anemia normocítica normocrômica são esperadas durante o curso da doença. Azotemia pré-renal e renal secundária a depósitos de imunocomplexos glomerulares são frequentes quando o agente envolvido é a *Escherichia coli*. Marcadores de sepse foram avaliados na piometra canina com o intuito de identificar precocemente o agravamento do quadro clínico. Entretanto, são poucos os estudos interdisciplinares que correlacionam os achados microbiológicos, laboratoriais e clínicos com o prognóstico de cadelas com piometra. O objetivo desse estudo foi avaliar a multirresistência bacteriana, alterações hematológicas e bioquímicas e o papel do lactato sanguíneo como possível marcador prognóstico na piometra canina. Foram avaliadas de maneira prospectiva 80 cadelas com piometra, alocadas em dois grupos de acordo com a evolução clínica. O grupo um (G1) foi composto por cadelas que receberam alta em até 48 horas após a cirurgia e o grupo dois (G2) por aquelas que necessitaram de internamento superior a 48 horas ou morreram. Para avaliação prognóstica os valores hematológicos e bioquímicos foram comparadas entre os grupos e variáveis como peritonite, multirresistência bacteriana, síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SIRS), hiperlactatemia e aumento nos níveis de creatinina foram analisados por meio da dispersão de frequências. Das variáveis estudadas a presença de SIRS foi significativamente associada aos casos que necessitaram de internamento prolongado ou morreram e as mensurações de uréia e creatinina foram significativamente maiores no G2 em relação ao G1. Enquanto que as mensurações sanguíneas do lactato e a presença de multirresistência bacteriana não diferiram entre os grupos. Como conclusão, a presença de SIRS e a elevação nos níveis de creatinina > 2,5 mg/dl foram os parâmetros clínicos e laboratoriais associados com a morbidade e mortalidade em cadelas portadoras de piometra tratadas cirurgicamente.

Palavras-Chave: Hiperplasia endometrial. SIRS. Multirresistência bacteriana. Hiperlactatemia

SANT' ANNA, M. C. **Prognostic markers of canine pyometra**. 2012. 48p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina. Londrina, 2012.

ABSTRACT

The pyometra is a disease that affects middle aged and old bitch during diestrus. Microbiological and hormonal aspects are well described the part of the pathogenesis of canine pyometra. Haematological abnormalities including leukocytosis and normocytic normochromic anemia are expected during the course of the disease. Prerenal azotemia and renal failure secondary to glomerular deposition of immune complexes are common involved when the agent is *Escherichia coli*. However, few studies have evaluated the role of each change in the prognosis of canine pyometra, as well as propose new prognostic markers of this disease. The aim of this study was to evaluate variables such as bacterial multidrug resistance, hematological and biochemical changes and the role of lactate as a possible prognostic marker in canine pyometra. We prospectively evaluated 80 dogs with pyometra, divided into two groups according to clinical evaluation. The G1 was composed of bitches who were discharged 48 hours post operatively and G2 for those who hospitalization required exceeding 48 hours or died. To evaluate the prognostic hematologic and biochemical variables were compared between groups and the dichotomous variables peritonitis, bacterial multidrug resistance and systemic inflammatory response syndrome (SIRS) were analyzed by frequency dispersion. Of the variables studied, the presence of SIRS was significantly associated with the G2 (to cases requiring prolonged hospitalization or death) and came to the measurement so urea and creatinine were significantly higher in G2 compared to G1. While measurements of blood lactate and the presence of bacterial multidrug resistance groups did not differ. In conclusion, the presence of SIRS and increased levels of urea and creatinine values above the reference were the clinical and laboratory parameters associated with poor prognosis in pyometra bitches suffering from treated surgically.

Key Words: Endometrial hiperplasia. SIRS. Bacterial multidrug resistance. Hyperlactatemia

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** –Frequência e associação das variáveis patencia de cérvix, peritonite, SIRS, multirresistência bacteriana, hiperlactatemia pré-operatória, redução de 50% da hiperlactatemia após 24 horas de pós-operatório (R50% hiperlactatemia) e creatinina > 2,5mg/dl com a necessidade de internamento prolongado/óbito utilizando os testes Qui-quadrado e Fisher com nível de significância de 5%, Londrina – PR, 201243 42
- Tabela 2** –Bactérias isoladas da secreção uterina de 59/80 cadelas com piometra, Londrina-PR, 201244 43
- Tabela 3** –Perfil de resistência e sensibilidade bacteriana aos antibióticos testados nos 59 isolados de conteúdo uterino de 80 cadelas com piometra, Londrina-PR, 201245 43
- Tabela 4** –Valores de hemácias, volume globular e concentração de hemoglobina expressos em média e desvio padrão e comparação entre os grupos por meio do teste de Tukey, e valores de leucócitos e plaquetas expressos em mediana e comparação entre os grupos por meio do teste de Mann-Whitney com nível de significância de 5%,Londrina – PR 201246..... 44
- Tabela 5** –Parâmetros bioquímicos das cadelas com piometra expressos em mediana e comparação entre os grupos por meio do teste Mann-Whitney com nível de significância de 5%, Londrina – PR 201247 44

SUMÁRIO

1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	10
1.1 INTRODUÇÃO	10
1.2 FISIOPATOGENIA DA PIOMETRA CANINA	11
1.2.1 Componente Hormonal	11
1.2.2 Etiologia Bacteriana	12
1.3 SINAIS CLÍNICOS E PARÂMETROS LABORATORIAIS	15
1.4 DIAGNÓSTICO	16
1.5 TRATAMENTO	16
1.6 RESISTÊNCIA MICROBIANA NA PIOMETRA	17
1.7 SÍNDROME DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA SISTÊMICA NA PIOMETRA	19
1.8 MARCADORES DE SEPSE/SIRS NA PIOMETRA	21
1.8.1 Proteínas de Fase Aguda como Marcadores de Sepse/SIRS e Possíveis Avaliadores Prognósticos na Piometra Canina	21
1.8.2 Lactato como Possível Marcador Prognóstico na Piometra	23
1.9 CONSIDERAÇÕES FINAIS	25
1.10 REFERÊNCIAS	25
2 OBJETIVOS	31
2.1 OBJETIVO GERAL	31
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	31
3 ARTIGO PARA PUBLICAÇÃO	32
3.1 MARCADORES PROGNÓSTICOS DA PIOMETRA CANINA	32
3.2 RESUMO	32
3.3 INTRODUÇÃO	32
3.4 MATERIAIS E MÉTODOS	34
3.4.1 Animais	34
3.4.2 Hemograma Bioquímicos e Lactato Sanguíneo	34
3.4.3 Cultura, Isolamento e Antibiograma	35
3.4.4 Determinação da Síndrome de Resposta Inflamatória Sistêmica	36
3.4.5 Análise Estatística	36
3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	36

3.6 AGRADECIMENTOS	40
3.7 REFERÊNCIAS	40
4 CONCLUSÕES	45
ANEXOS	46
ANEXO A – Comitê de ética e experimentação animal	47
ANEXO B – Normas para publicação no periódico <i>Reproduction in Domestic Animals</i>	48

1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 INTRODUÇÃO

O trato reprodutivo da fêmea canina é composto pela vulva, vestíbulo, vagina, cérvix, útero, tubas uterinas e ovários (ELLENPORT, 1986), e sofre modificações estruturais e fisiológicas mediadas por hormônios sexuais (ALLEN, 1995).

O ciclo estral canino pode ser dividido em quatro fases distintas: anestro, proestro, estro e diestro. Este último é marcado por níveis séricos elevados de progesterona independente se a cadela está ou não gestante, e pode ser considerada uma das principais particularidades do ciclo estral canino (FELDMAN; NELSON, 1996).

A piometra é doença que ocorre normalmente no diestro de fêmeas adultas e intactas, caracterizada por exsudato uterino inflamatório e colonização bacteriana associada à hiperplasia endometrial cística (HEC) (JOHNSTON et al. 2001).

A *Escherichia coli* é responsável pela maioria dos casos de piometra canina. Contudo, *Staphylococcus* spp, *Streptococcus* spp, *Klebsiella* spp, *Pseudomonas* spp, *Proteus* spp entre outras bactérias também foram isoladas e o que se observa é sensibilidade bem variável aos antimicrobianos comumente usados (HAGMAN; GREKO, 2005; VERSTEGEN et al. 2008).

Na literatura, na maioria dos estudos se descreve a prevalência e os perfis de sensibilidade das bactérias envolvidas na piometra (LARA et al. 2008; SIQUEIRA et al. 2008). Porém, são poucos os que relacionam o papel das diferentes cepas e a ocorrência de multirresistência microbiana no prognóstico de cães com sepse (OTTO, 2007).

A dosagem das proteínas de fase aguda e outros biomarcadores, como o lactato sanguíneo, que podem indicar agravamento da doença em humanos estão sendo pesquisados na medicina veterinária (HAGMAN et al. 2009; ECKERSALL; BELL, 2010). Entretanto, os resultados ainda são controversos no que se diz respeito ao real valor prognóstico de cada biomarcador e mais estudos são necessários (FRANSSON et al. 2007).

O objetivo dessa revisão foi identificar a importância clínica dos estudos microbiológicos e laboratoriais da piometra canina e salientar os marcadores prognósticos que estão sendo utilizados para monitorar a evolução clínica desta afecção.

1.2 FISIOPATOGENIA DA PIOMETRA CANINA

O desenvolvimento da piometra canina está relacionado com um complexo conjunto de fatores etiológicos. Isto inclui a influência hormonal no meio ambiente uterino, virulência da bactéria infectante, resposta individual no combate à infecção e na sensibilidade aos produtos bacterianos e inflamatórios ligados a doença (HAGMAN, 2004).

1.2.1 Componente Hormonal

A importância dos esteróides ovarianos, estrógeno e progesterona, na fisiopatologia da piometra é indiscutível, pois cadelas ovariectomizadas e observadas por mais de dez anos não desenvolveram a doença (JANSSENS; JANSSENS, 1991).

Com a finalidade de preparar o útero para assegurar a gestação, o estrógeno liberado durante o estro estimula a hiperplasia do endométrio e sensibiliza os receptores endometriais a progesterona, que é secretada por cerca de 80 dias durante o diestro. Uma deficiência na regulação dos receptores estrogênicos uterinos promove uma prolongada ação dos estrógenos sobre o endométrio até o início do diestro, intensificando a hiperplasia fisiológica e obliterando os canais secretores das glândulas, caracterizando a HEC (FIENI, 2006; PRETZER, 2008).

Durante o diestro a progesterona é responsável por uma diminuição das defesas imunológicas locais e fechamento da cérvix visando à manutenção da gestação, proporcionando assim condições propícias para a multiplicação microbiana, que adentraram ao útero durante o estro quando a cérvix está aberta (JOHNSTON et al. 2001; VERSTEGEN et al. 2008).

Embora a importância da progesterona na fisiopatologia da piometra seja bem aceita, o mecanismo de ação ainda não está bem determinado, como é o caso de cadelas com piometra e níveis basais de progesterona sérica (VERSTEGEN et al. 2008). Da mesma forma, alguns autores por meio de seus estudos epidemiológicos não encontraram associação entre altas concentrações ou períodos prolongados de secreção da progesterona com a piometra canina (NISKANEN; THRUSFIELD, 1998). Outros autores apontam uma resposta exacerbada do endométrio aos hormônios ovarianos como possível explicação para a não diferença nos níveis hormonais em cadelas com e sem piometra durante o diestro (DE BOSSCHERE et al. 2002).

1.2.2 Etiologia Bacteriana

A contaminação, mas não a proliferação bacteriana no útero parece ser fenômeno normal durante o proestro e estro. Essas bactérias penetram através da cérvix e caso encontrem ambiente propício podem se proliferar e acarretar o desenvolvimento do complexo hiperplasia endometrial - piometra (FELDMAN, 2004).

Hagman e Kuhn (2002) demonstraram por meio de digestão enzimática e eletroforese que *E. coli* isoladas de cadelas com piometra eram provenientes da microbiota normal das cadelas, pois a bactéria isolada de cada cadela tinha um perfil de DNA único, inviabilizando a teoria de que poderiam ser clones circulantes entre os animais.

E. coli é reportada em aproximadamente 70% dos casos de piometra canina (JOHNSTON et al. 2001). Contudo, *Staphylococcus* spp, *Streptococcus* spp, *Klebsiella* spp, *Pseudomonas* spp, *Proteus* spp, *Haemophilus* spp, *Serratia* spp e outras bactérias foram isoladas em diferentes proporções de úteros de cadelas com piometra (WEISS et al. 2004; VERSTEGEN et al. 2008; KUPLULU et al. 2009).

Oliveira et al. (1988) isolaram de conteúdo uterino de 70 cadelas com piometra, 50,5% de *E. coli*, 7,1% de *Streptococcus* spp, 7,1% de *Proteus* spp, 5,7% de *Staphylococcus* spp e 2,9% de *Micrococcus* spp.

Fransson (2003) em estudo realizado na Suécia encontrou 90% de *E. coli* em 48 cadelas com diagnóstico de piometra.

Weiss et al. (2004), no Brasil, estudaram 30 cadelas com piometra e encontraram 36% de *E. coli*, 16% de *Streptococcus* spp, 14% de *Staphylococcus* spp, 10% *Enterobacter* spp, 7% de *Proteus* spp, 7% de *Pasteurella* spp, 3% de *Citrobacter* spp e 7% sem crescimento bacteriano, demonstrando a grande diversidade dos agentes etiológicos. Emanuelli et al. (2010) em 20 cadelas com piometra encontraram 60% de *E. coli*, 30% de culturas negativas e 10% de *Staphylococcus* spp.

A maioria dos sinais clínicos da piometra são causados pela liberação de componentes da parede celular e endotoxinas na circulação proliferação ou desintegração celular da bactérias Gram negativas, entre elas a *E. coli* (HAGMAN et al. 2006).

A alta prevalência de *E. coli* em infecções uterinas, provavelmente, está ligada a sua capacidade em aderir-se em sítios antigênicos específicos no endométrio canino, quando este está sob influência da progesterona (GROOTERS, 1994).

A maioria das cepas de *E. coli* isoladas de conteúdo uterino e vesícula urinária de cadelas são muito similares e geralmente do mesmo sorogrupo O, grupo que se

enquadram as *E. coli* uropatogênicas, isso ocorre, provavelmente, pela característica ascendente de ambas as infecções (HAGMAN; KUHN, 2002).

E. coli uropatogênica diferem de *E. coli* intestinais por apresentarem fatores de virulência uropatogênicos (UVFs) que facilitam sua aderência e multiplicação em tecidos extra-intestinais (JOHNSON et al. 1998).

Os genes responsáveis pela síntese de certos fatores de virulência da *E. coli* uropatogênica são: *pap* (pili associado a pielonefrite), *fim* (fimbria tipo I), *sfa* (fimbria S) que são responsáveis por aumentar a patogenicidade, facilitando a colonização no epitélio urogenital e os genes *hlyA* (α – hemolisina) e o *cnfl* (fator citotóxico necrosante I) responsáveis por aumentar o dano tecidual durante a infecção (ARTHUR et al. 1989; QUINN et al. 2005).

Chen et al. (2003) avaliaram a prevalência dos genes de UVFs em *E. coli* isoladas de cadelas com piometra e fezes de cães saudáveis, encontraram proporção significativamente maior nos isolados uterinos somente para o gene *pap*. Entretanto, observaram maior expressão de múltiplos genes de UVFs em cepas isoladas de cadelas com piometra, assim como *E. coli* uropatogênicas. E concluíram que, a piometra e as infecções do trato urinário possuem mecanismos fisiopatológicos semelhantes.

Klebsiella spp, *Proteus* spp e *Salmonella* spp, pertencem à família *Enterobacteriaceae*, habitam o trato intestinal de animais e humanos e ocasionalmente podem causar doença clínica em outros tecidos e são frequentemente isoladas de cadelas com piometra (QUINN et al. 2005; BARSANTI, 2006; VERSTEGEN et al. 2008).

Algumas cepas de *Klebsiella* spp possuem a capacidade de produzir uma enterotoxina com propriedades semelhantes a da *E. coli*, podendo assim desencadear endotoxemia (JAWETZ et al. 1982).

O gênero *Salmonella* é dividido em 2.400 sorotipos que são identificados por meio de anti-soro específicos para cada antígeno somático (O) ou flagelar (H). As salmonelas são capazes de causar muitas condições patológicas nos animais, desde diarreias até sepse, isso porque são capazes de secretar toxinas que afetam diretamente células-alvo (HIRSCH; ZEE, 2003).

Proteus spp são comumente encontrados em infecções do trato urinário em homens e animais, e podem causar bacteremia e levar o paciente a óbito (MURRAY et al. 1998).

Cepas patogênicas de *Pseudomonas* spp produzem uma variedade de toxinas e enzimas que propiciam invasão e necrose tecidual. A aderência nas células do

hospedeiro é mediada por fímbrias e sua colonização e replicação é auxiliada por exoenzimas, secreção viscosa extracelular e lipopolissacarídeos da membrana externa (QUINN et al. 2005). Embora possam ser isoladas do trato respiratório superior, genital e gastrointestinal elas são geralmente controladas por mecanismos de competição, caso algumas dessas mucosas venham a sofrer injúrias, ou no caso de terapia antimicrobiana crônica as pseudomonas podem-se multiplicar (KRUTH, 2006).

As bactérias Gram positivas mais frequentemente isoladas de cadelas com piometra são *Streptococcus* spp e *Staphylococcus* spp (VERSTEGEN et al. 2008).

Os estafilococos são bactérias comensais e estão presentes na pele e mucosas de cães, são consideradas bactérias oportunistas capazes de causar otite externa, infecções do trato genitourinário, piodermite, mastite, pneumonia e bacteremia em cães (LILENBAUM et al. 2000).

A virulência dos estafilococos é relacionada a componentes da parede celular, toxinas extracelulares e enzimas que proporcionam grande variedade de efeitos biológicos no hospedeiro após invasão tecidual. A produção de exotoxinas está ligada a grande liberação de citocinas que resultam em lesões necróticas e choque tóxico. A enzima coagulase está presente na maioria dos estafilococos clinicamente relevantes, apesar de não ser tóxica ela é associada a presença de outros fatores de virulência ou produtos extracelulares. *Staphylococcus intermedius* é a principal espécie isolada de infecções piogênicas de cães e são classificadas como coagulase positiva (COX, 2006).

Os estreptococos são bactérias capazes de causar infecção piogênica em muitos animais, geralmente são oportunistas e podem acometer linfonodos, trato genital, glândulas mamárias e trato respiratório (QUINN et al. 2005).

Existem vários sistemas de classificação para os estreptococos. A classificação proposta por Lancefield em 1933 é baseada nas diferenças antigênicas de carboidratos da parede celular e está correlacionada com a patogenicidade. Os grupos A, B, C, E, G, L e M são usualmente β -hemolíticos e tendem a ser mais patogênicos, enquanto o grupo D é composto por cepas usualmente α -hemolíticas e não hemolíticas (GREENE; PRESCOTT, 2006).

A maioria das infecções por estreptococos β -hemolíticos em cães pertencem ao grupo G e são aparentemente causadas por *Streptococcus canis*. A maioria das doenças em cães envolvendo esse grupo são abortos, infertilidade, infecção genital, mastite, celulite, faringite, pericardite e morte neonatal. Os estreptococos do grupo G também são associados a infecções sistêmicas em cães adultos (GREENE; PRESCOTT, 2006).

1.3 SINAIS CLÍNICOS E PARÂMETROS LABORATORIAIS

A piometra é classificada como aberta ou fechada dependendo da condição da cervix, resultando na existência do corrimento vulvar. Os sinais clínicos devido a infecção do útero tendem a ser mais graves quando a secreção uterina não é drenada (JOHNSON, 2006).

As anormalidades, durante o exame físico, que são compatíveis com piometra incluem depressão, desidratação, febre, aumento palpável do útero e corrimento vulvar sanguinolento a mucopurulento provenientes do útero. Em casos de sepse ou toxemia, pode seguir-se choque, com taquicardia, tempo de preenchimento capilar prolongado, pulso femoral fraco e hipotermia (FELDMAN, 2004; PRETZER, 2008).

Durante a vaginoscopia observa-se pus associado à vaginite permitindo observar a saída da secreção uterina pelo canal cervical. A palpação abdominal deve ser realizada com cuidado, pois o aumento uterino severo pode facilitar ruptura. Geralmente, nota-se uma formação tubular e volumosa cujos contornos são difíceis de serem identificados nos casos de piometra do tipo fechada (FIENI, 2006).

No hemograma, as anormalidades mais consistentes encontradas são leucocitose por neutrofilia com desvio à esquerda, secundária a infecção, e discreta anemia normocítica normocrômica arregenerativa, devido a doença crônica (PRETZER, 2008).

As anormalidades bioquímicas incluem hiperproteïnemia, hiperglobulinemia e azotemia. Ocasionalmente, as atividades da alanina aminotransferase e da fosfatase alcalina estão moderadas a intensamente elevadas, supostamente em razão da septicemia e hipóxia (JOHNSON, 2006).

A piometra causada por *Escherichia coli* geralmente está associada à insuficiência renal, que é secundária a glomerulonefrite por depósitos de imunocomplexos na membrana basal do glomérulo, e agravada pela azotemia pré-renal, conseqüente à desidratação associada ao choque séptico (FIENI, 2006).

Zaragoza et al. (2004) estudaram a excreção da proteína urinária por meio de eletroforese em gel de poliácridamida e demonstraram que a proteinúria em cadelas com piometra foi primariamente de origem glomerular, em que 58% eram proteínas de médio e alto peso molecular, classificadas como albuminas e transferrinas, e o restante de baixo peso molecular, provavelmente de origem tubular.

Heiene et al. (2007) em um estudo caso controle com 19 cadelas com piometra e 13 cadelas controle por meio de biópsia renal trans-operatória e histopatologia

encontraram maior prevalência de lesões intersticiais e tubulares em cadelas com piometra, e similaridade das lesões glomerulares nos dois grupos.

Outros órgãos que podem ser acometidos em cadelas com piometra são a medula óssea, já que se tem observado hiperplasia de elementos mielóides, fígado e baço onde se pode desenvolver mielopoiese extramedular, todas secundárias à resposta inflamatória (JOHNSTON et al. 2001).

1.4 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico de piometra aberta é estabelecido pela presença de secreção purulenta vaginal proveniente do útero, observada em cadelas não gestantes ou no período pós parto, excluindo causas de secreção vulvar de origem vaginal (vaginite, neoplasia e corpo estranho). O diagnóstico nos casos de piometra fechada, são geralmente mais difíceis, sendo importante diferencial para todas as cadelas que apresentam anorexia, poliúria, polidipsia e distensão abdominal (FIENI, 2006).

O diagnóstico definitivo é realizado pelo histórico de diestro, sinais clínicos como distensão abdominal e secreção vaginal, leucograma com leucocitose com desvio a esquerda e com base nos exames de imagem como radiografia abdominal e ultrassonografia. O exame radiográfico revela aumento uterino, entretanto não diferencia piometra de aumento uterino relacionado com gestação em terço inicial (antes que ocorra a mineralização fetal – 42 a 45 dias da ovulação). O exame ultrassonográfico é preferido para o diagnóstico de piometra, revelando aumento uterino com conteúdo fluido que pode variar de anecóico a hipocóico (JOHNSTON et al. 2001).

1.5 TRATAMENTO

O tratamento de escolha para cadelas com piometra é a ovariectomia (OSH), a menos que a manutenção do potencial reprodutivo de uma cadela com seis meses a seis anos de idade seja importante para o proprietário e/ou criador (FELDMAN, 2004). Portanto, os critérios para o tratamento médico de cadelas com piometra são: cadelas jovens, interesse reprodutivo e não apresentarem sinais sistêmicos de endotoxemia (JOHNSTON et al. 2001).

A prostaglandina $F_{2\alpha}$ natural era utilizada isoladamente e administrada por via subcutânea, uma ou duas vezes ao dia na dose de 0,1 a 0,25 mg/Kg, até o esvaziamento

uterino, sendo necessários ao menos três a cinco dias de tratamento. As prostaglandinas da série F causam contrações miométriais, eliminação do fluido uterino e luteólise, cessando a esteroidogênese ovariana, portanto, tratamento associado a intensos efeitos colaterais. Atualmente, com o emprego de antiprogéstágenos (aglepristone), agonistas dopaminérgicos (cabergolina) e prostaglandinas sintéticas (cloprostenol) para o tratamento de cadelas com piometra, a luteólise e o esvaziamento uterino são causados por mecanismos diferentes e com doses mais seguras, provocando assim, diminuição dos efeitos colaterais (CORRADA et al. 2006; FIENI, 2006; GOBELO, 2006; JOHNSON, 2006).

Quanto ao tratamento cirúrgico, as cadelas relativamente saudáveis em geral estão em menor risco, enquanto aquelas gravemente enfermas devem ser tratadas com fluidoterapia intensiva e antimicrobianos, e serem submetidas a testes laboratoriais apropriados, para identificar anormalidades orgânicas, como bioquímica sérica, hemograma completo; além de alterações eletrolíticas, ácido-básicas, eletrocardiográficas e no estado de hidratação (HEDLUND, 2005). Não se deve, na maioria dos casos, esperar pela “estabilização” do animal antes que a cirurgia seja realizada, a sepse originária do útero doente frequentemente é responsável pela enfermidade grave, e apenas após a remoção cirúrgica do útero ocorrerá a resolução do estado séptico (FELDMAN, 2004).

Concomitante a qualquer protocolo de tratamento deve ser usado antimicrobianos de amplo espectro, porém, a identificação e sensibilidade microbiana deverá ser realizada, a partir da secreção vulvar sempre que possível, antes do início da terapia com antibióticos (BARSANTI, 2006; VERSTEGEN et al. 2008).

A fluidoterapia intravenosa é indicada para corrigir déficits detectados, para manter a adequada perfusão tecidual e para melhorar a função renal e corrigir a azotemia caso presente. Uma fluidoterapia intensa faz-se necessária para os animais em choque séptico (HEDLUND, 2005).

Apesar do tratamento adequado, relata-se morbidade de 5% a 8% e mortalidade de 4% a 20%. Isto não é inesperado, já que são várias as complicações metabólicas ocasionados pela piometra (JOHNSON, 2006).

1.6 RESISTÊNCIA MICROBIANA NA PIOMETRA

A resistência microbiana é problema complexo envolvendo várias espécies de bactérias, mecanismos de resistência, mecanismos de transferência e reservatórios microbianos de cepas resistentes (GUARDABASSI et al. 2004).

As bactérias podem exibir resistência intrínseca a certos antibióticos, a qual é baseada na ausência ou inacessibilidade do antibiótico em agir no seu alvo de ação, capacidade bacteriana de produzir enzimas inativantes e/ou exibir barreiras de permeabilidade (SCHWARZ et al. 2010). Entretanto, estudos clínicos voltados para a resistência microbiana tendem a avaliar a resistência adquirida a múltiplas drogas, pois isso dificulta e muito a escolha de terapias antimicrobianas eficazes (CLARKE, 2006).

A resistência microbiana a certos antibióticos aumenta conforme sua frequência e uso. A supressão da microbiota entérica normal e a proliferação de cepas resistentes ocorrem a partir da absorção parcial do medicamento ou quando os antibióticos são excretados na sua forma ativa no intestino, como é o caso das tetraciclina, cloranfenicol, ampicilina, metronidazol e amoxicilina (GREENE, 2006).

Hagman (2004) estudou o perfil de sensibilidade antimicrobiana de *E. coli* isoladas a partir de casos de piometra em dois períodos e encontrou uma baixa proporção de cepas resistentes aos antibióticos testados. No período de 1991 – 1993 (n = 56) os antibióticos com maiores proporções de resistência foram, ampicilina (7%), estreptomicina (9%) e tetraciclina (9%). No período de 2002 – 2003 (n = 80) os resultados foram similares embora a proporção de resistência aos antibióticos estreptomicina (5%) e tetraciclina (4%) tenham diminuindo.

Coggan (2005) avaliou 197 isolados de conteúdo uterino, destes, 151 eram *E. coli* que apresentaram 86,1% de resistência à cefalotina, 68,9% a ampicilina, 32,5% a tetraciclina, 27,8% a cefalexina, 15,2% a gentamicina, 12,6% a enrofloxacina e 2,0% a norfloxacina. Quando avaliou de maneira conjunta outras bactérias Gram negativas (n = 28), 89,3% foram resistentes à cefalotina, 92,9% a ampicilina, 71,4% a tetraciclina, 82,1% a cefalexina, 21,4% a gentamicina, 39,3% a enrofloxacina e 7,1% a norfloxacina. Em relação aos isolados Gram positivos (n = 23), 39,1% apresentaram resistência à cefalotina, 60,9% a ampicilina, 21,7% a cefalexina, 30,4% a gentamicina, 17,4% a enrofloxacina, 13,0% a norfloxacina, 91,3% a penicilina e 47,8% a amoxicilina.

Siqueira et al. (2008) avaliaram o perfil de sensibilidade e multirresistência em estirpes de *E. coli* (n = 51) isoladas de cadelas com piometra e encontraram maior índice de resistência com o uso de sulfametoxazol + trimetoprim em 73,1% dos isolados, seguido pela ampicilina com 28,8% e cefalexina com 9,6%. Também ressaltou a ocorrência de 13,5% de estirpes multirresistentes ou seja resistentes a três ou mais antibióticos.

Lara et al. (2008) encontram 100% de resistência em cepas de *E. coli* (n = 15) isoladas de cadelas com piometra frente aos antibióticos amoxicilina, ampicilina, cefalexina, cefalotina, ciprofloxacina, enrofloxacina, gentamicina e norfloxacina.

Na medicina veterinária pouco se tem estudado sobre a diferença entre a sepse ocasionada por bactérias Gram positivas e Gram negativas e o papel da multirresistência bacteriana no prognóstico do paciente veterinário (OTTO, 2007).

1.7 SÍNDROME DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA SISTÊMICA NA PIOMETRA (SIRS)

A SIRS é uma manifestação clínica do organismo em resposta à um estímulo inicial, capaz de produzir a liberação sistêmica de mediadores inflamatórios. A sepse, é uma doença clínica manifestada pela SIRS de origem inflamatória infecciosa (PURVIS; KIRBY, 1994). Já o choque séptico, é observado quando há colapso circulatório sobreposto à sepse (HAUPTMAN et al. 1997).

O reconhecimento precoce da SIRS ou da sepse na medicina humana e veterinária é importante para que o tratamento adequado e a monitoração desses pacientes sejam iniciados (GEBHARDT, et al. 2009). Pois, pacientes em estado crítico com SIRS são mais propensos a desenvolverem a síndrome de disfunção múltiplas de órgãos (MODS), até mesmo os pacientes levemente acometidos e com SIRS podem sofrer MODS se um mínimo estímulo secundário acontecer (FRANSSON, 2003). Entretanto, não há consenso entre médicos veterinário sobre os critérios de inclusão para o diagnóstico de SIRS (OTTO, 2007).

A sepse pode ser facilmente diagnosticada em alguns pacientes com sinais específicos como mucosas pálidas, febre, leucocitose e foco de exsudato inflamatório purulento, porém, em casos mais sutis ou de forma precoce o diagnóstico de sepse torna-se mais complexo (HAUPTMAN et al. 1997).

Recentemente, os critério para o diagnóstico de SIRS na medicina veterinária estão sendo propostos de forma à antecipar o agravamento desta síndrome, e novos critérios como marcadores inflamatórios e proteínas de fase aguda estão sendo pesquisados (HAUPTMAN et al. 1997; FRANSSON, et al. 2007; DABROWSKI, et al. 2009; HAGMAN, 2011).

Os critérios de inclusão comumente usados para o diagnóstico de SIRS em cães são: temperatura retal (TR), frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR) e contagem de leucócitos totais ou porcentagem de neutrófilos bastonetes (PURVIS & KIRBY, 1994; HAUPTMAN et al. 1997) (Tabela 1).

Tabela 1 –Sensibilidade e Especificidade para o uso de 2 ou mais dos 4 critérios para diagnóstico da SIRS em cães estudados por Hauptman et al. (1997).

<i>Critérios</i>	<i>Limites</i>	<i>Sensibilidade</i>	<i>Especificidade</i>
T (°C)	< 38,1; > 39,2		
FC (bpm)	> 120		
FR (mpm)	> 20	97%	64%
Leucócitos (x10 ³)	< 6, > 16		
ou	ou		
Bastonetes (%)	> 3		

T (temperatura corpórea), FC (frequência cardíaca), FR (frequência respiratória).

Alguns estudos relacionaram a presença de sepse/SIRS com mortalidade em pacientes veterinários. Entretanto, é evidente que afecções que apresentem altas frequências de óbito, como é o caso da peritonite (60%), diferem da piometra canina que possui taxas de mortalidade mais baixas (6%). Em doenças como a piometra é possível relacionar marcadores prognósticos com a morbidade, ou seja, períodos prolongados de hospitalização (OTTO, 2007).

Fransson et al. (2007) estudaram pacientes com piometra (n = 53) e 57% foram positivos para SIRS, destes 23% necessitaram de prolongado período de internamento (> 3 dias), concluindo que a presença de SIRS está significativamente associada à morbidade em casos de piometra canina.

Outros estudos que avaliaram a frequência de SIRS em cadelas com piometra, encontraram 60 a 80% de casos positivos para SIRS. Entretanto, não encontraram associação significativa com a presença de SIRS e a morbidade e mortalidade em cadelas com piometra. E concluíram que eram necessários mais estudos para identificar marcadores prognósticos na piometra canina e outros estudos com pacientes em diferentes graus de comprometimento sistêmico, pois na maioria deles a porcentagem de cadelas que necessitaram de internamento prolongado (4/46 - 11/26) ou vieram a óbito limitaram a avaliação (PELANDER et al. 2008; HAGMAN et al. 2009; HAGMAN, 2011).

A identificação de biomarcadores de sepse que possibilitem o acompanhamento da resposta ao tratamento são essenciais para se estabelecer uma classificação clínica de severidade da doença. Segundo Otto (2007), parâmetros físicos e bioquímicos de rotina não são fidedignos para o acompanhamento da resposta ao tratamento de pacientes com sepse. Até mesmo os *scores* para classificação de SIRS atualmente usados e

descritos por Hauptam et al. (2007) possuem baixa especificidade (64%) resultando em altos números de resultados falsos positivos.

1.8 MARCADORES DE SEPSE/SIRS NA PIOMETRA

A pesquisa de biomarcadores pode fornecer informações cruciais e colaborar com novas estratégias e alvos terapêuticos para pacientes portadores de sepse (OTTO, 2007). Na piometra canina, os principais biomarcadores de sepse/SIRS com possível contribuição na avaliação prognóstica que estão sendo estudados recentemente são a proteína C reativa (PCR), fator de necrose tumoral - α (FNT- α), interleucina-6 (IL-6), amilóide A sérica (AA), lactato sanguíneo e glicoproteína ácida α -1 (FRANSSON et al. 2007; DABROWSKI et al. 2009; HAGMAN, et al. 2009; HAGMAN, 2011).

1.8.1 Proteínas de Fase Aguda como Marcadores de Sepse/Sirs e Possíveis Avaliadores Prognósticos na Piometra Canina

As proteínas de fase aguda (PFAs) são proteínas sanguíneas que podem ser usadas para avaliar a resposta sistêmica do sistema imunológico natural frente à infecção, inflamação ou traumas (MURATA et al. 2004).

Por definição, as concentrações das PFAs se elevam rapidamente em resposta as citocinas inflamatórias que foram estimuladas durante o processo inicial da doença. Como são biomarcadores quantitativos as PFAs podem ser usadas no diagnóstico, prognóstico e na monitoração da resposta terapêutica (ECKERSALL; BELL, 2010).

Em cães a proteína C reativa (PCR) é a principal proteína de fase aguda (PFA) pois possuem baixas concentrações em animais saudáveis, aumentam drasticamente logo após o estímulo em diversas doenças infecciosas (babesiose, leptospirose, parvovirose e endotoxemia por *E. coli*) e diminuem rapidamente durante a fase de recuperação (CERON et al. 2005).

A PCR é sintetizada principalmente no fígado como parte da resposta de fase aguda após estimulação de hepatócitos por citocinas pró-inflamatórias (IL-6, interleucina-1 e FNT- α), e como outras PFAs, indicam a presença de infecção ou inflamação, mas não indicam a causa predisponente (HOLM et al. 2004).

Gebhardt et al. (2009) estudaram a mensuração seriada da PCR em pacientes caninos com SIRS séptica (n = 48), SIRS não séptica (n = 13) e em casos controle

(n = 15). As concentrações séricas da PCR foram significativamente maiores nos casos com SIRS quando comparados com o grupo controle. Entretanto, não encontraram diferença significativa entre os casos de SIRS séptica e não séptica e também entre pacientes que sobreviveram e que vieram a óbito. Porém, o decréscimo nas concentrações da PCR foi associada com a sobrevivência.

Fransson et al. (2007) estudaram a elevação plasmática da PCR, IL-6 e FNT- α em cadelas com piometra tratadas cirurgicamente (n = 53), classificadas como positiva (n = 30) ou negativas (n = 23) para SIRS e em casos controles (n = 19). E concluíram que mesmo possuindo grande variação individual a PCR foi o único parâmetro significativamente relacionado com a presença de SIRS. Além disso, a presença de SIRS, a elevação da PCR e a elevação da temperatura corpórea foram associadas com a morbidade (período de hospitalização maior que dois dias) nos casos estudados. As concentrações plasmáticas da IL-6 não foram diferentes entre os casos de piometra e os casos controle. Apesar das concentrações plasmáticas do FNT- α diferirem estatisticamente entre os casos de piometra e casos controle, esse marcador não foi eficiente em diferenciar os casos positivos e negativos para SIRS.

Dabrowski et al. (2009) avaliaram o uso de mensurações seriadas de PCR, amiloide A sérica (AA) e haptoglobina em cadelas portadoras de piometra, tratadas cirurgicamente e escolhidas de maneira randomizada (n = 20) com o intuito de identificar precocemente complicações pós-operatórias na ferida cirúrgica. A determinação seriada da PCR, do AA e da haptoglobina mostraram ser marcadores úteis na detecção precoce de complicações pós-operatórias. Entretanto, não houve diferença significativa nas concentrações de haptoglobina entre os grupos até o sétimo dia de observação. Enquanto que as concentrações da PCR e AA aumentaram significativamente entre os grupos a partir do terceiro dia de pós-operatório.

Hagman (2011) avaliou a concentração da glicoproteína ácida $\alpha - 1$ (GPA) em 26 cadelas com piometra e 18 casos controle, com o objetivo de identificar o aumento dessa proteína em casos de piometra, e como possível marcador prognóstico nesta afecção. As concentrações da GPA foram significativamente maiores nos casos de piometra que no grupo controle, sendo que mensurações acima das observadas no grupo controle foram associadas com períodos de hospitalização prolongados. Entretanto, as concentrações da GPA não diferiram entre os casos positivos e negativos para SIRS.

Pelander et al. (2008) estudaram a mensuração da troponina cardíaca I, um sensível marcador de dano celular no miocárdio, em 46 cadelas com piometra e classificadas

para a presença de SIRS. Embora as concentrações de troponina se mostrassem elevadas em 28% das cadelas no período pré-operatório e 39% no pós-operatório, a sua elevação não mostrou ser um marcador sensível para SIRS ou morbidade nos casos estudados.

1.8.2 Lactato como Possível Marcador Prognóstico na Piometra

O lactato é normalmente produzido pelas células por meio da glicólise anaeróbia, ou seja, na falta de oxigênio, como na contração muscular ou na ausência da mitocôndria como ocorre nos eritrócitos (GOFF, 2006).

A glicólise é a sequência de reações pelas quais a glicose é lisada e convertida em piruvato pelas enzimas no citossol de todas as células de um animal. O piruvato pode seguir diferentes vias para seu catabolismo, conforme a disponibilidade de oxigênio (GOFF, 2006).

Durante a glicólise aeróbica são formadas 38 moléculas de adenosina trifosfato (ATP) durante os processos de fosforilação inicial, ciclo do ácido cítrico, fosforilação oxidativa, desidrogenase e processo quimiosmótico na mitocôndria (HALL; GUYTON; 2011).

Durante períodos de hipoxia, os tecidos são forçados a usar a glicólise anaeróbica com a finalidade de produzir energia. Essa via é menos eficiente por produzir pequenas quantidades de energia, mas é útil porque ocorre rapidamente durante a falta de oxigênio (GOFF, 2006).

Os dois produtos finais das reações glicolíticas são o ácido pirúvico e átomos de hidrogênio acoplados à dinucleotídeo adenina nicotinamida oxidada (NAD⁺) para formar dinucleotídeo adenina nicotinamida reduzida (NADH) e hidrogênio. Quando suas quantidades se tornam excessivas, esses dois produtos finais reagem entre si para formar o lactato (HALL; GUYTON, 2011). Em casos em que níveis de lactato intracelular aumentados, o lactato atravessa a membrana celular em direção a corrente sanguínea (POOLE; HALESTRAP, 1993). Caso ocorra o retorno da oxigenação tecidual, o lactato é rapidamente reconvertido em ácido pirúvico, NADH e hidrogênio para nova conversão em glicose e produção de energia na forma de ATP (GOFF, 2006).

A hipóxia tecidual, de maneira geral, aumenta os níveis de lactato por aumentar a glicólise anaeróbia, para manter a produção energética celular mais próxima do normal, dependendo da duração e da gravidade dessa hipóxia, pode ocorrer hiperlactatemia e possivelmente acidose láctica (LAGUTCHIK et al. 1996; SILVA et al. 2001).

Sepse é uma condição que pode elevar os níveis de lactato por motivos não bem definidos. Acredita-se que o resultado da combinação de fatores como diminuição da oxigenação tecidual, hipermetabolismo durante processos inflamatórios e alterações no sistema enzimático da glicólise, sejam os responsáveis (GUTIERREZ; WULF, 1996).

De acordo com vários autores, a dosagem de lactato sérico pode ser utilizada como valor prognóstico, diagnóstico e na avaliação da resposta ao tratamento em pacientes gravemente doentes; nos casos em que há aumento desse substrato, menores são as chances de sobrevivência (NEL et al. 2004; KOLISKI et al. 2005; RABELO et al. 2009).

Koliski et al. (2005) avaliaram a presença de hiperlactatemia em crianças gravemente doentes como marcador de hipoperfusão tecidual e como índice prognóstico (n = 75) de maneira prospectiva e observacional. Observaram diferença estatística na média do lactato na admissão dos pacientes entre os que foram a óbito nas primeiras 24h de hospitalização e aqueles que evoluíram a óbito após 24h de admissão. Entretanto, a mensuração do lactato após 24h da admissão foi o que apresentou melhor sensibilidade e especificidade como parâmetro preditor de óbito.

Lagutchik et al. (1998) estudaram o lactato sanguíneo em 109 cães atendidos na unidade de terapia intensiva (UTI) e em 20 cães clinicamente saudáveis. Os resultados mostraram diferença significativa entre os grupos, já que, as concentrações de lactato foram maiores nos cães que não sobreviveram quando comparado ao grupo controle e aos cães que sobreviveram. Portanto, a presença de hiperlactatemia mesmo sem acidose pode ser um sinal de hipoperfusão e indicação de tratamento precoce com a finalidade de minimizar a isquemia em órgãos vitais, e evitar o choque circulatório potencialmente irreversível.

Stevenson et al. (2007) avaliaram a mensuração do lactato seriada (0 e 6h da admissão) em 80 pacientes caninos que necessitaram de internamento e fluidoterapia. As principais conclusões foram que, cães com hiperlactatemia persistente após 6h de internamento e tratamento suporte tinham 16 vezes mais chance de óbito.

Holahan et al. (2010) com o objetivo de associar os níveis de lactato sanguíneos em cães com anemia hemolítica autoimune (AHAI) com a sobrevida e resposta à transfusão sanguínea estudaram 173 casos da doença. Encontraram que os níveis de lactato na admissão foram significativamente maiores nos casos em que os pacientes vieram a óbito em comparação com os sobreviventes. Entretanto, todos os casos que a hiperlactatemia foi normalizada após 6h de tratamento sobreviveram.

Hagman et al. (2009) estudaram os níveis de lactato sanguíneo em 31 cadelas com piometra e 16 cadelas sadias e não encontraram diferença entre os grupos. Também não associaram a hiperlactatemia (1/31) com a presença de SIRS (19/31) ou com a necessidade de períodos prolongados de internamento (11/31) em cadelas com piometra tratadas cirurgicamente.

1.9 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A piometra canina é uma doença prevalente no mundo, principalmente em países onde a castração pré-púbere não é prática. Entretanto, mesmo se tratando da mesma doença muitas divergências são encontradas entre estudos nacionais e internacionais, isso provavelmente pelas diferenças culturais por parte dos proprietários de animais de companhia e características individuais de cada população estudada. Nesta breve revisão, evidenciou-se diferenças entre estudos na prevalência etiológica da piometra e na frequência de multirresistência bacteriana encontrada. Também ficou clara a falta de estudos interdisciplinares que correlacionem os achados microbiológicos, clínicos e laboratoriais envolvidos na piometra canina com a evolução clínica dos casos e principalmente a necessidade de novos biomarcadores de sepse/SIRS que possam ser utilizados na monitoração da resposta do paciente ao tratamento. Frente a isso, foi proposto um estudo para correlacionar achados clínicos, parâmetros laboratoriais e achados microbiológicos com o prognósticos da piometra canina e avaliar o uso da dosagem sanguínea do lactato como possível marcador prognóstico desta afecção.

1.10 REFERÊNCIAS

- ALLEN, W. E. **Fertilidade e Obstetrícia no cão**. São Paulo: Valera, 1995, p. 1-17.
- ARTHUR, M.; JOHNSON, C.; RUBIN, R. H.; ARBEIT, R. D.; CAMPANELLI, C.; KIN, C.; STEINBACH, S.; AGARWAL, M.; WILKINSON, R.; GOLDSTEIN, R. Molecular epidemiology of adhesion and hemolysin virulence factors among uropathogenic *Escherichia coli*. **Infection and Immunity**, v. 57, p. 303-313, 1989.
- BARSANTI, J. A. Genitourinary Infections. In: GREENE, C. E. **Infectious Diseases of the Dog and Cat**. 3 ed. Saint Louis: Saunders, 2006, p. 935-961.
- CERON, J. J.; ECKERSALL, P. D.; MATINEZ-SUBIELA, S. Acute phase proteins in dogs and cats; current knowledge and future perspectives. **Veterinary Clinical Pathology**, v.34, p. 85-99, 2005.

CHEN, Y. M. M.; WRIGHT, P. J.; LEE, C.; BROWNING, G. F. Uropathogenic virulence factors in isolates of *Escherichia coli* from clinical cases of canine pyometra and feces of healthy bitches. **Veterinary Microbiology**, v.94, p. 57-69, 2003.

CLARKE, C. R. Antimicrobial resistance. **Veterinary clinics Small Animal Practice**, v.36, p. 987-1001, 2006.

COGGAN, J. A. **Estudo microbiológico de conteúdo intra-uterino e histopatológico de útero de cadelas com piometra e pesquisa de fatores de virulência em cepas de *E. coli* e o potencial risco à saúde humana**. 2005. 156 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

CORRADA, Y.; ARIAS, D.; RODRÍGUEZ, R.; TORTORA, M.; GOBELLO, C. Combination dopamine agonist and prostaglandin agonist treatment of cystic endometrial hyperplasia-pyometra complex in the bitch. **Theriogenology**, v. 66, p. 1557-1559, 2006.

COX, H. U. Staphylococcal infections. In: GREENE, C. E. **Infectious diseases of the dog and cat**. 3 ed. Saint Louis: Saunders, 2006. p. 316-320.

DABROWSKI, R.; KOSTRO, K.; LISIECKA, U.; SZCZUBIAL, M.; KRAKOWSKI, L.; Usefulness of C-reactive protein, serum amyloid A component, and haptoglobin determinations in bitches with pyometra for monitoring early post-ovariohysterectomy complications. **Theriogenology**, v.72, p. 471-476, 2009.

DE BOSSCHERE, H.; DUCATELLE, R.; TSHAMALA, M. Is mechanically induced cystic endometrial hyperplasia (CEH) a suitable model for study of spontaneously occurring CEH in the uterus of the bitch? **Reproduction in Domestic Animal**, v.37, p. 152-157, 2002.

ECKERSALL, P. D.; BELL, R. Acute phase proteins: Biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine. **The Veterinary Journal**, v.185, p. 23-27, 2010.

ELLENPORT, C. R. Aparelho urogenital do carnívoro. In: GETTY, R. **Sisson/Grossman: Anatomia dos Animais Domésticos**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Googan, 1986, p. 1489-1493.

EMANUELLI, M. P.; MARTINS, D. B.; WOLKMAER, P.; ANTONIAZZI, A. Q.; EMANUELLI, T.; VARGAS, A. C.; LOPES, S. T. A. Complete blood count, total plasma protein, neutrophil oxidative metabolism, and lipid peroxidation in female dogs with pyometra associated with *Escherichia coli*. **Comp Clin Pathol**, 2010.

FELDMAN, E. C. O complexo hiperplasia endometrial cística/piometra e infertilidade em cadelas In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária**. 5ª ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004, p. 1632-1649.

FELDMAN, E. C.; NELSON, R. W. **Canine e Feline Endocrinology and Reproduction**, 2. ed. Philadelphia: Saunders, 1996, p. 547 – 571.

FIENI, F. Patologia de los ovários y el útero in: WANKE, M. M.; GOBELLO, C. **Reproduccion en Caninos y Felinos Domésticos**. 1ª ed., Buenos Aires: Ed. Inter-Médica, 2006, p. 75-89.

FRANSSON, B. A.; LAGERSTEDT, A.; BERGSTROM, A.; HAGMAN, R.; PARK, J. S.; CHEW, B. P.; EVANS, M. A.; RAGLE, C. A.; C-reactive protein, tumor necrosis factor α , and interleukin-6 in dogs with pyometra and SIRS. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v.17, n.4, p. 373-381, 2007.

FRANSSON, B. **Systemic Inflammatory Response in Canine Pyometra: The Response to Bacterial Uterine Infection**. 2003. Doctoral Thesis (Veterinaria) Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, 2003.

GEBHARDT, C.; HIRSCHBERGER, J.; RAU, S.; ARNDT, G.; KRAINER, K.; SCHWEIGERT, F. J.; BRUNNBERG, L.; KASPERS, B.; KOHN, B. Use of C-reactive protein to predict outcome in dogs with systemic inflammatory response syndrome or sepsis. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v.19, n.5, p. 450-458, 2009.

GOBELLO, C. Dopamine agonists, anti-progestins, anti-androgens, long-term-release GnRH agonists and anti-estrogens in canine reproduction: A Review. **Theriogenology**, v.66, p. 1560-1567, 2006.

GOFF, J. P. Digestão, absorção e metabolismo. In: REECE, W. O. **Dukes Fisiologia dos Animais Domésticos**. 12 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006, 462p.

GREENE, C. E. Environmental factors in infectious disease. In: GREENE, C. E. **Infectious diseases of the dog and cat**. 3 ed. Saint Louis: Saunders, 2006. p. 991-1008.

GREENE, C. E.; PRESCOTT, J. F. Streptococcal and other Gram-positive bacterial infections. In: GREENE, C. E. **Infectious diseases of the dog and cat**. 3 ed. Saint Louis: Saunders, 2006. p. 302-315.

GROOTERS, A. M. Diseases of the ovaries and uterus. In: BIRCHARD, S. J.; SHERDING, R. G. **Saunders manual of small animal practice**. Saunders 1994, p. 1467.

GUARDABASSI, L.; SCHWARZ, S.; LLOYD, D. H.; Pet animals as reservoirs of antimicrobial-resistant bacteria. **Journal of antimicrobial chemotherapy**, v.54, p. 321-332, 2004.

GUTIERREZ, G.; WULF, M. E. Lactic acidosis in sepsis: a commentary. **Journal of Intensive Care Medicine**, v.22, p. 6-16, 1996.

HAGMAN, R. **New Aspects of Canine Pyometra: Studies on Epidemiology and Pathogenesis**. 2004. Doctoral Thesis (Veterinaria) Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, 2004.

HAGMAN, R. Serum α -1-acid glycoprotein concentrations in 26 dogs with pyometra. **Veterinary Clinical Pathology**, v.40, n.1, p. 52-59, 2011.

HAGMAN, R.; GREKO, C. Antimicrobial resistance in Escherichia coli isolated from bitches with pyometra and from urine samples from other dogs. **Veterinary Record**. v. 157, p. 193-196, 2005.

HAGMAN, R.; KINDAHL, H.; FRANSSON, B. A.; BERGSTROM, A.; HOLST, B. S.; LAGERSTEDT, A. S. Differentiation between pyometra and cystic endometrial

hyperplasia/mucometra in bitch by prostaglandin F_{2α} metabolite analysis. **Theriogenology**, v.66, p. 198-206, 2006.

HAGMAN, R.; KUHN, I. *Escherichia coli* strain isolated from the uterus and urinary bladder of bitches suffering from pyometra: comparison by restriction enzyme digestion and pulsed-field gel electrophoresis. **Veterinary microbiology**, v.84, p. 143-153, 2002.

HAGMAN, R.; REEZIGT, B. J.; LEDIN, H. B.; KARLSTAM, E. Blood lactate levels in 31 female dogs with pyometra. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.51, n.2, 2009.

HALL, J. E.; GUYTON, A. C. Metabolismo dos carboidratos e formação do trifosfato de adenosina. In: HALL, J. E.; GUYTON, A. C. **Guyton & Hall Tratado de Fisiologia Médica**. 12 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011, 851p.

HAUPTMAN, J.V.; WALSHAW, R.; OLIVIER, N.B. Evaluation of the sensitivity and specificity of diagnostic criteria for sepsis in dogs. **Veterinary Surgery**, v.26, p.393-397, 1997.

HEDLUND, C. S. Cirurgia dos Sistemas Reprodutivo e Genital. In: FOSSUM, T. W. **Cirurgia de Pequenos Animais**, 2 ed., São Paulo: Roca, 2005. p. 610-672.

HEIENE, R.; KRISTIENSEN, V.; TEIGE, J.; JANSEN, J. H. Renal histomorphology in dogs with pyometra and control dogs, and long term clinical outcome with respect to signs of kidney disease. **Acta veterinaria Scandinavica**, v.49, n.13, 2007.

HIRSCH, D. C.; ZEE, Y. C. **Microbiologia Veterinária**. 2 ed. Guanabara Koogan, 2003, 446p.

HOLAHAN, M. L.; BROWN, A. J.; DROBATZ, K. J. The association of blood lactate concentration with outcome in dogs with idiopathic immune-mediated hemolytic anemia: 173 cases (2003-2006). **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v.20, n.4, p. 413-420, 2010.

HOLM, J. L.; ROZANSKI, E. A.; FREEMAN, L. M.; WEBSTER, C. R. L. C-reactive protein concentrations in canine acute pancreatitis. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v.14, n.3, p. 183-186, 2004.

JANSSENS, L. A.; JANSSENS, G. H. Bilateral flank ovariectomy in the dog – surgical technique and sequelae in 72 animals. **Journal Small Animal Practice**, v.32, p. 249-252, 1991.

JAWETZ, E.; MELNICK, J. L.; ADELBERG, E. A. **Microbiologia Médica**. 15 ed. Guanabara koogan, 1982, 568p.

JOHNSON, C. A. Distúrbios do sistema reprodutivo In: NELSON, R. W.; COUTO, C. G. **Medicina Interna de Pequenos Animais**. 3 ed, Rio de Janeiro: Elsevier, 2006. p. 840-844.

JOHNSON, J. R.; BROWN, J. J.; CARLINO, U. B.; RUSSO, T. A. Colonization with and acquisition of uropathogenic *Escherichia coli* as revealed by polymerase chain reaction-based detection. **Journal Infection Disease**, v.177, p. 1120-1124, 1998.

JOHNSTON, S.D.; KUSTRITZ, M.V.R.; OLSON, P.N.S. **Canine and feline theriogenology**. Philadelphia : Saunders, 2001. p.19-104.

KOLISKI, A.; CAT, I.; GIRALDI, D. J.; CAT, M. L. Lactato sérico como marcador prognóstico em crianças gravemente doentes. **Jornal de Pediatria**, v.81, n.4, p.287-292, 2005.

KRUTH, S. A. Gram-negative bacterial infections. In: GREENE, C. E. **Infectious diseases of the dog and cat**. 3 ed. Saint Louis: Saunders, 2006. p. 320-330.

KUPLULU, S.; VURAL, M. R.; DEMIREL, A.; POLAT, M.; AKÇAY, A. The comparative evaluation of serum biochemical, hematological, bacteriological and clinical findings of dead and recovered bitch with pyometra in the postoperative process. **Acta Veterinaria (Beograd)**, v.59, n.2-3, p.193-204, 2009.

LAGUTCHIK, M. S.; OGILVIE, G. K.; WINGFIELD, W. E.; HACKETT, T. B. Lactate kinetics in veterinary critical care: A review. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v.6, n.2, p.81-95, 1996.

LAGUTCHIK, M. S.; OGILVIE, G. K.; HACKETT, T. B.; WINGFIELD, W. E. Increased lactate concentrations in III and injured dogs. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v.8, n.2, p.117-127, 1998.

LANCEFIELD, R. C. A serological differentiation oh human and other groups of hemolytic streptococci. **The Journal of Experimental Medicine**, v.59, p.571-591, 1933.

LARA, V.M.; DONADELI, M.P.; CRUZ, F.S.F.; CARREGARO, A.B. Multirresistência antimicrobiana em cepas de *Escherichia coli* isoladas de cadelas com piometra. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.4, p.1032-1034, 2008.

LILENBAUM, W.; SOUZA, G. N.; BLUM, E.; VERAS, M. Antimicrobial susceptibility os staphylococci isolated from otitis externa in dogs. **Letters in Applied Microbiology**, v.31, p. 42-45, 2000.

MURATA, H.; SHIMADA, N.; YOSHIOKA, M. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. **The Veterinary Journal**, v.168, p. 28-40, 2004.

MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; KOBAYASHI, G. S.; PFALLER, M. A. **Medical Microbiology**. 3 ed. Mosby, 1998, 719p.

NEL, M.; LOBETTI, R. G.; KELLER, N.; THOMPSON, P. N. Prognostic value of blood lactate, blood glucose, and hematocrit in canine babesiosis. **Journal Veteterinary Internal Medicine**, v.18, p.471-476, 2004.

NISKANEN, M.; THRUSFIELD, M. V. Associations between age, parity, hormonal therapy and breed, and pyometra in Finnish dogs. **Veterinary Record**, v.43, p. 493-498, 1998.

OLIVEIRA, C. A.; DE MARTIN, C. M.; SILVA, A. S.; OLIVEIRA, C. M.; GIORGI, W.; DE MARTIN, B. W.; Prevalência de agentes microbianos envolvidos na piometra canina. **Comunicações Científicas da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, v.12, n.2, p. 184, 1988.

OTTO, C. M. Sepsis in veterinary patients: what do we know and where can we go?. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v.17, n.4, p.329-332, 2007.

PELANDER, L.; HAGMAN, R.; HAGGSTROM, J. Concentrations of cardiac troponin I before and after ovariohysterectomy in 46 female dogs with pyometra. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.50, n.35, 2008.

POOLE, R. C.; HALESTRAP, A. P.; Transport of lactate and other monocarboxylates across mammalian plasma membranes. **American Journal of Physiology**, v.264, p. 761-782, 1993.

PRETZER, S. D. Clinical presentation of canine pyometra and mucometra: A review. **Theriogenology**, v.70, p. 359-363, 2008.

PURVIS, D.; KIRBY, R. Systemic inflammatory response syndrome: Septic. **Veterinary Clinics of North America: Small animal Practice**, v.24, p. 1225-1247, 1994.

QUINN, P. J.; MARKEY, B.; CARTER, M. E.; DONNELLY, W. J.; LEONARD, F. C. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Porto Alegre. Ed. Artmed, 2005. p.115-130.

RABELO, R. C.; ARNOLD, C. F.; ALSUA S. C. RICO Score - Classificação rápida de sobrevivência em cuidados intensivos. Variáveis inter-relacionadas em cães. **Revista Clínica Veterinária**, n.78, p.28-38, 2009.

SCHWARZ, S.; SILLEY, P.; SIMJEE, S.; WOODFORD, N.; DUIJKEREN, E.; JOHNSON, A. P.; GAASTRA, W. Editorial: Assessing the antimicrobial susceptibility of bacteria obtained from animals. **Journal of antimicrobial chemotherapy**, v.65, p. 601-604, 2010.

SILVA, E.; GARRIDO, A. G.; ASSUNÇÃO, M. S. C. Avaliação da perfusão tecidual no choque. **Medicina**, v.34, p.27-35, 2001.

SIQUEIRA, A. K.; RIBEIRO, M. G.; SALERNO, T.; TAKAHIRA, R. K.; LOPES, M. D.; PRESTES, N. C.; SILVA, A. V. Perfil de sensibilidade e multirresistência em linhagens de *Escherichia coli* isoladas de infecção do trato urinário, de piometra e de fezes de cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, n.5, p. 1263-1266, 2008.

STEVENSON, C. K.; KIDNEY, B. A.; DUKE, T.; SNEAD, E. C. R.; MAINAR-JAIME, R. C.; JACKSON, M. L. Serial blood lactate concentrations in systemically ill dogs. **Veterinary Clinical Pathology**, v.36, n.3, p. 234-239, 2007.

VERSTEGEN, J.; DHALIWAL G.; VERSTEGEN-ONCLIN, K. Mucometra, cystic endometrial hyperplasia, and pyometra in the bitch: Advances in treatment and assessment of future reproductive success. **Theriogenology**, v. 70, p. 361-371, 2008.

WEISS, R. R.; CALOMENO, M. A.; SOUSA, R. S.; BRIERSDORF, S. M.; CALOMENO, R. A.; MURADÁS, P. Avaliação Histológica, Hormonal e Bacteriológica da Piometra na cadela. **Archives of Veterinary Science**, v.9, n.2, p. 81-87, 2004.

ZARAGOZA, C.; BARRERA, R.; CENTERO, F.; TAPIA, J. A.; MANE, M. C. Canine pyometra: a study of the urinary proteins by SDS-PAGE and Western blot. **Theriogenology**, v. 61, p. 1259-1272, 2004.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar parâmetros clínicos e laboratoriais que possam prever o prognóstico da piometra canina.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar se as alterações hematológicas e bioquímicas séricas, a multirresistência e a SIRS interferem no prognóstico de cadelas com piometra.
- Correlacionar os valores de lactato com a evolução clínica de cadelas com piometra.
- Determinar a prevalência de cepas multirresistentes nos casos de piometra.

3 ARTIGO PARA PUBLICAÇÃO

3.1 MARCADORES PROGNÓSTICOS DA PIOMETRA CANINA

* Artigo editado de acordo com as normas de publicação do periódico *Reproduction in Domestic Animals*, disponível em: <<http://www.wiley.com/bw/submit.asp?ref=0936-6768&site=1>>

3.2 RESUMO: A piometra é uma doença que acomete as fêmeas da espécie canina de meia idade a idosa durante o diestro. Aspectos hormonais, microbiológicos, hematológicos e bioquímicos são bem descritos. Entretanto, são poucos os estudos interdisciplinares que avaliam o papel de cada um desses componentes no prognóstico da piometra canina. O objetivo desse estudo foi identificar marcadores associados ao agravamento clínico de cadelas com piometra. Foram avaliadas prospectivamente 80 cadelas com piometra tratadas cirurgicamente. O Grupo 1 foi composto por cadelas que receberam alta até 48 horas de pós-operatório e o Grupo 2 por aquelas que necessitaram de internamento prolongado ou morreram. As variáveis hematológicas, bioquímicas e os níveis do lactato sanguíneo, foram comparados entre os grupos e variáveis como, multirresistência bacteriana, síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SIRS), hiperlactatemia e aumento da creatinina foram analisadas por meio da dispersão de frequências entre os grupos. Das variáveis estudadas a presença de SIRS e o aumento da creatinina >2,5 mg/dl foram significativamente associadas aos casos que necessitaram de internamento prolongado ou morreram. Dentre as variáveis hematológicas e bioquímicas, as mensurações de uréia e creatinina foram significativamente maiores no G2 em relação ao G1. Enquanto que, as mensurações sanguíneas do lactato, a hiperlactatemia > 2,5 mmol/l e a presença de multirresistência bacteriana não diferiram entre os grupos. Como conclusão, a presença de SIRS e a elevação nos níveis de uréia e creatinina foram os parâmetros associados com a morbidade e mortalidade em cadelas portadoras de piometra tratadas cirurgicamente.

Palavras-chave: Hiperplasia endometrial. SIRS. Multirresistência bacteriana. Hiperlactatemia

3.3 INTRODUÇÃO

A piometra é uma doença que ocorre normalmente no diestro de fêmeas adultas e intactas, caracterizada por exsudato uterino inflamatório e colonização bacteriana associada à hiperplasia endometrial cística (HEC) (JOHNSTON et al, 2001).

A resistência bacteriana aos antibióticos é um problema complexo envolvendo várias espécies de bactérias, mecanismos de resistência, transferência e reservatórios microbianos de cepas resistentes (GUARDABASSI et al, 2004). É sabido que a resistência antimicrobiana a certos antibióticos aumenta conforme sua frequência e uso (GREENE, 2006).

São vários os estudos que mapeiam o perfil de sensibilidade bacteriana na piometra canina, e os resultados são bem variados, principalmente entre estudos brasileiros, que identificam alto índice de resistência bacteriana, e estudos do hemisfério norte com baixos índices (HAGMAN, 2004; WEISS et al. 2004; COGGAN, 2005). Entretanto, são escassos os estudos na medicina veterinária que avaliam o papel da multirresistência bacteriana no prognóstico da sepse canina (OTTO, 2007).

A síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SIRS) é uma manifestação clínica do organismo em resposta à um estímulo inicial, severo o bastante, capaz de produzir a liberação sistêmica de mediadores inflamatórios. A sepse, é uma doença clínica manifestada pela SIRS de origem inflamatória infecciosa (PURVIS e KIRBY, 1994). Já o choque séptico, é observado quando há colapso circulatório sobreposto à sepse (HAUPTMAN et al, 1997).

O reconhecimento precoce da SIRS ou da sepse na medicina humana e veterinária é importante para que o tratamento adequado e a monitoração desses pacientes sejam iniciados (GEBHARDT et al, 2009). Sabe-se que pacientes em estado crítico com SIRS são mais propensos a desenvolverem a síndrome de disfunção múltipla de órgãos (MODS), embora aqueles levemente afetados e com SIRS podem sofrer MODS, se um mínimo estímulo secundário vier acontecer (FRANSSON, 2003).

A sepse é uma condição que pode elevar os níveis de lactato sanguíneos por motivos não bem definidos. Acredita-se que o resultado da combinação de fatores como diminuição da oxigenação tecidual, hipermetabolismo durante processos inflamatórios e alterações no sistema enzimático da glicólise sejam os responsáveis (GUTIERREZ e WULF, 1996).

De acordo com vários autores, a dosagem de lactato sérico pode ser utilizada como critério prognóstico, diagnóstico e na avaliação da resposta ao tratamento em pacientes gravemente doentes, diminuindo as chances de sobrevida nos casos em que há aumento desse substrato (NEL et al, 2004; KOLISKI et al, 2005; RABELO et al, 2009).

Assim sendo, o objetivo desse estudo foi identificar se a presença de SIRS, multirresistência bacteriana, alterações hematológicas e bioquímicas, estatus de cérvix e hiperlactatemia podem ser usados como marcadores prognósticos em cadelas com piometra.

3.4 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi aprovado pelo comite de ética e experimentação animal da Universidade Estadual de Londrina (UEL) e todos os proprietário foram consultados e informados de todos os procedimentos a serem realizados.

3.4.1 Animais

Foram estudadas 80 cadelas portadoras de piometra de 17 raças diferentes, diagnosticadas entre maio de 2010 e agosto de 2011 e acompanhadas durante o período de internamento no Hospital Veterinário (HV) da Universidade Estadual de Londrina (UEL). O tratamento para todos os animais do estudo foi o cirúrgico por meio de ovariectomia (OSH) e complementado com antibioticoterapia e fluidoterapia de acordo com a necessidade de cada paciente. A decisão sobre tratamento foi realizado pelo setor de emergências do HV - UEL, sem qualquer interferência do grupo participante do estudo na escolha do antibiótico e/ou tempo de internamento.

O diagnóstico inicial foi baseado no histórico, exame físico, exame hematólogo e de imagem (Rx e/ou Ultrassonografia) e confirmado por meio da observação direta do útero e do conteúdo intrauterino durante a OSH. Exame clínico completo foi realizado na admissão do paciente e os seguintes dados foram coletados: frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR) e temperatura retal (T°C).

Os animais foram alocados em dois grupos de acordo com a evolução clínica do caso, em que pacientes que receberam alta hospitalar em até 48 horas de pós-operatório foram alocados no Grupo 1 (G1) e pacientes que necessitaram de internamento superior a 48 horas ou morreram durante o procedimento cirúrgico ou no período de internamento foram alocados no Grupo 2 (G2). Período de internamento superior a 48 horas após o tratamento cirúrgico da piometra no HV da UEL geralmente ocorre em decorrência de complicações ou em pacientes gravemente debilitados. O período de internamento e a ocorrência de óbitos foram compilados durante o estudo.

3.4.2 Hemograma, Bioquímicos e Lactato Sanguíneo

Amostras de sangue foram coletadas por punção da veia jugular externa após antissepsia prévia e separadas em dois tubos, um contendo anticoagulante para

realização de hemograma e outro sem anticoagulante para separação do soro e posterior exames bioquímicos. Imediatamente após a coleta, uma gota foi utilizada para dosagem de lactato venoso por meio de aparelho Accutrend® e das tiras BM-lactato (ambas da Roche® Diagnostic, Alemanha). Nova amostra de sangue foi coletada com 24 horas de pós-operatório, para repetição do lactato sanguíneo. O hemograma foi realizado imediatamente após a coleta no laboratório de Patologia Clínica Veterinário do HV - UEL. O soro foi alicotado em tubos plásticos de 2ml e congelados a -20°C em freezer vertical. Após descongelamento do soro em temperatura de refrigeração (5°C) o mesmo foi utilizado para realização dos exames bioquímicos. A determinação da alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (FA), uréia e creatinina foram realizadas pelo método cinético, a dosagem de proteínas totais (PT) pelo método de biureto e a albumina pelo método colorimétrico, todos com leitura em espectrofotometro BS-120 Mindray®, China.

3.4.3 Cultura, Isolamento e Antibiograma

Após a remoção do útero, o conteúdo dos cornos uterinos foi aspirado assepticamente, com agulha e seringa estéreis e enviado imediatamente ao laboratório de Microbiologia Veterinária da UEL. Inicialmente foi realizada a cultura em agar sangue ovino 5% (Himedia®, Mumbai, Índia) e as placas foram incubadas a 37°C em aerofilia por até 72 horas. Foram analisadas características culturais, morfológicas, tintoriais e bioquímicas dos micro-organismos isolados por meio da Coloração de Gram, prova da catalase, coagulase, esculina e NaCl 6,5% (HOLT et al, 1994). As bactérias Gram negativas foram semeadas em MacConkey e identificadas pelo sistema BacTray (Laborclin ® Pinhais, Brasil). Os antibiogramas foram realizados em meio Muller & Hinton (Himedia®, Mumbai, Índia) empregando-se o método de difusão, segundo a técnica de Bauer et al. (1966) para determinação de sensibilidade e resistência das bactérias isoladas. De acordo com a utilização na medicina veterinária e ação sobre os agentes bacterianos, foram utilizados os seguintes antimicrobianos e suas respectivas concentrações por disco: amoxicilina (20µg), cefalotina (30µg), ciprofloxacina (05µg), gentamicina (19µg), norfloxacina (10µg), enrofloxacina (05µg) e penicilina (10µg) (Laborclin®, Pinhais, Brasil). A leitura dos resultados foi realizada pela medida do diâmetro do halo de inibição de crescimento do microrganismo. O critério de interpretação e as concentrações seguiram as recomendações da “National Committee for Clinical Laboratory Standards – NCCLS” (1999). As amostras resistentes a três ou mais antibióticos foram consideradas cepas multirresistentes.

3.4.4 Determinação da Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica (SIRS)

Os pacientes foram classificados como positivos para SIRS quando apresentaram dois ou mais dos quatro seguintes critérios: FR>20 movimentos por minuto, FC>120 batimentos por minuto, temperatura <38,1 ou >39,2°C, leucócitos totais <6 ou >16 x10/mm³ ou ainda porcentagem de neutrófilos bastonetes >3%. Este teste possui 97% de sensibilidade em diagnosticar pacientes com SIRS e 64% de especificidade para classificar os pacientes que não estão em SIRS (HAUPTMAN et al, 1997).

3.4.5 Análise Estatística

A análise estatística foi realizada utilizando o programa Minitab 16 (2011) e Epi Info 6.04 (2001). A média das variáveis, hemácias, hematócrito e hemoglobina, foram comparadas entre os grupos por meio do teste de Tukey. A mediana das variáveis, leucócitos, neutrófilos, bastonetes, metamielócitos, linfócitos, eosinófilos, monócitos, plaquetas, uréia, creatinina, ALT, FA, proteínas totais, albumina, glicose, lactato pré-operatório e lactato pós-operatório entre os grupos, foi realizado por meio do teste Mann-Whitney. Para associação entre as variáveis patência de cérvix, peritonite, presença de SIRS, multirresistência bacteriana, hiperlactatemia pré-operatória (> 2,5 mmol/l), redução de 50% ou mais nos níveis de lactato em pacientes com hiperlactatemia pré-operatória e creatinina >2,5mg/dl com a necessidade de períodos prolongados de internamento e/ou óbito, foram utilizados os testes qui-quadrado e exato de Fisher. Adotou-se nível de significância de 5% para todos os testes. Valores abaixo do limite detectável durante a mensuração do lactato (< 0,8 mmol/l) foram considerados como zero para os cálculos

3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 80 cadelas estudadas 62 (77,5%) foram alocadas no G1 e 18 (22,7%) no G2.

A média do peso corporal das cadelas do G1 foi de 12 ±15 Kg e a do G2 de 18,25 ±10,8 Kg. A média de idade foi de 6,97 ±3,38 anos para o G1 e 8,53 ±4,55 anos para o G2.

Das 17 raças identificadas durante o estudo os animais sem raça definida (SRD) representaram 42,5% (34/80) dos casos, Poodle 13,8% (11/80), American

Staffordshire Terrier 11,3% (9/80), Boxer 6,3% (5/80), Pastor Alemão e Rottweiler ambos com 5% (4/80), Cocker Inglês 3,8% (3/80), seguido pelas raças Akita, Labrador Retriever, Fila Brasileiro, Pequinês, Pinscher, Pointer Inglês, Schnauzer, Sharpei, Tequel e Waimaraner todos com 1,3% (1/80). Embora, algumas raças como Rottweiler, Pastor alemão, Labrador retriever, Gonden retriever e Collie serem conhecidas como predispostas para o desenvolvimento da piometra (HAGMAN et al, 2011). Esses resultados refletem as características da população estudada, por isso, raças predispostas aparecem em pequenas porcentagens nesse estudo, como é o caso dos cães da raça Rottweiler e Pastor alemão ambos com apenas 5% (4/80).

A frequência e a associação das variáveis, patência de cérvix, peritonite, SIRS, multirresistência bacteriana, hiperlactatemia pré-operatória, redução de 50% da hiperlactatemia após 24 horas de pós-operatório e creatinina > 2,5 mg/dl com a necessidade de internamento prolongado e/ou óbito estão representadas na Tabela 1. Destas, a presença de SIRS foi associada significativamente ($p = 0,031$) com a necessidade de períodos prolongados de internamento e/ou óbito. Dos 66 casos classificados como SIRS positivos, 21 (31,8%) apresentaram dois dos quatro critérios, 28 (42,4%) foram positivos para três dos quatro critérios e 17 (25,8%) foram positivos para todos os quatro critérios diagnósticos da SIRS.

A presença de SIRS associada a morbidade e mortalidade encontrada nesse estudo, mostra a importância em se utilizar esses critérios de classificação para que o tratamento de suporte seja instituído o mais rápido possível. Fransson et al. (2007) em estudo similar, avaliaram 53 cadelas com piometra e destas 57% foram positivas para SIRS e 23% necessitaram de período de internamento superior a três dias, e obtiveram associação significativa entre a presença de SIRS e a morbidade na piometra. Entretanto, outros estudos não encontraram associação entre a presença de SIRS e a morbidade e/ou mortalidade em cadelas com piometra (PELANDER et al, 2008; HAGMAN et al, 2009; HAGMAN, 2011). Isso provavelmente em decorrência das diferentes populações estudadas, já que a baixa porcentagem de cadelas que necessitaram de internamento prolongado ou vieram a óbito podem ter limitado esta avaliação.

Em relação à classificação clínica da piometra canina em aberta ou fechada, é descrito que casos em que a cérvix não drena o conteúdo uterino para o meio exterior a gravidade clínica é exacerbada (JOHNSON, 2006). No entanto, nesse estudo, não foi observado diferença no prognóstico de cadelas com piometra fechada e aberta, pois esse parâmetro não mostrou associação significativa com os casos que necessitaram de internamento prolongado e/ou óbito ($p = 0,71$). Uma hipótese para esse resultado é que os

proprietários só procuravam auxílio especializado após observação do corrimento vaginal, portanto, cadelas com piometra antes fechada somente chegariam para o atendimento quando a cérvix fosse vencida pela pressão intra-uterina, sendo classificada como aberta durante a avaliação. Em outro estudo brasileiro, Volpato (2011) comparou achados laboratoriais entre cadelas com piometra aberta e fechada e não observou diferenças hematológicas e bioquímicas entre os grupos. Portanto, o tempo de evolução da doença é provavelmente mais importante do que própria drenagem uterina através da cérvix para prever o prognóstico desta afecção.

A peritonite secundária a ruptura uterina é considerada séptica e pode evoluir rapidamente para o choque, e o prognóstico depende da condição geral do animal (WILLARD, 2006). Neste estudo 14/80 pacientes apresentaram peritonite e desses 13 foram positivos para SIRS. Mesmo assim, a peritonite não esteve associada à necessidade de internamento prolongado e/ou óbito ($p = 0,07$). Portanto, cabe ressaltar que dos 14 casos de peritonite somente 6 (42%) necessitaram de internamento prolongado e/ou morreram.

Das 80 cadelas estudadas, 59 (73%) apresentaram cultura positiva. *E. coli* foi isolada de 52,5% (31/59) e *Streptococcus* spp em 13,6% (8/59) das amostras positivas no cultivo. As demais bactérias isoladas constam na Tabela 2. Os antibióticos que apresentaram pior desempenho frente às bactérias isoladas foram penicilina 86,4% (51/59) de resistência “in vitro”, cefalotina 59,3% (35/59) e a enrofloxacin com 23,7% (14/59), conforme pode ser observado na Tabela 3.

A porcentagem de cepas multirresistentes foi de 35,6% (21/59). Essa alta prevalência de cepas multirresistentes deve-se, provavelmente, ao uso indiscriminado de antibióticos no Brasil. Hagman, (2004) na Suécia, encontrou apenas 8/136 isolados de *E. coli* resistentes a dois antibióticos e nenhum caso de multirresistência em quatro anos de estudo. Siqueira et al, (2008) no Brasil, encontraram 13,5% cepas de *E. Coli* multirresistente. No presente estudo a multirresistência não foi importante na evolução clínica dos casos, não apresentando associação significativa com a morbidade e/ou mortalidade, provavelmente pelo tipo de tratamento instituído, em que todos os pacientes foram tratados por meio de OSH, portanto o foco de infecção foi removido. É possível que em cadelas com piometra tratadas clinicamente esse parâmetro possa ser mais relevantes.

Embora, vários autores afirmarem que a dosagem de lactato sérico pode ser utilizada como valor prognóstico, diagnóstico e na avaliação da resposta ao tratamento em pacientes gravemente doentes, principalmente quando mensurações seriadas (LAGUTCHIK et al, 1996; NEL et al, 2004; KOLISKI et al, 2005; STEVENSON et al, 2007; RABELO et al,

2009; HOLAHAN et al, 2010), nesse estudo a hiperlactatemia pré-operatória não foi associada significativamente com a morbidade e/ou mortalidade ($p = 0,93$) e também não houve diferença significativa nos níveis de lactato sanguíneo pré e pós-operatório entre os grupos G1 e G2 ($p = 0,35$ e $p = 0,33$). Hagman et al. (2009) também não encontraram correlação significativa entre a hiperlactatemia e o prognóstico dessa afecção, e quando compararam casos de piometra com cadelas sadias, as concentrações de lactato foram similares.

Nenhuma variável hematológica avaliada diferiu significativamente entre os grupos, mesmo os parâmetros que foram utilizados para a classificação de SIRS como leucócitos totais e neutrófilos bastonetes. Evidenciando que exames como eritograma e leucograma apesar de serem úteis no diagnóstico não são fidedignos para prognosticar casos de piometra canina. Os resultados de hemograma e a comparação entre os grupos estão detalhadamente exibidos na Tabela 4.

Na avaliação bioquímica do soro, a uréia ($p = 0,001$), a creatinina ($p = 0,001$) e a ALT ($p = 0,038$) foram significativamente maiores no G2 quando comparadas com o G1 (Tabela 5). Entretanto, os valores de ALT não se elevaram acima dos valores de referência. Por outro lado, a elevação da creatinina acima de 2,5 mg/dl foi significativamente associada a necessidade de internamento prolongado e/ou óbito ($p < 0,001$). Demonstrando ser um bom indicador de morbidade e mortalidade em cadelas portadoras de piometra. Kuplulu et al. (2009) em estudo prognóstico, avaliaram parâmetros bioquímicos, hematológicos e achados microbiológicos em 30 cadelas com piometra alocadas em dois grupos, grupo 1 (cadelas que vieram a óbito) e grupo dois (cadelas que sobreviveram), e das variáveis estudadas, o aumento de uréia e da creatinina foram os únicos parâmetros associados significativamente com os casos de óbito.

Pode-se concluir que, dentre as variáveis estudadas, a presença de SIRS e a elevação da creatinina sérica maior que 2,5 mg/dl ajudam predizer a morbidade e/ou mortalidade dessa afecção. Por outro lado, a mensuração do lactato sanguíneo não foi eficaz como marcador prognóstico da piometra canina e a presença de cepas multirresistentes em cadelas com piometra que foram tratadas cirurgicamente não interferiu na evolução clínica dos casos estudados.

3.6 AGRADECIMENTOS

Ao instituto “Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior” - CAPES pelo suporte financeiro, a todos os professores plantonistas do HV-UEL em especial a professora Josmari Pirolo, aos residentes do HV da UEL, e aos laboratórios de Microbiologia e Patologia Clínica Veterinária – HV da UEL.

3.7 REFERÊNCIAS

Bauer A, Kirby M, Sherris J, 1966: Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinic Pathology*. 45493-496.

Coggan J, 2005: Estudo microbiológico de conteúdo intra-uterino e histopatológico de útero de cadelas com piometra e pesquisa de fatores de virulência em cepas de *E. coli* e o potencial risco à saúde humana. Thesis - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Fransson B, 2003. Systemic Inflammatory Response in Canine Pyometra: The Response to Bacterial Uterine Infection. Thesis - Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala.

Fransson B, Lagerstedt A, Bergstrom A, Hagman R, Park J, Chew B, Evans M, Ragle C, 2007: C-reactive protein, tumor necrosis factor α , and interleukin-6 in dogs with pyometra and SIRS. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*. 17 373-381.

Gebhardt C, Hirschberger J, Rau S, Arndt G, Krainer K, Schweigert F, Brunberg L, Kaspers B, Kohn B, 2009: Use of C-reactive protein to predict outcome in dogs with systemic inflammatory response syndrome or sepsis. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*. 19450-458.

Greene C, Prescott J, 2006: Streptococcal and other Gram-positive bacterial infections. In: GREENE CE (3ed). *Infectious diseases of the dog and cat*. Sanders Saint Louis, pp. 302-315.

Guardabassi L, Schwarz S, Liloyd D, 2004: Pet animals as reservoirs of antimicrobial-resistant bacteria. *Journal of antimicrobial chemotherapy*. 54 321-332.

Gutierrez G, Wulf M, 1996: Lactic acidosis in sepsis: a commentary. *Journal of Intensive Care Medicine*, 22 6-16.

Hagman R, 2004: New Aspects of Canine Pyometra: Studies on Epidemiology and Pathogenesis. Thesis - Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala.

Hagman R, 2011: Serum α -1-acid glycoprotein concentrations in 26 dogs with pyometra. *Veterinary Clinical Pathology*. 40 52-59.

Hagman R, Lagerstedt A, Hedhammar A, Egenvall A, 2011: A breed-matched case-control study of potential risk-factors for canine pyometra. *Theriogenology*. 75 1251-1257.

Hagman R, Reezigt B, Ledin H, Karlstam E, 2009: Blood lactate levels in 31 female dogs with pyometra. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 51 1-9.

Hauptman J, Walshaw R, Olivier N, 1997: Evaluation of the sensitivity and specificity of diagnostic criteria for sepsis in dogs. *Veterinary Surgery*. 26393-397.

Holahan M, Brown A, Drobatz K, 2010: The association of blood lactate concentration with outcome in dogs with idiopathic immune-mediated hemolytic anemia: 173 cases (2003-2006). *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*. 20413-420.

Holt J, Krieg N, Sneath P, 1994: *Bergey's manual of determinative bacteriology* (9ed). Williams & Wilkins, pp. 186-187.

Johnson C, 2006: Distúrbio do sistema reprodutivo. In: Nelson R, Couto G (3ed). *Medicina Interna de Pequenos Animais*. Elsevier Rio de Janeiro, pp. 840-844.

Johnston S, Kustritz M, Olson P, 2001: *Canine and Feline Theriogenology*. Philadelphia. Saunders. 19-104.

Koliski A, Cat I, Giraldo D, Cat M, 2005: Lactato sérico como marcador prognóstico em crianças gravemente doentes. *Jornal de Pediatria*. 81287-292.

Kuplulu S, Vural M, Demirel A, Polat M, Akçai A, 2009: The comparative evaluation of serum biochemical, hematological, bacteriological and clinical findings of dead and recovered bitch with pyometra in the postoperative process. *Acta Veterinaria (Beograd)*. 59 193-204.

Lagutchik M, Ogilvie G, Wingfield W, Hackett T, 1996: Lactate kinetics in veterinary critical care: A review. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*. 681-95.

National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). 1999. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals—approved standard M31-A. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, PA.

Nel M, Lobetti R, Keller N, Thompson P, 2004: Prognostic value of blood lactate, blood glucose, and hematocrit in canine babesiosis. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 18 471-476.

Otto C, 2007: Sepsis in veterinary patients: what do we know and where can we go? *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*. 17329-332.

Pelander L, Hagman R, Haggstrom J, 2008: Concentrations of cardiac troponin I before and after ovariohysterectomy in 46 female dogs with pyometra. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 501-8.

Purvis D, Kirby R, 1994: Systemic inflammatory response syndrome: Septic. *Veterinary Clinics of North America: Small animal Practice*. 241225-1247.

Rabelo R, Arnold C, Alsua S, 2009: RICO Score - Classificação rápida de sobrevida em cuidados intensivos. Variáveis inter-relacionadas em cães. *Revista Clínica Veterinária*. 7828-38.

Siqueira A, Ribeiro M, Salerno T, Takahira R, Lopes M, Prestes N, Silva A, 2008: Perfil de sensibilidade e multirresistência em linhagens de *Escherichia coli* isoladas de infecção do trato urinário, de piometra e de fezes de cães. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.601263-1266.

Stevenson C, Kidney B, Duke T, Snead E, Mainar-jaime R, Jackson M, 2007: Serial blood lactate concentrations in systemically ill dogs. Veterinary Clinical Pathology. 36234-239.

Volpato, R, 2011. Avaliação clínica e imunoistoquímica do útero e cérvix de cadelas com diagnóstico de piometra. Dissertação – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

Willard M, 2006: Distúrbios do sistema digestivo. In: Nelson R, Couto G (3ed). Medicina Interna de Pequenos Animais. Elsevier Rio de Janeiro, pp. 449-450.

Tabela 1 –Frequência e associação das variáveis patência de cérvix, peritonite, SIRS, multirresistência bacteriana, hiperlactatemia pré-operatória, redução de 50% da hiperlactatemia após 24 horas de pós-operatório (R50% hiperlactatemia) e creatinina >2,5mg/dl com a necessidade de internamento prolongado/óbito utilizando os testes Qui-quadrado e Fisher com nível de significância de 5%, Londrina – PR, 2012.

Variáveis	Internamento > 48h e/ou óbito n/total (%)	Valor de p
SIRS		
Sim	18/66 (27%)	0,031*
Não	0/14	
Peritonite		
Sim	6/14 (43%)	0,073
Não	12/66 (18%)	
Piometra fechada		
Sim	7/26 (27%)	0,710
Não	11/54 (20%)	
Multirresistência		
Sim	3/21 (14%)	0,343
Não	10/38 (26%)	
Hiperlactatemia		
Sim	8/37 (22%)	0,925
Não	10/33 (30%)	
R50% hiperlactatemia		
Sim	2/10 (20%)	1,000
Não	4/21 (19%)	
Creatinina > 2,5mg/dl		
Sim	8/10 (80%)	<0,001*
Não	10/70 (14%)	

*Associação significativa

Tabela 2 –Bactérias isoladas da secreção uterina de 59/80 cadelas com piometra, Londrina-PR, 2012.

Bactérias	n	Porcentagem (%)
<i>E. coli</i>	31	52,2
<i>Streptococcus spp</i>	8	13,6
<i>Klebsiella spp</i>	5	8,5
<i>Pseudomonas spp</i>	4	6,8
<i>Staphylococcus spp</i>	3	5,1
<i>E. coli + Klebsiella spp</i>	2	3,4
<i>E. coli + Streptococcus spp</i>	2	3,4
<i>Salmonella spp</i>	2	3,4
<i>E. coli + Staphylococcus spp</i>	1	1,7
<i>Proteus spp</i>	1	1,7
Total	59	100

Tabela 3 –Perfil de resistência e sensibilidade bacteriana aos antibióticos testados nos 59 isolados de conteúdo uterino de 80 cadelas com piometra, Londrina-PR, 2012.

Antibióticos	Resistência% (n/total)	Sensibilidade% (n/total)
Penicilina	86,4% (51/59)	13,6% (8/59)
Cefalotina	59,3% (35/59)	40,7% (24/59)
Enrofloxacina	23,7% (14/59)	76,3% (45/59)
Ciprofloxacina	20,3% (12/59)	79,7% (47/59)
Norfloxacina	13,6% (8/59)	86,4% (51/59)
Amoxicilina	11,9% (7/59)	88,1% (52/59)
Gentamicina	10,2% (6/59)	89,8% (53/59)

Tabela 4 –Valores de hemácias, volume globular e concentração de hemoglobina expressos em média e desvio padrão e comparação entre os grupos por meio do teste de Tukey, e valores de leucócitos e plaquetas expressos em mediana e comparação entre os grupos por meio do teste de Mann-Whitney com nível de significância de 5%, Londrina – PR, 2012.

Variáveis	G1 média ±SD	G2 média ±SD	Valor de p Tukey
Hemácias (x10⁶)	5,85 ±1,44	6,14 ±1,52	0,453
Volume globular (%)	36,95 ±9,52	39,46 ±11,11	0,347
Hemoglobina (g/dl)	11,33 ±2,85	11,61 ±3,34	0,722
	Mediana (intervalo)	Mediana (intervalo)	Valor de p Mann-Whitney
Leucócitos (m/mm³)	21570 (4150-101870)	24785 (22510-41700)	0,218
Segmentados (m/mm³)	16990 (2142-75383)	20058 (14125-34611)	0,235
Bastonetes (m/mm³)	894,8 (0-13243)	2042,5 (0-3784)	0,347
Linfócitos (m/mm³)	2000 (226-12224)	2238 (548-7343)	0,482
Plaquetas (m/mm³)	339000 (21000-960000)	270000 (24000-1027000)	0,067

Tabela 5 –Parâmetros bioquímicos das cadelas com piometra expressos em mediana e comparação entre os grupos por meio do teste Mann-Whitney com nível de significância de 5%, Londrina – PR, 2012.

Variáveis	G1 Mediana (intervalo)	G2 Mediana (intervalo)	Valor de p
Uréia (mg/dl)	31 (8-292)	168 (28-508)	0,000*
Creatinina (mg/dl)	0,85 (0,28-2,32)	2,50 (0,39-10,2)	0,001*
ALT (U/L)	22 (4-49)	25 (12-59)	0,038*
FA (U/L)	230 (31-2573)	267 (37-876)	0,469
PT (g/dl)	9,0 (5-14,9)	8,8 (5,6-12,6)	0,714
Albumina (g/dl)	1,9 (1-4,3)	2,2 (1,1-3,7)	0,244
Glicose (mg/dl)	100 (33-416)	90 (28-747)	0,182
Lactato pré-operatório (mmol/L)	2,4 (<0,8-5)	2,4 (1,2-4,8)	0,350
Lactato pós-operatório (mmol/L)	1,4 (<0,8-4,8)	1,6 (<0,8-4,9)	0,333

ALT = Alanina aminotransferase; FA = Fosfatase alcalina; PT = Proteínas totais; *Diferença significativa

4 CONCLUSÕES

- Cadelas com piometra que apresentem SIRS são mais predispostas à morbidade e mortalidade.
- É alta a prevalência de multirresistência bacteriana em cepas isoladas de cadelas com piometra atendidas no Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina.
- A presença de cepas multirresistentes não interferiu no prognóstico de cadelas com piometra tratadas cirurgicamente.
- A presença de azotemia e elevação da creatinina superior a 2,5 mg/dl está associado a morbidade e/ou mortalidade em cadelas com piometra.
- A mensuração seriada do lactato sanguíneo em cadelas com piometra tratadas cirurgicamente não foi eficaz em predizer o prognóstico desta afecção.

ANEXOS

ANEXO A

Comitê de ética e experimentação animal



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA



COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL

OF. CIRC. CEEA Nº 52/2010

Londrina, 15 de maio de 2010.

Prezada Pesquisadora

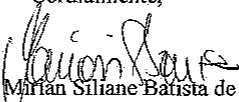
O CEEA/UEL, reunido em 11 de maio do ano corrente, avaliou o projeto de pesquisa intitulado "Associação de parâmetros microbiológicos, hematológicos, bioquímicos, eletrocardiográficos e pressão arterial ao prognóstico de cadelas com piometra atendidas no Hospital Veterinário da UEL", registrado no CEEA sob o nº 18/10, dissertação de Mestrado do Centro de Ciências Agrárias, desenvolvido sob sua responsabilidade, julgando-o *aprovado* para execução por entender que os princípios éticos postulados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal estão respeitados.

Serão utilizadas 100 cadelas com piometra, atendidas no Hospital Veterinário da UEL. Os animais passarão por avaliação clínica, coleta de sangue, urina e conteúdo uterino para a realização de exames hematológicos, bioquímicos e microbiológicos, além de eletrocardiograma. Serão submetidas ao procedimento cirúrgico de ovariectomia. O projeto está previsto para ser executado entre maio de 2010 e abril de 2011.

Cumprir orientar que caso se pretendam quaisquer alterações no protocolo experimental aprovado, deve-se submeter o novo protocolo à apreciação do CEEA/UEL anteriormente à execução das modificações.

Sem mais para o momento, subscrevo-me.

Cordialmente,


Prof. Dra. Mirian Siliane Batista de Souza
Coordenadora do CEEA/UEL

Ilma. Sra.
Prof. Dra. Maria Isabel Mello Martins
Coordenadora do Projeto
Departamento de Clínicas Veterinárias
Centro de Ciências Agrárias

ANEXO B

Normas para publicação no periódico *Reproduction in Domestic Animals*

AUTHOR GUIDELINES

Reproduction in Domestic Animals is an international journal publishing original, significant articles on reproduction in domestic animals, laboratory animals, and wildlife, with particular attention to basic and clinical research. Reproduction is considered in a broad context, with its strong disciplinary, comparative core. The journal therefore covers obstetrics, neonatology and udder health, and welcomes contributions in these areas. The scope of the journal applies to veterinarians, breeders, and biologists while also being of interest to practitioners of human medicine. Reproduction in Domestic Animals is the official organ of the European Society for Domestic Animal Reproduction (ESDAR), the European Veterinary Society for Small Animal Reproduction (EVSSAR), and the Spanish Society of Animal Reproduction (AERA).

We encourage the submission of topical results for publication as original papers, reviews (mini-reviews or critical feature articles), or short communications (including case reports and technical notes). Feature articles or reviews should summarise work in a particular area of the above-mentioned fields that comprise the scope of the journal. Letters to the Editor, viewpoint articles and comments on published papers are also welcomed. Comments should be confined to the substance of the paper and the authors of the paper referred to will be offered the opportunity to respond. The journal publishes preliminary communications of results that are of current and extreme interest. Please mark these submissions as 'Urgent Short Communication' and provide a brief explanation of the urgency. Authors interested in preparing a review, a feature article, or a viewpoint article, are invited to discuss the matter with the Editor-in-Chief. Such preliminary contact with the Editor-in-Chief is advisable when Patent-related matters are included in any manuscript. All papers are subjected to a thorough peer-review by at least two ad-hoc peer referees. Short communications will be subject to accelerated, but very strict refereeing. The publication language is English.

Book reviews

Book reviews appear irregularly at the end of the journals. Books submitted for review are sent by the editors to a scientist involved in the special research area. No fee is paid for reviews, but the review copy of the book remains the property of the reviewer. Each review should begin with exact bibliographical data on the publication, according to the following pattern:

Author(s) and/or editor(s), publication title, subtitle, edition, title of the publication series (and possibly its editors) in which the book has appeared, publisher, place of publication, year of publication, number of pages, number of illustrations, tables, and diagrams, cover material (e.g. paperback, quarter cloth binding etc.), retail price. Example: Immelmann, F.: Introduction to Animal Behaviour. Revised and extended 3rd edition. Pareys Studientexte No. 13. Paul Parey Scientific Publishers, Berlin and Hamburg, 1983. 223 pp., 106 figs., Balacron paperback, Euro 28.0.

Please read the instructions below for brief details on the Journal's requirements for manuscripts. Please visit the journal website www.blackwellpublishing.com/rd for full and updated Author Guidelines and Blackwell Publishing's Author Services website, www.blackwellpublishing.com/author, for further information on the preparation and submission of articles and figures. Manuscripts in an incorrect format may be returned to the author.

MANUSCRIPT SUBMISSION

The submission and review process of *Reproduction in Domestic Animals* is handled online at <http://mc.manuscriptcentral.com/rd>. To submit an article to *Reproduction in Domestic Animals*, please go to <http://mc.manuscriptcentral.com/rd>, create an account and submit your article. Complete instructions on how to submit a paper are available online at the Journal website www.blackwellpublishing.com/rd. Please note that any manuscripts uploaded as Word 2007 (.docx) will be automatically rejected. Please save any .docx file as .doc before uploading.

MANUSCRIPT FORMAT AND STRUCTURE

Format: The copies must be typed (Times, font 12) with double spacing throughout and with a margin of at least 3 cm on the left-hand side. Lines must be numbered in a consecutive manner starting on the first page, in the left-hand margin. All pages of the manuscript must also be numbered consecutively, including those containing references, tables, and captions to illustrations, all of which are to be placed after the text. Illustrations, both line drawings and photographs, are to be numbered as figures in a common sequence.

On page one of the manuscript the official name of the institution, the place where the work was carried out, the title of the article, and the names of authors must be stated as follows: Town, Country (no mailing address); Title of Article; Name A, Name B, and Name C. The title should be concise and appropriately informative and should contain all keywords necessary to facilitate retrieval by modern search techniques. Additional keywords not already contained in the title or contents (abstract, summary) may be listed beneath the contents. An abridged title suitable for use as a running head at the top of the printed page and not exceeding 50 letters and spaces should also be supplied. Each original paper and review shall contain a short contents (abstract, summary), preferably less than 250 words. The contents should not just recapitulate the results but should state concisely the scope of the work and give the principal findings, avoiding acronyms and references. The contents shall be complete enough for direct use by abstracting services.

Original articles should be structured in the following order: Title, Contents, Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Acknowledgment and References. Placement of figures and tables should be indicated in the text. The experimental design should be described in sufficient detail (methods, analyses, statistics, breeds, origin, and management of animals etc.) to allow for repetition of the experiments.

If the paper is one of a numbered series, a reference to the previous part should be given as a footnote on the first page. If a part not yet published needs to be consulted for a proper understanding of the paper, a copy of that manuscript should be supplied to assist the referees. The corresponding address, and e-mail address if available, should appear at the end of the paper. Sets of identical data should not be given in tables and figures. Figures and tables should be accompanied by a legend.

The manuscript comprises a printout of the text, figures, tables, and a list of all figures and tables with their captions and titles on a separate piece of paper. We ask that you convey the essential information within the first 60 characters of the captions to accommodate the online edition. Each figure, table, and bibliographic entry must have a reference in the text. For all figures please include reproducible artwork (marked with the author's name, short title, and figure number). Any corrections requested by the reviewer should already be integrated into the file.

The data carriers (diskette, etc.) must be PC/Windows-compatible and may not contain any files other than those for the current manuscript. Please include a list of the files, noting the file name, the computer program, and its version number. Please do not import the figures into the text file. The text should be prepared using standard software (Microsoft Word, Word Perfect) or saved in rtf format; do not use automated or manual hyphenation.

Length: Original papers, including figures, tables and references, should not exceed 25 typed or computer-written DIN A4 pages. Review articles can have an extended length. Short Communications, including figures, tables and references, should not exceed 4-6 manuscript pages. The number of figures and tables should be kept to a minimum.

Units, abbreviations and nomenclature: All specifications must be stated according to the S.I. System. Concentrations of chemical solutions are to be given in mol/l. All other concentrations should be given in % (volume or weight). All products implemented are to be mentioned with the manufacturer's name and delivery address which should

Any abbreviations of chemical, biological, medical, or other terms should only be employed when it is certain that they are internationally known. The full name must be stated in brackets when the abbreviation is first used.

All biological, medical, chemical, or other terms should be used according to the most recent recommendations of respective International nomenclature. Enzymes should be given according to the Enzyme Nomenclature (Elsevier Publishing Co., 1965). In the case of commercially obtained substances or reagents, the name and address of the manufacturer or supplier should be given as a footnote, when they are first mentioned in the text. Products (preparations etc.) with a registered trademark should be marked with ®. Bacterial names should be in accordance with the latest edition of Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (The Williams and Wilkins Co., Baltimore). Viruses are to be given the classification and names recommended by the International Committee on the Nomenclature of Viruses.

Illustrations and tables: Original Photographs or drawings must be sharp and of high contrast. Figures should be saved in a neutral data format such as TIFF or EPS, and a printout should always be included. Powerpoint and Word graphics are unsuitable for reproduction. Please do not use any pixel-oriented programmes. Scanned figures (only in TIFF format) should have a resolution of 300 dpi (halftone) or 600 to 1200 dpi (line drawings) in relation to the reproduction size.

Please note that figures will generally be reduced to fit within the column-width or the print area. This means that numbering and lettering must still be readable when reduced (e.g. maps) and that the scale might not correspond with the original (microscopic pictures), thereby invalidating references to scale in the text. If a figure is to be cropped, please mark the lines on a photocopy or tracing paper. Printouts should be made with a laserprinter at the highest resolution (≥ 600 dpi). If artwork is to be scanned, line drawings should only be contour drawings without halftones (shades of grey). Please do not use patterns; rough hatching is possible.

Graphs with an x and y axis should not be enclosed in frames; only 2-dimensional representations. Do not forget the labels and units. Captions for the figures should give a precise description of the content and should not be repeated within the figure.

Tables should be created using the table function.

Colour figures: Please submit the data for figures in black and white. However, colour photos can be reproduced in black and white (with a possible loss of contrast). Colour graphics should be created using the CMYK colour palette (print colours), not RGB (monitor colours). Figures printed in colour are subject to an added charge. In the event that an author is not able to cover the costs of reproducing colour figures our figures in colour in the printed version of the journal, *Reproduction in Domestic Animals* offers authors the opportunity to reproduce colour figures in colour for free in the online version of the article (but they will still appear in black and white in the print version). If an author wishes to take advantage of this free colour-on-the-web service, they should liaise with the Editorial Office to ensure that the appropriate documentation is completed for the Publisher. Colour print charges are explained on the Colour Work Agreement Form available at http://www.blackwellpublishing.com/pdf/SN_Sub2000_F_CoW.pdf. There is a charge for alterations to figures when carried out by the publisher.

References: In the text, citations are listed chronologically by the author and date and are not numbered. All citations in the text must be listed at the end of the paper, according to the guidelines of the International Committee of Medical Journal Editors established in 1979. References should be listed in alphabetical order of the first author's name.

The following are examples of the styles required for citing a book chapter, a journal article, and an entire book. For conference proceedings, be sure to include the name(s) of the editor(s) of the proceedings, the publisher and the place of publication.

Ewald C, Apel G, von Mickwitz G, 1988: Erfahrungen mit der Vakzination gegen die Haemophilus-Pleuropneumonie der Stewing. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 102 6-11.

Mair A, Diebschlag W, Distl O, Kräublich W, 1988: Analysis of pressure distribution on the foot soles of cattle. J. Vet. Med. A 35 696-704.

Niemann H, Elsaesser F, 1983: Steroid hormones in early pig embryo development. In: Bavister BD (ed), The Mammalian preimplantation Embryo. Plenum Press New York, pp. 117-132.

Citations in the text should be given by placing in parenthesis the name(s) of author(s) and the year of publication, e.g. (Thein and Hartl 1986), (Ewald et al. 1988), (Mair et al. 1988), (Niemann and Elsaesser 1983).

All entries in the reference list must correspond to citations in the text. No editorial responsibility can be taken for the accuracy of the references, and authors are requested to check these with special care. Papers that have not been accepted for publication may not be included in the list of references and must be cited either as 'unpublished data' or as 'personal communication'. The use of such citations is discouraged. It is the author's responsibility to ensure that they have permission to cite material as a personal communication.

We recommend the use of a tool such as EndNote or Reference Manager to reference management and formatting.

EndNote reference styles can be searched for here: <http://www.Endnote.com/support/enstyles.asp>

Reference Manager reference styles can be searched for here: <http://www.refman.com/support/rmstyles.asp>

Laboratory animals: Papers reporting work with animals should include a reference to the code of practice adopted for the experimentation. Editors will take account of ethical and animal welfare issues and reserve the right not to publish.

ACCEPTANCE OF A MANUSCRIPT FOR PUBLICATION

Copyright Assignment

Additionally, the corresponding author MUST submit a Copyright Transfer Agreement. This form includes, among other items, your complete corresponding address, the number of your submission (Manuscript number) and the copyright transfer agreement. The form is to be retrieved, filled and signed, and then scanned in .pdf format to be uploaded in the submission of your manuscript, alongside with the other manuscript files. Please mark this CTA as supplementary file. The CTA will thereafter follow the handling of your manuscript and only become effective if the manuscript is accepted for publication.

Proof correction and offprints

When you receive proofs of your article, please check, correct, and return them electronically to the Editor-in-Chief without delay (within 3 days of receipt), as e-annotated proofs. As changes to proofs are costly, we ask that you only correct typesetting errors. Proofs will be sent via e-mail as an Acrobat PDF (portable document format) file. The e-mail server must be able to accept attachments up to 4 MB in size. Acrobat Reader will be required in order to read this file.

The corresponding author will receive an e-mail alert containing a link to download their proof as a PDF (portable document format). Corrections must be returned to the Editor-in-Chief within 3 days of receipt.

Authors will be provided with electronic offprints of their paper. Electronic offprints are sent to the first author at his or her first email address on the title page of the paper, unless advised otherwise, therefore please ensure that the name, address and email of the receiving author are clearly indicated on the manuscript title page if he or she is not the first author of the paper. Paper offprints may be purchased using the order form supplied with the proofs.

Permissions: If all or parts of previously published illustrations are used, permission must be obtained from the copyright holder concerned. It is the author's responsibility to obtain these in writing and provide copies to the Publisher.

Author Services: For more substantial information on the services provided for authors, please see www.blackwellpublishing.com/author/default.asp