



UNIVERSIDADE DE
vassouras

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Mestrado Profissional em Diagnóstico Clínico e Laboratorial em Medicina
Veterinária

JOÃO PEDRO DA SILVEIRA NETTO

RELATÓRIO TÉCNICO/CIENTÍFICO:
Avaliação do tratamento de éguas
receptoras com problema uterino
utilizando produto à base de refrigerante
de cola.

Vassouras

2019

JOÃO PEDRO DA SILVEIRA NETTO

RELATÓRIO TÉCNICO/CIENTÍFICO:

Avaliação do tratamento de éguas receptoras com problema uterino utilizando produto à base de refrigerante de cola.

Relatório técnico/científico apresentado a Pró-reitoria de Pesquisa e Pós-graduação e Pesquisa / Coordenação do Mestrado Profissional em Diagnóstico Clínico e Laboratorial em Medicina Veterinária da Universidade de Vassouras, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Diagnóstico Clínico e Laboratorial em Medicina Veterinária.

Orientador:

Prof. Dr. Gustavo Mendes Gomes, Universidade de Vassouras

Doutor pela Unesp Botucatu - SP

Vassouras

2019

**RELATÓRIO TÉCNICO/CIENTÍFICO:
Avaliação do tratamento de éguas
receptoras com problema uterino
utilizando produto à base de refrigerante
de cola.**

Relatório técnico/científico apresentado a Pró-reitoria de Pesquisa e Pós-graduação e Pesquisa / Coordenação do Mestrado Profissional em Diagnóstico Clínico e Laboratorial em Medicina Veterinária da Universidade de Vassouras, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Diagnóstico Clínico e Laboratorial em Medicina Veterinária.

Banca:

Orientador:

Prof. Dr. Gustavo Mendes Gomes , Universidade de Vassouras

Doutor pela Unesp Botucatu - SP

Prof. Dra. Renata Ferreira, Universidade de Vassouras

Doutor pela Universidade Federal Fluminense – RJ

Prof. Dr. Marcus Antônio Pessanha Barreto, UENF

Doutor pela UENF- RJ

Vassouras

2019

DEDICATÓRIA

Dedico esta conquista:

À minha esposa Orion Araújo Carneiro, pela compreensão nos momentos de ausência, toda forma de apoio que precisei durante esses dois anos de estudos e das boas sugestões dentro da parte escrita do trabalho.

À minha filha Analú A.C. Silveira, que desde sua chegada é minha meta de vida, me estimulando sempre a progredir profissionalmente.

Ao meu Pai, Carlos Alberto Silveira, que tenho certeza que de onde estiver estará muito feliz com mais essa conquista.

À minha mãe, Josette Vasconcelos Corrêa Silveira, que sempre me apoiou e me orientou nos caminhos corretos da vida.

Aos meus irmãos Carlos Alberto Silveira Júnior que além de irmão é meu amigo, sócio, companheiro de todo o sempre, e Karla Giselly Corrêa Silveira Sola, que desde o início me incentivou nesse projeto.

Meu muito obrigado a todos vocês.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador do Mestrado Profissional em Diagnóstico Clínico e Laboratorial, pela Universidade de Vassouras, Prof . Dr Gustavo Mendes Gomes, pela ajuda, boa vontade, amizade, dedicadas a mim nesses dois anos.

À Prof.. Dra Renata Ferreira, pela ajuda nos exames laboratoriais dos testes realizados.

À Coordenação do Mestrado Profissional em Diagnóstico Clínico e Laboratorial da Universidade de Vassouras pela organização e apoio.

E a todos que de alguma forma contribuíram para a realização desse projeto.

RESUMO

NETTO, J. P. S. . Avaliação do tratamento de éguas receptoras com problema uterino utilizando produto à base de refrigerante de cola. 22p.

O objetivo do presente estudo foi avaliar a eficiência do tratamento de um produto técnico alternativo com refrigerante a base de cola na terapia do endométrio de éguas receptoras de embriões com processo de endometrite crônica caracterizado pela presença de processo infeccioso, podendo ser bacteriano e/ou fúngico. As éguas receptoras utilizadas no trabalho de campo foram animais selecionados pela ausência de gestação em duas ou mais inovulações consecutivas e/ou a presença de líquidos na luz uterina durante o período de estro. Para tanto, foram utilizadas vinte e quatro éguas da raça Mangalarga Marchador, de uma mesma propriedade com idade variando entre seis e dez anos. Os animais foram submetidos a lavagens uterinas com 1 litro de soro Ringer com lactato para coleta de material durante o estro para envio ao laboratório para o cultivo de bactérias e/ou fungos. Após a coleta de material, foi realizada a lavagem uterina com 1 litro de Coca Cola ® e a recuperação deste conteúdo, imediatamente realizada a infusão uterina com mais 1 litro do mesmo produto, onde o mesmo foi mantido dentro do lúmen uterino. Entre três a sete dias após a ovulação das éguas receptoras o embrião foi inovulado, e sete dias após a inovulação foi feito o diagnóstico gestacional através de exame ultrassonográfico. O Resultado descritivo do uso do produto técnico à base de cola (Coca Cola ®) foram 21 prenhez confirmadas das 24 éguas tratadas, dando um resultado de 87,5% de gestações positivas em éguas que normalmente seriam descartadas em programas de embriões, ou seja, o produto se mostrou eficiente para tratar animais com históricos reprodutivos usados neste estudo.

Palavras-chave: agente infeccioso, coca cola, éguas, endometrite, gestação.

ABSTRACT

NETTO, J. P. S. Evaluation of treating mares with uterine problem receiver using Coke 22p.

The objective of the present study was to evaluate the efficiency of treatment of an alternative technical product with soda cola based on the therapy of the endometrium of mares with chronic endometritis process characterized by the presence of an infectious process, and may be bacterial and/or fungal. The mares used in fieldwork were selected by the absence of animal gestation in two or more consecutive inovulações and/or the presence of fluid in uterine light during the period of estrus. To do so, were used twenty-four Mares of the Mangalarga Marchador breed, the same property with age varying between six and ten years. The animals underwent uterine washes with lactated Ringer's serum for gathering material for shipment to the lab for the cultivation of bacteria and/or fungi. After collecting material, uterine lavage was performed with 1 liter of product and recovery of this product of the uterus, and uterine infusion was made immediately with more 1 liter of the same product (Coke®) where there was no removal of material from within the uterine lumen. Between three to seven days after ovulation, the embryo, the embryo recipients was inovulado in these Mares, and seven days after inovulação was done the diagnosis through ultrasound examination dates. The descriptive Result from use of the product-based technical cola (Coca Cola®) were 21 pregnancies confirmed the 24 treated Mares, giving a result of 87.5% positive pregnancies in mares that would normally be discarded in embryo programs, namely, the product proved efficient to treat animals with these reproductive histories used in this study.

Key Words: infectious agent, Coke, Mares, Endometritis, pregnancy.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	09
2	OBJETIVOS.....	11
3	DESCRIÇÃO TÉCNICA DO PRODUTO.....	12
4	POSSÍVEIS APLICABILIDADES DO PRODUTO.....	16
5	CONCLUSÃO.....	17
6	REFERÊNCIAS.....	18
7	ANEXOS.....	20

1. INTRODUÇÃO

A equinocultura tem posição de destaque na economia de países em desenvolvimento e nos desenvolvidos. No Brasil, todo ano a equideocultura movimenta cerca de R\$ 16,15 bilhões, gerando algo em torno de 610 mil empregos diretos e 2430 atividades indiretas, somando mais de 3 milhões de empregos (MAPA, 2017) , sendo transferência de embriões uma técnica que acelera o melhoramento genético das raças, além de possibilitar a produção de vários potros de uma mesma égua dentro de uma mesma estação, gerando o melhor aproveitamento zootécnico de uma doadora de alto valor, melhor aproveitamento de doadoras idosas que não conseguiriam manter uma gestação e poupar animais esportistas contribui para o controle da disseminação de doenças, além da obtenção de material genético com os embriões congelados. (ARRUDA et al. ,2001).

Existem algumas restrições para a realização da transferência de embriões, como por exemplo, o custo elevado da técnica e infraestrutura necessária para sua realização, sendo um dos principais problemas a manutenção dessas receptoras com problemas reprodutivos (SQUIRES E SEIDEL, 1995).

Segundo SQUIRES E SEIDEL (1995), a receptora é o grande entrave para a maior difusão da técnica de transferência de embriões, devido a necessidade de um alto número de éguas por doadoras, valor de compra, dificuldade em encontrar animais para a compra, dificuldade de descarte de éguas com problemas.

A endometrite é uma das principais causas de redução da fertilidade em éguas (TROEDSSON, 1999; ALVARENGA, 1996). A endometrite em éguas é dividida em: endometrite induzida pelo acasalamento, infecção uterina por microorganismos e endometrite crônica degenerativa (LEBLANC, 2003; TROEDSSON, 1997; RICKETTS, 1987).

Na tentativa de se aumentar a eficiência dos tratamentos destas infecções vários procedimentos tem sido realizados. Entretanto algumas éguas denominadas susceptíveis não respondem bem aos tratamentos tradicionais e não conseguem eliminar a infecção de uma forma eficiente, a qual se torna persistente, sub-clínica e/ou crônica. (KENNEY & DOIG, 1986).

O diagnóstico de endometrite através de exames como a citologia uterina, análise microbiológica de amostras coletadas do útero e principalmente histopatologia através de biopsia de amostra extraída do endométrio de éguas elucidam algumas dúvidas que

se tem quando se trabalha tanto com doadoras de embriões quanto com receptoras, já que as mesmas exercem um dos papéis mais importantes no sucesso dos resultados da transferência de embriões (RUA et al., 2016) .

A infusão uterina de antibióticos ou sua aplicação sistêmica tem sido usada há muitos anos como tratamento para endometrite aguda em éguas. A infusão local tem a vantagem de atingir alta concentração no endométrio (SCOGGIN, 2016). Antes de se realizarem as infusões, deve-se proceder a lavagem uterina para diminuir possíveis condições adversas do útero, como a presença de líquidos e células inflamatórias que podem alterar os efeitos dos medicamentos (LEBLANC, 2012).

Éguas podem ter o útero lavado um ou mais dias, visando remover fluidos, células inflamatórias ou como parte do planejamento terapêutico para endometrite infecciosa (DASCANIO, 2014).

A curetagem uterina é outro método seguro e relativamente fácil de ser realizado, tendo melhor resultado no diestro. Alguns agentes químicos podem ser citados como exemplo, como é o caso da água Oxigenada (H₂O₂), DMSO, Querosene e Iodo povidine diluídos (LEY, 2006)

Refrigerantes à base de "cola" são usados na medicina humana quando se precisa de um produto que tenha um pH baixo. LADAS (2002) utilizou coca cola que tem pH 1,41 com a finalidade de se conseguir um efeito de desobstrução de fitobenzos no estômago de humanos, bem como a necessidade de osmolaridade alta para o mesmo propósito .

Os custos e os possíveis efeitos colaterais causados pelos antibióticos estimulam pesquisas que culminem com o desenvolvimento de novas técnicas e agentes que possam minimizar tais custos e efeitos indesejáveis para tratar endometrite infecciosa em éguas. Por este motivo, o objetivo do presente estudo foi avaliar a eficiência da terapia com refrigerante a base de cola no tratamento do endométrio de éguas com o processo de endometrite caracterizado pela presença de infecção, seja bacteriana e/ou fúngica.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

O objetivo do presente estudo foi avaliar a eficiência do tratamento com um produto alternativo, utilizando refrigerante à base de cola na terapia do endométrio de éguas receptoras de embriões caracterizadas com histórico reprodutivo de duas ou mais inovulações seguidas sem gestação e/ou presença de líquido uterino na imagem do ultrassom durante o estro, com processo de endometrite caracterizado pela presença de processo infeccioso, podendo ser bacteriano e/ou fúngico. Éguas estas, que seriam descartadas normalmente de Programa de Transferência de embriões.

2.2 - Específico

- Verificar se as éguas usadas no experimento tinham ou não contaminação uterina por agente infeccioso.

- Verificar se a pesquisa de campo seria eficaz para melhora da eficiência reprodutiva de éguas que seriam descartadas em programas de transferência de embriões equinos, resultando em prenhezes positivas pós tratamento.

3. DESCRIÇÃO TÉCNICA DO PRODUTO

O presente trabalho foi realizado segundo preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2018, do Decreto nº6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da Universidade de Vassouras, sob número de protocolo N. 014/2018.

Foram testadas vinte e quatro éguas receptoras da raça Mangalarga Marchador, de um mesmo criatório, submetidas às mesmas condições de alimentação e sanidade, sendo criadas e tratadas em sistema extensivo de criação com idades variando entre seis e dez anos, com histórico de não ter gestado por duas ou mais inovulações de embriões consecutivas e/ou a presença de fluido no lúmen uterino durante o exame com o ultrassom durante o estro.

Essas éguas foram submetidas a lavagem uterina com 1 litro de soro Ringer com Lactato para coleta de material para exame de cultura durante o período de estro e identificação de infecção presente, independente se bacteriana e/ou fúngica. Foi aplicada uma dose de indutor de ovulação (Histrelina , Strelim®, 1 ml IM) nas éguas receptoras de embriões quando o folículo ovariano atingia um tamanho de 35mm ou maior, com presença de edema uterino era feita uma primeira lavagem com 1 litro de refrigerante à base de cola, e após feita a remoção. Imediatamente após a lavagem, foi infundido mais um litro de Coca Cola ® que então era deixado no lúmen uterino para se obter o efeito desejável.

Na visita seguinte eram verificadas as ovulações através de exame ultrassonográfico. Ocorrendo a ovulação, aplicava-se uma dose única de Ocitocina, na dose de 3 UI intramuscular, para a remoção total da Coca Cola infundida.

Entre três e sete dias após a ovulação da receptora, o embrião foi inovulado e seu primeiro diagnóstico gestacional sete dias após a inovulação onde foram avaliadas as taxas de prenhez ou sua ausência.

Coleta de Material para Cultura

Antes dos procedimentos abaixo descritos, eram realizadas as palpações retais das éguas para a remoção total das fezes.

Para a coleta do material foi feita a antissepsia da região vulvar e perivulvar com solução de iodopovidona (PVPI degermante). As coletas das amostras foram realizadas com o auxílio de um adaptador de aço inoxidável, uma sonda uterina pré esterilizada, 1L Soro Ringer com Lactato para a lavagem uterina , 2 frascos de coletas de sangue estéreis e a Vácuo (Vacutainer ®), agulhas estéreis para fazer a ligação entra o frasco de soro e os Tubos Vacutainer ®. Após a coleta os tubos foram identificados e acondicionados em isopor com gelo para refrigeração até serem levados ao laboratório para realização da cultura, com intervalo máximo de 8 horas entre a coleta e a entrega no laboratório para o início do cultivo.

Exames de cultura

Os exames foram realizados no laboratório de microbiologia da Universidade de Vassouras.

As amostras passaram por centrifugação, inoculados em placas de petri contendo Meio Cled (bactérias) e meio Mycosel (fungos) e, posteriormente, incubadas a 37°C em aerobiose e microaerobiose por 24 horas a fim de se observar as características macroscópicas das colônias. Em sequência, as colônias isoladas de bactérias foram submetidas à coloração pelo método de Gram para avaliação das características morfotintoriais. A identificação dos microrganismos foi realizada através dos testes bioquímicos referentes a cada espécie.

Resultados:

No período da estação de monta reprodutiva entre outubro de 2018 e janeiro de 2019, 24 éguas foram testadas. Das 24 receptoras usadas, 21 animais (87,5%) se tornaram gestantes após inovulação de embrião.

Tabela 1- Resultado do cultivo do material proveniente dos úteros da éguas usados no trabalho à campo antes de serem tratadas com refrigerante à base de cola.

Lavado uterino de éguas				
Data	Receptora	Meio Cled (bactérias)	Meio Mycosel (fungos)	Resultado Gestacional
	161	Sem crescimento	Fungo	Pos
06/12/2018	56	Sem crescimento	Penicillium	Pos
	57	Cocos Gram -	Fungo	Pos
	Laranjeira	Cocos Gram -	Penicillium	Pos
06/12/2018	6	Sem crescimento	Sem crescimento	Pos
	20 MJ	Sem crescimento	Sem crescimento	Pos
	Missanga	Sem crescimento	Sem crescimento	Pos
	2608	Cocos Gram -/cocobacilos	Sem crescimento	Pos
	2433	Sem crescimento	Sem crescimento	Pos
	23 MJ	Sem crescimento	Sem crescimento	Pos
06/12/2018	59	Sem crescimento	Sem crescimento	Pos
06/12/2018	06 Hiran	Sem crescimento	Sem crescimento	Pos
	75 cast	Sem crescimento	Sem crescimento	Pos
22/11/2018	04 Alaza	Sem crescimento	Sem crescimento	Pos
22/11/2018	18 Cast	Cocos Gram -/cocobacilos	Sem crescimento	Pos
06/12/2018	Rivaldo	Sem crescimento	Sem crescimento	Neg
	19	Sem crescimento	Sem crescimento	Pos
	50	Sem crescimento	Sem crescimento	Pos
	12	Sem crescimento	Sem crescimento	Neg
12/12/2018	Viola	Sem crescimento	Sem crescimento	Pos
12/12/2018	01 PT	Sem crescimento	Sem crescimento	Pos
12/12/2018	Tord GF	Sem crescimento	Sem crescimento	Neg
12/12/2018	Massala	Sem crescimento	Sem crescimento	Pos
12/12/2018	Gilberta	Sem crescimento	Sem crescimento	Pos

Pos = Gestação positiva / Neg = A receptora não Gestou.

Um ponto importante ao se observar os resultados do cultivo do material coletado dos úteros das éguas receptoras de embriões é que o laboratório da Universidade de Vassouras não realizou testes para identificação de bactérias

anaeróbicas, podendo ser o caso de algumas das éguas acima não terem tido nenhum tipo de crescimento por este motivo.

Os resultados foram satisfatórios em relação à taxa de prenhez verificada nessas éguas, porém outras pesquisas terão que ser realizadas para se avaliar com maior clareza qual o real efeito do refrigerante à base de cola na inibição do crescimento dos fungos e bactérias.

Como dados complementares, durante a essa mesma estação de outubro de 2018 e fevereiro de 2019, outras 56 éguas de haras variados passaram pelos mesmos critérios de seleção acima citados e feitas a infusão com a Coca Cola , onde 49 resultaram em prenhez positiva (87,5 %), mostrando também um aumento satisfatório nas taxas de prenhez de éguas consideradas problemáticas em outros haras.

4. POSSÍVEIS APLICABILIDADES DO PRODUTO

O produto técnico utilizado neste trabalho pode ser realizado por qualquer Médico veterinário que atue na área de reprodução equina a campo, sendo um método muito simples, sem causar stress ou qualquer tipo de dano à saúde da égua, com um custo extremamente baixo para sua aplicação, contornando um problema grave para criadores de cavalo que tem em seu haras um programa de transferência de embriões, já que estas éguas normalmente seriam descartadas e, desta forma, o produto poderia ser uma alternativa eficaz para tratar animais com estes históricos reprodutivos.

5. CONCLUSÃO

O presente estudo concluiu que produto à base de cola (Coca cola ®) usado em infusão uterina de receptoras com histórico reprodutivo desfavorável, resultou em prenhez positiva após a inovulação de embriões. Porém, estudos futuros devem ser realizados, no intuito de elucidar melhor os reais efeitos da coca cola no útero dessas éguas.

6. REFERÊNCIAS

ALVARENGA, M.A. Comparação entre o exame citológico e histológico na detecção de alterações fisiológicas e patológicas do endométrio equino. **Tese de Doutorado**, Faculdade de Medicina. UNESP, Campus de Botucatu-SP, 1996.

ARRUDA,R.P.et al .Existem relações entre tamanho e morfoecogenicidade do corpo lúteo detectados pelo Ultrassom e os terrores de progesterona plasmática em receptoras de embriões equinos ? **Brazilian jornal of veterinary research and animal science** , São Paulo, v38, n.5, p233-239, 2001.

DASCANIO, J.J.; FERRIS, R. Uterine cytology collection: swab/brush. In DASCANIO, J.J.;MCCUE, P.M. **Equine reproductive procedures**. Aspen: Wiley Blackwell, 560p, cap. 17, p. 58- 62, 2014.

KENNEY, R. M.; DOIG, P.A. Equine endometrial biopsy, In: MORROW, D. A. **Current therapy in theriogenology II**. Philadelphia: W.S. Saunders, p.1143, 1986.

LADAS, S. D.; et al. Gastric phytobezoars may be treated by nasogastric Coca-Cola lavage. **European Journal of Gastroenterology & Hepatology: July 2002** - Volume 14 - Issue 7 - pp 801-803.

LEBLANC, M.M. Persistent mating-induced endometritis. In: ROBINSON, N.E. **Current therapy in equine medicine**. 5.ed. St. Louis: Elsevier Science, p. 234- 237, 2003.

LEBLANC, M.M. Antibiotic use in equine reproduction: local versus systemic therapy. In: 18th Annual Meeting of the Italian Association of Equine Veterinarians, 2012... **Proceedings**, Bologna, Italy, n. 3-5, p. 62-66, 2012.

LEY, W.B. Reprodução em éguas para veterinários de equinos. 1ª ed., São Paulo: Editora Roca, 220p., 2006.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO-MAPA. Brasília. Disponível em <http://abccmm.org.br/leitura.aspx?id=137>, acessado em 14 de Março de 2019.

RICKETTS, S.W. Uterine abnormalities. In: ROBINSON, N.E. **Current therapy in the equine medicine**. 2.ed. Philadelphia: W.B. Saunders, p. 503-508, 1987.

RUA, MA; QUIRINO , R.Q. , JÚNIOR , AB , BARRETO , MP . **Métodos diagnósticos de endometrite em éguas**, UENF 2016. Pubvet .V.10, n12, p 895-908, Dez., 2016

SCOGGIN, C.F. Endometritis: Nontraditional Therapies. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 32, n.3, p.499-511, 2016.

SQUIRES, E.L., SEIDEL, G.E. Collection and transfer of equine embryos. **Animal Reproduction Biotechnology Laboratory Bulletin**. Colorado State University, Fort Collins.p397, 1995

TROEDSSON, M.H.T. Uterine clearance and resistance to persistent endometritis in the mare. **Theriogenology**, v.52. p.461-471,1999.

TROEDSSON, M.H.T. therapeutic considerations for mating-induced endometritis. **Pferdeheilkunde**. v.13, n.15, p. 516-520, 1997.

7. ANEXOS

- 1- Equipamento de Ultrassom utilizado no experimento.



2- Materiais Utilizados no experimento



3- Infusão uterina com a Coca Cola

