

Perfil de sensibilidade antimicrobiana de bactérias isoladas, de piometra em cadelas, frente a gentamicina de infusão uterina (Gentrin®)

Antimicrobial sensitivity profile of isolated bacteria, from pyometra in bitches, in front of uterine infusion gentamycin (Gentrin®)

Perfil de sensibilidad antimicrobiana de bacterias aisladas, de piometra en perras, frente a gentamicina en infusión uterina (Gentrin®)

Recebido: 18/04/2021 | Revisado: 25/04/2021 | Aceito: 08/06/2021 | Publicado: 21/06/2021

Thiago Vaz Lopes

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3192-1908>
Centro Universitário Aparício Carvalho, Brasil
E-mail: Thiagovlopes@hotmail.com

Thaís de Almeida Souza

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2722-9601>
Centro Universitário Aparício Carvalho, Brasil
E-mail: thaís_medvet@hotmail.com

João Gustavo da Silva Garcia de Souza

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5899-2490>
Centro Universitário Aparício Carvalho, Brasil
E-mail: joaogarciadesouza27@gmail.com

Sandro de Vargas Schons

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9811-5356>
Universidade Federal de Rondônia, Brasil
E-mail: sandroschons@unir.br

Igor Mansur Muniz

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0863-6647>
Universidade Federal de Rondônia, Brasil
E-mail: igor.mansur@unir.br

Fernando Andrade Souza

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9474-9404>
Universidade Federal do Paraná, Brasil
E-mail: femedvet@yahoo.com.br

Resumo

O complexo hiperplásico endometrial cístico – piometra é caracterizado por uma desordem hormonal, tendo a progesterona como protagonista, levando ao surgimento de cistos ovarianos e uma sequência de alterações no endométrio, seguido por uma colonização bacteriana, estando as *Escherichia* e *Staphylococcus* dentre as principais, sendo assim objetivou-se com esse, isolá-las e avaliar a sensibilidade delas ao Gentrin® em três diferentes concentrações (150mg, 200mg e 300mg), tendo a Ceftriaxone como controle. Foram utilizadas 10 cadelas para esta pesquisa com idade média de 7 anos, após colheitas das secreções de piometra, delas foram isoladas as *Escherichia* e *Staphylococcus* para cultura e antibiograma. Foram isoladas em *E. coli* em 60% das amostras e *Staphylococcus* spp. em 40%, nos testes de antibiograma ambas demonstraram 100% de sensibilidade ao Gentrin® de 300mg, e em menores porcentagens para o de 150mg e 200mg. Conclui-se assim a eficácia da Gentrin® de 300mg sendo indicada para o tratamento por infusão uterina para piometra.

Palavras-chave: Reprodução; Biotecnologia reprodutiva; Protocolo alternativo.

Abstract

The hyperplastic cystic endometrial - pyometra complex is characterized by a hormonal disorder, with progesterone as the protagonist, leading to the appearance of ovarian cysts and a sequence of changes in the endometrium, followed by bacterial colonization, with *Escherichia* and *Staphylococcus* being among the main ones, being thus, the objective was to isolate them and evaluate their sensitivity to Gentrin® in three different concentrations (150mg, 200mg and 300mg), with Ceftriaxone as control. Ten female dogs were used for this research, with an average age of 7 years, after collecting the secretions of pyometra, *Escherichia* and *Staphylococcus* were isolated from them for culture and antibiogram. They were isolated from *E. coli* in 60% of the samples and *Staphylococcus* spp. in 40%, in the antibiogram tests both demonstrated 100% sensitivity to Gentrin® of 300mg, and in smaller percentages to 150mg and 200mg. This concludes the effectiveness of Gentrin® 300mg in the treatment by uterine infusion for pyometra.

Keyword: Reproduction; Reproductive biotechnology; Alternative protocol.

Resumen

El complejo hiperplásico quístico endometrial-piometra se caracteriza por una alteración hormonal, con la progesterona como protagonista, dando lugar a la aparición de quistes ováricos y una secuencia de cambios en el endometrio, seguidos de colonización bacteriana, siendo *Escherichia* y *Staphylococcus* entre los principales. Siendo así, el objetivo era aislarlos y evaluar su sensibilidad a Gentrin® en tres concentraciones diferentes (150 mg, 200 mg y 300 mg), con Ceftriaxona como control. Para esta investigación se utilizaron diez perras, con una edad promedio de 7 años, luego de recolectar secreciones de piometra, se aislaron de ellas *Escherichia* y *Staphylococcus* para cultivo y antibiograma. Se aislaron de *E. coli* en el 60% de las muestras y *Staphylococcus* spp. en el 40%, en las pruebas de antibiograma ambos mostraron una sensibilidad del 100% a Gentrin® de 300 mg, y en porcentajes menores a 150 mg y 200 mg. Con esto concluye la eficacia de Gentrin® 300mg estando indicado para el tratamiento por infusión uterina de la piometra.

Palabras clave: Reproducción; Biotecnología reproductiva; Protocolo alternativo.

1. Introdução

A piometra também denominada por complexo hiperplásico endometrial cístico, é uma patologia progressiva caracterizada por um desequilíbrio fisiológico uterino, seguido por uma colonização bacteriana, com acúmulo de pus intrauterino, acometendo de 9 a 15,2% das cadelas geralmente a partir da meia idade, podendo a sua resolução ser cirúrgica, por ovariectomia ou por fármacos antagonistas dos receptores de progesterona (Jitpean, et al., 2014; Ros et al., 2014).

O diagnóstico é realizado por uma combinação de anamnese, exames físicos e laboratoriais, como também os de imagem do útero e ovários (Trautwein, et al., 2017). Podendo a sua manifestação ser assintomática e em alguns casos, um achado incidental, evoluindo e manifestando de forma grave (Lobato, et al., 2014).

Sendo essa patologia com manifestação expressiva na rotina emergencial de pequenos animais, podendo a sua agressividade estar associada ao tipo de microrganismo envolvido, o agravamento e óbito ligado principalmente aos quadros de endotoxemia causada por eles (Pretzer, 2008; Barsanti, 2012).

Segundo Olson e Mather (1978) e Coggan (2005) o útero não apresenta uma carga bacteriana, sendo a presença delas caracterizado como um processo patológico, com predomínio de *Escherichia* e *Staphylococcus*.

A etiopatogenia do complexo hiperplásico endometrial cístico-Piometra, ainda não está totalmente elucidada, porém pode-se afirmar ser por um componente hormonal, um importante desenvolvimento inflamatório, e diferente do que se acreditava anteriormente, o tipo de bactéria infectante tem muita influência na determinação do início da doença como também aos efeitos sistêmicos (Cyrino, 2020).

O tratamento para piometra se concentra basicamente em uma remoção com urgência do foco de infecção, por esse motivo a seps e endotoxemia não devem ser fatores limitantes para a realização desse procedimento, caso esses ainda não estejam presentes, pode-se optar por um tratamento medicamentoso, sendo indicado uma associação de antimicrobianos, dentre os principais; amoxicilina e clavulanato, cefalosporina e sulfonamidas (Smith, 2006; Hagman, 2018).

Com este estudo objetivou-se realizar o isolamento de *Escherichia coli* e *Staphylococcus* spp. em secreções uterinas provenientes de piometra, e realizar o antibiograma com gentamicina de infusão intrauterina (Gentrin®), em três diferentes concentrações comparados ao controle por ceftriaxona (30µg).

2. Material e Métodos

Trata-se de um estudo quantitativo. As análises bacteriológicas foram realizadas segundo Hagman & Greko (2005). O teste de sensibilidade aos antimicrobianos foi realizado conforme a técnica proposta por Bauer et al. (1966), com modificações propostas pelo National Committee for Clinical Laboratory Standards.

2.1 Coleta de material

Nesta pesquisa foi avaliada a secreção uterina de 10 cadelas, acometidas por piometra, atendidas em diferentes clínicas veterinárias na cidade de Porto Velho – Rondônia, com idade relatadas entre 3 a 14 anos de vida, sendo a média de 7 anos, heterogêneas entre as raças como também a ausência dela, após a avaliação e identificação dos sinais clínicos como: vômito, prostração, inapetência, hipotermia, hipertermia, como ou sem descarga vaginal, associado ao histórico clínico, sendo então na sequência enviadas para o exame complementar de imagem (ultrassonografia), sendo marcado então após isso a realização do procedimento cirúrgico. Para a realização de uma análise bacteriológica foram coletadas por uma incisão uterina, após a ovariectomia, utilizando um swab estéril. Esse swab foi semeado em um tubo de ensaio contendo 5ml de caldo BHI (Brain and Heart Infusion) como enriquecimento, sendo incubado por 24/48h 36°C em aerobiose.

2.2 Avaliação microbiológica

As amostras em BHI após as 24h foram repassadas para eppendorf + Glicerol 15% e congeladas. Após a descongelação as amostras foram semeadas, empregando a técnica de esgotamento por estrias, em meio Levine Agar (E.M.B) e Mannitol Salt Agar (M.S.A, EUR PHARMA/USP) sendo esses dois meios seletivos, em seguida foram observadas as características morfológicas e pelas técnicas de rotinas bioquímicas laboratoriais, foram realizadas a catalase, fermentação de três açúcares, sendo eles a lactose 1%, sacarose 1% e glicose 0,1% e também o teste de coagulase. As colônias foram então replicadas em meio Agar soja por 24h para realização do teste de sensibilidade aos antimicrobianos. Foi empregando o método de difusão de discos, incubadas por mais 24 horas em aerobiose no meio de Mueller Hinton (M.S.A, EUR PHARMA/USP), para o teste de resistência a antimicrobianos, por disco-difusão (Kirby-Bauer) de Ceftriaxone (30µg) sendo esse o parâmetro de controle, e Gentamicina de infusão intrauterina (Gentrim®) em três diferentes concentrações, sendo elas de 300mg, 200mg e 150mg, sendo que essas três concentrações foram impregnadas em disco de papel filtro Quanta®, produzidos utilizando um perfurador de papel em metal T202-2®, embalado e autoclavados a 127°C por 15 minutos, a concentração de 300mg é a comercial do Gentrim®, as demais foram preparadas manipuladas a partir da comercial, sendo a para a de 150mg diluí-se 1/1 de solução fisiológica NaCl 9%, e para a de 200mg 0,66ml (Gentrim®300mg) para 0,44ml de NaCl 9%, após o período de incubação, foram interpretados pela realização das medidas de diâmetros do halo de inibição do crescimento dos microrganismos, seguindo a interpretação estabelecida conforme a CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute®).

3. Resultados

Foram coletadas 10 amostras de secreções uterinas de 10 cadelas, com idade entre 3 a 14 anos (Média 7anos), sendo que 70% delas apresentavam idade > ou = a 5 anos, nenhuma dessas cadelas apresentavam histórico de utilização de anticoncepcional a base de progestágenos, sendo que 40% delas eram nulíparas e 60% pluríparas. Sendo 60% de cadelas braquicefálicas e 40% dolicocefálicas, compreendidas por Sem Raça Definida - SRD (10%), American Bully (20%), Buldogue Francês (20%), Chow Chow (10%), Shih Tzu (10%), Poodle (10%), Pug (10%) e Rottweiler (10%).

As amostras foram semeadas em meios de crescimento Agar Levine (E.M.B) seletivo para as Enterobactérias, sendo a principal causadora de piometra dessa família o gênero *Escherichia* spp. e o Agar Mannitol Salt (M.S.A, EUR PHARMA/USP) para os *Staphylococcus* spp.

Nas amostras analisadas houve crescimento de *Escherichia* spp. em 40% (amostras 1, 2, 3 e 8) o teste de catalase confirmou o gênero *Staphylococcus* spp. (amostras 1, 2, 3 e 8). Para o teste de coagulase positivaram as amostras 1, 2 e 3 e negatizou a 8.

Para *E. coli* houve crescimento em 60%, sendo as amostras 4, 5, 6, 7, 8, 9 e 10, amostra oito houve crescimento para ambos os gêneros.

No teste de susceptibilidade “in vitro” dos microrganismos isolados das dez amostras de conteúdo intra-uterino frente ao antimicrobiano Ceftriaxone 30 μ g (Controle) e aos tratamentos de Gentamicina (Gentrin®) a 300mg, 200mg e 150 mg, sendo os valores de diâmetro do halo de sensibilidade dos *Staphylococcus* spp. demonstrado na Tabela 1.

Tabela 1 – Diâmetro do halo de sensibilidade “in vitro” dos agentes microbianos, isolados frente a Ceftriaxone 30 μ g e três diferentes concentrações de gentamicina em Agar Mannitol.

Antibiótico	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Amostra 8
Ceftriaxona (30 μ g)	25mm	32mm	40mm	28mm
Gentamicina 150mg	20mm	25mm	28mm	22mm
Gentamicina 200mg	23mm	26mm	30mm	23mm
Gentamicina 300mg	23mm	28mm	34mm	24mm

Fonte: Autores.

Na Tabela 2, podemos observar a sensibilidade frente ao antimicrobiano Ceftriaxone 30 μ g (Controle) e aos tratamentos de Gentamicina a 300mg, 200mg e 150 mg, aos agentes do gênero *Escherichia* spp.

Tabela 2 – Diâmetro do halo de sensibilidade “in vitro” dos agentes microbianos, isolados frente a Ceftriaxone (30 μ g) e três diferentes concentrações de gentamicina em Agar Levine (E.M.B).

Antibiótico	Amost. 4	Amost. 5	Amost. 6	Amost. 7	Amost. 8	Amost. 9	Amost. 10
Ceftriaxone (30 μ g)	25mm	26mm	28mm	25mm	25mm	26mm	25mm
Gentamicina 150mg	20mm	20mm	18mm	17mm	20mm	22mm	22mm
Gentamicina 200mg	18mm	22mm	20mm	20mm	18mm	20mm	18mm
Gentamicina 300mg	24mm	24mm	22mm	22mm	25mm	24mm	22mm

Fonte: Autores.

De acordo com os padrões de diâmetro de zona, e concentração inibitória mínima para patógenos veterinários, estabelecidos pela CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute®) que estabelece como sendo halo \geq 21mm para sensibilidade, 18mm a 20mm como intermediário e \leq 1,7mm como sendo resistente para *Escherichia* spp. como também para *Staphylococcus* spp.

A sensibilidade do *Staphylococcus* spp. a ceftriaxone (30 μ g) se demonstrou sensível em 100% das amostras, para Gentamicina 150mg, 75% (3/4) das amostras foram sensíveis e 25% (1/4) intermediárias, já para Gentamicina a 200mg e 300mg, 100% das amostras demonstraram-se sensíveis.

Já os resultados da sensibilidade das amostras de *Escherichia* spp. 100% foram sensíveis a Ceftriaxone (30 μ g), para Gentamicina a 150mg, foram sensíveis 28,57% (2/7) das amostras, 57,14% (4/7) intermediárias e 14,28% (1/7). Para Gentamicina a 200mg, apresentaram sensibilidade 14,28% (1/7) e intermediárias para 85,72% (6/7) das amostras. Os halos de susceptibilidade para a Gentamicina a 300mg apresentou 100% de sensibilidade para todas as amostras avaliadas.

4. Discussão

O aumento do nível de progesterona sérica desencadeia a suscetibilidade ao desenvolvimento e instalação de bactérias no útero, levando a um processo infeccioso, no complexo hiperplásico endometrial cístico-piometra, sendo esse então influenciado diretamente pelo desequilíbrio hormonal, associado a maior ou menor virulência das bactérias envolvidas (Chen, et al., 2003).

Foram selecionadas 10 cadelas para esse estudo sendo esse número próximo ao trabalhado por Cyrino (2020), com um $n = 7$ cadelas, em que também realizaram o isolamento de bactérias de secreção de piometra.

As cadelas estudadas nessa pesquisa apresentaram sinais clínicos compatíveis com piometra e o diagnóstico foi fechado com auxílio de exame complementar de imagem a ultrassonografia, com presença de conteúdo luminal uniforme com a opacidade alterada de anecóico para hipoecóico, indo ao encontro do estabelecido por Hagman et al. (2006) de que para fechar o diagnóstico de piometra, faz-se necessário a junção da anamnese, avaliação física e ultrassonográfica.

As alterações hormonais geralmente estão presente em cadelas de meia vida a idosas, sendo nessas a maior probabilidade de ocorrência, porem não deixando de uma forma menos frequente, de ocorrer nas cadelas jovens (Whitehead, 2008). Houve diferença significativa entre o peso das fêmeas, e uma menor entre a idade média, conforme já vem sendo demonstrado na literatura por Smith (2006); Verstegen et. al. (2008), Kida et. al. (2010) e por Cyrino (2020).

Sendo que comumente a faixa etária de acometimento, está na idade média de vida das cadelas, sendo a média encontrada nessa pesquisa de 7 anos, bem próximo aos 6,6 anos encontrados na pesquisa feita por Ribeiro (2019), que também demonstrou ausência de prevalência racial, o que já havia sido afirmado por Niskanen (1988), e também pode ser demonstrado nessa pesquisa, Cyrino (2020) em estabeleceu a média de $7,0 \pm 3,4$ anos.

Porem 70% (7/10) das cadelas no presente estudo eram braquicefalicas, podendo ser afirmado que não houve um predomínio racial, mas sim por um grupo de raças que tem em comum características de conformação anatômica, justificando-se por esse grupo apresentar dificuldades reprodutivas, necessitando de uma maior intervenção com biotecnologias reprodutivas, como a inseminação artificial, quando essa realizada por profissionais inexperientes ou até menos por proprietários, predispõe então a inoculação iatrogênica de bactérias em um ambiente anteriormente estéril.

Dentre as duas bactérias estudadas, das causadoras de piometra a de maior isolamento foi a *Escherichia coli*, em 60% das amostras, sendo uma possível justificativa a estimulação pela progesterona para uma melhor fixação dessas cepas nas paredes do endométrio e miométrio (Chen, 2003), no estudo de Ribeiro (2019) essa também foi a predominantemente isolada, para Coggan (2005) esse mesmo agente em 74,1% das amostras avaliadas, para Cyrino (2020) foi de 71,4%, já na pesquisa de Pinchett et. al. (2011) essa porcentagem ficou em 50%.

Foram isolados em 40% das amostras nesse estudo, as bactérias do gênero *Staphylococcus*, valores esses próximos aos 30 isolados também por Pinchett et. al. (2011), Padilha (2010) isolou 5 gêneros de bactérias sendo a principal também a *Escherichia coli* (48,9%) e a de menor porcentagem dentre elas os *Staphylococcus*, estando presentes em 2,13% das amostras.

A Ceftriaxone por ter sido demonstrada em diversos estudos como sendo uma das principais indicações para o tratamento sistêmico de cadelas com piometra, apresentando alta sensibilidade nos testes antibiogramas, foi assim escolhida e utilizada como controle nos testes de antibiograma nos isolamentos de *Escherichia coli* e *Staphylococcus* spp. (Smith, 2006; Agostinho, et al., 2014; Hagman, 2018).

Nas amostras positivas para *Staphylococcus* spp. (4/11), quando confrontadas aos discos de Ceftriaxone (30 μ g), apresentaram halo de sensibilidade entre 25 a 40mm, confirmando assim o que foi dito por Arispe et. al. (2013), de que a resistência a ceftriaxone pelos *Staphylococcus* spp. é muito baixo ou até nula.

Carmona e colaboradores (2008), também atestaram uma grande sensibilidade dos *Staphylococcus* spp. frente a gentamicina, sendo esse um antibiótico de eleição na medicina veterinária para o combate desses agentes. Já no estudo de Tulcán

& Catherine (2018) os *Staphylococcus* spp. coagulase positiva, apresentaram 72% de resistência a gentamicina, neste estudo 75% (3/4) das amostras isoladas *Staphylococcus* spp. eram coagulase positiva, estando em desconformidade aos dados supra citados, uma vez que houve 100% de sensibilidade, para as três diferentes concentrações empregadas (Gentrin® 300mg, 200mg e 150mg).

Segundo Padilha (2010) ao isolar *Escherichia coli* de secreção de piometra caninas, as amostras demonstraram-se com 100% de sensibilidade quando confrontadas com a gentamicina e Ceftriaxone no antibiograma.

Semelhantemente aos dados encontrados nessa pesquisa, em que todas as amostras isoladas de *Escherichia coli* apresentaram sensibilidade a ceftriaxone como também a gentamicina (Gentrin® 300mg), porém essa eficácia diminuiu significativamente com as concentrações menores pela diluição da gentamicina (Gentrin®300mg) para a concentração de 150mg e 200mg, se apresentaram sensíveis 28,57% e 14,28% respectivamente, quando confrontados com 100% de amostras sensíveis para a gentamicina Gentrin® 300mg, ficou-se evidente que a utilização empregada deve ser da concentração comercial, não devendo assim haver diluição dela durante o uso para infusão uterina em cadelas.

A Gentrin® Infusão Uterina, tem como princípio ativo a gentamicina (300mg/ml), para lavagem uterina com indicação no tratamento das endometrites e metrites, nos equinos, bovinos e suínos causadas por: *Escherichia coli*, *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Corynebacterium pyogenes*, *Pseudomonas* spp., *Klebsiella* spp., *Shigella* spp., *Samonella* spp., *Proteus* spp. variando a dosagem de 50ml a 200ml por infusão.

A Gentrin® não tem indicação em bula para utilização por infusão intrauterina em cadelas com patologias infecciosas do trato reprodutivo, tais como as do complexo hiperplásico endometrial cístico-Piometra, sendo assim fez-se necessário esse estudo para confrontar esse produto frente a sensibilidade das duas principais bactérias envolvidas; a *Escherichia coli* e *Staphylococcus* spp. na infecção nesse complexo nas fêmeas caninas.

Afim de viabilizar, preconizar e padronizar o uso da Gentrin® no tratamento da piometra canina, a dose empregada para tal, tem sido por nos utilizada na rotina clínica, na dosagem de 1ml/kg de peso corporal, com esse estudo ficou claro a necessidade de darmos continuidade na busca por tratamentos eficazes para piometra, como também certificar e validar esse princípio ativo na apresentação de infusão uterina, para o tratamento de piometra em cadelas.

Além da busca por protocolos alternativos e seguros para reestabelecimento da saúde reprodutiva da cadela, também tem sido despertado por vários pesquisadores a necessidade de uma eficiência no controle principalmente da *E. coli*, por tratar-se de um agente zoonótico.

Agostinho (2014) em seu estudo chama a atenção severamente para a estreita relação entre os cães e humanos, e trabalha com a resistência dessa bactéria isolada em piometra, e fatores de risco para o homem (Van Den Bogaard & Stobberingh, 2000; Guardabassi, et al., 2004). A resistência de cepas de *E. coli* isoladas de piometra já foi relatada por diversos autores (Coggan, et al., 2008; Carlos, et al., 2012; Huber, et al., 2013; Inoue, et al., 2013).

Foram demonstradas que cepas de *E. coli* isoladas das fezes como também de piometra, já apresentaram multirresistências em estudos anteriores para cefalotina, ampicilina, ciprofloxacina, norfloxacina e gentamicina, como descrito por Coggan et al. (2008), Siqueira et al. (2008), Inoue et al. (2013), como também foi apresentado nas duas concentrações mais baixas de diluições de Gentrin® no presente estudo.

5. Conclusão

Foram isoladas *Escherichia coli* e *Staphylococcus* em secreções uterinas com piometra, que se demonstraram sensíveis no antibiograma, para o controle a base de ceftriaxone (30µg) e para o tratamento a base de gentamicina (Gentrin® 300mg), com menor eficácia para as diluições de 200mg e 150mg, sendo a de Gentrin® 300mg indicada para o tratamento da piometra em cadela por infusão uterina.

Referências

- Arispe, G. F. L., et al. (2013). Sensitivity and resistance on the antibiogram of *Staphylococcus aureus* in patients of the Hospital Clinical Viedma. *Ver. Cient. Cienc. Méd.* 16(2).
- Álvarez, C. E. T. (2018). *Determinación de la presencia de Staphylococcus spp. coagulasa positivo y sus patrones de resistencia a antibióticos en casos de piodermatitis canina en la clínica veterinaria FMVZ-UCE*. 2018. 59 f. Dissertação (Trabajo de titulación previo a la obtención del Título de Médico Veterinario y Zootecnista) - Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Quito.
- Bauer, A. W., Kirby, W. M., Sherris, J. C., & Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal Clinical Pathology*, 45, 493-496.
- Barsanti, J. A. (2012). Genitourinary infections. In: C. E. Greene (Elsevier), editor. *Infectious Diseases of the Dog and Cat. 1. 4th ed.* (pp. 1376). Georgia.
- Carlos, C., et al. (2012). Use of *Escherichia coli* BOX-PCR fingerprints to identify sources of fecal contamination of water bodies in the State of Sao Paulo, Brazil. *Journal of Environmental Management*. 93(1), 38–43.
- Carmona, J. U., López, C. & Giraldo, C. E. (2008). Pleural abscesses produced by *Staphylococcus aureus* and beta-haemolytic *Streptococcus* spp. as a sequel of pleuropneumonia in a horse. A case report. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 590-596.
- Chen, Y. M. M. et al. (2003). Uropathogenic virulence factors in isolates of *Escherichia coli* from clinical cases of canine pyometra and feces of healthy bitches. *Veterinary Microbiology*. 94(1), 57-69.
- Coggan, J. A. (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 à saúde humana*. 157 f. Dissertação (mestrado) – Universidade de São Paulo. Medicina Veterinária e Zootecnia.
- Coggan, J. A., et al. (2008). Microbiological and histopathological aspects of canine pyometra. *Brazilian Journal of Microbiology*, 39(3), 477–483.
- Cyrino, M. A. (2020). *Biomarcadores inflamatórios e do estresse oxidativo na piometra canina*. 82 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu.
- Guardabassi, L., Schwarz, S. & Lloyd, D. H. (2004). Pet animals as reservoirs of antimicrobial-resistant bacteria. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 54(2), 321–332.
- Hagman, R. (2018). Pyometra in small animals. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 48(4), 639-661.
- Hagman, R. & Greko, C. (2005). Antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolated from bitches with pyometra and from uterine sample from Other dogs. *The Veterinary record*, 157, 193-196. 10.1136/vr.157.7.193
- Hagman, R., et al. (2006). Differentiation between pyometra and cystic endometrial hyperplasia/mucometra in bitches by prostaglandin F2 α metabolite analysis. *Theriogenology*, 66(2), 198-206.
- Huber, H., et al. (2013). ESBL-producing uropathogenic *Escherichia coli* isolated from dogs and cats in Switzerland. *Veterinary Microbiology*, 162(2-4), 992–996.
- Inoue, I., Shibata, S. & Fukata, T. (2013). Efficacy of fosfomycin on *Escherichia coli* isolated from bitches with pyometra. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 75(5), 657–658.
- Jitpean, S., et al. (2014). Outcome of pyometra in female dogs and predictors of peritonitis and prolonged postoperative hospitalization in surgically treated cases. *BMC Veterinary Research*, 10(6), 1746-6148.
- Kida, K., et al. (2010). Epidermal growth factor, transforming growth factor- α , and epidermal growth factor receptor expression and localization in the canine endometrium during the estrous cycle and in bitches with pyometra. *Theriogenology*, 73(1), 36-47.
- Lobato-miguélez, J., San-roman-sigler, M. & López-valverde, M. (2014). Piometra senil benigno gigante en útero bicorne. *Medisur*, 12(2), 414-418.
- Niskanen, M., Thrusfield, M. V. (1998). Associations between age, parity, hormonal therapy and breed, and pyometra in Finnish dogs. *Veterinary Record*, 143(18), 493-498.
- Olson, P. N. S., Mather, E. C. (1978). Canine vaginal and uterine bacterial flora. *Journal of American Veterinary Medical Association*, 172(6), 708-711.
- Padilha, L. C. P. (2010). *Análise do perfil bioquímico e hematológico em fêmeas caninas acometidas por piometra e cultura e antibiograma do conteúdo intrauterino*. 2010. 53 f. Tese (Conclusão de Residência Médico Veterinária em Reprodução Animal e Obstetrícia Veterinária) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- Pinchetti, M. A. A., Crossley, R. & Maier, L. (2011). Flora bacteriana y sensibilidad microbiana de cepas aisladas a partir de úteros de perras con piometra. *REDVET Revista Electrónica de Veterinaria*, 12(9), 1-6.
- Pretzer, S. D. (2008). Clinical presentation of canine pyometra and mucometra: a review. *Theriogenology*, 70(3), 359-363.
- Ribeiro, S. L. (2019). *Injúria renal aguda em cadelas com piometra: a importância do diagnóstico precoce*. 2019. 53 f. Dissertação (mestrado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás.
- Ros, L., Holst, B. S. & Hagman, R. (2014). A retrospective study of bitches with pyometra, medically treated with aglepristone. *Theriogenology*, 82(9), 1281-1286.

- Siqueira, A. K., Ribeiro, M. G. & Salerno, T. (2008). Perfil de sensibilidade e multirresistência em linhagens de *Escherichia coli* isoladas de infecção do trato urinário, de piometra e de fezes de cão. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 60(5), 1263–1266.
- Smith, F. O. (2006). Canine pyometra. *Theriogenology*, 66, 610-612.
- Trautwein, L. G. C., et al. (2017). Piometras em cadelas: relação entre o prognóstico clínico e o diagnóstico laboratorial. *Ciência Animal Brasileira*, 18, 1-10.
- Van den bogaard, A. E., Stobberingh, E. E. (2000). Epidemiology of resistance to antibiotics: links between animals and humans. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 14(4), 327–335.
- Verstegen, J., Dhaliwal, G. & Verstegen-onclin, K. (2008). Mucometra, cystic endometrial hyperplasia, and pyometra in the bitch: advances in treatment and assessment of future reproductive success. *Theriogenology*, 70(3), 364-374.
- Whitehead, M. L. (2008). Risk of pyometra in bitches treated for mismating with low doses of oestradiol benzoate. *Veterinary Record*, 162(23), 746-749.