

## **INFILTRADO LEUCOCITÁRIO EM CÉRVIX DE CADELAS COM PIOMETRA ABERTA E FECHADA.**

VOLPATO, Rodrigo<sup>1</sup>

ALVES, Ana Paula de Oliveira<sup>2</sup>

RODRIGUES, Marcela Marcondes Pinto<sup>3</sup>

LOPES, Maria Denise<sup>4</sup>

### **Resumo**

A piometra canina é uma doença frequente em cadelas comprometendo o útero. Apesar da elevada incidência, ainda é desconhecido o processo responsável pela forma aberta ou fechada. O objetivo da presente pesquisa foi estudar os mecanismos de abertura e fechamento cervical através da determinação do infiltrado leucocitário na cérvix. A leitura no epitélio luminal, epitélio glandular e camada muscular, em microscópio de luz em 400X, sendo os leucócitos classificados em número absoluto de neutrófilos, linfócitos, macrófagos, eosinófilos, mastócitos e plasmócitos. Os grupos e as camadas foram comparadas não sendo encontrada diferença significativa entre as cadelas com piometra aberta e fechada.

Palavras chave: piometra, epitélio cervical, cadelas

## **LEUKOCYTE INFILTRATION IN THE CERVIX OF BITCHES WITH PYOMETRA OPENED AND CLOSED.**

### **Abstract**

Canine pyometra is a common disease in dogs with involvement of the uterus. Despite the high incidence, is still unknown responsible for the open or closed form process. The objective of this research was to study the mechanisms of cervical opening and closing by determining the leukocyte infiltrate in the cervix. The reading was performed in the luminal epithelium, glandular epithelium and muscle layer, a light microscope at 400X, with leukocytes classified as absolute numbers of neutrophils, lymphocytes, macrophages, eosinophils, mast cells and plasma cells. The groups and layers were compared no significant difference the cervix bitches with open and closed pyometra.

Keywords: pyometra, cervical epithelium, bitches

1- Prof Dr na Disciplina de Cirurgia de Pequenos Animais na Faculdade MaxPlanck/Indaiatuba

2- Graduanda na Faculdade MaxPlanck/Indaiatuba

3- Dra em patologia animal UNESP/Botucatu e responsável pelo CEVEPAT

4- Profa Dra no Departamento de Reprodução Animal-UNESP/Botucatu

## INTRODUÇÃO

A piometra é uma doença frequente em cadelas adultas ou idosas. É caracterizada por uma infecção bacteriana uterina com acúmulo de secreção purulenta e comprometimento sistêmico. Essa doença é associada a uma variedade de sinais clínicos e termos como endometrite crônica, metrite purulenta crônica, ou complexo hiperplasia endometrial cística/piometra são usados na literatura para descrever essa condição (COGGAN et al., 2008; ANGULO, 2018).

A piometra se desenvolve como resultado de vários fatores etiológicos, incluindo a influencia hormonal, a virulência da bactéria invasora, a habilidade do animal em combater a infecção e a sensibilidade individual aos produtos inflamatórios e bacterianos (DOW, 1958; SANDHOLM; VASENIUS; KIVISTO, 1975; TRAUTWEIN, 2018).

A piometra é uma doença uterina observada principalmente durante a fase de diestro ou início anestro do ciclo estral. Hiperplasia endometrial cística (HEC) mediada pela progesterona ( $P_4$ ) e potencialmente agravada pelo estrógeno ( $E_2$ ) é sugerida como lesão inicial de piometra em cadelas (KEMPISTY et al., 2013).

A HEC é caracterizada por alterações degenerativas císticas que providenciam condições favoráveis para o estabelecimento de infecção uterina. O útero comprometido é invadido por patógenos da vagina que se multiplicam devido ao excesso de secreção acumulada no lúmen e nas glândulas uterinas. A *Escherichia coli* é a bactéria mais frequentemente isolada do útero de animais com piometra (WEISS et al., 2004).

Os sinais clínicos mais comuns associados à patologia em questão são secreção purulenta em casos de piometra aberta, desidratação, poliúria, polidipsia, letargia, sensibilidade abdominal, anorexia, vômito, diarreia, hipertermia ou hipotermia, coloração anormal das mucosas, taquicardia e taquipnéia (HAGMAN et al., 2006; SMITH, 2006; COGGAN et al., 2008; VERSTEGEN; DHALIWAL; VERSTEGEN-ONCLIN, 2008; KIDA et al., 2010; ANGULO, 2018).

O diagnóstico da piometra é pautado no histórico clínico, no exame físico, em análises do hemograma, no perfil bioquímico, na ultrassonografia e em exames radiográficos. O tratamento de escolha é a ovariectomia (OSH) pois previne a

recorrência da doença. Na ausência de complicações o prognóstico após o tratamento cirúrgico é bom (SHARIF et al., 2013; TRAUTWEIN, 2018).

Apesar da elevada incidência dessa afecção, ainda é desconhecido o processo responsável pela forma aberta ou fechada. A cérvix serve como uma barreira física prevenindo a infecção ascendente pela secreção de muco e constrição.

A abertura ou fechamento da cérvix são ciclo dependente. Na mulher, a dilatação cervical, durante o parto, correlaciona-se com a extensão do infiltrado de neutrófilos, entretanto, os mecanismos de dilatação cervical nas cadelas não são totalmente esclarecidos. De acordo com Chatdarong et al. (2008) as expressões de receptores estrogênicos (RE) e de progesterona (RP) na cérvix de cadelas são influenciados pelo estágio do ciclo estral e a infiltração neutrofílica no tecido cervical parece estar envolvida na dilatação cervical de cadelas com piometra.

Em trabalho realizado por Kunkitti et al. (2011) a expressão dos receptores estrogênicos e de progesterona foram influenciada pelo estágio de ciclo estral enquanto a infiltração de neutrófilos no tecido cervical parece estar envolvido na abertura cervical de cadelas com piometra independente do ciclo estral.

Os fatores que afetam o relaxamento/fechamento da cérvix nas cadelas com piometra não são bem definidos. A cérvix dilata durante o pro-estro/estro coincidentemente com o pico de estrógeno. Durante o estro a camada muscular da cérvix sofre uma hipertrofia e o epitélio glandular e luminal uma proliferação máxima. A cérvix fecha antes do início do diestro citológico e não se sabe exatamente por que a pressão intrauterina aumentada pelo acúmulo de material purulento nos cães com piometra não provoque a abertura cervical (ENGLAND; YEAGER, 1993).

A condição funcional da cérvix é regulada pela musculatura lisa, tecido fibroso e elastina. A remodelação da matriz extracelular tem um papel importante na dilatação cervical pela degradação do colágeno. Trabalho realizado por Chatdarong et al. (2010) concluíram que o útero de cadelas cíclicas apresentou uma proporção maior de colágeno quando comparado com fibras musculares lisa, provavelmente associada ao aumento do E<sub>2</sub> durante o estro, causando o relaxamento da cérvix. Resultado semelhante é visto em cadelas com piometra de cérvix aberta, sugerindo que a abertura da cérvix nesses casos é associada a um aumento da proporção entre colágeno e fibras musculares.

Ainda de acordo com Ângulo (2018), o aumento do E<sub>2</sub> e ocitocina durante o período pré-ovulatório pode estimular a síntese de PGE e seus receptores que servem para remodelar a matriz extracelular da cérvix produzindo o relaxamento cervical. Em ovinos, o uso do misoprostol aumenta a permeabilidade cervical no final do estro. Resultados isolados, sem evidência clínica de efetividade, sugerem o uso de misoprostol intravaginal para promover o relaxamento cervical em cadelas.

Goericke-Pesch et al. (2010) em estudo sobre a histomorfologia da cérvix relacionada às fases do ciclo estral em cadelas, enfatizou a importância das estruturas vasculares e das glândulas cervicais no fechamento da cérvix das cadelas pela formação de um corpo cavernoso e um tampão de muco. Esses autores mostraram que a cérvix de cadelas sofre modificações cíclicas durante o ciclo estral em particular com a P<sub>4</sub>.

Volpato et al. (2012) analisaram receptores de estrógeno  $\alpha$ , estrógeno  $\beta$ , progesterona, colágeno I e colágeno III da cérvix e endométrio canino bem como as concentrações plasmáticas de progesterona. Os resultados desse trabalho mostraram que os receptores de estrógeno  $\alpha$  e  $\beta$ , colágenos I e III comportaram-se da mesma maneira na piometra aberta e fechada, não estando envolvidos nos mecanismos de abertura e fechamento cervical. As concentrações de receptores de progesterona foram superiores nas piometras fechadas.

O objetivo dessa pesquisa foi avaliar a infiltração de leucócitos (neutrófilos, linfócitos, macrófagos, plasmócitos e mastócitos) na cérvix de cadelas portadoras de piometra e sua relação com abertura cervical.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Foram utilizadas 12 cadelas com diagnóstico de piometra atendidas na área de Reprodução de Pequenos Animais do Departamento de Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP, campus Botucatu. O diagnóstico foi realizado através de histórico clínico, exames físico, hemograma e avaliação ultrassonografia.

As cadelas foram divididas em dois grupos. O 1º grupo: cadelas com diagnóstico de piometra de cérvix aberta, apresentando secreção vaginal abundante, com aspecto purulento ou muco-purulento e o 2º grupo: cadelas com diagnóstico de

piometra de cérvix fechada, com ausência ou pequena quantidade de secreção vaginal purulenta ou muco-purulenta.

Como forma de tratamento foi realizada a técnica de OSH da forma convencional em todos os animais. Foi utilizado fio absorvível para ligadura de pedículos ovarianos e transfixação do coto uterino, assim como para a sutura da camada muscular, em pontos sultan e aproximação do subcutâneo com pontos contínuos emushing. Para o fechamento da pele foi utilizado nylon monofilamentoso e pontos simples separados

Com a retirada do órgão foram coletadas os fragmentos cervicais. Os fragmentos foram fixados em formol tamponado 10% durante 24 horas e, posteriormente, mantidos em álcool 70% até o momento de inclusão em parafina, realizada no Laboratório de Histopatologia do Serviço de Patologia Veterinária do Departamento de Clínica Veterinária – FMVZ – UNESP – Botucatu. Após a inclusão, cortes de 3 µm foram obtidos, montados em lâminas com extremidade fosca e corados em HE para posterior avaliação do material.

Foram realizadas leituras de 5 campos aleatórios de cada região da cérvix (epitélio luminal, glandular e muscular) em microscópio de luz em 400X, sendo os leucócitos classificados em número absoluto de neutrófilos, linfócitos, macrófagos, eosinófilos, mastócitos e plasmócitos. As camadas epitélio luminal, glandular e muscular foram avaliadas separadamente em cada grupo (piometra aberta x piometra fechada) e depois a somatória das células nos 15 campos avaliados estabeleceu o valor dos leucócitos totais para aquela lâmina.

Para comparação dos resultados médios entre os grupos de piometra aberta e piometra fechada no que diz respeito aos valores de leucócitos totais e das células leucocitárias utilizou-se o teste não paramétrico Mann-Whitney. A fim de detectar diferenças significativas entre os grupos, foi considerando  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os leucócitos foram contados no grupo piometra aberta e no grupo piometra fechada separadamente em cada camada da cérvix conforme representado a figura 01. Na figura 02 estão representados os números absolutos de leucócitos somados nos grupos piometra aberta e piometra fechada.

Figura 01: Números absolutos das células leucocitárias contadas, em 5 campos aleatórios, em cada camada da cérvix (epitélio luminal, epitélio glandular e camada muscular) de cadelas com piometra aberta e fechada.

	Piometra Aberta			Piometra Fechada		
	Luminal	Glandular	Muscular	Luminal	Gandular	Muscular
Neutrófilos	94	103	5	94	225	33
Linfócitos	321	155	52	867	358	45
Macrófagos	0	0	0	1	123	3
Eosinófilos	28	6	0	12	4	1
Plasmócitos	428	82	17	328	117	5
Totais	871	346	74	1302	827	87

Figura 02: Números absolutos totais de células leucocitárias contadas em 15 campos da cérvix em cada grupo de cadelas com piometra aberta e fechada.

	Piometra Aberta	Piometra Fechada
Neutrófilos	202	352
Linfócitos	528	1270
Macrófagos	0	127
Eosinófilos	34	17
Plasmócitos	527	450
Totais	1291	2216

Utilizando a mediana na comparação entre os grupos, não foram evidenciadas diferenças significativas entre o infiltrado leucocitário na cérvix de cadelas com piometra aberta ou fechada, tanto no total dos leucócitos como na quantificação de neutrófilos, linfócitos, macrófagos, eosinófilos e plasmócitos. Não foram encontrados mastócitos em nossa leitura. Estes testes estão representados nas figuras 03, 04 e 05.

Figura 03: Comparação entre os grupos piometra aberta e piometra fechada utilizando a mediana entre o primeiro quartil e o terceiro quartil através do teste Mann-Whitney das células leucocitárias (neutrófilos, linfócitos, macrófagos, eosinófilos e plasmócito) contatas na região do epitélio luminal da cérvix de cadelas com piometra.

<b>Epitélio Luminal</b>		Neutrófilo	Linfócito	Macrófago	Eosinófilo	Plasmócito	Total
Piometra cérvix aberta	1ºquartil	8	25,5	0	0	4	66
	Mediana	19,5	45,5	0	0,5	10,5	111
	3ºquartil	37	76,8	0	1	31,3	160,5
Piometra cérvix fechada	1ºquartil	4,3	39,5	0	0	23,8	100,8
	Mediana	11,5	94,5	0,5	0	51	16,5
	3ºquartil	27,8	157	1	1,5	64,8	286,3
p-valor		0,665	0,418	0,848	0,848	0,258	0,588

Figura 04: Comparação entre os grupos piometra aberta e piometra fechada utilizando a mediana entre o primeiro quartil e o terceiro quartil através do teste Mann-Whitney das células leucocitárias (neutrófilos, linfócitos, macrófagos, eosinófilos e plasmócito) contatas na região do epitélio glandular da cérvix de cadelas com piometra.

<b>Epitélio Glandular</b>		Neutrófilo	Linfócito	Macrófago	Eosinófilo	Plasmócito	Total
Piometra cérvix aberta	1ºquartil	0,5	11,5	0	0	3,3	23
	Mediana	8,5	8,5	0	8,5	8,5	8,5
	3ºquartil	21,8	38,3	0	0	5,5	62,3
Piometra cérvix fechada	1ºquartil	5,3	23	0	0	0,5	35,3
	Mediana	15	48	0	0	8,5	68,5
	3ºquartil	42,8	85,8	123	0,8	25,5	224,8
p-valor		0,896	0,474	1,000	1,000	0,474	0,931

Figura 05: Comparação entre os grupos piometra aberta e piometra fechada utilizando a mediana entre o primeiro quartil e o terceiro quartil através do teste Mann-Whitney das células leucocitárias (neutrófilos, linfócitos, macrófagos, eosinófilos e plasmócito) contatas na região da camada muscular da cérvix de cadelas com piometra.

<b>Camada Muscular</b>		Neutrófilo	Linfócito	Macrófago	Eosinófilo	Plasmócito	Total
Piometra cérvix aberta	1ºquartil	0	3	0	0	0	4
	Mediana	0	7	0	0	1	11
	3ºquartil	0	11	0	0	2,8	16,5
Piometra cérvix fechada	1ºquartil	0	4,8	0	0	0	14
	Mediana	3	7,5	0	0	0	14,5
	3ºquartil	7,5	10,3	0	0	1,5	15,8
p-valor		0,418	0,394	1,000	1,000	1,000	0,485

Como podemos observar não houve diferenças estatísticas entre os grupos estudados pois não obtivemos nenhuma correlação com  $p < 0,05$ .

Os casos de piometra abertas costumam ser menos graves do que as fechadas e o início da infecção pode não mostrar nenhum outro sinal do que apenas a secreção vaginal (HAGMAN et al., 2006; SMITH, 2006; COGGAN et al., 2008; VERSTEGEN; DHALIWAL; VERSTEGEN-ONCLIN, 2008; KIDA et al., 2010; ANGULO, 2018)

Em casos de piometra fechada, as cadelas apresentam-se deprimidas com sinais de letargia, apetite caprichoso e distensão abdominal. São frequentemente desidratadas e toxêmicas. Hipertermia pode ou não estar presente; em casos de toxemia geralmente os animais apresentam hipotermia. Poliúria e polidipsia são geralmente citadas como sinais típicos associados à alteração renal, entretanto, esses sinais apresentam-se em menos da metade das fêmeas diagnosticadas com piometra (ANGULO, 2018). Sendo assim, compreender o mecanismo de abertura cervical ajudaria no tratamento de cadelas com piometra, já que conseguiríamos abrir a cérvix e melhorar clinicamente a paciente.

No serviço de Reprodução de Pequenos Animais da FMVZ, UNESP, Botucatu, no momento do exame clínico, 78,9% das cadelas apresentaram secreção



vaginal, portanto, diagnosticadas como piometra aberta. Dessas, 58,05% apresentaram secreção purulenta, 24,15% secreção do tipo sanguinolento e 13,98% do tipo purulento/sanguinolento (MARCEU et al., 2010).

Ainda hoje a origem do relaxamento cervical nos casos de piometra aberta é desconhecida. Algumas hipóteses foram levantadas, sendo a de Weiss et al. (2004) bastante expressiva. A concentração de estradiol de cadelas com piometra aberta foi de  $43 \pm 6,5$  pg/ml e a de progesterona  $4,8$  ng/ml  $\pm 0,9$ . Para os casos de piometra fechada as concentrações de estrógenos foram de  $56,3 \pm 11,9$  pg/ml e a de progesterona foram  $13,2 \pm 5,5$  ng/ml. No caso do estradiol não houve diferença significativa entre os grupos, já para os níveis de progesterona foi evidenciado uma diferença significativa.

As concentrações de receptores de progesterona também foram superiores nas piometras fechadas; esse fato foi observado por Volpato et al. (2012) em estudo realizado na FMVZ, Botucatu. Assim sendo, Weiss et al. (2004) e Volpato et al. (2012) concordam com o envolvimento da progesterona no mecanismo de abertura e fechamento cervical em cadelas com piometra.

De acordo com Chatdarong et al. (2008) e Kunkittiet al. (2011) as expressões de receptores estrogênicos (RE) e de progesterona (RP) na cérvix de cadelas são influenciados pelo estágio do ciclo estral e a infiltração neutrofílica no tecido cervical parece estar envolvida na dilatação cervical de cadelas com piometra. Diferentemente desses autores, nossos resultados não demonstraram uma diferença significativa na quantificação dos leucócitos na cérvix de cadelas com piometra aberta ou fechada. Talvez esse mecanismo de relaxamento cervical esteja envolvido no parto, mas em relação aos casos de piometra os resultados não evidenciaram essa condição.

## CONCLUSÕES

A piometra deve ser tratada como uma emergência médica e uma rápida intervenção terapêutica pode ser necessária para prevenir a morte do animal.

O relaxamento cervical, independente do ciclo estral, poderia minimizar os sinais clínicos da paciente com piometra fechada e também facilitar a realização de exames citológicos e histopatológicos do endométrio para diagnóstico de processos

inflamatórios e neoplásicos. Portanto o entendimento de mecanismos de abertura cervical poderia auxiliar na clínica reprodutiva.

A degradação e remodelamento dos colágenos parecem interferir na abertura cervical, mas a infiltração de leucócitos (neutrófilos, linfócitos, macrófagos, plasmócitos e mastócitos) na cérvix de cadelas portadoras de piometra, não esta relacionada ao relaxamento cervical.

Os fatores que afetam o relaxamento/fechamento da cérvix nas cadelas com piometra permanecem desconhecidos e novos estudos devem ser conduzidos nesse sentido. O relaxamento cervical como forma de tratamento das piometras fechadas, mais tóxicas e com prognósticos mais graves ainda permanecem sem solução. O uso de prostaglandinas E2 ou F2 $\alpha$  e ou dos agonistas de receptores de progesterona, como forma de abertura cervical nas cadelas necessitam de pesquisas antes de serem incluídos como forma de tratamento da piometras fechadas.

## REFERÊNCIAS

ANGULO, S. M. Clinical aspects of uterine disease in the bitch and queen. Proceeding of the SEVC – Southern European Veterinary Conference. Barcelona, 2009. disponível em [www. ivis.org](http://www.ivis.org). Acesso em maio de 2018

CHATDARONG, K.; KUNKITTI, P.; SRISUWATANASAGUL, S. P2 Distribution of Oestrogen Receptor and Progesterone Receptor and Leukocyte Infiltration in Canine Cervical Tissue. Proceedings 7th Chulalongkorn University Veterinary Science the Animal Company. v.1, p.58, 2008.

CHATDARONG, K.; LINHARATTANARUKSA, P.; SIRIVAIIDYAPONG, S.; SRISUWATAMASAKUL, S. The proportions of Smooth Muscle and Collagen in the Cervical Tissue of Bitches during Various Stages of the Estrous Cycle and Bitches Developing. **Proceedings 9th Chulalongkorn University Veterinary Science the Animal Company**. v.1, p.129, 2010.

COGGAN, J.A.; MELVILLE, P.A.; OLIVEIRA, C.M.; FAUSTINO, M.; MORENO A.M.; BENITES, N.R. Microbiological and histopathological aspects of canine pyometra. **Brazilian Journal of Microbiology**. v.39, p.477-83, 2008.

DOW, C. The cystic endometrial hyperplasia-pyometra complex in the bitch. v.70, p.1102-8, 1958.

ENGLAND, G.C.W.; YEAGER, A.E. Ultrasonographic appearance of the ovary and uterus of the bitch during oestrus ovulation and early pregnancy. **Journal Reproduction Fertility**, 1993;.47:107-17.

GOERICKE-PESCH, S.; SCHMIDT, B.; FAILING, K.; WEHREND, A. Changes in the histomorphology of the canine cervix through the oestrus cycle. **Theriogenology**. v.74, n.6, p.1075-81, 2010.

HAGMAN, R.; KINDAH, L.H.; FRANSSON, B.A.; BERGSTROMA, A.; STROMHOLST, B.; LAGERSTEDT, A.S. Differentiation between pyometra and cystic endometrial hyperplasia/mucometra in bitches by prostaglandin F2a metabolite analysis. **Theriogenology**, v.66, p.198-206, 2006.

KEMPISTY, B.; BUKOWSKA, D.; WOZNA, M.; PIOTROWSKA, H.; JACKOWSKA, M.; ZURAW, A.; Endometritis and pyometra in bitches: a review. **Veterinarie Medicina**. v.58, n.6, p.289-97, 2013.

KIDA, K.; MAEZONO, Y.; KAWATE, N.; INABA, T.; HATOYA, S.; TAMARA, H. Epidermal growth factor, transforming growth factor- $\alpha$ , and epidermal growth factor receptor expression and localization in the canine endometrium during the estrous cycle and in bitches with pyometra. **Theriogenology**, v.73, p.36-47, 2010.

KUNKITTI, P.; SRISUWATANASAGUL, S.; CHATDARONG, K. Distribution of estrogen receptor alpha and progesterone receptor, and leukocyte infiltration in the cervix of cyclic bitches and those with pyometra. **Theriogenology**. 2011;75:979-87.

MARCEU, R.H.; LOPES, M.D.; KANEKO, C.M.; VOLPATO, R. Levantamento Retrospectivo dos Diagnósticos de Piometra associado a Erlichiose Canina. Botucatu, SP.2010. **Anais.....Botucatu: XXII Congresso de Iniciação Científica da UNESP**. p.1370-4, 2010.

SANDHOLM, M.; VASENIUS, H.; KIVISTO, A.K. Pathogenesis of canine pyometra. **JAVMA**. v.167, n.11, p.1006-10, 1975.

SHARIF, H.; HAGMAN, R.; WANG, L.; ERIKSSON, S. Elevation of serum thymidine kinase 1 in a bacterial infection: Canine piometra. **Theriogenology**. v.79, p.17-23, 2013.

SMITH, F.O. Canine pyometra. **Theriogenology**. v.66, p.610-2, 2006.

TRAUTWEIN, L.G.C.; SANT'ANNA, M.C.; JUSTINO, R.C.; MARTINS, I.M. Guia revisado sobre o diagnostic e prognóstico da piometra canina. **Investigação**. v.17, n.1, p.16-23, 2018.

VERSTEGEN, J.; DHALIWAL, K.; VERSTEGEN, O. Mucometra, cystic endometrial hyperplasia and pyometra in the bitch: Advances in treatment and assessment of future reproductive success. **Theriogenology**, v.70, p.364-74, 2008.

VOLPATO, R.; MARTIM, I.; RAMOS, R.S.; TSUNEMI, R.H.; LAUFER-AMORIM, R.; LOPES, M.D. Imunoistoquímica de útero e cérvix de cadelas com diagnóstico de piometra. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia**. v.64, n.5, p.1109-17, 2012.

WEISS, R.R.; CALOMENO, M.A.; SOUSA, R.S.; BRIERSDORF, S.M.; MURADÁS, P. Avaliação histopatológica, hormonal e bacteriológica da piometra na cadela. **Archives of Veterinary Science**. v.9, n.2, p.81-7, 2004.