

UTILIZAÇÃO DA OZONIOTERAPIA COMO TRATAMENTO DA ENDOMETRITE EM ÉGUA

(Use of ozone therapy as endometritis treatment in mare)

Juliana Gomes VASCONCELOS^{1*}; Maria Eduarda Magalhães de SOUZA²; Amanda Bricio Pereira de ANDRADE¹; Julia Carrah COLARES³; Antônio Carlos de Albuquerque TELES-FILHO¹; Carminda Sandra Brito SALMITO³

¹Hospital Veterinário da Universidade Estadual do Ceará (UECE). Av. Dr. Silas Munguba, 1700, Campus do Itaperi, Fortaleza/CE. CEP: 60.740-000; ²Médica Veterinária Autônoma; ³Faculdade de Medicina Veterinária (UECE). *E-mail: julianagomessvet@gmail.com

RESUMO

Conformações perineais inadequadas estão frequentemente associadas à pneumovagina, predispondo animais a processos inflamatórios vaginais e uterinos. Dentre as patologias reprodutivas que acometem éguas, a endometrite é a que ocorre com maior frequência, com forte impacto negativo sobre os índices reprodutivos de um criatório. Para essa afecção, a ozonioterapia se apresenta como tratamento em potencial. Assim, este estudo objetiva relatar um caso de endometrite em égua Quarto de Milha, múltipara, de 17 anos de idade, atendida no Hospital Veterinário Sylvio Barbosa Cardoso, da Universidade Estadual de Ceará. Durante a avaliação ginecológica, observou-se alterações na conformação vulvar e teste de *Windsucker* positivo, indicando pneumovagina. Foram coletadas amostras endometriais para exames laboratoriais, os quais apresentaram citologia com contagem de neutrófilos polimorfonucleares $\geq 30\%$ e cultura negativa para fungos e bactérias. O exame histopatológico revelou fibrose intersticial endometrial crônica acentuada. Diante do diagnóstico de endometrite, iniciou-se o tratamento com lavagem uterina usando solução ringer lactato ozonizada, seguido por insuflação uterina com ozônio. O animal foi submetido à técnica cirúrgica de Caslick para correção da má conformação vulvar. Após o tratamento, a égua foi inseminada, resultando na coleta de dois embriões viáveis. Diante do exposto, o caso reforça a efetividade da ozonioterapia associada à Caslick para o tratamento de endometrite em éguas.

Palavras-Chave: Reprodução, vulvoplastia, histopatologia, ozônio, útero.

ABSTRACT

Dysfunctional perineal conformations are often associated with pneumovagina, predisposing animals to vaginal and uterine inflammatory processes. Among the reproductive pathologies that affect mares, endometritis is the most frequent, with a strong negative impact on the reproductive indices of a farm. For this condition, ozone therapy presents itself as a potential treatment. The study aimed to report a case of endometritis in a 17-year-old multiparous quarter-mile mare, which was attended at the Veterinary Hospital Sylvio Barbosa Cardoso located in the State University of Ceará. During the gynecological evaluation, changes in vulvar conformation and a positive Windsucker test were observed, indicating pneumovagina. Endometrial samples were collected for laboratory exams, resulting in cytology with polymorphonuclear neutrophil count $\geq 30\%$ and negative culture for fungi and bacteria. The histopathological examination revealed severe chronic endometrial interstitial fibrosis. Regarding the diagnosis of endometritis, the treatment with uterine lavage using ozonated ringer lactate solution was initiated followed by uterine insufflation with ozone. The animal was submitted to Caslick's surgical technique to correct the vulvar malformation. After treatment, the mare was inseminated, resulting in the collection of two viable embryos. In view of the above, the case reinforces the effectiveness of ozone therapy associated with Caslick's technique for endometritis treatment in mares.

Keywords: *Reproduction, vulvoplasty, histopathology, ozone, uterus.*

INTRODUÇÃO

O Brasil se destaca como o primeiro e o segundo país do mundo em número de

Recebido: dez./2021.

Publicado: jun./2022.

transferências de embriões equinos produzidos *in vivo* e *in vitro*, respectivamente (VIANA, 2020). Contudo, para que se tenha êxito em programas de reprodução equina, é necessário que matrizes e doadoras tenham bons índices de fertilidade. Vários fatores podem afetar a fertilidade: sazonalidade, genética, nutrição, manejo, e sanidade geral e reprodutiva (TAKAKURA, 2020).

Alterações na conformação perineal são comuns em fêmeas senis, múltiparas e com baixo escore de condição corporal, tornando o trato reprodutivo suscetível à contaminação. Isso acontece devido à quebra das barreiras fisiológicas presentes entre o ambiente externo e o lúmen uterino, sendo elas: lábios vulvares, esfíncter, vestibulo vaginal e cérvix (DASCANIO, 2014). Dessa forma, as éguas se tornam suscetíveis ao desenvolvimento de pneumovagina, uma afecção definida pela presença contínua ou intermitente de ar no canal vaginal (BRINSKO *et al.*, 2011). A pneumovagina comumente se encontra associada a processos inflamatórios a nível vaginal e uterino, sendo uma das causas de endometrite em éguas (BRINSKO *et al.*, 2011).

Dentre as patologias reprodutivas que acometem éguas, a endometrite é a que ocorre com maior frequência, levando a um forte impacto negativo sobre os índices reprodutivos de um criatório. Essa afecção pode ser definida como a inflamação aguda, crônica ou degenerativa do endométrio, podendo estar associada à infecção bacteriana ou fúngica (TAKAKURA, 2020). Por esses fatores, alternativas para o tratamento de endometrite são muito estudadas e o uso de ozônio tem se apresentado como um tratamento em potencial na medicina humana e veterinária (IMHOF *et al.*, 2019; MERHI *et al.*, 2019).

A ozonioterapia tem demonstrado eficiência em tratamentos de diversas patologias na medicina humana e veterinária. Na área de reprodução animal, estudos em equinos relatam resultados positivos da utilização da ozonioterapia em éguas com falha reprodutiva (JANINIA *et al.*, 2020). A ozonioterapia pode reduzir a necessidade de administração de antimicrobianos, sendo uma técnica de baixo custo e sem liberação de resíduos e contaminação do meio ambiente (BRINSKO *et al.*, 2011). A utilização de ozônio, em éguas senis e múltiparas, apresenta-se como uma terapia potencial, visto que comprovadamente possui um alto potencial de regeneração vascular, através da estimulação da expressão do VEGF (fator de crescimento endotelial vascular). Tal fator é um potente estimulador da angiogênese e atua diretamente na coordenação do processo de reepitelização (VALACCHI *et al.*, 2011; ESTELLER-VICO, 2012; KIRKIL *et al.*, 2016).

Considerando o impacto da endometrite na atuação do médico veterinário na reprodução equina e a importância do estudo de alternativas terapêuticas eficientes para o seu tratamento, este trabalho tem por objetivo relatar o efeito da insuflação do endométrio com ozônio e lavagem uterina com solução ringer lactato ozonizada, associadas à correção cirúrgica, sobre o infiltrado inflamatório no endométrio de égua diagnosticada com endometrite.

ATENDIMENTO AO PACIENTE

Uma égua de 17 anos de idade, da raça Quarto de Milha, pesando 500 kg, deu entrada no Hospital Veterinário Sylvio Barbosa Cardoso, da Universidade Estadual do Ceará, para avaliação reprodutiva. A égua foi adquirida sem histórico clínico e o proprietário relatou que havia se passado aproximadamente um ano desde o seu último parto.

Recebido: dez./2021.

Publicado: jun./2022.

Ao exame físico, a égua se apresentava clinicamente saudável, contudo, durante a avaliação ginecológica, foram observadas alterações como o aumento do comprimento efetivo da vulva e a má oclusão dos lábios vulvares. De acordo com o índice Caslick (CASLICK, 1937), o animal se encaixava no grupo II (PASCOE, 1979). Adicionalmente, foi identificado acúmulo de grande quantidade de ar no canal vaginal indicativo de pneumovagina, que se apresentou positivo no teste de *Windsucker* (PASCOE, 1979).

À palpação transretal, o útero apresentava tônus característico da fase de diestro. O exame ultrassonográfico foi realizado utilizando o equipamento de ultrassom DM10V Pro[®] (Sonoscape, Shenzhen, China), através de sonda linear transretal na frequência de 7 MHz. Na avaliação ultrassonográfica, foram observadas estruturas císticas no endométrio e presença de líquido no lúmen uterino de carácter hipocogênico e aspecto heterogêneo, sugestivo de elevada celularidade, além de visibilização de reforço acústico distal, indicando presença de ar no lúmen uterino (Fig. 01). O tamanho dos ovários se apresentava compatível com a espécie (esquerdo: 4,0cm × 5,0cm × 5,0cm; direito: 5,0cm × 5,0cm × 4,0cm) e um corpo lúteo estava presente no ovário direito. A palpação transretal e a ultrassonografia foram realizadas de acordo com a técnica descrita por Carnevale e Olsen (2011).

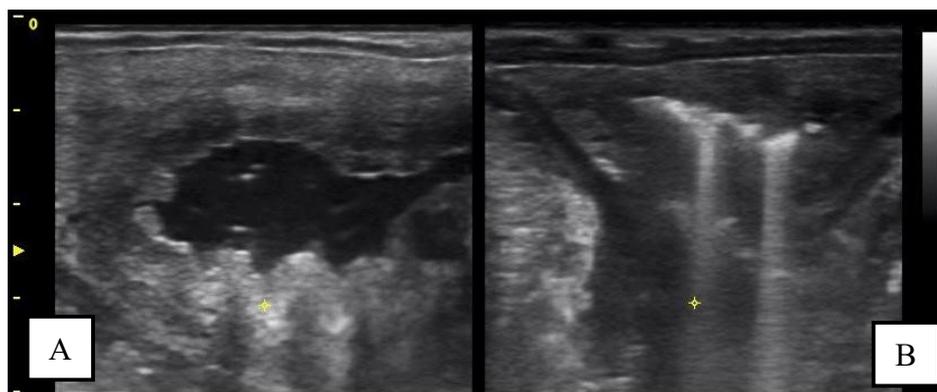


Figura 01: Imagem ultrassonográfica de útero equino, corte longitudinal, evidenciando presença de conteúdo líquido hipocogênico e heterogêneo.

Obs.: (A) Reforço acústico distal, indicativo de ar, (B) Lúmen uterino.

Após a higienização da região perineal, foi realizada a vaginoscopia com espéculo Polansky, observando-se cérvix fechada, com aspecto dentro da normalidade e sem lesões ou descarga. No exame digital, a cérvix se encontrava fina e fibrosa. A vaginoscopia e o exame digital da cérvix foram realizados de acordo com a técnica descrita por Dascanio (2014).

Foi realizada coleta de amostra do endométrio para avaliação histopatológica. O animal foi colocado em tronco de contenção adequado e a cauda foi envolvida com plástico filme nos 30cm próximos à base, e desviada lateralmente, a fim de evitar contaminação da região perineal após a antissepsia. A região perineal foi higienizada por três vezes consecutivas, através de lavagem com detergente neutro e secagem com toalhas de papel descartáveis. Para a avaliação histopatológica do útero, foi coletado um fragmento de tecido utilizando uma pinça Yeoman (Botupharma[®], Botucatu, Brasil) estéril, específica para biópsia endometrial em éguas. A amostra coletada tinha aproximadamente 2cm de comprimento e 1cm de largura, e foi obtida por meio do método adaptado descrito por Love (2011).

Recebido: dez./2021.

Publicado: jun./2022.

Após o procedimento, foi aplicado 1mL de prostaglandina sintética (Ciosin[®], MSD saúde Animal, São Paulo, Brasil) por via intramuscular. Avaliações ultrassonográficas foram realizadas a cada 48 horas após a aplicação de prostaglandina, para determinar o diâmetro do folículo dominante em milímetros e o grau do edema uterino em escala de 0 a 5, de acordo com Samper (2009). Quando o animal atingiu edema grau 2 e diâmetro folicular igual ou maior que 30mm, foram coletadas amostras para cultura e antibiograma a partir de swab endometrial, e para citologia uterina a partir de escova citológica, conforme técnica descrita por Ferris *et al.* (2015). A citologia revelou contagem de neutrófilos polimorfonucleares acima de 30% e a cultura não identificou a presença de bactérias ou fungos.

No exame histopatológico, foi observado endométrio espessado em lâmina própria, edema acentuado e discreto infiltrado linfoplasmocitário no estrato compacto, além de perda de glândulas endometriais e marcada fibrose intersticial. Adicionalmente, foi observada evidente proliferação e dilatação de vasos sanguíneos e linfáticos.

No mesmo ciclo estral que foram obtidas as amostras para diagnóstico, iniciou-se o tratamento do animal no início da fase de estro, através de lavagens uterinas com solução ringer com lactato, previamente ozonizada, seguidas de insuflação com ozônio. O tratamento foi realizado até o dia da ovulação, totalizando três lavagens, realizadas em dias alternados. Em cada lavagem foi infundido um litro de solução ozonizada, mantendo-a no útero por cinco minutos antes de retirá-la. Esse procedimento foi repetido quatro vezes, o que totalizou quatro litros de solução ozonizada por lavagem. Após a lavagem, o útero foi inflado por quatro minutos na concentração de 38µg/mL, no fluxo de 0,25 L/minuto, totalizando um litro de gás, e foi massageando por um minuto para que o gás entrasse em contato com o útero por completo.

Para ozonizar a solução ringer lactato, foi utilizado um equipamento gerador de ozônio portátil modelo O&L 1.5 (Ozone&Life[®], São José dos Campos, Brasil). Para isso, um equipo estéril permanecia acoplado à saída da mistura de gases ozônio/oxigênio, na concentração de 72µg de O₃/mL de oxigênio, obtida através da regulagem do fluxômetro de entrada de O₂ em ¼ litros por minuto, na máxima potência da máquina. O gás era injetado continuamente durante cinco minutos na parte inferior do frasco, de forma que percorresse através da coluna de solução. Devido à instabilidade do ozônio em soluções aquosas, a lavagem uterina era realizada imediatamente após o preparo da solução.

Após o diagnóstico de ovulação e a conclusão das lavagens, optou-se por realizar a correção cirúrgica da condição anômala de fechamento vulvar. Para isso, foi feita sedação e anestesia peridural, além de antisepsia pré-operatória. Assim, o animal foi submetido à técnica cirúrgica preconizada por Caslick (1937) e permaneceu em repouso por 15 dias para cicatrização (Fig. 02).

No ciclo reprodutivo seguinte ao término do tratamento, foi realizado novamente acompanhamento ultrassonográfico. Ao atingir edema uterino grau 3 e folículos com diâmetro igual ou maior que 35mm, foi aplicado 1mg de acetato deslorelina (IM) (Sincrorrelin[®], Ouro Fino, Cravinho, Brasil) e 2.500 UI / IV de Gonadotrofina Coriônica Humana (Vetecor[®], Hertape Calier, Juatuba, Brasil) para indução da ovulação. Após 24 horas da indução da ovulação, a inseminação artificial foi realizada no corpo uterino, com sêmen refrigerado, introduzindo uma dose total de 1.000 x10⁶ espermatozoides. Passadas 36 horas após a indução, foi realizada a ultrassonografia transretal, com intervalos de quatro horas para diagnóstico de

ovulação, e com 40 horas após a indução foram visibilizadas duas ovulações. Após dez dias do diagnóstico de ovulação, foram coletados dois embriões, de acordo com a técnica descrita por Brinsko *et al.* (2011).

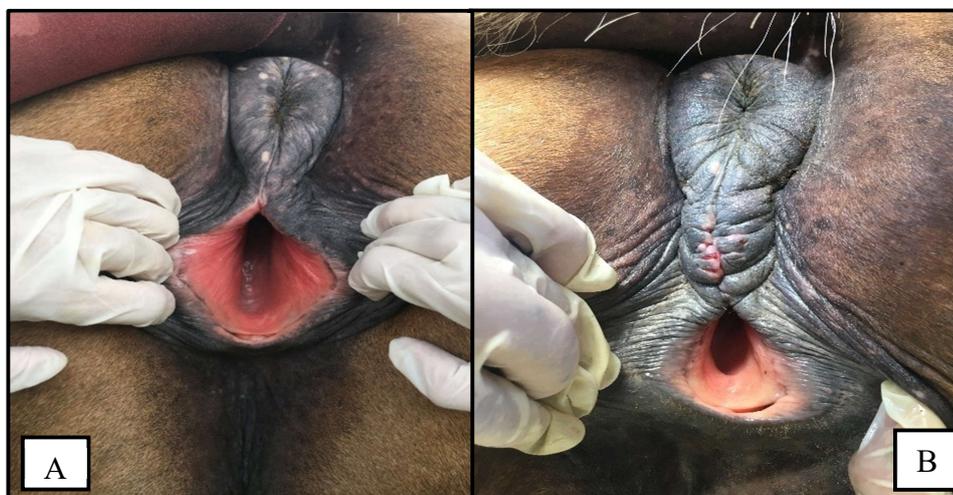


Figura 02: Conformação e abertura vulvar em égua antes (A) e 15 dias depois (B) da correção cirúrgica pela técnica de Caslick.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O animal foi diagnosticado com pneumovagina causada pela má conformação perineal. A pneumovagina é uma das causas comumente associadas a inflamações uterinas, podendo ocasionar quadros crônicos de vaginite, provocada por fechamento insuficiente da vulva e vestibulo, associada à deficiência de conformação perineal (CASLICK, 1937; BRINSKO *et al.*, 2011). Para o tratamento da má conformação perineal, foi realizada a cirurgia de vulvoplastia, pela técnica descrita por Caslick (1937). De acordo com Rocha (2018), há relação direta entre o aumento do valor do índice de Caslick e a presença de lesões endometriais, o que sugere a capacidade da ascensão da inflamação, e, possivelmente, da infecção, para o ambiente intrauterino. Nesses casos, a vulvoplastia se torna parte essencial do tratamento do animal com pneumovagina.

Visando o diagnóstico de possível infecção intrauterina, foi realizada a cultura do líquido acumulado no útero. O resultado da cultura endometrial deve ser sempre interpretado em combinação com os sintomas e achados citológicos e histopatológicos (DASCANIO, 2014). Apesar da cultura bacteriana e fúngica ter sido negativa no animal, os achados citológicos e histopatológicos indicaram um processo inflamatório severo. A cultura negativa com um resultado citológico positivo sugere inflamação causada por causas não infecciosas, como endometrite induzida pós-acasalamento, pneumoútero, e acúmulo de urina. No entanto, bactérias intrauterinas nem sempre são cultivadas usando as técnicas padrão e, se uma causa significativa de inflamação não pode ser identificada, diagnósticos adicionais, como uma lavagem de baixo volume (BALL *et al.*, 1988; LEBLANC *et al.*, 2007) ou PCR para DNA microbiano (FERRIS *et al.*, 2013; FERRIS *et al.*, 2014), podem ser feitos. Em alguns casos, organismos bacterianos e fúngicos podem ser vistos em uma lâmina citológica e os resultados

da cultura uterina serem negativos (FERRIS, 2017).

No referido caso, o resultado obtido na análise histopatológica evidencia fibrose intersticial endometrial crônica acentuada, caracterizando o endométrio como grau III de degeneração, de acordo com a categoria definida por Kenney (1978). As lesões histopatológicas, observadas em casos de pneumovagina associada a pneumoútero, são relacionadas a um maior grau de degeneração uterina (Grau III). Na maioria das vezes, essas lesões estão presentes em fêmeas que possuem maior valor no índice de Caslick, como fêmeas mais velhas (ROCHA, 2018). Maior idade, inflamação endometrial recorrente, múltiplas gestações e partos têm sido considerados, ao longo das últimas décadas, potenciais fatores etiológicos das alterações degenerativas do endométrio (HOFFMANN *et al.*, 2009).

Após a associação da técnica cirúrgica de Caslick com o tratamento à base de ozônio, foi observada diminuição do processo inflamatório intrauterino do animal. A ação anti-inflamatória do ozônio é potencializada pela inibição de citocinas pró-inflamatórias e fosfolipase A2, e pela ação estimuladora de citocinas imunossupressoras, como IL10 e TNF β 1 (fatores anti-inflamatórios e de reparo tecidual) SCIORSCI *et al.*, 2019). A terapia intrauterina com ozônio demonstrou ter propriedades imunoestimulantes, imunomoduladoras e anti-inflamatórias (ESCANDÓN *et al.*, 2020; JANINIA *et al.*, 2020; MORAIS *et al.*, 2020). Ainda, segundo Kim *et al.* (2009), o ozônio atua na reperfusão tecidual, sendo utilizado no tratamento de síndromes isquêmicas (DI FILIPPO *et al.*, 2008). Tal efeito se dá pela elevação da expressão de fator de crescimento vascular endotelial (VALACCHI *et al.*, 2011) e consequente promoção de intensa angiogênese (KIRKIL *et al.*, 2016).

CONCLUSÕES

A associação da correção cirúrgica da conformação perineal com a ozonioterapia foi eficiente na redução do processo inflamatório a nível endometrial. O animal tratado com ozônio intrauterino apresentou melhora na fertilidade, indicada pela posterior recuperação embrionária. Dessa forma, a recuperação de embriões na paciente sugere que o tratamento promoveu melhora no ambiente intrauterino, sendo um achado importante para o tratamento de doadoras e matrizes. Mais pesquisas sobre a ozonioterapia no tratamento da endometrite são recomendadas, a fim de determinar o período de tratamento mais apropriado e a concentração necessária para aumentar a produção de embriões em éguas afetadas por endometrite.

REFERÊNCIAS

BALL, B.A.; SHIN, S.J.; PATTEN, V.H.; LEIN, D.H.; WOODS, G.L. Use of a low-volume uterine flush for microbiologic and cytologic examination of the mare's endometrium. *Theriogenology*, v.29, n.6, p.1269-1283, 1988.

BRNSKO, S.P.; VARNER, D.D.; SHUMACHER, J.; LOVE, C.C.; HINRICHS, K.; HARTMAN, D. *Manual of Equine Reproduction*. 3ª ed., Elsevier, 2011. 332p.

CARNEVALE, M.E.; OLSEN, M.L. *Equine reproduction*. 2ª ed., Iowa: Wiley-Blackwell; 2011. 3288p.

Recebido: dez./2021.

Publicado: jun./2022.

CASLICK, E.A. The vulva and the vulvovaginal orifice and its relation to the genital health of the thoroughbred mare. *Cornell Veterinary*, v.27, n.2, p.178-187, 1937.

DASCANIO, J. Uterine Culture Collection: Swab/Brush. In: DASCANIO, J.; McCUE, P. *Equine Reproductive Procedures*. Ames, Iowa: Blackwell Publishing, p.58-63, 2014.

DI FILIPPO, C.; MARFELLA, R.; CAPODANNO, P.; FERRARACCIO, F.; COPPOLA, L.; LUONGO, M.; MASCOLO, L.; LUONGO, C.; CAPUANO, A.; ROSSI, F.; D'AMICO, M. Acute oxygen-ozone administration to rats protects the heart from ischemia reperfusion infarct. *Inflammation Research*, v.57, n.10, p.445-449, 2008.

ESTELLER-VICO, A.; LIU, I.K.; COUTO, S. Uterine vascular degeneration is present throughout the uterine wall of multiparous mares. Colinearity between elastosis, endometrial grade, age and parity. *Theriogenology*, v.78, n.5, p.1078-1084, 2012.

ESCANDÓN, B.M.; ESPINOZA, J.S.; PEREA, F.P.; QUITO, F.; OCHOA, R.; LÓPEZ, G.E.; GALARZA, D.A.; GARZÓN, J.P. Intrauterine therapy with ozone reduces subclinical endometritis and improves reproductive performance in postpartum dairy cows managed in pasture-based systems. *Tropical Animal Health and Production*, v.52, p.2523-2528, 2020.

FAPRI. Food and Agricultural Policy Research Institute (W.A.O. Database [ed.]). Food and Agricultural Policy Research Institute; Iowa State University and University of Missouri-Columbia, 2019. Disponível em: <<http://www.fapri.iastate.edu/tools/outlook.aspx>>. Acessado em: 01 jul 2021.

FERRIS, R.A.; DERN, K.; VEIR, J.K.; HAWLEY, J.R.; LAPPIN, M.R.; McCUE, P.M. Development of a broad-range quantitative polymerase chain reaction assay to detect and identify fungal DNA in equine endometrial samples. *American Journal of Veterinary Research*, v.74, n.1, p.161-165, 2013.

FERRIS, R.A.; VEIR, J.K.; LAPPIN, M.R.; McCUE, P.M. Development and Comparison of Sampling Techniques for a Broad Range, Semiquantitative Polymerase Chain Reaction Assay for Detection of Bacterial DNA in the Equine Uterus. *Journal of Equine Veterinary Science*, v.34, n.5, p.687-693, 2014.

FERRIS, R.A.; BOHN, A.; MCCUE, P.M. Equine endometrial cytology: collection techniques and interpretation. *Equine Veterinary Education*, v.27, n.6, p.316-322, 2015.

FERRIS, R.A. Current understanding of bacterial biofilms and latent infections: A clinical perspective. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.41, n.1, p.74-80, 2017.

HOFFMANN, C.; ELLENBERGER, C.; MATTOS, R.C.; AUPPERLE, H.; DHEIN, S.; STIEF, B.; SCHOON, H.A. The equine endometrosis: new insights into the pathogenesis. *Animal Reproduction Science*, v.111, n.2/4, p.261-278, 2009.

IMHOF, S.; LUTERNAUER, M.; HÜSLER, J.; STEINER, A.; HIRSBRUNNER, G. Therapy of retained fetal membranes in cattle: comparison of two treatment protocols. *Animal Reproduction Science*, v.206, p.11-16, 2019.

JANINIA, L.C.Z.; SILVA-JUNIOR, E.R.; TIRONI, S.M.T.; MENDONÇA, V.H.; CRUZ, L.D.; RAMOS, A.F.; CIPRIANO, R.S. Intrauterine infusion reduces inflammatory status and could be increased the embryo recovery in mares with chronic endometritis. *PUBVET*, v.14, n.3, p.139, 2020.

KENNEY, R.M. Cyclic and pathologic changes of the mare endometrium as detected by biopsy, with a note on early embryonic death. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v.172, n.3, p.241-262, 1978.

KIM, H.S.; NOH, S.U.; HAN, Y.W.; KIM, K.M.; KANG, H.; KIM, H.O.; PARK, Y.M. Therapeutic effects of topical application of ozone on acute cutaneous wound healing. *Journal of Korean medical science*, v.24, n.3, p.368-374, 2009.

KIRKIL, C; YIGIT, M.V.; ÖZERCAN, I.H.; AYGEN, E.; GÜLTÜRK, B.; ARTAS, G. The effect of ozonated olive oil on neovascularization in an experimental skin flap model. *Advances in skin & wound care*, v.29, n.7, p.322-327, 2016.

LEBLANC, M.M.; MAGSIG, J.; STROMBERG, A.J. Use of a low-volume uterine flush for diagnosing endometritis in chronically infertile mares. *Theriogenology*, v.68, n.3, p.403-412, 2007.

LOVE, C.C. *Equine reproduction*. 2ª ed., Iowa, USA: Blackwell Publishing Ltd. Endometrial biopsy, cap.23, p.1929-1939, 2011.

MERHI, Z.; GARG, B.; MOSELEY-LARUE, R.; MOSELEY, A.R.; SMITH, A.H.; ZHANG, J. Ozone therapy: a potential therapeutic adjunct for improving female reproductive health. *Medical Gas Research*, v.9, n.2, p.101-110, 2019.

MORAIS, J.P.; TIM, C.R.; ASSIS, L. Considerações sobre o uso da Ozonioterapia (O3) no tratamento de Endometriose. *Research, Society and Development*, v.9, n.9, 2020. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v9i9.7616>. Acesso em 24 nov. 2021.

PASCOE, R.R. Observations on the length and angle of declination of the vulva and its relation to fertility in the mare. *Journal of Reproduction and Fertility*, v.9, n.27, p.299-305, 1979.

ROCHA, F.T. Meio condicionado de células tronco mesenquimais como tratamento de endometriose em éguas. 2018. 62p. (Dissertação de Mestrado em Medicina Animal de Equinos). Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Programa de Pós-Graduação em Medicina Animal: Equinos, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, 2018.

SAMARDZIJA, M.; TURK, R.; SOBIECH, P.; VALPOTIC, H.; HARAPIN, I.; GRACNER, D.; ĐRURICI, D. Intrauterine ozone treatment of puerperal disorders in domestic ruminants: a review. *Veterinarski Arhives*, v.87, n.3, p.363-375, 2017.

SAMPER, J.C. Uterine edema in the mare. In: SAMPER, J.C. *Equine breeding management and artificial insemination*. 2ª ed., Saint Louis: Saunders Elsevier, p.133-138, 2009.

SCIORSI, R.L.; LILLO, E.; OCCHIOGROSSO, L.; RIZZO, A. Ozone therapy in veterinary medicine: A review. *Research in Veterinary Science*, v.130, n.1, p.240-246, 2019.

TAKAKURA, G.S. Avaliação do efeito da utilização de lavagem uterina com solução fisiológica ozonizada em éguas. 2020. 56p. (Dissertação de Mestrado Acadêmico em Produção e Reprodução Animal). Faculdade de Zootecnia e Medicina Veterinária, Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, 2020.

VALACCHI, G.; LIM, Y.; BELMONTE, G.; MIRACCO, C.; ZANARDI, I.; BOCCI, V.; TRAVAGLI, V. Ozonated sesame oil enhances cutaneous wound healing in SKH1 mice. *Wound Repair and Regeneration*, v.19, n.1, p.107-115, 2011.

VIANA, J.H.M. Statistics of embryo production and transfer in domestic farm animals. *Embryo Transfer Newsletter*, v.38, n.4, p.10-26, 2020.