



ALVALIAÇÃO DA MICROBIOTA VAGINAL DE FÊMEAS CANINAS RELACIONADAS COM O CICLO ESTRAL

**STEIN¹, Marluce; CASTRO², Luciana Laitano Dias de; GUIOT², Êmille
Gedoz; SILVA², Luis Gustavo Crochemore da; SILVEIRA², Genini Rodrigues;
CLEFF³, Marlete Brum; SCHRAMM⁴, Renata Costa**

^{1,2}Graduando Medicina Veterinária UFPel, Benjamin Constant, 2070 Centro
CEP 96010-020. malustein@hotmail.com

³ Professora adjunta de Terapêutica – Faculdade de Veterinária - UFPel

⁴ Laboratório de Bacteriologia – Faculdade de Veterinária - UFPel

INTRODUÇÃO

O ciclo estral da fêmea canina é o mais longo de todas as espécies domésticas, com duração de quatro a dez meses, e caracteriza-se por apresentar as fases de proestro, estro, metaestro/diestro e anestro (DERIVAUX, 1980; RODRIGUES & RODRIGUES, 2002). Em cada uma destas fases, por meio de esfregaço vaginal, podem ser observadas células do tipo parabasais, basais intermediárias e superficiais nucleadas e anucleadas, em diferentes proporções (RODRIGUES & RODRIGUES, 2002). Alterações hormonais que ocorrem durante o ciclo estral podem influenciar no desenvolvimento de microrganismos no muco vaginal (OLIVEIRA et al., 1998).

As infecções bacterianas do sistema urogenital são freqüentes e geralmente são causadas por bactérias constituintes da microbiota normal (BARSANTI et al. 1994). Estudos têm citados como constituintes da microbiota bacteriana os gêneros *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Proteus* e *Haemophylus*, e as espécies *Escherichia coli* e *Pasteurela haemolítica*.

Dentre os fungos, as leveduras do gênero *Candida*, *Malassezia* e *Rhodotorula* entre outras, pertencem à microbiota de mucosas e pele de mamíferos (RIPPON, 1988), podendo tornarem-se patogênicas em indivíduos com microbiota alterada ou com mecanismos de defesa comprometidos (LACAZ et al., 2002).

De acordo com o exposto acima, o objetivo do trabalho foi estudar a microbiota fúngica e bacteriana vaginal de fêmeas caninas e suas alterações nas fases do ciclo reprodutivo.

MATERIAIS E MÉTODOS

No mês de Junho de 2009 foram avaliadas 29 fêmeas caninas provenientes de locais variados, sendo 13 domiciliadas e 16 procedentes do Projeto Castração da

Universidade Federal de Pelotas. Os animais tinham idade entre cinco meses e 12 anos, sendo a maioria sem raça definida (58,6%), e o restante das seguintes raças: Labrador (14%), Schitzu (3,4%), Australian Cattle Dog (3,4%), Rotweiller (7%), Boxer (3,4%) e Buldogue Inglês (3,4%).

As amostras de conteúdo vaginal foram coletadas com utilização de *swabs* estéreis (n=3) e utilizadas para avaliação bacteriológica, fúngica e citologia vaginal. Através do afastamento dos lábios vulvares, foi inserido o *swab* até a porção dorsal da vagina, e efetuados movimentos de rotação em toda a circunferência vaginal, sempre mantendo contato com a mucosa.

Para determinação da fase do ciclo foi realizado exame clínico, comportamental e específico da vagina das fêmeas. Os animais foram classificados de acordo com o comportamento em: acuada/agressiva; não apresenta resistência, levanta a cola ao passar a mão. Foram avaliadas as seguintes modificações na mucosa vaginal: pruriteamento, edema, hiperemia e presença de secreção. A secreção, quando presente, foi avaliada quanto ao aspecto quantitativo em escassa e abundante; e quanto ao aspecto qualitativo em serosa, mucosa, purulenta e sanguinolenta.

O *swab* destinado para citologia vaginal foi rotacionado sobre uma lâmina de microscopia, sendo esta fixada e corada pelo panótipo rápido. Após a secagem as lâminas foram examinadas em microscópio óptico, aumento 100x, com óleo de imersão. A técnica foi utilizada para visualização das diferentes classes celulares do epitélio vaginal, sendo estas: parabasais, basais intermediárias, superficiais nucleadas e anucleadas.

Para o cultivo fúngico as amostras foram semeadas em ágar Sabouraud dextrose com cloranfenicol e incubadas a 35°C em estufa por um período máximo de 5 dias. As leveduras foram caracterizadas por macro e micromorfologia, para macromorfologia foi observado coloração, textura, topografia, presença ou ausência de pigmentos, etc., enquanto que na microscopia observou-se tipo de brotamento, presença ou não de micélio e de cápsula.

As amostras para cultivo bacteriano foram semeadas através do método de esgotamento em ágar sangue com 5% de sangue ovino e em ágar MacConkey para enterobactérias, sendo ambas incubadas a 37°C por 24 horas em estufa bacteriológica. Após crescimento, as colônias foram observadas quanto tamanho, morfologia e características individuais. A seguir foram submetidas ao teste da catalase¹, da oxidase² e coradas pela técnica de Gram para visualização em microscópio óptico, aumento 100x com óleo de imersão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Do total de 29 amostras de secreção vaginal coletadas para a análise bacteriológica, seis não apresentaram crescimento e 23 amostras apresentaram crescimento das seguintes bactérias: *Streptococcus* sp. (34,8%), *Staphylococcus* sp. (26,2%) e poliflora (17,4%); *Proteus*+*Streptococcus* (4,3%), *Escherichia coli* (4,3%), e *Proteus*+*Staphylococcus* (4,3%) (Tabela 1) . Outros estudos tem observado maiores percentuais destes gêneros bacterianos na mucosa vaginal de fêmeas caninas. Carneiro et al. (2005) analisaram amostras da vagina de fêmeas sadias, demonstrando a presença de *Staphylococcus* sp em 76,19%, *E. coli* em 66,66% e *Streptococcus* sp em 57,14% do total de amostras. Enquanto que Moreno et al. (1973) relataram maior percentagem de isolamentos com *Staphylococcus aureus*

(25,5%), seguido por *Escherichia coli* (23,8%) e *Streptococcus* beta-hemolítico (20,5%).

Isolamento de Bactérias	Fases do ciclo estral			
	Proestro n(%)	Estro n(%)	Diestro n(%)	Anestro n(%)
Com crescimento	02(66,6)	01(100)	09(90)	11(73,4)
<i>Streptococcus</i>	-	-	02(20)	06(40)
<i>Staphylococcus</i>	01(33,3)	-	03(30)	02(13,4)
Poliflora	-	01(100)	01(10)	02(13,4)
Bacilo G ⁻ não caracterizado	-	-	01(10)	01(6,6)
<i>Proteus</i> + <i>Streptococcus</i>	-	-	01(10)	-
<i>Escherichia coli</i>	-	-	01(10)	-
<i>Proteus</i> + <i>Staphylococcus</i>	01(33,3)	-	-	-
Sem crescimento	01(33,3)	-	01(10)	04(26,6)
Total	03(100)	01(100)	10(100)	15(100)

Tabela 1 - Frequência de isolamento de leveduras em relação às fases do ciclo estral de amostras de secreção vaginal de 29 fêmeas caninas.

Nas 29 amostras destinadas ao cultivo fúngico, 14 apresentaram crescimento, 13 não apresentaram e duas foram perdidas por contaminações. Dentre as amostras positivas, *Malassezia pachydermatis* (50%) foi a levedura mais isolada seguida de *Candida* spp. (21,5%), *Rhodotorula*+*Candida* (14,3%), *Trichosporon* (7,1%) e *M. pachydermatis*+*Candida* (7,1%) (Tabela 2).

Tabela 2 – Frequência de isolamento de leveduras em relação às fases do ciclo estral de amostras de secreção vaginal de 29 fêmeas caninas.

Isolamento de Leveduras	Fases do ciclo estral			
	Proestro n(%)	Estro n(%)	Diestro n(%)	Anestro n(%)
Com crescimento	01(33,3)	-	03(30)	09(60)
<i>Malassezia Pachydermatis</i>	01(33,3)	-	03(30)	03(20)
<i>Candida</i>	-	-	-	02(13,4)
<i>Rhodotorula</i> + <i>Candida</i>	-	-	-	02(13,4)
<i>Trichosporon</i>	-	-	-	01(6,6)
<i>Malassezia P.</i> + <i>Candida</i>	-	-	-	01(6,6)
Sem crescimento	02(66,7)	01(100)	04(40)	06(40)
Contaminação	-	-	02(20)	-
Total	03(100)	01(100)	10(100)	15(100)

Os resultados obtidos concordam com trabalho realizado por Cleff (2003), onde ao avaliar 217 amostras de secreção vaginal de cadelas, obteve o isolamento de *Malassezia pachydermatis* (18,4%), seguida por *Candida* spp/*M. pachydermatis* (15,7%) e *Candida* spp (14,7%). Estas leveduras pertencem à microbiota, sendo

consideradas como patógenos oportunistas, sendo encontradas na vagina, reto, pele interdigital e sacos anais (MARTINS et al., 2004; CLEFF et al, 2003.).

As fêmeas caninas utilizadas neste estudo em sua maioria, apresentaram-se na fase de anestro (n=15/51,7%), provavelmente por esta ser a fase do ciclo reprodutivo com maior duração. Esta fase tem período variável, que oscila entre dois e dez meses, e está relacionada a fatores raciais, etários, sanitários, ambientais, entre outros (RODRIGUES & RODRIGUES, 2002). Entre as fêmeas restantes, dez (34,5%) apresentavam-se no diestro, três (10,3%) no proestro e apenas uma (3,5%) no estro.

CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos neste trabalho, pode-se perceber que a citologia vaginal é um método prático, rápido e de baixo custo, que permite a determinação da fase do ciclo estral. As bactérias *Streptococcus* sp. e *Staphylococcus* sp., e as leveduras *Malassezia pachydermatis* e *Candida* sp., fazem parte da microbiota vaginal de fêmeas caninas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARSANTI, J.A.; FINCO, D.R.; BROWN,S.A. Diseases of the lower urinary tract. In: SHERDING, R.G. **The cat: diseases and clinical menagement**. 2 ed., Philadelphia: W.B. Saunders, 1994.

CARNEIRO A. P.; TONIOLLO G. H.; SCHOCKEN-ITURRINO R.P. Avaliação microbiológica da flora vaginal e do corpo uterino de cadelas (*Canis familiaris*) submetidas a ovariosalpingohisterectomia. **Rev. ARS Veterinária**, Jaboticabal, SP, vol.21, n3., 361-367, 2005.

CLEFF, M. B.; **Isolamento e identificação de leveduras da microbiota vaginal de fêmeas caninas, nas diferentes fases do ciclo estral**. Universidade Federal de Pelotas, Tese de Mestrado, Pelotas, 2003.

DERIVAUX, J. **Reprodução dos animais domésticos**. Editora Zaragoza: Editora Acribia. 1980. p.3.

LACAZ, C. S.; SALEBIAN, A.; MENDES, M.J.S.; TAKAHASHI, N. & NAGAO, M.T. – Ecologia das Leveduras do Gênero *Candida*. In: LACAZ. C. S., org. - **Candidíases**. São Paulo: Ed. da Universidade de São Paulo, 1980, p.47-54.

MARTINS, A. A.; ROSA, C. S.; NASCENTE, P. S.; SOUZA, L. L.; SANTOS, D. V.; FARIA, R. O.; MEIRELES, M. C. A. **Utilização dos Tweens 20, 40, 60 e 80 para identificação das espécies do gênero *Malassezia***. In: Congresso de Iniciação Científica da Universidade Federal de Pelotas, XIII, 2004, Pelotas.

MORENO, G., BICUDO, P.L., LOPES, C. A. M. Aspectos bacteriológicos da flora vaginal de cadelas. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.40, p.59-62, 1973.

OLIVEIRA, CM; COSTA, EO; SILVA, JAP microbiota aeróbica in fêmeas caninas hígdas durante o ciclo estral. Avaliação da sensibilidade aos antimicrobianos. **Rev. Bras. Med. Vet.**, 20 (2), 78-84, 1998.

RIPPON, J. N. The pathogenic fungi and the pathogenic actinomycetes. In: **Medical Mycology**, Saunders, 797p. 1988.

RODRIGUES, B. A.; RODRIGUES, J. L., Endocrinologia reprodutiva na cadela. **Rev. Clínica Veterinária**, ano VII, n.40, 50-58, 2002.