

XVIII

CIC

XI ENPOS
I MOSTRA CIENTÍFICA



Evoluir sem extinguir:
por uma ciência do dever



ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS E CITOLÓGICOS UTILIZANDO A TÉCNICA DE LAVADO UTERINO COM BAIXO VOLUME EM ÉGUAS

**MEIRELLES, M.G.¹, ABREU, M. C.¹, LISBOA, F. P.¹, SCHUCH, L. F. D.²,
NOGUEIRA, C. E. W.³**

¹Acadêmico (a) do curso de Medicina Veterinária – UFPe; ²Professor Dr. adjunto do Departamento de Veterinária Preventiva, Disciplina de Doenças Infecciosas – UFPe; ³Prof. Dr. Departamento de Clínicas Veterinária FV-UFPe. Campus Universitário s/n – Caixa Postal 354 – CEP 96010-900. lela_meirelles@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

O estudo da endometrite desperta grande interesse de pesquisadores pelo fato de ser a principal causa de sub-fertilidade e infertilidade em éguas, e tem sido reportada como a terceira de maior incidência na espécie, gerando grandes prejuízos a equideocultura (LIU & TROEDSSON, 2008).

Endometrite pode ser definida como uma inflamação do endométrio que pode ser aguda ou crônica, infecciosa ou não infecciosa (BRITO & BARTH, 2003). Alguns fatores intrínsecos das éguas fazem com que esta espécie doméstica seja considerada a mais predisposta às infecções uterinas. Estes fatores incluem um período de cio longo, cérvix pouco eficiente como uma barreira protetora do útero, além do fato de o garanhão ejacular diretamente no interior do útero (PIMENTEL *et al*, 2007).

Muitos estudos têm sido realizados para avaliar a eficiência de técnicas laboratoriais para diagnóstico de endometrite em éguas. A análise histológica permite avaliar a presença de inflamação, fibrose e degeneração glandular no endométrio, e alguns autores propõem uma correlação entre susceptibilidade para infecção e alterações histológicas (NIELSEN, 2005). O estudo citológico é uma ferramenta útil para um rápido diagnóstico de inflamação uterina em condições práticas de campo. No entanto, estas duas análises indicam apenas que a égua apresenta inflamação uterina, mas não fornecem a etiologia da doença (NIELSEN, 2005).

Cultura bacteriológica a partir de swab encoberto da superfície endometrial é uma prática rotineiramente usada, embora a coleta de amostras para análise microbiológica seja simples e não invasiva, a técnica pode apontar resultados falsos negativos ou falsos positivos (NIELSEN, 2005; LIU & TROEDSSON, 2008). Além disso, outras causas de endometrite que não são originadas de infecção bacteriana, também têm sido descritas (TROEDSSON *et al.*, 2006).

Para éguas inférteis ou subférteis, tem sido proposto lavado uterino com baixo volume como alternativa para análises microbiológica e citológica no diagnóstico de endometrite (LIU & TROEDSSON, 2008; LE BLANC *et al*,

2007). O primeiro relato do uso de lavado uterino com baixo volume foi realizado por Ball *et al* (1988), onde demonstraram ser uma técnica em inclusão potencial, como um método mais efetivo para identificação de patógenos bacterianos e resposta inflamatória, com ênfase em éguas inférteis e subférteis.

O presente trabalho teve como objetivo correlacionar o exame ginecológico a achados microbiológicos e citológicos de éguas utilizando a técnica de lavado uterino com baixo volume.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho foi realizado em 10 éguas, entre 5 e 30 anos de idade, peso médio de 400kg, criadas em sistema extensivo ou semi-estabuladas. Foi conduzido exame ginecológico e a partir deste realizado coleta de material para cultura microbiológica e análise citológica. O exame ginecológico baseou-se no histórico reprodutivo, inspeção, palpação retal e vaginoscopia (PIMENTEL *et al*, 2007).

Para a coleta de material foi realizada técnica de lavado uterino com baixo volume citada por Card (2005), na qual foi utilizada uma pipeta de inseminação de éguas, e infundido no corpo uterino 60 ml de solução fisiológica 0,9% NaCl. Massagem no útero e movimentos com a pipeta auxiliaram na recuperação do lavado, que foi armazenado em 2 tubos de ensaio de 10ml estéreis. As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Patologia Clínica – HCV/UFPEL para análise citológica e ao Laboratório de Microbiologia – LRD/UFPEL para cultura fúngica e bacteriana.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das éguas utilizadas no experimento, 2 éguas (20%) nunca foram cobertas e 8 (80%) permaneceram vazias a pelo menos uma temporada, sendo que destas 5 (62,5%) apresentavam idade entre 5 e 15 anos e 3 (37,5%) idade superior a 15 anos. No exame ginecológico, constatou-se que 5 éguas (50%) estavam em anestro e as 5 demais (50%) em período transicional, as fases do ciclo foram avaliadas pela atividade ovariana e tensão uterina.

Um dos animais apresentava histórico de infertilidade e detectou-se laceração da cérvix na vaginoscopia associada ao exame digital. A cérvix é uma das principais barreiras naturais que protegem o ambiente uterino do meio exterior e éguas com mecanismos de defesa local prejudicados desenvolvem endometrites persistentes, as quais geralmente podem resultar em falha na concepção ou morte embrionária precoce (PIMENTEL *et al*, 2007).

Um importante mecanismo para a eliminação rápida do agente agressor e dos componentes e subprodutos inflamatórios é a contratilidade miometrial, que é imprescindível para a limpeza física da luz uterina (LE BLANC *et al.*, 2003). Um estudo realizado por Nogueira *et al.* (2007), avaliou a capacidade mecânica de limpeza uterina em éguas utilizando infusão de carvão com posterior lavagem, demonstrando que éguas que apresentavam alterações uterinas e endometriais mais acentuadas tiveram maior dificuldade e maior tempo para eliminar o carvão.

Além das contrações miometriais a drenagem linfática pode ser importante na limpeza uterina. Os vasos linfáticos e os linfonodos drenam da submucosa e do lúmen uterino o excesso de fluido. Outro fator que prejudica a drenagem do fluido uterino é a falha de relaxamento cervical durante o estro,

principalmente no caso de éguas mais velhas e virgens (LE BLANC *et al.*, 1995).

Três éguas (30%) apresentavam idade avançada, sendo que na inspeção observou-se acentuada inclinação vulvar em uma (10%) égua. A conformação perineal é um dos mais importantes aspectos da inspeção (SILVA, 1983). Em éguas mais velhas há uma maior ocorrência de conformação perineal defeituosa, menor tônus uterino e reduzida capacidade de contração miométrial ocorrendo, dessa forma, maior acúmulo de conteúdo uterino pós cobertura e aumentando da exposição à contaminação, tendo um efeito mais drástico na redução da fertilidade (PIMENTEL *et al.*, 2007)

Neste estudo, nenhuma das amostras apresentou crescimento fúngico e 7 éguas (70%) analisadas apresentaram-se positivas na cultura bacteriana. O isolamento mais comum foi *Staphylococcus* sp. (60%), seguido por *Micrococcus* sp. e α – *Streptococcus*, ambos em 10%, que foram considerados não patogênicos, segundo Riddle *et al.* (2007). *Streptococcus* β -hemolítico (10%) e *Escherichia coli* (10%) também foram encontrados e são comumente associados a infecções uterinas.

A técnica de baixo lavado uterino pode identificar mais organismos patogênicos quando comparada a técnica de swab, devido à solução fisiológica abranger uma maior superfície de contato. Infecções mistas podem ser mais comuns entre *Streptococcus* β -hemolítico e *E. coli*, que é possibilitada devido a estes agentes desenvolverem mecanismos patogênicos através da combinação de diferentes variantes antigênicas (LE BLANC, 2007). Porém a mesma autora destaca que apesar da importância do *Streptococcus* β -hemolítico nas endometrites, este agente faz parte da microbiota da pele dos eqüinos e este só se estabelece quando há deficiência no sistema imunológico da égua e também sugere o isolamento de *E. coli* a uma possível contaminação fecal.

Os resultados da citologia demonstraram que 30% (3) das éguas apresentavam concentração de neutrófilos < 5% sendo que este valor é considerado como constante da população “residente” de neutrófilos em úteros saudáveis (BROOK, 1993). Uma égua (10%) demonstrou um percentual de neutrófilos < 5% não sendo indicativo de inflamação (CARD, 2005), e na análise microbiológica houve o crescimento de 3 agentes bacterianos (*Staphylococcus* sp, *Micrococcus*, e *E. coli*). Levando em conta o resultado da citologia associado à ausência de sinais clínicos da infecção desconsidera-se a patogenicidade destes microrganismos (THRELFALL & IMMEGART, 2000; LE BLANC, 2007).

Uma égua (10%) apresentou concentração de neutrófilos em torno de 20% o que é caracterizado como inflamação moderada (CARD, 2005), e na cultura bacteriana foi recuperado *Staphylococcus* sp. A concentração de neutrófilos > 30% foi observada em 20% (2) das éguas, sendo indicativo de inflamação severa (CARD, 2005). Destas, uma delas está a dois anos em reprodução e, apesar de sucessivas coberturas, nunca emprenhou. Na vaginoscopia foi observada vaginite e cervicite e na cultura bacteriana foi isolado *Staphylococcus* sp. Nesta égua também foi observado grande quantidade de hemácias na citologia sendo considerada normal a presença de células sanguíneas nas amostras (CARD, 2005). Na outra égua o material recuperado era de aspecto purulento com coloração amarelo esverdeada. Esta mesma amostra apresentou uma alta concentração de neutrófilos (superior a

30%), debris e células endometriais; porém não foi observado na leitura citológica a presença de bactérias e na cultura microbiológica não foi isolado nenhum agente.

Levando em conta a não patogenicidade do microrganismo isolado citado anteriormente e a ausência de crescimento bacteriano na última amostra, estes resultados foram caracterizados falsos negativos pelo fato de não haver concordância entre as análises citológica e microbiológica como descrito por Card (2005). Além disso, Le Blanc *et al* (2007), sugerem que a citologia a partir de lavado uterino com baixo volume pode não refletir o grau de inflamação do endométrio.

4. CONCLUSÃO

Essa técnica apresenta como vantagem um baixo índice de contaminação da vagina e da cérvix. Porém, constatou-se baixa correlação nas análises microbiológicas e citológicas com o exame ginecológico, o que pode ser atribuído ao número limitado de animais pesquisados, assim como éguas com características e histórico reprodutivos bem distintos. Para se constatar a eficiência do lavado uterino com baixo volume faz-se necessário um maior número de animais incluídos no estudo e estes distribuídos em grupos homogêneos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 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 cytological examination of the mare's endometrium. **Theriogenology**, 29: 1269–83, 1988.
- BRITO, L.F.C.; BARTH, A.D. Endometritis in mares. **Large Animal Veterinary Rounds**, v.3, n.9, 2003.
- BROOK, D. Uterine cytology. In: McKinnon AO, Voss JL, editors. **Equine reproduction**. Philadelphia: Lea & Febiger; p. 246–53, 1993.
- CARD, C. Post-breeding inflammation and endometrial cytology in mares. **Theriogenology**; 64:580-588, 2005.
- LE BLANC, M.M.; JOHNSON, R.D.; CALDERWOOD, M. M, et al. Lymphatic clearance of indian ink in reproductively normal mares and mares susceptible to endometritis. Biology reproduction monography 1. **Equine reproduction VI**. Ann Arbor (MI): Society for the Study of Reproduction. Inc. Edward Brothers, Inc.; 1995. p. 501-6.
- LE BLANC, M.M. Persistent mating-induced endometritis. In ROBINSON, N.E. **Current therapy in equine medicine**. Philadelphia:Sauders, p.234-237, 2003.
- LE BLANC, M.M.; MAGSIG, J; STROMBERG, A.J. Use of a low-volume uterine flush for diagnosing endometritis in chronically infertile mares. **Theriogenology**;68:403–12, 2007.
- LIU, I.K.M.; TROEDSSON, M.H.T. The diagnosis and treatment of endometritis in the mare: Yesterday and today. **Theriogenology**;70:415-20, 2008.
- NIELSEN, J.M. Endometritis in the mare: a diagnostic study comparing cultures from swab and biopsy. **Theriogenology**; 64:510–8, 2005.
- NOGUEIRA, C.E.W.; SILVA A.M.; LINS, L.A.; CURCIO B.R.; FREY Jr., F. Avaliação da limpeza uterina na égua após a infusão de carvão. **Revista da FZVA**. Uruguaiana, v.14, n.1, p. 162-173, 2007.
- PIMENTEL, C.A. Endometrite em éguas In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.; LEMOS, R.A.; BORGES, J.R.J. **Doenças de Ruminantes e Eqüídeos**; 2:467-479, 2007.
- RIDDLE, W. T., LE BLANC, M. M., STROMBERG, A. J. Relationships between uterine culture, cytology and pregnancy rates in a Thoroughbred practice. **Theriogenology**, 68: 395-402, 2007.
- SILVA, C.A.M. Uma nova técnica para correção cirúrgica da pneumovagina na égua. **Turf e Fomento**, p. 247-248, 1983.
- THRELFALL, W.R.; IMMEGART, H.M. Doença uterina e tratamento. In: Reed, S.M.; Bayly, W.M. **Medicina Interna Eqüina**. P.666-671, 2000.

TROEDSSON, M.T.H. Breeding-induced endometritis in mares. **Vet Clin Equine** 22 ; p.705-712, 2006.