

**Endometrite bacteriana por *Pseudomonas aeruginosa* em égua doadora de embrião: relato de caso****Bacterial endometritis by *Pseudomonas aeruginosa* in an embryo donor mare: a case report**

DOI: 10.34188/bjaerv3n2-020

Recebimento dos originais: 20/01/2020

Aceitação para publicação: 30/03/2020

**Lorena Matos Côrtes Alves**

Médica Veterinária pela Universidade Estadual de Santa Cruz

Instituição: Universidade Estadual de Santa Cruz

Endereço: Rodovia Jorge Amado, km 16, Salobrinho, Ilhéus, BA, Brasil

E-mail: lorenamatosmv@gmail.com

**Paulo Roberto Curcino Santos**

Especialista em Reprodução Equina pelo Instituto Brasileiro de Veterinária

Instituição: Top Reprodução Equina

Endereço: Rua XV de novembro, 365, Alagoinhas, BA, Brasil

E-mail: paulocurcino@topreproducaoequina.com.br

**Caio Tácito Gomes Alvares**

Doutor em Zootecnia pela Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia

Instituição: Universidade Estadual de Santa Cruz

Endereço: Rodovia Jorge Amado, km 16, Salobrinho, Ilhéus, BA, Brasil

E-mail: ctgalvares@uesc.br

**RESUMO**

Este trabalho tem como objetivo relatar o caso de uma égua da raça Mangalarga Marchador, atleta, 6 anos de idade, escore 3, com histórico de falha reprodutiva, estando há duas estações obtendo resultado negativo nos lavados de embrião na central de reprodução de onde veio. A égua foi submetida a exames clínicos, palpação retal com ultrassom e tratamento com agente luteolítico e controle folicular até o surgimento do estro, quando foi sugerido ao proprietário não realizar a inseminação e coletar material para citologia, cultura bacteriana e antibiograma. A citologia confirmou um quadro de endometrite, com 8 a 10 neutrófilos por campo, à cultura bacteriana foi constatada presença de *Pseudomonas aeruginosa*. A partir do resultado do antibiograma, o tratamento se iniciou 10 dias após o estro detectado com Ceftiofur injetável e agente luteolítico. No estro subsequente, procedeu-se tratamento com infusões uterinas à base de ampicilina. Após retomada do manejo reprodutivo e indução da ovulação, a égua foi inseminada e apresentou embrião viável. Conclui-se que o protocolo terapêutico adotado foi bem-sucedido, evidenciando a importância da realização dos exames de citologia, cultura e antibiograma para combater corretamente a principal causa de infertilidade em éguas.

**Palavras-chave:** antibiograma, citologia, cultura bacteriana, infertilidade, infusão uterina**ABSTRACT**

This work aims to report the case of a Mangalarga Marchador mare, athlete, 6 years old, score 3, with a history of reproductive failure, having been negative for two seasons in the embryo washings at the

breeding center where she came from. The mare underwent clinical examinations, rectal palpation with ultrasound and treatment with luteolytic agent and follicular control until the appearance of estrus, when it was suggested to the owner not to perform insemination and collect material for cytology, bacterial culture and antibiogram. Cytology confirmed a endometritis, with 8 to 10 neutrophils per field. The presence of *Pseudomonas aeruginosa* was found on bacterial culture. From the result of the antibiogram, the treatment started 10 days after the estrus detected with injectable Ceftiofur and luteolytic agent. In the subsequent estrus, treatment with ampicillin-based uterine infusions was performed. After resumption of reproductive management and ovulation induction, the mare was inseminated and presented a viable embryo. It was concluded that the therapeutic protocol adopted was successful, showing the importance of carrying out cytology, culture and antibiogram tests to correctly combat the main cause of infertility in mares.

**Keywords:** antibiograma, bacterial culture, cytology, infertility, uterine infusion

## 1 INTRODUÇÃO

O Brasil ocupa o quarto lugar no ranking do rebanho mundial de equino, com 5,4 milhões de animais, sendo apenas 700 mil registrados em algum serviço genealógico oficial (FAO, 2014; IBGE, 2017). Tal posição evidencia a importância de estudos, principalmente na área de reprodução equina, visando ampliar produtos e serviços em biotecnologia. Segundo comitê estatístico IETS, em 2010 foram transferidos 14.422 embriões equinos no Brasil, representando 43% da atividade mundial, seguido pela Argentina e Estados Unidos (Stroud,2015).

Nesse sentido, qualquer fator que diminua o índice reprodutivo da égua irá causar grande prejuízo econômico. Segundo Nascimento e Santos (2003), a principal e mais frequente causa da subfertilidade e infertilidade em éguas, é a endometrite, essa inflamação do útero pode ter curso aguda, crônica, subclínica e persistente, ser no pós-parto, ter causa bacteriana, fúngica, viral e pós-cobrição ou inseminação (Hurtgen, 2006).

Naturalmente, o útero é protegido por barreiras físicas, a vulva, prega vestibulo-vaginal e a cérvix, além dos mecanismos físicos, imunológicos e o sistema linfático quando se tem a cobrição, o sêmen é depositado intrauterino, ultrapassando as barreiras físicas e causando inflamação. A partir daí os neutrófilos são as primeiras células a serem recrutadas na cascata da inflamação, aliado as contrações miométriais e drenagem linfática (Rua et al.,2016).

Caso os mecanismos de defesa não consigam reestabelecer o ambiente uterino adequado, então este ficará propício ao crescimento de microrganismos, causando as endometrites bacterianas ou fúngicas (Troedssonetal,2001).

São consideradas éguas susceptíveis aquelas que não têm resposta rápida e eficaz contra a inflamação, sendo geralmente éguas velhas, com histórico reprodutivo ruim, como perdas gestacionais, repetição de estro, falha na coleta embrionária (Troedsson, 1997). Na ultrassonografia,

a presença de líquido na luz uterina durante o estro ou de 6 a 36 horas após inseminação, já pode ser considerada égua susceptível à endometrite pós cobertura (Bucca et al., 2008).

A técnica de citologia uterina foi descrita em 1964 por Knudsen. No entanto, atualmente muitos profissionais não usam esses métodos diagnósticos devido à falta de conhecimento para realização da técnica. A citologia uterina permite diagnosticar o processo inflamatório, assim, a endometrite é atribuída ao número de células de defesa, os neutrófilos. Contudo, não é possível evidenciar o agente etiológico, por isso é importante que seja feita a cultura bacteriana aliada ao antibiograma (Morel et al., 2013).

Desde 1920 a cultura bacteriana é utilizada como forma de diagnóstico da endometrite. Pode-se diagnosticar se a endometrite é ou não bacteriana, a partir do crescimento bacteriano. Já o antibiograma permite rapidamente, de 18 a 24 horas, obter informação sobre sensibilidade ou resistência para os antibióticos escolhidos, através da medida da zona de inibição bacteriana (Rua et al., 2016).

É importante não negligenciar essa patologia, devido as grandes perdas econômicas que ela acarretará, por isso faz-se necessário um bom diagnóstico a partir da citologia uterina, cultura bacteriana e antibiograma, para que seja realizado um tratamento coerente, aumentando a eficiência reprodutiva do rebanho. Assim, o objetivo deste relato foi descrever os procedimentos clínicos e reprodutivos em uma égua doadora.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

Em fevereiro de 2019 foi atendida em um centro de treinamento, em Salvador- BA, uma égua da raça Mangalarga Marchador, atleta, de 6 anos de idade, com histórico de falha reprodutiva, estando há duas estações reprodutivas obtendo resultado negativo nos lavados de embrião na central de reprodução de onde veio, segundo o proprietário. A égua apresentava-se com escore corpora l3 de 5. Ao exame clínico não houve nada digno de nota, então foi submetida a palpação e ao exame ultrassonográfico. À palpação o útero estava com tônus característico do diestro e ovários de tamanho característicos de égua com atividade reprodutiva ativa. Esperava-se encontrar, ao exame ultrassonográfico, coleção de líquido intra-uterino, no entanto, não foi observado nenhuma alteração no aparelho reprodutivo. Então, foi aplicado 1mL (5mg) do dinoprostrometamina (Lutalyse ®) intramuscular, para a luteólise do corpo lúteo e estro subsequente. O controle folicular foi realizado a cada 48 horas e cinco dias após a aplicação do agente luteolítico, a égua apresentou edema uterino e folículo de 30 milímetros caracterizando estro. Entretanto, devido ao histórico de falhas reprodutivas apresentado, foi sugerido ao proprietário não realizar a inseminação nesse estro e coletar material

para citologia, cultura bacteriana e antibiograma, o qual prontamente aceitou e compreendeu a importância de tais exames.

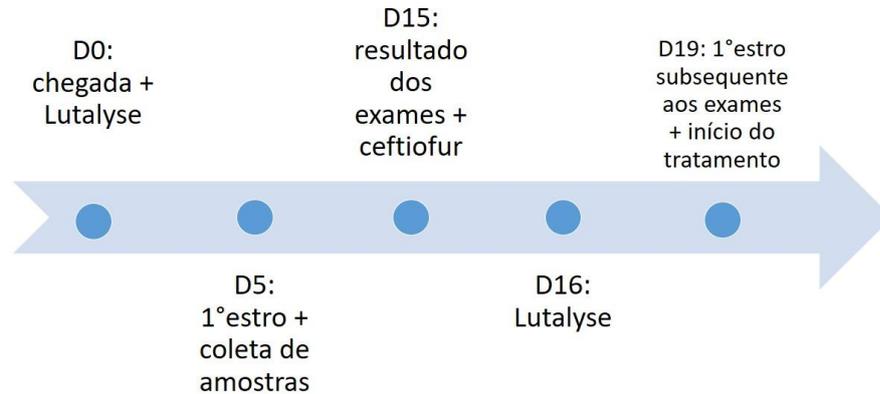
A citologia confirmou um quadro de endometrite, com 8 a 10 neutrófilos por campo, à cultura bacteriana foi constatada *Pseudomonas aeruginosa* e o resultado do antibiograma segue na tabela 1.

Tabela 1: Resultado do antibiograma para 14 princípios ativos após isolamento de *Pseudomonasaeruginosa* em uma égua doadora com endometrite.

<b>Antibiótico</b>	<b>Sensível</b>	<b>Resistente</b>
<b>Amoxicilina e ÁcidoClavulânico</b>	X	
<b>Ampicilina</b>	X	
<b>Cefalexina</b>	X	
<b>Ceftiofur</b>	X	
<b>Cefovecina</b>	X	
<b>Ciprofloxacina</b>		X
<b>Cloranfenicol</b>	X	
<b>Doxiciclina</b>	X	
<b>Enrofloxacina</b>		X
<b>Gentamicina</b>		X
<b>Neomicina</b>		X
<b>Mupirocina</b>	X	
<b>Polimixina</b>	X	
<b>Oxaciclina</b>	X	

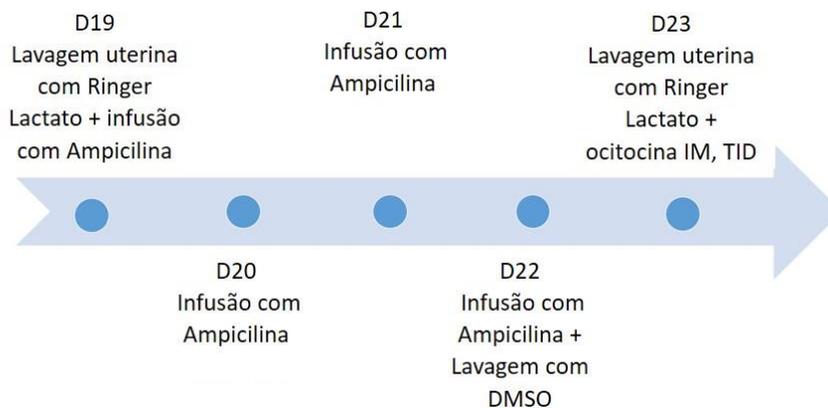
A primeira conduta terapêutica estabelecida após os resultados dos exames, 10 dias depois da coleta do material, foi o uso do Ceftiofur injetável, intramuscular, na dose 4,4mg/kg, durante 5 dias. A figura 1 resume os procedimentos realizados na égua até o estro subsequente aos exames.

Figura 1: Fluxograma representando procedimentos realizados em uma égua doadora com endometrite desde sua chegada até o estro subsequente aos exames citologia, cultura e antibiograma



Neste primeiro dia de estro subsequente aos exames (D19), foi realizada lavagem uterina com 1 litro de soro Ringer com Lactato e posterior infusão com Ampicilina, na dose de 2g/50mL de solução salina estéril, a infusão com Ampicilina foi mantida até o D22; neste mesmo D22 também foi realizada infusão com dimetilsulfóxido – DMSO (Dimesol®), na proporção 100mL/1L de solução salina; no D23 foi feito outro lavado com solução Ringer com Lactato e administrado 20UIIM de ocitocina três vezes no dia. A figura 2 ilustra este procedimento terapêutico.

Figura 2: Fluxograma representando protocolo terapêutico de égua com endometrite por *P. aeruginosaa* partir do primeiro dia do estro subsequente (D19) aos exames de citologia, cultura e antibiograma. DMSO: Dimetilsulfóxido; IM: intramuscular; TID: três vezes ao dia



### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após esse tratamento foi recomendada uma pausa no manejo reprodutivo dessa égua durante um período equivalente a uma estação reprodutiva, no entanto, o proprietário relatou urgência na coleta de embriões da mesma. Sendo assim, foi de comum acordo que se continuasse o acompanhamento folicular, porém sem inseminá-la no período de dois estros consecutivos.

Nesse período de pausa houve mudança no ambiente da égua, de Salvador para Feira de Santana (aproximadamente 100 km de distância), por conta disso o acompanhamento folicular ficou

comprometido devido às negociações entre proprietário e veterinário. Entretanto, logo depois o controle folicular foi reestabelecido, a cada 48 horas, aliado a hormonioterapia com o agente luteolítico, então, quando detectado folículo de 36 milímetros e edema uterino 3, na escala de 0 a 5, foi induzida a ovulação com 3ml (750µg) do acetato de deslorelina (Sincrorrelin®); 24 horas pós-indução, a égua foi inseminada com sêmen resfriado e, 4 horas pós inseminação, foi aplicada ocitocina 20 UI IM 3 vezes com intervalo de 6 horas. A ovulação ocorreu após 48 horas da indução e no oitavo dia pós-ovulação, em junho de 2019, foi realizado o lavado uterino, obtendo resultado positivo para presença de embrião viável.

A endometrite equina consistem em inflamação do endométrio aliada ou não a infecção, podendo ainda ser um processo fisiológico ou patológico. Essa é a principal causa de subfertilidade ou infertilidade em éguas (Cocchia et al., 2012). Na égua relatada foi diagnosticada endometrite aliada a infecção, manifestada com infertilidade.

A citologia uterina aliada a cultura bacteriana permitem diagnosticar a inflamação através do número dos polimorfonucleares presentes no lúmen uterino e detectar, identificar e caracterizar os microrganismos envolvidos, respectivamente. O resultado positivo desses dois exames é diagnóstico para infecção uterina. A associação entre citologia, cultura bacteriana e antibiograma foi inicialmente elucidada como auxílio diagnóstico há 20 anos e atualmente é o método mais utilizado como forma de diagnóstico (Liu, 2011; Ferris, 2017).

De acordo com Carvalho et al. (2011), o grau de endometrite pode ser classificado em função do número de neutrófilos por campo, considerado leve (1 a 2), moderado (3 a 5) ou severo (acima de 5). Ferris (2017) realizou estudo inoculando *Pseudomonas aeruginosa* no útero de seis éguas e observaram que nas seis havia mais de 5 neutrófilos por campo, na citologia, caracterizando endometrite severa. Sendo assim, uma citologia com 8 a 10 neutrófilos por campo e presença de *P. aeruginosa* confirma na severidade da endometrite na égua estudada, manifestada em duas estações reprodutivas sem sucesso de fertilidade.

Considerando exame ultrassonográfico e citologia, a associação de microrganismos com coleção de líquido no lúmen uterino sugere ter maior número de neutrófilos, enquanto que microrganismos não associados à presença de líquido tendem a apresentar contagem de neutrófilos negativa (Morel et al., 2013). Tal afirmativa, contudo, contradiz os achados desse relato, no qual ao exame ultrassonográfico não houve a presença de líquido no útero, mas a citologia foi positiva para contagem de neutrófilo.

Silva et al (1999) relataram que *Pseudomonas spp.* foi isolada em éguas que foram tratadas várias vezes com antimicrobianos devido a problemas reprodutivos. Ainda nesse estudo, essa bactéria

foi considerada invasora, oportunista com grande potencial de produzir infecções uterinas, o que está de acordo com este relato de caso, no qual a égua já havia passado por outra central de reprodução, onde já havia sido tratada diversas vezes, com resultado negativo. Isso evidencia que o tratamento com antibióticos em éguas com falhas reprodutivas não é fácil, nem existe procedimento padrão. Alguns fatores podem influenciar na decisão do tratamento, como a duração da infertilidade, se houve ou não tratamento anterior e como foi o resultado, ou até mesmo a urgência do proprietário em coletar embrião ou obter a gestação.

Segundo Liu (2011), um estudo demonstrou que a lavagem uterina após quatro horas da inseminação ou cobertura não influenciou negativamente na concepção do embrião, viabilizando a associação desse tratamento a medicamentos que promovam a contração uterina, como a ocitocina, na tentativa de obter a limpeza uterina, como foi feito no relato em questão.

A lavagem uterina com solução salina ou ringer com lactato antes da infusão com antibiótico tem como objetivo reduzir a quantidade de microrganismos infecciosos, remover *debris* inflamatórios do útero, potencializar os mecanismos de defesa promovendo o influxo das células de defesa para o lúmen uterino (Ferris, 2017). Tais informações reforçam a utilização do ringer com lactato antes da infusão com ampicilina no tratamento da égua relatada.

Lavagens uterinas com DMSO se mostram úteis para aumentar a penetração do antimicrobiano no tecido e romper os biofilmes microbianos. Sabe-se que os biofilmes se formam com *Pseudomonas aeruginosa*, *E.coli*, *S. aureus* e *K. pneumoniae* (Cocchia et al., 2012). Em se tratando de uma égua com cultura uterina positiva para *P. aeruginosa*, evidencia-se, portanto, a importância do uso do DMSO neste tratamento.

Aguiar et al., (2005) obtiveram como agentes antimicrobianos mais efetivos a norfloxacin (77%), ampicilina (72,3%) e gentamicina (63,5%), no resultado do antibiograma. Já os que apresentaram maior resistência foram a estreptomicina (68,7%), sulfadiazina com trimetropim (50,5%) e a penicilina G (48,7%). Esses resultados são importantes para tomadas de decisão quanto ao agente antimicrobiano de eleição, visto que é comum o tratamento inespecífico em situações de campo. Dessa forma, merece destaque o tratamento à base de ampicilina eleito a partir do resultado do antibiograma.

Dascanio (2011), em pesquisa com médicos veterinários de campo, mostrou que os antibióticos sistêmicos mais utilizados em quadros de endometrite foram sulfadiazina com trimetropim, ceftiofur e a combinação de penicilina com gentamicina. Ainda nesse estudo, ele cita que o ceftiofur na dose de 2mg/kg, duas vezes ao dia, intramuscular, não obteve nível sérico desejado no tecido endometrial. Contudo, a dosagem mais alta de 4,4mg/kg, potencialmente resultaria em nível

sérico adequado no endométrio. Por isso foi utilizada a dose máxima do ceftiofur injetável no tratamento desta égua.

A ampicilina tem se mostrado uma boa escolha enquanto aguarda o resultado da cultura e antibiograma, apesar da possibilidade de resistência em função do uso inadvertido (Hurtgen, 2006). No entanto, o resultado do antibiograma presente neste relato demonstrou sensibilidade deste microrganismo à ampicilina, o que possibilitou contribuir para o sucesso do tratamento.

#### 4 CONCLUSÃO

Este relato comprova a viabilidade de um protocolo terapêutico adotado em égua doadora com endometrite. Evidencia-se, portanto, a importância da realização dos exames de citologia, cultura e antibiograma para combater corretamente a principal causa de infertilidade em éguas.

#### REFERÊNCIAS

- AGUIAR D. M., RIBEIRO M. G., UENO T. E. JÚNIOR N. G. PAES A. C. MEGID J. LISTONI F. J. P. Etiologia e sensibilidade *in vitro* de microrganismos aeróbicos isolados de endometrite equina. **Arquivos Instituto Biológico**, São Paulo, v.72, n.1, p.107-109, jan./mar., 2005
- BUCCA, S., CARLI, A., BUCKLEY, T., DOLCI, G., FOGARTY, U. The use of dexamethasone administered to mares at breeding time in the modulation of persistent mating induced endometritis. **Theriogenology**, v. 70, p. 1093-1100, 2008.
- CARVALHO M. P. F. C., BORBA R. H.; RIBAS S. A. J., BARROS R. R. Diagnóstico bacteriológico, citológico e histopatológico da endometrite equina. **Revista Brasileira Ciência Veterinária**, v. 18, n. 1, p. 19-22, jan./abr.2011
- COCCHIA N, PACIELLO O, AULETTA L, UCCELLO V, SILVESTRO L, MALLARDO K, PARAGGIOG, PASOLINIMP., Comparison of the cytobrush, cotton swab, and low-volume uterine flush techniques to evaluate endometrial cytology for diagnosing endometritis in chronically infertile mares. **Theriogenology**, v.77, p.89-98, 2012.
- DASCANIO, J. How and When to Treat Endometritis With Systemic or Local Antibiotics. **AAEP Proceedings**, vol.57, p. 24–31, 2011.

FAOSTAT. Livestockprimary. 2014. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QL>. Acesso em: 7 jun. 2019.

FERRIS A. R. Therapeutics for Infectious Endometritis: A Clinical Perspective. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.41, n.1, p.175-179, jan./mar.2017.

HURTGEN, J.P. Pathogenesis and treatment of endometritis in the mare: a review. **Theriogenology**, v.66, p.560-566, 2006.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Efetivo do rebanho equino 2017 Disponível em: < <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3939#resultado> > Acesso em junho de 2019.

LIU, I.K.M. The diagnosis, causes and treatment of persistent endometritis in the mare. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.35, n.2, p.256-261, abr./jun. 2011.

MOREL D.M.C.G, LAWLOR O., NASH D. M. Equine endometrial cytology and bacteriology: effectiveness for predicting live foaling rates. **Veterinary Journal**, v.198, p.206–211, 2013.

NASCIMENTO, E.F.; SANTOS, R.L. **Patologia da reprodução dos animais domésticos**. 2 edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.57 – 58, 2003.

RUA S. A. M., QUIRINO, R. C., JUNIOR, B. A., BARRETO, P. A. M. Métodos diagnósticos de endometrite em éguas. **PUBVET**, v.10, n.12, p.895-908, 2016.

SILVA, N., BRAGA C.E., COSTA G.M., LOBATO F.C.F. Isolamento e teste de susceptibilidade a antimicrobianos de bactérias em infecções uterinas de éguas. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** vol.51 no.3, p.213-216, 1999.

STROUD., B. IETS 2010 Statistics and Data Retrieval Committee Report: The year 2010 world wide statistics of embryo transfer in domestic farm animals. [Denver]: **IETS**, 2015. 10p.

TROEDSSON M. H. T. Therapeutic considerations for mating-induced endometritis. **Pferdeheilkunde**, v.13, p.516-529, 1997.

TROEDSSON M. H. T., LOSET K., ALGHAMDI A. M., DAHMS B., CRABO B. G. Interaction between equine semen and the endometrium: the inflammatory response to semen. **Animal Reproduction Science**, 68, 273-278; 2001.