

Endometrite subclínica associada à *Klebsiella* sp. em doadora de embrião da raça Quarto de Milha

Subclinical endometritis associated to the Klebsiella sp. in embryo donor Quarter Horse mare

Sofia Botsaris Delchiaro^{1*}, Pedro Victor de Luna Freire Oliveira², Camila Bizarro e Silva ¹, Fábio Morotti ¹

¹ Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, PR, Brasil

² Instituto Filadélfia de Londrina (UniFil), Londrina, PR, Brasil

Resumo

O presente relato tem por objetivo reportar o caso de endometrite bacteriana em uma doadora de embrião da raça Quarto de Milha com 12 anos de idade, sem sinal clínico evidente, mas com histórico de falhas reprodutivas há 2 anos. Após tentativas de inseminação artificial com sêmen refrigerado e ausência de gestação, a égua foi submetida a exame ginecológico, seguido de citologia uterina, cultura bacteriana e antibiograma, indicando um quadro de endometrite por *Klebsiella* sp. sensível à enrofloxacin e ceftiofur. Diante do diagnóstico, iniciou-se tratamento para endometrite bacteriana, o qual se mostrou eficiente, sendo possível a recuperação de um embrião viável que foi transferido com êxito para uma receptora, resultando em prenhez. O presente caso reporta o sucesso no diagnóstico e tratamento de uma égua com infertilidade ocasionada por endometrite subclínica. Destaca-se que, para eficiência terapêutica

nas endometrites bacterianas, é fundamental conhecer o patógeno e a sensibilidade aos principais antibióticos. Alguns sinais como acúmulo de líquido intrauterino, presença de edema e secreções vaginais frequentemente acompanham os casos de endometrite, no entanto, a ausência destes sinais não descarta a ocorrência da enfermidade, sendo necessária maior investigação diagnóstica frente ao histórico de infertilidade.

Palavras-chave: Endometrite bacteriana. Infertilidade em éguas. Transferência de embrião.

Abstract

This report aims to present the case of bacterial endometritis in a 12-year-old Quarter Horse embryo donor

* Autor correspondente: sofiab.delchiaro@hotmail.com

Submetido: 02 jul 2019 | Aprovado: 21 jan 2020

mare with no evident clinical signs, but with a reproductive failure history for 2 years. After unsuccessful attempts of artificial inseminations with cooled semen, the mare was submitted to gynecological examination, followed by uterine cytology, bacterial culture and antibiogram, indicating endometritis by Klebsiella sp. susceptible to enrofloxacin and ceftiofur. Due to the diagnosis, a bacterial endometritis treatment was started, which has proved to be efficient, being possible the recovery of a viable embryo that was transferred successfully to a recipient mare, resulting in pregnancy. The present case reports the success in the diagnosis and treatment of a mare with infertility caused by subclinical endometritis. It is noteworthy that for the therapeutic efficiency in bacterial endometritis, it is essential to know the pathogen as well as the sensitivity to the main antibiotics. Some signs, such as intrauterine fluid accumulation, edema and vaginal secretion often accompany cases of endometritis, however the absence of these signs does not rule out the occurrence of the disease, and further diagnostic investigation is necessary considering the infertility history.

Keywords: Bacterial endometritis. Infertility in mares. Embryo transfer.

Introdução

Um dos problemas mais comuns em fêmeas equinas é a infertilidade devido a infecções uterinas, que podem surgir devido à susceptibilidade da égua à infecção bacteriana. Segundo LeBlanc e Causey (2009), a maior causa de infertilidade em éguas é a endometrite, tendo como fatores predisponentes defeitos anatômicos e de conformação perineal, falha na contração do miométrio, na drenagem linfática e na atividade mucociliar endometrial, uso recorrente de algumas biotécnicas reprodutivas, além de aspectos relacionados à idade avançada.

Neste contexto, as éguas podem ser classificadas como suscetíveis quando apresentam capacidade restrita em eliminar debris inflamatórios de forma rápida após a cópula. Isso ocorre devido a defeitos anatômicos e processos degenerativos que venham a afetar a drenagem uterina. Por outro lado, também existem as infecções classificadas como

não suscetíveis, que são aquelas que possuem um sistema imune funcional e capazes de fazer uma rápida limpeza uterina (LeBlanc e Causey, 2009; Canisso et al., 2016).

A endometrite de origem infecciosa normalmente surge como resultado de doenças sexualmente transmissíveis, induzida após cobertura, ou ainda como resultado de anormalidades de períneo, vulva e cérvix, baixa capacidade contrátil do útero e supressão do sistema imune (Ferris, 2017), sendo que os principais patógenos envolvidos são o *Streptococcus zooepidemicus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* e leveduras (Ferris et al., 2015). LeBlanc et al. (2007) sugeriram que são mais comumente isolados os patógenos de éguas que tenham histórico de antibiose intrauterina e mecanismos de defesa comprometidos.

Em quadros de endometrites subclínicas pode não haver acúmulo de líquido no útero e tampouco secreções vaginais; em alguns casos pode ser visto apenas presença de edema uterino (Ferris et al., 2016). Classicamente, sinais de edema excessivo pós-cópula ou inseminação, aumento do número de neutrófilos no fluido uterino e presença de ar ou exsudato visíveis no exame ultrassonográfico, são indicativos de endometrite subclínica (LeBlanc e Causey, 2009). Por outro lado, há casos em que a infecção do trato reprodutivo pode ser suspeitada pela simples sequência de falhas na concepção, sendo muitas vezes o único sinal presente (LeBlanc e Causey, 2009).

Quando há um processo inflamatório no útero, os neutrófilos polimorfonucleares (PMNs) migram para o lúmen uterino para realizar funções de defesa. Neste caso, o diagnóstico de endometrite pode ser estabelecido a partir da contagem de pelo menos 1 PMN a cada 10 células epiteliais no exame de citologia uterina. Segundo o estudo de Riddle et al. (2007), éguas que possuíam menos de 2 PMNs por campo tiveram 60% de taxa de prenhez e éguas que possuíam de 2 a 5 PMNs por campo apresentaram uma taxa de prenhez menor que 23%, comprometendo significativamente a fertilidade das fêmeas.

Neste contexto, o presente trabalho tem por objetivo descrever as medidas diagnósticas e

terapêuticas de um caso de endometrite bacteriana subclínica em uma égua Quarto de Milha que apresentava falhas em programa reprodutivo.

Relato de caso

Uma égua da raça Quarto de Milha, de 12 anos de idade e com histórico de falha reprodutiva em inseminações artificiais com sêmen refrigerado há 2 anos foi atendida em uma propriedade no município de Londrina/PR. Apesar da queixa, foram realizados procedimentos de controle folicular e inseminação artificial para tentativas de colheita de embrião. Em decorrência do insucesso nas lavagens uterinas para recuperação embrionária, procedeu-se o exame ginecológico, seguido de citologia uterina, cultura e antibiograma a partir de um *swab* endometrial, conforme técnica descrita por Ferris et al. (2015). A citologia revelou contagem de neutrófilos PMNs $\geq 2\%$ e a cultura identificou a presença da bactéria *Klebsiella* sp. sensível à enrofloxacina e ceftiofur.

Diante do diagnóstico de endometrite bacteriana causada por *Klebsiella* spp., iniciou-se tratamento com administração de 6,71 mg intramuscular de dinoprost trometamina (Lutalyse®, Zoetis, São Paulo, Brasil) cinco dias após a ovulação. Após três dias, iniciou-se lavagem

uterina com Ringer com lactato (1 L, JP Farma, Ribeirão Preto, Brasil), acrescido de uma solução contendo 10% de água oxigenada 10 volumes (Rioquímica, São José do Rio Preto, Brasil). Após a drenagem do conteúdo, procedeu-se nova lavagem uterina com mais 1 L de Ringer com lactato e posterior drenagem. Por fim, realizou-se infusão uterina de 60 mL de DMSO (Vetnil, Louveira, Brasil) associado a 1 g de Ceftiofur (Lapisa, La Piedade, México). Cerca de 10 horas depois, foi realizada a aplicação de ocitocina (Ocitovet, Ceva, Paulínia, Brasil) na dose de 20 UI, por via intramuscular, a cada duas horas, até completar três aplicações. Todo esse procedimento descrito foi repetido durante quatro dias consecutivos.

Além disso, optou-se pelo tratamento sistêmico que foi realizado concomitantemente e consistiu na aplicação de enrofloxacina (Zelotril, São Paulo, Brasil) na dose de 5 mg/kg, via intramuscular, a cada 24 horas durante sete dias. No ciclo reprodutivo seguinte ao término do tratamento, a égua foi submetida a um novo programa de transferência de embrião, obtendo-se sucesso na recuperação de um embrião viável (Figura 1), que se encontrava na fase de blastocisto expandido e qualidade grau 1. Na sequência, procedeu-se a transferência do embrião para uma receptora devidamente sincronizada, resultando em prenhez.

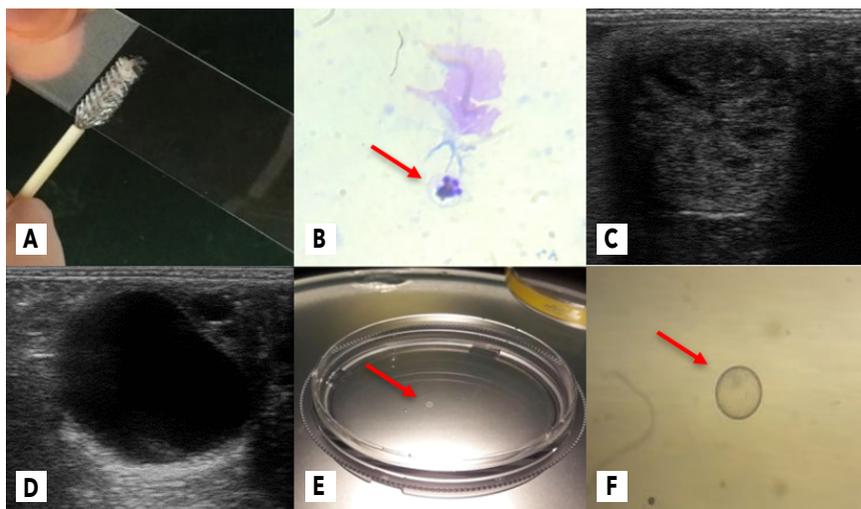


Figura 1 - Escova ginecológica utilizada na citologia uterina equina (A). Citologia uterina evidenciando a presença de um polimorfonucleado pela seta (B). Imagem ultrassonográfica de útero com edema grau 3 (C). Imagem ultrassonográfica de folículo pré-ovulatório (D). Embrião recuperado, visto a olho nu (seta) na placa de Petri (E) e visto na lupa (aumento de 100 x, seta) após realizada a busca (F).

Discussão

O presente estudo relata um caso bem sucedido de abordagem diagnóstica e terapêutica em uma égua doadora de embrião com histórico de falha reprodutiva em decorrência de endometrite subclínica de origem bacteriana. Adicionalmente, destaca-se que diante de falhas reprodutivas com ausência de sinais clínicos evidentes, uma investigação diagnóstica sustentada em citologia uterina e cultura bacteriana pode ser necessária, como evidenciado neste relato, em que foi possível obter sucesso na colheita de um embrião viável após diagnóstico e abordagem terapêutica.

Animais com histórico de falha reprodutiva devem ser submetidos a exames ginecológicos, palpação transretal e ultrassonografia. No entanto, mesmo sem obter alterações significativas nestes exames, é importante realizar a citologia uterina e cultura bacteriana para que se possa confirmar um caso de endometrite (LeBlanc e Causey, 2009). No caso descrito, só foi possível o diagnóstico de endometrite quando realizada a cultura e identificação da bactéria *Klebsiella* sp.

A lavagem uterina realizada no presente caso foi eficiente na eliminação de debris celulares, assim como descrito por LeBlanc e Causey (2009), que afirmaram que a terapia de éguas susceptíveis é realizada para que o ambiente uterino seja mais favorável ao desenvolvimento embrionário. Neste caso, a lavagem uterina contendo água oxigenada foi realizada com o objetivo de combater o biofilme, mecanismo de defesa bacteriano que aumenta sua capacidade de resistência (Ferris, 2017).

Segundo estudo de Ferris (2016), a maioria das bactérias do útero de éguas foram capazes de formar um biofilme in vitro. Faz-se necessário, portanto, desintegrar esse biofilme antes de administrar um antibiótico para que ele tenha maior eficácia e efeito bactericida (Ferris, 2017). Além da água oxigenada, foi comprovado que o DMSO é eficaz em degradar o biofilme de *E. coli* e *K. pneumoniae* (Loncar et al., 2017). No presente estudo, levantou-se a possibilidade de biofilme pela infecção por *Klebsiella* spp., já que o histórico de infertilidade havia sido relatado por mais de dois anos. Assim, tanto a água oxigenada como o DMSO foram utilizados, a fim de degradar um possível biofilme e facilitar a eficácia no efeito dos antibióticos.

Associada à lavagem uterina, a antibioticoterapia deve ser realizada com base no antibiograma que seleciona o antibiótico ao qual o agente é sensível, situação altamente indicada nos quadros de infecção bacteriana. No presente caso foi de suma importância não só identificar o agente causador mas, principalmente, a sensibilidade à enrofloxacin e ceftiofur. Assim, empregando medidas terapêuticas sustentadas num diagnóstico preciso, foi possível obter-se o embrião e confirmar a eficácia descrita na literatura (Riddle et al., 2007).

Ainda como medida terapêutica nos quadros de endometrite, destaca-se o uso de agentes ecbólicos, tal como a ocitocina e prostaglandina. Na égua, a ocitocina pode ser utilizada com o propósito de estimular a contração uterina e reduzir contaminantes, agentes inflamatórios, bem como eliminar conteúdos residuais após lavagens uterinas (LeBlanc e Causey, 2009). Além do efeito de contratilidade uterina, no presente relato a prostaglandina foi utilizada para induzir o estro, pois sabe-se que durante a fase estrogênica há maiores períodos de atividade contrátil do útero, além de proporcionar a abertura da cérvix, favorecendo a eliminação de possível conteúdo.

A endometrite subclínica muitas vezes não é percebida por ser assintomática e ter ausência de secreção vaginal ou acúmulo de líquido uterino, por isso só é confirmada através da contagem de PMNs e/ou cultura bacteriana. Portanto, para um diagnóstico preciso, é fundamental uma avaliação rigorosa do animal, associada a informações do histórico e realização de exames laboratoriais. Além disso, a eficácia terapêutica é totalmente dependente da precisão diagnóstica, visto que o tratamento realizado de forma inadequada ou tardiamente pode acarretar em infecção uterina mais grave. Finalmente, a égua pode se tornar infértil ou subfértil pelo insucesso do tratamento, que deve ser específico para cada caso de endometrite.

Com base nas informações do presente relato, conclui-se que a *Klebsiella* spp. foi o agente causador da falha reprodutiva, caracterizada por endometrite subclínica. Ademais, o tratamento empregado foi eficiente em combater a infecção e falha reprodutiva, visto que se obteve sucesso na recuperação embrionária em um novo programa reprodutivo.

Referências

Canisso IF, Stewart J, Coutinho da Silva MA. Endometritis: Managing Persistent Post-Breeding Endometritis. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 2016;32(3):465-80.

Ferris RA. Current understanding of bacterial biofilms and latent infections: A clinical perspective. *Rev Bras Reprod Anim.* 2017;41(1):74-80.

Ferris RA. Endometritis: Diagnostic tools for infectious endometritis. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 2016;32(3):481-98.

Ferris RA, Hennet MR, Borlee BR, Borlee GI, McCue PM. Detection of bacterial biofilm and evaluation of the host immune response using an experimental model of bacterial endometritis. *Proceedings of the AAEP 62nd Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners; 3-7 dez 2016; Orlando, FL.* Lexington: AAEP; 2016.

Ferris RA, Bohn A, McCue PM. Equine endometrial cytology: collection techniques and interpretation. *Equine Vet Educ.* 2015;27(6):316-22.

LeBlanc MM, Causey RC. Clinical and subclinical endometritis in the mare: both threats to fertility. *Reprod Domest Anim.* 2009;44(Suppl 3):10-22.

LeBlanc MM, Magsig J, Stromberg AJ. Use of a low-volume uterine flush for diagnosing endometritis in chronically infertile mares. *Theriogenology.* 2007;68(3):403-12.

Loncar KD, Ferris RA, McCue PM, Borlee GI, Hennet ML, Borlee BR. In vitro biofilm disruption and bacterial killing using nonantibiotic compounds against gram-negative equine uterine pathogens. *J Equine Vet Sci.* 2017;53:94-9.

Riddle WT, LeBlanc MM, Stromberg AJ. Relationships between uterine culture, cytology and pregnancy rates in a Thoroughbred practice. *Theriogenology.* 2007;68(3):395-402.