IDENTIFICAÇÃO FENOTÍPICA DOS AGENTES MICROBIANOS ISOLADOS DE ÚTERO DE CADELAS SUBMETIDAS À OVÁRIO-SALPINGO-HISTERECTOMIA

Fernanda Antunes Martins (PROVIC), Ingrid Caroline da Silva, Valquiria Nanuncio Chochel, Ester Moura Rios, Luciana da Silva Leal Karolewski (Orientadora), e-mail: lu_s_leal@yahoo.com.br

Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Zootecnia.

5.05.00.00-7 Medicina Veterinária
5.05.04.00-2 Reprodução Animal

Palavras-chave: bactérias, coloração de Gram, microbiologia, reprodução

Resumo

A pesquisa teve como objetivo a identificação fenotípica da microbiota presente no útero de cadelas da cidade de Ponta Grossa/PR. Foram obtidos 22 úteros caninos da clínica veterinária Auqmia, oriundos do processo de ovário-salpingo-histerectomia (OSH). Foram avaliadas as regiões do corpo do útero e os cornos uterinos (direito e esquerdo). Para as análises microbiológicas foram utilizados meios de cultura enriquecidos e seletivos. Procedeu-se à caracterização morfotintorial e bioquímica das amostras prevalentes, e também foram realizados os antibiogramas das colônias características. O micro-organismo mais frequente foi o *Staphylococcus* sp., que faz parte da microbiota natural do útero de cadelas, também foram encontrados enterobactérias (*Klebsiella ozaenae*), bacilos Gram positivos e Gram negativos em menor prevalência. Os micro-organismos foram classificados como suscetíveis para a maioria dos antimicrobianos de uso veterinário testados.

Introdução

O aparelho reprodutor da cadela normalmente contém uma microbiota bacteriana mista, com predominância de bactérias aeróbicas (LANNA; MASCARENHAS; MARQUES JÚNIOR, 2012). Durante as fases do ciclo estral do proestro e do estro, bactérias invadem o útero, sem necessariamente resultar em infecção (WATTS; WRIGHT; WHITHEAR, 1996).

Sendo o procedimento mais realizado na medicina veterinária, a ovário-salpingo-histerectomia (OSH) consiste na remoção do útero, ovários e tubas uterinas. Além de esterilização eletiva, se trata de uma ferramenta indispensável no tratamento e capaz de prevenir algumas doenças reprodutivas de fêmeas (HEIDENBERGER; UNSHELM, 1990). Em contrapartida, as desvantagens das castrações são as ameaças de complicações cirúrgicas e anestésicas.

Diante do exposto, pretendeu-se contribuir com o conhecimento da fisiologia reprodutiva da cadela, realizando-se a identificação fenotípica dos micro-organismos colonizadores do ambiente uterino.

Materiais e Métodos

Úteros de 22 cadelas, obtidos da clínica veterinária Auqmia, foram removidos durante a OSH eletiva, lavados, acondicionados em sacos plásticos e mantidos em

solução fisiológica aquecida a 36ºC dentro de uma caixa de isopor isotérmica. As cadelas tinham em média 3,36 ± 0,81 anos de idade, peso corporal médio de 11,00 ± 1,54 kg e macroscopicamente os úteros estavam sadios.

No laboratório, cada útero foi posicionado em câmera de fluxo e, com uma lâmina de bisturi, foram realizados cortes nas três regiões a serem avaliadas: corpo do útero e nos cornos uterinos (direito e esquerdo). O material colhido com o *swab* foi inoculado no caldo BHI e posteriormente semeado na forma de estrias compostas nos seguintes meios de cultura: ágar sangue (bactérias totais), MRSA (bactérias láticas), ágar macconkey e ágar EMB (enterobactérias), ágar fungo acrescido de enrofloxacina (fungos e leveduras), ágar cetrimide (*Pseudomonas*) e ágar manitol (estafilococos). Após incubação a 36ºC por 24 a 48 horas para bactérias e 25ºC por 5 dias para fungos e leveduras, procedeu-se à caracterização morfotintorial e bioquímica das amostras prevalentes. Realizou-se o antibiograma das colônias predominantes em ágar Mueller-Hinton no qual foram utilizados antibióticos de interesse zootécnico. Após 24 horas, os halos de inibição foram quantificados com uma régua e com o auxílio de tabelas fornecidas pelos fabricantes dos antibióticos os agentes foram classificados como suscetíveis ou resistentes ao antibiótico em questão.

Os dados foram apresentados na forma de estatística descritiva (número total e porcentagem).

Resultados e Discussão

A partir das análises realizadas pode-se observar que os micro-organismos isolados do corpo do útero, e dos cornos uterinos direito e esquerdo de cadelas sadias não variaram muito. Foi mais frequentemente observado o *Staphylococcus* sp. com 31 (86,11%), 29 (65,90%) e 23 (60,53%) isolamentos, para a região do corno uterino esquerdo, corpo do útero e corno uterino direito, respectivamente. Também foram encontrados micro-organismos bacilos Gram positivos, cocos Gram negativo não identificados, bacilos Gram negativos e enterobactérias como a *Klebsiella ozaenae* em menor prevalência. Em relação a fungos e leveduras não houve crescimento nas três regiões analisadas. Os dados citados acima podem ser observados na tabela 1.

Tabela 1 - Número e frequência dos micro-organismos isolados do corpo do útero, cornos uterinos direito (CD) e esquerdo (CE) de 22 cadelas sadias submetidas à OSH, Ponta Grossa, PR, 2018

Micro-organismos	Corpo do útero	CD	CE
	N (%)	N (%)	N (%)
Bacilos - Gram positivos	7 (15,91)	7 (18,42)	2 (5,555)
Bacilos - Gram negativos	4 (9,09)	3 (7,89)	0 (0)
Staphylococcus sp.	29 (65,90)	23 (60,53)	31 (86,11)
Cocos - Gram negativo	2 (4,55)	2 (5,26)	1 (2,78)
Klebsiella ozaenae	2 (4,55)	3 (7,90)	2 (5,555)
Total	44 (100%)	38 (100%)	36 (100%)

Fonte: A autora

Ferreira e colaboradores (2013) também encontraram bactérias do gênero *Bacillus* sp. em 26,4% das amostras e bacilos Gram negativos não fermentadores em 21% das amostras, já outros autores não constataram a presença destes micro-

organismos em úteros de cadelas saudáveis. Os bacilos Gram negativos foram isolados do meio de cultura macconkey, portanto eram enterobactérias e não fazem parte da microbiota natural do útero.

Carneiro; Toniollo e Schocken-Iturrino (2005) constataram no útero de cadelas sadias os seguintes micro-organismos, com as suas respectivas porcentagens: *Staphylococcus* 42,85%, *Escherichia coli* 23,80%, *Streptococcus* 23,80%, *Lactobacillus* 19,04%, *Streptococcus lacticus* 14,28%, *Bacillus* 9,52%, *Sarcina* 9,52%, *Proteus* 4,76%, leveduras 4,76% e *Corynebacterium* 4,76%, mas tais resultados diferem dos encontrados em nossa pesquisa, pois não foram identificados *E. coli*, *Streptococcus, Lactobacillus, Sarcina, Proteus,* leveduras e *Corynebacterium.*

Micro-organismos como *Staphylococcus, Streptococcus* e *E. coli* podem estar presentes na vagina e no útero de cadelas sadias, mas não necessariamente em cadelas com piometra (CARNEIRO; TONIOLLO; SCHOCKEN-ITURRINO, 2005); o que corrobora com a alta incidência de *Staphylococcus* sp. nas três regiões uterinas estudadas em órgãos sem lesões aparentes. Assim como a *E. coli*, a *K. ozaenae* também pode ser encontrada em úteros de cadelas sadias.

As colônias bacterianas que apresentaram crescimento marcante foram submetidas ao antibiograma, com a finalidade de traçar um perfil de resistência aos antimicrobianos de uso veterinário (tabela 2).

Tabela 2 - Perfil de resistência de bactérias isoladas da região do corpo do útero, corno uterino direito e esquerdo aos antimicrobianos de uso veterinário, Ponta Grossa, PR, 2018

Colônia	AMI*	AMP	CAZ	CFL	CFO	CIP	CPM	CRX	GEN	MER	SUT
1	-	-	-	-	-	S	-	-	S	-	S
2	-	-	-	-	-	S	-	-	S	-	S
3	-	-	-	-	-	S	-	-	S	-	S
4	-	S	-	-	-	S	-	-	S	-	R
5	-	-	-	-	-	S	-	-	S	-	S
6	-	-	-	-	-	S	-	-	S	-	S
7	-	-	-	-	-	S	-	-	S	-	S
8	-	-	-	-	-	S	-	-	S	-	S
9	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S

Fonte: A autora

* AMI: Amicacina; AMP: Ampicilina; CAZ: Ceftazidima; CFL: Cefalotina; CFO: Cefoxitina; CIP: Ciprofroxacina; CPM: Cefepime; CRX: Cefuxoxima; GEN: Gentamicina; MER: Meropenem; SUT: Sulfametoxazol. S: susceptível; R: resistente; "-": antimicrobianos não foram testados.

As bactérias da colônia 4 apresentaram morfologia de bacilo, arranjo diplobacilo, Gram positivas, foram isoladas no ágar sangue e provenientes do corno direito. A colônia 9 apresentou bactérias com morfologia de bacilo, Gram negativas, isoladas no ágar macconkey e no corno esquerdo. Os micro-organismos das colônias 1 e 8 (manitol e CE), 2 (manitol e CD), 3 (ágar sangue e CE), 5 (ágar sangue e CD), 6 e 7 (ágar sangue e CE) foram caracterizados com morfologia de cocos, arranjo de estafilococos e Gram positivos.

Dos antibióticos de uso veterinário testados apenas duas colônias apresentaram resistência. A colônia 4 demostrou resistência à sulfametoxazol e a colônia 9 à ampicilina, para os demais antibióticos as colônias foram classificadas como sensíveis. Estes resultados são importantes, pois norteiam a terapia antibiótica preventiva que poderá ser utilizada nas cadelas como após a castração cirúrgica.

Kohl; Pontarolo e Pedrassani (2016) estudaram a resistência de amostras de animais atendidos em hospital veterinário, e detectaram que a ampicilina obteve 44,44% de resistência de todas as cepas analisadas e entre as bactérias Gram negativas 69,57% das cepas apresentaram resistência.

De acordo com Lima et al. (2014) os antimicrobianos ß-lactâmicos (penicilina, ampicilina e amoxicilina) são amplamente utilizados na prática clínica, possuem amplo espectro de ação e baixa toxicidade, mas em nosso estudo foi encontrado um caso de resistência à ampicilina.

Conclusões

Staphylococcus sp. fazem parte da microbiota natural do útero de cadelas, por isso foram as mais frequentemente isoladas. As bactérias apresentaram sensibilidade à maioria dos antimicrobianos testados, podendo ser utilizados no protocolo de antibioticoprofilaxia.

Agradecimentos

À clínica veterinária Auqmia, representada pelo médico veterinário Júlio Lasquevski Júnior, pelo fornecimento do material da pesquisa.

Referências

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 ovariossalpingohisterectomia. **Ars Veterinaria**, v. 21, n. 3, p. 361-367, 2005.

FERREIRA, D. et al. Avaliação microbiológica de úteros de cadelas em castrações eletivas. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 11, n. 3, p. 77, 2013.

HEIDENBERGER; UNSHELM. Changes in the behavior of dogs after castration. **Tierarztliche Praxis**, v. 18, n. 1, p. 69-75, 1990.

KOHL, T.; PONTAROLO, G. H.; PEDRASSANI, D. Resistência antimicrobiana de bactérias isoladas de amostras de animais atendidos em hospital veterinário. **Saúde & Meio Ambiente**. v. 5, n. 2, p. 115-127, jul./dez. 2016.

LANNA, L. L.; MASCARENHAS, R. M.; MARQUES JÚNIOR, A. P. Abordagem clínica da infertilidade na cadela e patologias associadas: revisão. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v.36, n.2, p.113-121, 2012.

LIMA, W. C. et al. Antibioticoprofilaxia em ovário-histerectomia em cadelas. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer – Goiânia, v. 10, n. 18, p. 324, 2014.

WATTS, J. R.; WRIGHT, P. J.; WHITHEAR, K. G. Uterine, cervical and vaginal microflora of the normal bitch. **J. Small Anim. Pract.**, v.37, p.54-60, 1996.