

Rilevazione di funghi e batteri nell'igiene dell'allevamento equino: frequenza e valutazione

Dott. Anton Heusinger



Immagine: envatoelements

Nelle cavalle da riproduzione, le infezioni del tratto genitale possono portare principalmente a infertilità, aborti e alla nascita di puledri deboli con setticemia.

Per questo motivo, è necessario l'esame batteriologico dei tamponi cervicali o uterini prima dell'inseminazione di una cavalla, sia naturale che artificiale. Oltre alla coltura batteriologica, può essere utile anche testare eventuali infestazioni da lieviti e muffe.

Meccanismi di protezione contro le infezioni

Oltre alle barriere fisiche come la chiusura vulvare, lo sfintere vestibolo-vaginale e la cervice, anche i meccanismi immunitari locali prevengono la colonizzazione di microrganismi patogeni (facoltativi).

Se queste barriere fisiche non sono intatte, ad esempio dopo un travaglio difficile, possono verificarsi pneumovagina o ritenzione urinaria.

I patogeni possono quindi colonizzare queste zone più facilmente.

Difetti nelle caratteristiche anatomiche delle grandi corna uterine, del miometrio, del legamento latum utero e alterazioni degenerative dell'apporto vascolare e del drenaggio linfatico possono influire negativamente sull'"autopulizia" della mucosa uterina.

Difesa immunitaria

Dopo l'infezione sperimentale con *Streptococcus equi* ssp. *zooepidemicus*, le cavalle intatte sono state in grado di eliminare il patogeno entro poche ore. Nelle cavalle più anziane, rimaste sterili per un periodo di tempo più lungo, l'eliminazione dei patogeni introdotti *Streptococcus equi* ssp. *zooepidemicus* e *Pseudomonas aeruginosa* ha richiesto tempi considerevolmente più lunghi.

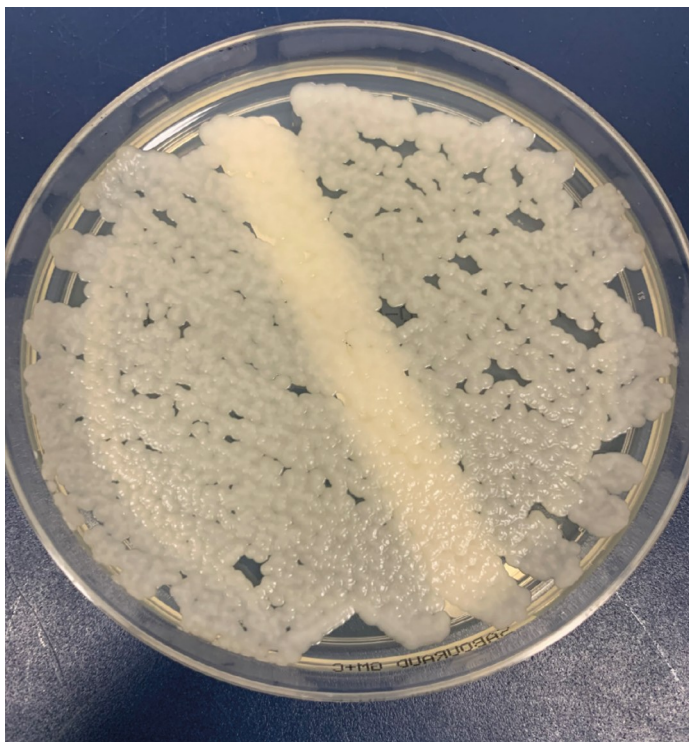
Fig. 1: *Candida parapsilosis*

Immagine: Laboklin

Meccanismi di difesa umorale

Le immunoglobuline dominanti, IgG e IgA secretorie, sono prodotte nell'endometrio. La concentrazione di immunoglobuline differisce solo marginalmente tra cavalle suscettibili all'endometrite e quelle immuni. Le cavalle suscettibili all'endometrite erano meno efficienti nell'eliminare gli streptococchi introdotti con opsonine durante l'infezione acuta e quindi meno capaci di avviarne l'eliminazione.

Risposta immunitaria cellulare

Chemiotatticamente, i neutrofili possono reagire a batteri, endotossine, sperma, diluenti del seme e persino acqua sterile, senza differenze significative tra cavalle suscettibili all'endometrite e quelle non suscettibili.

La stimolazione cellulare dopo l'accoppiamento può portare a una reazione infiammatoria permanente in alcune cavalle dovuta alla proteina estranea, nota come endometrite permanente indotta dall'accoppiamento (PMIE).

Questa reazione infiammatoria persistente, con un'aumentata presenza di neutrofili, è ulteriormente stimolata dalla presenza di batteri. È innescata da una reazione locale all'antigene primario, con produzione locale di mediatori infiammatori, in particolare prostaglandina E2, e aumento dell'afflusso di neutrofili insieme alle proteine sieriche. L'attività fagocitaria dei neutrofili è massima durante l'estro.

Diagnosi delle infezioni fungine

I campioni citologici (le biopsie della mucosa uterina sono più affidabili) forniscono indicazioni sullo stato del ciclo e della mucosa, nonché su eventuali segni di infiammazione. I batteri possono essere rilevati direttamente al microscopio senza ulteriore identificazione della specie.

Se il profilo delle cellule infiammatorie suggerisce un'infezione fungina, è possibile utilizzare colorazioni specifiche per determinare se si tratti di un lievito o di un fungo.

Per gli esami colturali, il campione deve essere prelevato dalla cervice o dall'utero utilizzando, se possibile, uno speculum sterile.

Da questo campione è possibile ottenere colture sia batteriologiche che micologiche.

Per la coltura micologica, si utilizza agar Sabouraud destrosio con cloramfenicolo e gentamicina per inibire la flora batterica.

L'incubazione avviene a 36 °C per 48 ore, seguita dalla prima lettura. Le colture negative vengono nuovamente controllate per la crescita fungina dopo ulteriori 5 giorni di incubazione.

I lieviti e i funghi filamentosi vengono differenziati mediante spettrometria di massa MALDI-TOF e microscopicamente dopo colorazione con soluzione di lattofenolo blu cotone.

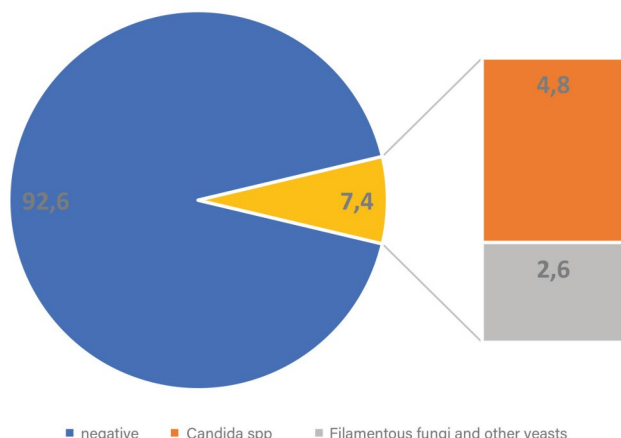


Fig. 2: Valutazione dell'esame micologico del 2024, rilevazione positiva 7,4% (n = 101)
Immagine: Laboklin

Risultati delle nostre indagini

Su 1.365 tamponi cervicali e uterini esaminati micologicamente, il 7,4% (n = 101) ha mostrato una crescita positiva sul terreno di coltura fungino. Di questi, i lieviti della specie *Candida* spp. sono stati isolati nel 61% dei casi.

Nella differenziazione, *Candida parapsilosis* (Fig. 1) ha dominato il complesso *Candida* con il 46%, mentre il 16% e il 17% hanno mostrato livelli moderati o elevati di questo lievito (Fig. 2 e 3).

Altre specie di *Candida* sono state isolate solo sporadicamente. Funghi filamentosi, tra cui *Aspergillus* e *Penicillium*, così come funghi neri come *Alternaria alternata*, sono stati coltivati solo in casi isolati, solitamente a basse concentrazioni.

Valutazione

Oltre al rilevamento di lieviti e funghi, è necessario considerare anche i risultati clinici. Si sospetta un'endometrite da lieviti o funghi se l'endometrite cronica non migliora o migliora solo temporaneamente dopo un trattamento antibiotico. È spesso presente un utero molto disteso con secrezione torbida. La mucosa cervicale e l'endometrio appaiono nettamente infiammati, con una colorazione rosso sporco. Bassi livelli di lieviti senza alterazioni cliniche sono generalmente trascurabili. Il rilevamento di un basso livello di funghi è più probabilmente interpretato come contaminazione durante la raccolta del campione.

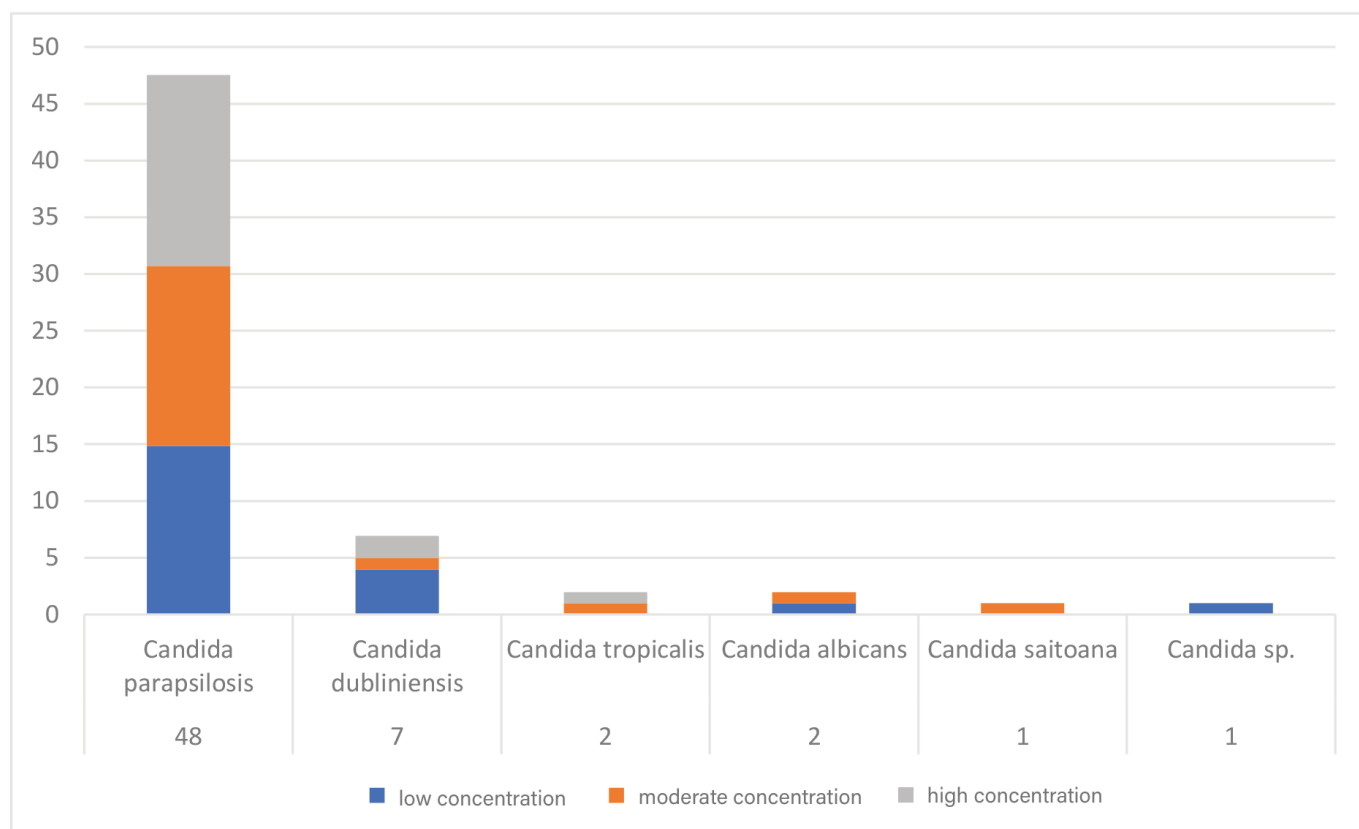


Fig. 3: Isolati di Candida per concentrazione

Immagine: Laboklin

In molti casi, l'endometrite causata da lieviti o funghi è preceduta da un trattamento intrauterino con antibiotici per trattare un'infezione causata da batteri. Gli antibiotici applicati possono danneggiare la mucosa, mentre lieviti e funghi possono essere introdotti dall'esterno durante il trattamento intrauterino. Si discute anche se l'uso di fluidificanti del liquido seminale contenenti antibiotici possa portare a una proliferazione fungina.

Terapia

Il lavaggio viene utilizzato per pulire il lume uterino ed eliminare detriti cellulari, come neutrofili morti, insieme a microrganismi e altri prodotti infiammatori. Il liquido induce contrazioni uterine e pulizia a causa della temporanea irritazione della mucosa.

Per l'irrigazione, vengono utilizzate soluzioni elettrolitiche bilanciate riscaldate come la soluzione di Ringer o soluzioni saline.

A queste soluzioni possono essere aggiunti antisettici blandi, come lo iodio-povidone o la clorexidina. È necessario assicurarsi che vengano utilizzati in forma diluita; in caso contrario, potrebbe verificarsi una grave infiammazione o persino una necrosi della mucosa. La soluzione di povidone-iodio deve essere utilizzata a una concentrazione massima dello **0,05%** (5 ml di una soluzione di povidone-iodio al **10%** in **1 litro** di soluzione salina) e la clorexidina digluconato a una concentrazione massima dello **0,25%**.

L'uso di dimetilsolfossido (DMSO) come agente chimico irritante per rimuovere il tessuto endometriale infiammato è piuttosto discutibile dal punto di vista del benessere animale. Dopo l'irrigazione, si può prendere in considerazione l'uso di antimicotici. Attualmente, nessun principio attivo è approvato per l'uso sistemico o intrauterino nei cavalli.

Diverse sostanze, come nistatina, amfotericina B o clotrimazolo, vengono utilizzate per via intrauterina per il trattamento di infezioni fungine o da lieviti (uso off-label).

La nistatina, da **0,5 a 2,5 milioni** di unità disciolte in **100-250 ml** di acqua sterile, è adatta per i lieviti. Essendo scarsamente solubile in acqua, deve essere preparata immediatamente prima dell'applicazione e portata in sospensione agitando energicamente.

Il miconazolo, **200-700 mg** in **40-60 ml** di soluzione salina sterile al giorno per un massimo di **10 giorni**, è risultato essere il più efficace contro la Candida.

La terapia con antimicotici deve essere continuata per almeno **7-10 giorni**.

Se necessario, è possibile eseguire un antimicrogramma per determinare la sensibilità agli agenti antifungini.

Conclusioni

Anche gli stalloni tenuti isolati per lunghi periodi di tempo dovrebbero essere sottoposti a un esame micologico nell'ambito della valutazione dell'igiene riproduttiva. La probabilità di eliminare con successo il patogeno rimane incerta nonostante il trattamento.

Esami/profili relativi all'igiene della riproduzione

- Igiene della riproduzione
- Igiene della riproduzione + micologia
- Igiene della riproduzione + CEM (Taylorella equigenitalis)
- CEM: coltura o PCR
- Profili CEM per fattrici e stalloni

Approfondimenti

Cafarchia C, Figueredo LA, Otranto D. Fungal diseases of horses. Vet Microbiol. 2013;167(1-2):215-234. doi: 10.1016/j.vetmic.2013.01.015

Sellon DC, Long MT, Equine infectious diseases second edition Saunders; 2013.

Sielhorst J, Köhne M, Spilker K-C, Kahler A, Brekle C, Tönnisen A, Käser R, Burger D, Sieme H. Aktuelle Empfehlungen zur Diagnostik und Therapie der Endometritis bei der Stute. Pferdespiegel. 2019;22(02):75-88. doi:10.1055/a-0858-4508