

COMUNICAÇÃO CIENTÍFICA

ETIOLOGIA E SENSIBILIDADE *IN VITRO* DE MICRORGANISMOS
AERÓBICOS ISOLADOS DE ENDOMETRITE EQUINA

D.M. de Aguiar, M.G. Ribeiro, T.E. Ueno, G. Nardi Júnior, A.C. Paes, J. Megid, F.J.P. Listoni

Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, CP 560, CEP 18618-000, Botucatu, SP, Brasil. Email: danmoura@usp.br

RESUMO

Avaliou-se a etiologia de bactérias aeróbicas e fúngica e a sensibilidade microbiana *in vitro* de agentes bacterianos, de 207 éguas com endometrite. Obteve-se o isolamento microbiano em 75 (36,5%) amostras de secreção uterina. Isolou-se com maior frequência *Streptococcus* beta-hemolítico (32,0%), *Escherichia coli* (17,3%) e *Corynebacterium* spp. (12,0%). Dentre os agentes de origem fúngica identificou-se *Candida albicans* (4,0%) e *Geotrichum candidum* (1,3%). No teste *in vitro* de sensibilidade microbiana, a norfloxacina (77,0%), a ampicilina (72,3%) e a gentamicina (63,5%) foram os antimicrobianos mais efetivos. Estreptomicina (68,75%), sulfadiazina/trimetoprim (50,5%) e penicilina G (48,7%) apresentaram os maiores índices de resistência frente aos agentes. O presente estudo ratifica a complexidade etiológica na gênese de infecções uterinas na espécie equina, e a importância do perfil *in vitro* de sensibilidade microbiana, como subsídio para procedimentos terapêuticos.

PALAVRAS-CHAVE: Equino, endometrite, etiologia, sensibilidade microbiana.

ABSTRACT

ETIOLOGY AND *IN VITRO* ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY OF AEROBIC AGENTS ISOLATED FROM EQUINE ENDOMETRITIS. Microbiological exams of the uterine secretion of 207 mares were evaluated. From 75 (36.2%) positive cultures, the most common microorganisms isolated were *Streptococcus* beta-hemolytic (32.0%), *Escherichia coli* (17.3%) and *Corynebacterium* spp. (12.0%). *Candida albicans* (4.0%) and *Geotrichum candidum* (1.0%) were the most frequent fungi isolated. Norfloxacin (77.0%), ampicillin (72.3%) and gentamicin (63.5%) were the most effective antimicrobials for bacterial agents. Streptomycin (68.7%), sulfadiazine/trimethoprim (50.0%) and penicillin G (48.7%) showed high values of resistance. The present study confirms the etiologic complex of uterine infections mares as well as the importance of the *in vitro* antimicrobial susceptibility profile as an aide in therapy.

KEYWORDS: Equine, endometritis, etiology, antimicrobial susceptibility.

A endometrite é reconhecida como um dos principais problemas reprodutivos na espécie equina, determinando prejuízos decorrentes da queda da fertilidade, morte embrionária, abortamentos e com o descarte de animais (ASBURY, 1987). As infecções uterinas na espécie equina ocorrem frequentemente por alterações nos mecanismos imunológicos de defesa, responsáveis pela eliminação dos microrganismos existentes no útero (RIET-CORREA *et al.*, 1999).

Diferentes microrganismos têm sido descritos associados à gênese da endometrite equina, com predomínio de agentes de origem bacteriana, especialmente, dos gêneros *Streptococcus*, *Staphylococcus*, e enterobactérias. Dentre os agentes de origem fúngica, a levedura *Candida albicans* permanece como o microrganismo mais preocupante na casuística da endometrite equina (MORENO *et al.*, 1972; SANTOS *et al.*, 1971; RICKETTS *et al.*, 1981; LANGONI *et al.*, 1994).

O presente estudo investigou a etiologia bacteriana aeróbica e fúngica e o perfil de sensibilidade microbiana, em 207 amostras de secreção uterina de éguas com endometrite, encaminhadas para o Serviço de Diagnóstico Microbiológico do Hospital Veterinário da FMVZ/UNESP/Campus de Botucatu, SP, entre janeiro de 1997 a dezembro de 2001.

Procedeu-se o cultivo microbiológico das amostras nos meios de ágar sangue ovino (5%) desfibrinado e ágar MacConkey em condições de aerobiose, a 37°C, mantidos por 72h. Simultaneamente, as amostras foram cultivadas em ágar Sabouraud e ágar Micozel para diagnóstico micológico mantidos, respectivamente, a 37°C e a 25°C, por até 30 dias. Os microrganismos isolados foram identificados segundo as características morfo-tintoriais, bioquímicas e de cultivo (KRIEG & HOLT, 1984; LARONE, 1987; QUINN *et al.*, 1994; LACAZ *et al.*, 1998).

Tabela 1 - Microrganismos de origem bacteriana e fúngica isolados de 75 casos de endometrite eqüina. Botucatu, 2001.

Microrganismos	Frequência	Porcentagem
<i>Streptococcus</i> beta-hemolítico	24	32,0%
<i>Escherichia coli</i>	13	17,3%
<i>Corynebacterium</i> spp.	9	12,0%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5	6,7%
<i>Streptococcus zooepidemicus</i>	3	4,0%
<i>Streptococcus</i> spp.	3	4,0%
<i>Pasteurella aerogenes</i>	3	4,0%
<i>Candida albicans</i>	3	4,0%
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2	2,7%
<i>Staphylococcus</i> spp.	2	2,7%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	2,7%
<i>Alcaligenes faecalis</i>	2	2,7%
<i>Pasteurella multocida</i>	1	1,3%
<i>Klebsiella oxitoca</i>	1	1,3%
<i>Acinetobacter</i> sp.	1	1,3%
<i>Geotrichum candidum</i>	1	1,3%
Total	75	100,0%

O teste de sensibilidade microbiana *in vitro*, método de difusão com discos (BAUER *et al.*, 1966), foi realizado utilizando os seguintes antimicrobianos: ampicilina (10 mcg), cefalexina (30 mcg), eritromicina (15 mcg), estreptomomicina (10 mcg), gentamicina (10 mcg), norfloxacina (10 mcg), penicilina G (10 U.I.), sulfadiazina/trimetoprim (30 mcg) e tetraciclina (30 mcg).

Em 75 (36,5%) amostras de secreção uterina foi obtido o isolamento de agentes de origem bacteriana ou fúngica (Tabela 1). Em 132 (63,5%) amostras não se

obteve êxito no isolamento de microrganismos. A Tabela 2 sumariza os resultados do perfil de sensibilidade microbiana *in vitro* dos agentes bacterianos isolados de endometrite nas éguas.

Do total de 207 amostras de secreções uterinas das éguas submetidas ao exame microbiológico, não se logrou êxito no isolamento de microrganismos de origem bacteriana ou fúngica do material procedente de 132 animais. Este resultado assemelha-se aos evidenciados em outros estudos (SANTOS *et al.*, 1971; LANGONI *et al.*, 1994), e pode decorrer da presença de outras afecções uterinas em éguas - de origem não infecciosa - que determinam sinais clinicamente indistinguíveis das endometrites de origem bacteriana ou fúngica (FHRELFALL & IMMIGART, 1998).

O isolamento de microrganismos dos gêneros *Streptococcus*, *Staphylococcus* e da família *Enterobacteriaceae* nos animais estudados encontra-se em conformidade com os achados de outros autores, que assinalam estes grupos de microrganismos como os principais agentes na gênese da endometrite eqüina (SANTOS *et al.*, 1971; RICKETTS *et al.*, 1981; LANGONI *et al.*, 1994). No Brasil, MERKT *et al.* (1987) e LANGONI *et al.* (1994) também referiram *Streptococcus* sp. beta-hemolíticos como o principal agente envolvido na casuística de infecções do trato genital de éguas. O grande envolvimento deste gênero de microrganismos na endometrite eqüina provavelmente encontra justificativa no comportamento oportunista dos estreptococos, visto que este agente é habitualmente encontrado na pele dos animais (QUINN *et al.*, 1994), e tem sido considerado o microrganismo mais freqüentemente isolado de material cervical de éguas sadias (KRABISCH *et al.*, 1982).

Tabela 2 - Sensibilidade microbiana *in vitro*, no teste de difusão com discos, em 75 casos de endometrite eqüina. Botucatu, 2001.

Antimicrobianos	Sensibilidade		
	nº de linhagens sensíveis / nº de testadas (%)		
	Sensível	Intermediária	Resistente
Ampicilina (10 µg)	34/47 (72,3%)	02/47 (4,2%)	11/47 (23,5%)
Cefalexina (30 µg)	13/28 (46,5%)	06/28 (21,5%)	09/28 (32,0%)
Eritromicina (15 µg)	17/41 (41,5%)	05/41 (12,2%)	19/41 (46,3%)
Estreptomomicina (10 µg)	03/16 (18,7%)	02/16 (12,5%)	11/16 (68,7%)
Gentamicina (10 µg)	33/52 (63,5%)	03/52 (6,0%)	16/52 (30,5%)
Norfloxacina (10 µg)	20/26 (77,0%)	01/26 (3,0%)	05/26 (20,0%)
Penicilina G (10UI)	15/43 (35,0%)	07/43 (16,3%)	21/43 (48,7%)
Sulfadiazina/Trimetoprim (25 µg)	25/59 (42,5%)	04/59 (7,0%)	30/59 (50,5%)
Tetraciclina (30 µg)	08/25 (32,0%)	05/25 (20,0%)	12/25 (48,0%)

Nº = número

% = porcentagem

µg = microgramas

A alta ocorrência de agentes da família *Enterobacteriaceae*, com destaque para o isolamento de *Escherichia coli*, coincide com outros estudos conduzidos na investigação da etiologia das endometrites eqüinas. A ocorrência destes agentes têm sido atribuída a determinados fatores predisponentes, incluindo manobras ginecológicas inadequadas, utilização de instrumental contaminado em exames ginecológicos ou defeitos anatômicos (urovagina, pneumovagina), que favoreçam a veiculação de material fecal para o trato genital das éguas (MORENO *et al.*, 1972; THRELFALL & IMMEGART, 2000).

O perfil de sensibilidade microbiana *in vitro* dos agentes de origem bacteriana assinalou a norfloxacina, a ampicilina e a gentamicina como os antimicrobianos mais efetivos. Estes resultados corroboram os obtidos por LANGONI *et al.* (1994), que apontam a alta sensibilidade de bactérias Gram-negativas e Gram-positivas isoladas de endometrite eqüina, respectivamente, para a gentamicina e a ampicilina.

A totalidade dos isolados bacterianos apresentou 20,0% ou mais de resistência *in vitro* frente aos antimicrobianos ensaiados, incluindo drogas de indicação clássica para terapia de afecções uterinas em éguas, como a penicilina, a tetraciclina e a associação sulfadiazina/trimetoprim (Tabela 2), ratificando a preocupação com a resistência múltipla de agentes na endometrite eqüina. O isolamento de *Pseudomonas aeruginosa* também tem sido assinalado em outros estudos envolvendo a etiologia das endometrites na espécie eqüina. Entretanto, investigações recentes têm ressaltado para a crescente multi-resistência deste agente, tanto em infecções uterinas em éguas (LANGONI *et al.*, 1994), como em diferentes afecções em animais domésticos (TANAKA *et al.*, 2002).

MORENO *et al.* (1968) e LANGONI *et al.* (1994) identificaram no Brasil, respectivamente, *Candida albicans* em 2,5% e 3,4% da casuística de endometrite em éguas. No presente estudo, também foram identificadas endometrites de origem micótica, por leveduras do gênero *C. albicans* (4,0%) e *Geotrichum candidum* (1,3%). A presença de resistência múltipla observada em agentes bacterianos e o isolamento de agentes fúngicos em endometrites em éguas podem decorrer do uso indevido de antimicrobianos por via parenteral ou em infusões uterinas, em virtude do aumento da pressão seletiva para infecções uterinas por bactérias multi-resistentes, ou por permitir a veiculação destes agentes para o ambiente uterino, alertando para os riscos em instituir-se protocolos terapêuticos na endometrite eqüina sem o respaldo do diagnóstico microbiológico e de testes de sensibilidade microbiana.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASBURY, A.C. Failure of uterine defense mechanisms. In: ROBINSON, N.E. (Ed.). *Current therapy in equine medicine*. 2.ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1987. p.508-511.
- BAUER, A.W.; KIRBY, W.M.M.; SHERRIST, J.C. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.*, v.45, p.493-496, 1966.
- KRABISCH, VON P. Bakteriologische Ergebnisse bei der Kontrolle bayerischen Stuten und Hengste auf Geschlechtsgesundheit in den Jahren 1974-1981. *Dtsch. Tierarz. Wochenschr.*, v.89, p.184-189, 1982.
- KRIEG, N.R. & HOLT, J.C. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. 9.ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1984.
- LACAZ, C.S.; PORTO, E.; HEINS-VACCARI, E.M.; MELO, N.T. (Eds.). *Guia para identificação de fungos, actinomicetos e algas de interesse médico*. São Paulo: Sarvier/FAPESP, 1998. Identificação dos actinomicetos aeróbios, p.364-375.
- LANGONI, H.; ALVARENGA, M.A.; PAPA, F.O.; SAKAMOTO, C.; SIMON, J.J.; LISTONI, J.F.P.; CARREIRA, E.L.C. Estudo microbiológico e citológico do trato genital de éguas. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.46, n.6, p.623-636, 1994.
- LARONE, D.H. *Medically important fungi. A guide to identification*. Londres: Elsevier, 1987. 230p.
- MERKT, H.; WOCKENER, A.; HEILKENBRINKER, T. Mikrobielle untersuchung in der stutengynakologie. *Prakt. Tierarz.*, v.68, p.5-12, 1987.
- MORENO, G.; BOTTINO, J.A.; MÓS, E.N.; BEY, T. Infecções genitais de éguas puro sangue inglês por *Candida albicans*. *Biológico*, São Paulo, v.34, n.5, p.115-117, 1968.
- MORENO, G.; BOTTINO, J.A.; MÓS, E.N.; MIGUEL, O. Infecções genitais de éguas puro sangue inglês. Inquérito bacteriológico. *Biológico*, São Paulo v.37, n.1, p.8-12, 1972.
- QUINN, P.J.; CARTER, M.E.; MARKEY, B.K.; CARTER, G.R. *Clinical veterinary microbiology*. London: Mosby, 1994. Sec.1, Capítulo.4: Bacterial pathogens; microscopy, culture and identification.
- RICKETTS, S.W. Bacteriological examinations of mare's cervix: techniques and interpretation of results. *Vet. Rec.*, v.108, p.46-51, 1981.
- RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.; MENDEZ, M.C. *Doenças de ruminantes e eqüinos*. Pelotas: Ed. Universitária/UFPel., 1999. 659p.
- SANTOS, M.R.S.; PORTUGAL, M.A.S.C.; GIORGI, W. C. ASTRO, A.F.P. Infecções bacterianas do trato genital de éguas puro sangue inglês. *Rev. Med. Vet.*, v.7, n.1, p.53-64, 1971.
- TANAKA, E.M.; RIBEIRO, M.G.; MEGID, J.; LISTONI, F.J.P. *In vitro* antimicrobial sensitivity testing with EDTA-TRIS in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from animals. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.54, p.331-334, 2002.
- THRELFALL, W.R. & IMMEGART, H.M. Doença uterina e tratamento. In: REED, S.M. & BAYLY, W.M. (Eds.). *Medicina interna eqüina*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. p.666-671.

Recebido em 11/3/05

Aceito em 31/3/05