

# ETIOLOGIA E PERFIL DE SENSIBILIDADE MICROBIANA NA MASTITE EQUINA

HELIO LANGONI<sup>1</sup>  
NEREU CARLOS PRESTES<sup>2</sup>  
ARISTEU VIEIRA DA SILVA<sup>3</sup>  
LUIS AUGUSTO CORDEIRO<sup>4</sup>  
GUSTAVO J. MACHADO<sup>5</sup>

LANGONI, H. PRESTES, N.C., SILVA, A.V. DA, CORDEIRO, L.A., MACHADO, G.J. Etiologia e perfil de sensibilidade microbiana na mastite equina. *Semina: Ci. Agr.*, Londrina, v.19, n.1, p.17-20, mar. 1998.

**RESUMO:** Neste ensaio foram estudados a flora aeróbica e o perfil de sensibilidade na mastite equina aguda. As amostras de leite foram obtidas após rigorosa antissepsia cultivando-se 0,1 ml em placas contendo meio de ágar-sangue bovino e meio de MacConkey, incubando-se por até 72 horas, com observação diária do desenvolvimento microbiano. As colônias foram repicadas em meio de caldo cérebro-coração para o estudo da sensibilidade bacteriana frente a diferentes antimicrobianos. Do total de 61 amostras, 56 (91,8%) foram positivas com isolamento de *Streptococcus zooepidemicus* em 23 (41,1%), *Streptococcus equissimilis* em 6 (10,7%), *Staphylococcus aureus* em 11 (19,6%), *Klebsiella pneumoniae* em 8 (14,3%), *Escherichia coli* em 3 (5,3%), *Nocardia asteroides* em 3 (5,3%) e *Bacillus spp* em 2 (3,6%), delas. Foram obtidas as seguintes associações: *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus zooepidemicus* em três casos e de *Escherichia coli* e *Bacillus spp* em dois casos. O estudo da sensibilidade bacteriana frente aos diferentes antimicrobianos revelou que para *Staphylococcus aureus* obteve-se mais de 75% de amostras sensíveis para cloranfenicol, nitrofurantoina, gentamicina, oxacilina, cefaloridina, rifampicina e eritromicina, enquanto que para os estreptococos foram o cloranfenicol, nitrofurantoina, oxacilina, cefaloridina, rifampicina e eritromicina. Para *Klebsiella pneumoniae* este valor foi alcançado com o cloranfenicol e cefaloridina, enquanto que para a *Escherichia coli* somente com a gentamicina e cefaloridina.

**PLAVRAS-CHAVE:** Mastite, equino, sensibilidade microbiana.

## 1. INTRODUÇÃO

A mastite é amplamente estudada nas várias espécies convencionalmente produtoras de leite, especialmente na bovina, pela grande repercussão na produção leiteira, com prejuízos econômicos pela diminuição de produção bem como pelas alterações nas características do leite, tornando-o impróprio para o consumo humano, e ainda pela diminuição no rendimento industrial para a fabricação dos seus derivados. Para a espécie caprina, observa-se também certo interesse para o estudo desta afecção uma vez que tanto o leite caprino, quanto os seus subprodutos, são também utilizados como alimento pelo homem.

Pela importância do leite como alimento para as crias, e mudanças patológicas provocadas pelo processo inflamatório, e infecção, que conduzem à alterações da glândula mamária, podendo ocasionar lesões progressivas do epitélio secretor, com redução ou interrupção da produção láctea dependendo do grau de destruição tecidual, a mastite deve ser considerada

e estudada nas diferentes espécies mamíferas, embora não convencionalmente produtoras de leite.

Welsh (1984), assinala que a mastite é rara na espécie equina, e que o *Streptococcus zooepidemicus* é o seu principal agente. Considerando-se aspectos etiológicos nesta afecção, Reese & Lock (1978) apontam, também, os *Streptococcus*, especialmente os  $\beta$  hemolíticos como principais agentes na mastite nesta espécie.

Além da etiologia infecciosa, devem-se considerar os casos de mastite traumática (Sist et al, 1987), que podem predispor à infecção secundária, uma vez que muitos microrganismos fazem parte da microbiota da pele, principalmente o *Streptococcus zooepidemicus* (Welsh, 1984).

Alguns fatores contribuem para a baixa incidência da mastite em éguas. Jackson (1986) pondera que o tamanho pequeno e a localização anatômica do úbere nas éguas, tornam este órgão protegido nas condições ambientais. Argumenta, ainda, que o volume de leite armazenado é pequeno, assim o potro mama várias

<sup>1</sup> Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública / Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia / Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho", Distrito de Rubião Jr., s/no, Botucatu, SP, CEP 18618-000, Tel. (014) 8206270, Fax (014) 8206275, e-mail hlangoni@fmvz.unesp.br

<sup>2</sup> Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária / FMVZ / UNESP / Botucatu.

<sup>3</sup> Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública / FMVZ / UNESP / Botucatu.

<sup>4</sup> Aluno do Curso de Medicina Veterinária, bolsista da FAPESP.

<sup>5</sup> Aluno do curso de Medicina Veterinária, bolsista CNPq.

**Financiadores:** FAPESP (Fundação de Apoio a Pesquisa no Estado de São Paulo); CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico)

vezes durante o dia, promovendo o esvaziamento contínuo do úbere, sendo este um importante fator de prevenção nesta afecção. Outros fatores considerados importantes são a imunidade local e a condição hormonal das éguas.

Pode ocorrer em qualquer período da lactação sendo, entretanto, mais freqüente no seu estágio final ou no pós-desmame (Addo et al., 1974; Welsh, 1984). Há relatos de sua ocorrência em éguas não lactantes (Prentice, 1974; Roberts, 1986), bem como em potras de quatro meses de idade (Pugh et al., 1985).

Ramachandran (1991) revisando aspectos de etiologia, epidemiologia, patologia e terapêutica na mastite eqüina assinala, também, como principal agente o *Streptococcus zooepidemicus*. Os *Streptococcus*  $\beta$  hemolíticos e *Staphylococcus* hemolíticos são os microrganismos mais freqüentemente isolados do leite, ou secreções das glândulas mamárias inflamadas (Prentice, 1974; Bocquet et al., 1975). Entre outros patógenos citados, incluem-se o *Corynebacterium equi* (Lacerda & Veiga, 1959), hoje denominado *Rhodococcus equi*, *Corynebacterium ovis* (Addo et al., 1974), microrganismo similar ao *Actinobacillus suis* (KIM et al., 1976) e *Pseudomonas aeruginosa* (Roberts, 1986).

O estudo de Bostedt et al. (1988) compreendendo amostras procedentes de 33 éguas com idades variáveis de 4 a 14 anos, com mastites agudas e subagudas, assinala o isolamento de 70 agentes sendo 36 (51,4%) *Streptococcus* spp entre eles 25 (69,4%) *Streptococcus*  $\beta$  hemolíticos, *Staphylococcus aureus* 9 (12,8%), coliformes 6 (8,0%), *Escherichia coli* 3 (4,3%), *Klebsiella* spp 2 (2,8%), *Neisseria* spp 3 (4,3%). A análise do período de ocorrência mostrou 27,3% dos casos antes do parto, 24,2% imediatamente pós-parto, 12,1% no período intermediário até o final da lactação, 9,1% imediatamente após o desmame e 27,3% em éguas não lactantes.

McCue & Wilson (1989) avaliando os resultados de 28 casos de mastite em éguas, obtiveram o isolamento de bactérias aeróbicas em 19 casos (71,0%), sendo o *Streptococcus zooepidemicus* o mais freqüente, com seu isolamento em 7 (25,0%) amostras. Bactérias Gram negativas foram obtidas em 8 (28,6%) dos casos.

O perfil de sensibilidade microbiana para os microrganismos mais comumente relacionados à etiologia da mastite eqüina, se faz necessário tendo em vista a seleção de variantes resistentes. A literatura apresenta os resultados de tratamento *in vivo* para alguns agentes sem, entretanto, mostrar os oriundos de levantamentos como o faz no caso da flora mastítica bovina. Os *Streptococcus* são mais sensíveis a drogas como a penicilina, cloxacilina, novobiocina e neomicina (Prentice, 1974). Mastite por *Corynebacterium ovis* responde bem ao tratamento com terramicina (Addo et al., 1974) e em casos de infecção mista, por microrganismos Gram positivos e Gram negativos, as associações de trimetoprim-sulfonamida ou penicilina-aminoglicosídeos revelam-se as melhores (McCue & Wilson, 1989).

Os resultados da sensibilidade antibiótica de amostras de *Streptococcus zooepidemicus*, isoladas

de diferentes secreções nesta espécie, revelaram 41,8% de resistência para a gentamicina (Welsh, 1984). Este mesmo estudo demonstrou 100% de sensibilidade do *Streptococcus zooepidemicus* para a cefalosporina e eritromicina, 97,9%, 96,9%, 79,1%, 69,6% e 33,7% para o cloranfenicol, nitrofurantoina, penicilina, ampicilina e tetraciclina respectivamente. A associação trimetoprim-sulfa e a neomicina mostraram sensibilidade em somente 7,9% e 5,1% das amostras examinadas, respectivamente.

No presente trabalho objetivou-se estudar a flora microbiana na mastite eqüina aguda, bem como o perfil de sensibilidade dos microrganismos isolados frente aos diferentes antimicrobianos.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram examinadas as amostras de leite procedentes de 61 éguas adultas, com idades variáveis entre 4 e 12 anos, das raças Mangalarga, Quarto-de-Milha e Appaloosa, com quadros de mastite aguda. As amostras foram colhidas após higienização do úbere com água e sabão, secagem com papel toalha e desinfecção com algodão embebido em álcool 70%. Após desprezar os primeiros jatos da secreção láctea alterada, colheu-se o material em frascos estéreis tipo penicilina, identificados com os dados de cada animal, fechados imediatamente e acondicionados em caixa de isopor com gelo reciclável e transportados para o laboratório, onde procederam-se os exames microbiológicos.

Os cultivos bacterianos foram realizados em meios de ágar-base adicionado de sangue bovino a 10% e ágar McConkey, semeando-se, quando possível, 0,1ml do leite ou 3 gotas da secreção. Observou-se o desenvolvimento bacteriano após 24, 48 e 72 horas de incubação a 37°C. O estudo morfológico das colônias foi feito pelo método de Gram, sendo os microrganismos repicados para meio de caldo-cérebro-coração para obtenção de material para a realização das provas taxonômicas de acordo com Krieg & Holt (1984), bem como para a realização dos antibiogramas segundo Bauer et al. (1966), utilizando-se discos de cloranfenicol (30(g), nitrofurantoina (300(g), gentamicina (10(g), oxacilina (5(g), penicilina (10U), cefaloridina (30(g), sulfazotrim (25(g), rifampicina (30(g) e eritromicina (15(g)).

## 3. RESULTADOS

Das 61 amostras analisadas 56 (91,8%) foram positivas, com o isolamento de diferentes microrganismos, cujas freqüências podem ser apreciadas na Tabela 1.

**Tabela 1.** Microrganismos isolados em casos de mastite aguda em éguas. Botucatu, SP. 1996.

Microrganismo	Frequência	%
<i>Streptococcus zooepidemicus</i>	23	41,1
<i>Staphylococcus aureus</i>	11	19,6
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	8	14,3
<i>Streptococcus equisimilis</i>	6	10,7
<i>Escherichia coli</i>	3	5,3
<i>Nocardia asteroides</i>	3	5,3
<i>Bacillus spp</i>	2	3,6
<b>TOTAL</b>	<b>56</b>	<b>99,9</b>

Foram observadas associações de *Staphylococcus aureus-Streptococcus zooepidemicus* e de *Escherichia coli-Bacillus spp*, nas amostras procedentes de três e de duas éguas, respectivamente.

O perfil de sensibilidade, frente aos vários antimicrobianos testados pode ser verificado na Tabela 2.

**Tabela 2.** Resultados da sensibilidade in vitro dos microrganismos isolados de amostras de leite mastítico de éguas. Botucatu (SP), 1996.

Agentes	nº de amostras	Porcentagem de sensibilidade à droga								
		CO	NT	GN	OX	PN	CD	RF	ET	ST
<i>Streptococcus equisimilis</i>	16	85,2	84,5	42,5	88,5	80,5	89,7	79,5	79,8	60,5
<i>Streptococcus zooepidemicus</i>	23	89,8	82,4	51,8	87,8	78,2	92,3	82,5	92,0	51,2
<i>Staphylococcus aureus</i>	11	79,2	76,5	86,8	81,8	18,9	82,4	84,3	68,4	56,8
<i>Nocardia asteroides</i>	3	59,6	35,8	75,2	68,5	22,5	72,8	77,9	76,8	78,7
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	8	75,8	62,4	87,5	nt	nt	80,2	71,8	nt	62,8
<i>Escherichia coli</i>	3	78,7	52,8	82,5	nt	nt	78,4	nt	nt	69,5

CO=cloranfenicol, NT=nitrofurantoína, GN=gentamicina, OX=oxacilina, PN=penicilina, CD=cefaloridina, RF=rifampicina, ET=eritromicina, ST=sulfazotrim, nt=não testado.

#### 4. DISCUSSÃO

Os resultados revelam que ao contrário da espécie bovina, cujo agente etiológico mais comum nas mastites são os estafilococos, com predominância do *Staphylococcus aureus*, os principais agentes da mastite eqüina são os estreptococos, que na presente pesquisa perfizeram 51,8% (29 amostras) dos isolamentos, com 41,1% (23 amostras) de *Streptococcus zooepidemicus* e 10,7% (6 amostras) de *Streptococcus equisimilis*. Da mesma forma Reese & Lock (1978) também referiram-se sobre a importância dos *Streptococcus spp* como causadores de mastite eqüina. Além disso, os resultados do presente estudo, corroboram os de Bostedt et al. (1988), que obtiveram 51,4% de isolamento de *Streptococcus spp*, enquanto que neste trabalho encontrou-se 51,8% de amostras positivas para estes microrganismos. O *Streptococcus zooepidemicus* também mostrou-se o mais importante para McCUE & Wilson (1989) que o isolaram em 25,0% das amostras examinadas.

Embora não existam muitos dados bibliográficos referentes à etiologia da mastite em eqüinos, pode-se concluir com os dados levantados no planejamento deste ensaio, bem como seus próprios resultados, na direção do envolvimento de diferentes microrganismos (Bostedt et al., 1988; McCue & Wilson, 1989), sendo

que entre eles os *Streptococcus spp* e *Staphylococcus spp* são os mais freqüentes.

O *Staphylococcus aureus* foi isolado em 12,8% das amostras examinadas por Bostedt et al. (1988) resultado muito semelhante aos desta pesquisa, com o seu isolamento em 19,6% das amostras examinadas. Quanto aos microrganismos Gram negativos como a *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli*, também encontradas neste estudo em 14,3% e 5,3% das amostras, respectivamente, estes foram assinalados também por Bostedt et al. (1988) com 4,3% de isolamentos de *E.coli* e 2,8% de *Klebsiella spp*.

McCue & Wilson (1989) obtiveram 28,6% de isolamentos de bactérias Gram negativas, resultado superior ao deste estudo que permitiu o isolamento deste grupo de microrganismos em somente 19,6% das amostras.

Embora não se tenha encontrado nenhuma referência que aponte a *Nocardia asteroides* como agente de mastite na espécie eqüina, este trabalho mostrou o seu isolamento em 5,3% dos casos, o que pode ser explicado pela sua adaptação ao parênquima mamário, como ocorre na espécie bovina, onde mostra-se, entre outros, como agente causal, e pelo fato de se encontrar no solo, podendo contaminar a teta e destarte causar infecção.

A análise quanto ao período de gestação das éguas, revelou a ocorrência de 19,0% dos casos antes do

parto, 45,8% na primeira semana pós-parto e 35,2% logo após o desmame. Estes resultados refletem a maior susceptibilidade da glândula mamária para os períodos iniciais e finais da lactação, mostrando que, como na espécie bovina, pode ocorrer mastite por retenção láctea ao desmame, e de certa forma corrobora os resultados encontrados por Bostedt et al. (1988) que também obtiveram maior prevalência nos períodos pré-parto e imediatamente pós-parto.

O estudo da sensibilidade bacteriana frente aos diferentes antimicrobianos revelou que para *Staphylococcus aureus* obteve-se mais de 75% de amostras sensíveis para o cloranfenicol, nitrofurantoina, gentamicina, oxacilina, cefaloridina, rifampicina e eritromicina, enquanto que para os estreptococos foram

o cloranfenicol, nitrofurantoina, oxacilina, cefaloridina, rifampicina e eritromicina. Para *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli*, este valor foi alcançado com o cloranfenicol, gentamicina e cefaloridina, enquanto que para *Nocardia asteroides* somente com a gentamicina, rifampicina, eritromicina e sulfazotrim.

Os resultados permitem concluir pela ampla variabilidade etiológica da mastite equina, bem como pela baixa ação "in vitro" de alguns antibacterianos, mostrando em alguns casos resistência em mais de 50% dos microrganismos testados, e da importância dos cuidados durante o período puerperal das éguas, assim como durante a sua atividade de lactação, no sentido de prevenir a ocorrência de afecções de suas glândulas mamárias.

LANGONI, H. PRESTES, N.C., SILVA, A.V. DA, CORDEIRO, L.A., MACHADO, G.J. Microbial etiology and sensitivity profile of equine mastitis. *Semina: Ci. Agr.*, Londrina, v.19, n.1, p.7-20, mar. 1998.

**ABSTRACT:** The aerobic flora and their sensitivity were studied in equine acute mastitis. The milk samples were obtained under strict hygiene, inoculating 0.1ml of the sample in bovine blood agar and MacConkey media, incubated and daily observed during 72h. The identified colonies were isolated and let grow in brain-heart infusion for the sensitivity test. From the inoculated 61 milk samples, 56 (91.8%) were positive, and isolated *Streptococcus zooepidemicus* 23 (41.1%), *Streptococcus equisimilis* 8 (10.7%), *Staphylococcus aureus* 11 (19.6%), *Klebsiella pneumoniae* 8 (14.3%), *Escherichia coli* 3 (5.3%), *Nocardia asteroides* 3 (5.3%) and *Bacillus spp* 2 (3.6%). Also some associations were observed: *Staphylococcus aureus* with *Streptococcus zooepidemicus* in three inoculations, and *Escherichia coli* with *Bacillus spp* in two inoculations. *Staphylococcus aureus* showed over 75% sensitive against chloramphenicol, nitrofurantoin, gentamicin, oxacillin, cepheloridin, rifampin, and erythromycin, while the streptococi group were to chloramphenicol, nitrofurantoin, oxacillin, cephaloridin, rifampin and erythromycin. *Klebsiella pneumoniae* were to chloramphenicol and cephaloridin, and *Escherichia coli* were to gentamicin and cephaloridin.

**KEY WORDS:** Mastitis, equine, sensitivity profile.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADDO, P.B., WILCOX, G.E., TAUSSIG, R. Mastitis in a mare caused by *C.ovis*. *Vet.Rec.*, v. 95, p. 193,1974.
- BAUER, A.W., KIRBY, W.M.M., SHERRIS, J.C. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. *Am.J.Clin.Pathol.*, Hagerstown, v. 45. p. 493, 1966.
- BOCQUET, J., REY, J. D., LEQUERTIER, J. Traitement des mammites de la jument par la penet bacilline. *Bull. Mens. Soc. Vet. Prat.*, France, v. 59, p. 281-90, 1975.
- BOSTEDT, H., LEHMANN, B., PEIP, D. Zur Problematik der Mastitis bei Stuten. *Tierärztlichen Praxis*, v. 16, p. 367-71, 1988.
- JACKSON, P.G. Equine mastitis: Comparative lessons. *Eq. Vet.J.*, v. 18, p. 88-9, 1986.
- KIM, B.H., PHILLIPS, J.E., ATHERTON, J.G. *Actinobacillus suis* in the horse. *Vet Rec.*, v. 98, p. 239, 1976.
- KRIEG, N.R., HOLT, J.G. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 9.ed. Baltimore: William&Wilkins, 1984.1268 p.
- LACERDA, J.D.G., VEIGA, J.S.M. Mastite em égua, causada pelo *Corynebacterium equi*. *Rev. Fac. Med. Vet. São Paulo*, v. 6, p. 321-7, 1959.
- McCUE, P.M.O., WILSON, W.D. Equine mastitis - A review of 28 cases. *Eq.Vet.J.*, v. 21, p. 351-353, 1989.
- PRENTICE, M.W.M. Mastitis in the mare. *Vet.Rec.*, v. 94, p. 380, 1974.
- PUGH, D.G., MAGNUSSON, R.A., MODRONSKY, P.D. et al. A case of mastitis in a young filly. *J.Eq.Vet.Sc.*, v. 5, p. 1324, 1985.
- RAMACHANDRAN, S. Equine mastitis. *Centaur*, v. 7, p. 83-6, 1991.
- REESE, G.L., LOCK, T.F. Streptococcal mastitis in a mare. *J.Am.Vet.Med.Assoc.*, v. 173, p. 83-6, 1978.
- ROBERTS, M.C. *Pseudomonas aeruginosa* mastitis in a dry non-pregnant pony mare. *Eq.Vet.J.*, v. 18, p. 146,1986.
- SIST, M.D., WILLIAMS, J.F., GERBY, A.M. Pregnancy diagnosis in the mare by immunoassay of estrone sulfate in serum and milk. *J.Bov.Vet.Sc.*, v. 7, p. 20-3, 1987.
- WELSH, R.D. The significance of *Streptococcus zooepidemicus* in the horse. *Equine Practice-Medicine*, v. 6, p. 6-16, 1984.