

DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA E IMUNOLOGIA

Diretor: Prof. Dr. Paulo M. G. de Lacerda Jr.

ESTUDO BACTERIOLÓGICO DE INFECÇÕES GENITAIS DE ÉGUAS PURO SANGUE INGLÊS
(BACTERIOLOGICAL STUDY OF GENITAL INFECTIONS OF THOROUGH BRED MARES)

D. C. DE FREITAS
Assistente-Docente

PAULO M. G. DE LACERDA JR.
Professor Catedrático

J. P. G. DE LACERDA
Assistente

As infecções das vias genitais de éguas puro sangue inglês são frequentes em várias criações do Estado de São Paulo. Uma vez que tais infecções acham-se intimamente ligadas à esterilidade, fazem-se necessárias investigações que possam trazer esclarecimentos sobre tais processos, visando a equacionar o problema em termos objetivos.

Com esse intuito, nosso Departamento vem efetuando exames bacteriológicos em material dessa natureza, desde 1956, procurando, dentro de um esquema de mútua colaboração com colegas que se dedicam à clínica e patologia da reprodução de eqüinos, contribuir para o estabelecimento de critérios clínicos e terapêuticos mais seguros.

Neste trabalho apresentamos um confronto entre exames realizados em material obtido de colo uterino ou útero de éguas infectadas e idênticas provas efetuadas em éguas tratadas e recuperadas para reprodução. Os dados apresentados referem-se a animais sob os cuidados profissionais dos colegas Drs. Fernando Pereira Lima(*) e Ulrich Ralph Reiner (**).

MATERIAL E MÉTODOS

1) Um total de 357 amostras de material obtido no colo uterino ou no próprio útero, foi submetido a exame bacteriológico.

2) Dêsse total, 194 amostras foram rotuladas 'infecção' porque provieram de éguas com quadro clínico evidente ou suspeito. As outras 163 foram rotuladas "contrôle" e referem-se a material coletado de éguas normais e éguas tratadas e recuperadas funcionalmente.

(*) Chefe do Posto de Monta do Jockey Club Paulistano.

(**) Assistente da Cadeira de Fisiologia da F. M. V. da U. S. P.

3) Foram examinadas 236 éguas puro sangue inglês pertencentes a diversos Haras do Estado de São Paulo. Esclareça-se que nem todas estas éguas foram examinadas quando infectadas e depois de curadas e que 73 éguas tiveram seus exames repetidos duas ou mais vezes. Este trabalho limita-se, portanto, a um cotejo de ordem bacteriológica.

4) Para obtenção do material, nosso Departamento forneceu conjuntos esterilizados constituídos de tubo de ensaio 200x20 mm montado com haste de arame de aço de 40 cm de comprimento, em cuja extremidade prendia-se um chumaço de algodão hidrófilo ou gaza.

5) A coleta foi feita obedecendo ao seguinte plano: lavagem e desinfecção externa da região vulvar; colocação de espéculo de Polansky, devidamente desinfetado; introdução da haste de arame e embebição do chumaço de algodão ou gaza no puz, mucosidade ou serosidade existentes no colo uterino. Quando este estava aberto, a coleta era feita mais profundamente.

6) No próprio local — quando as condições o permitiam — ou no laboratório, o material foi semeado nos seguintes meios de cultura: agar-sangue (direto), caldo glicosado, caldo-bile e meio de LACERDA E FREITAS (1952). Tal esquema de culturas merece nossa preferência por uma série de razões, a saber:

a) a cultura direta, em agar-sangue, indica desde logo a riqueza da população bacteriana existente e facilita a interpretação do exame. Assim, se a cultura revela raras colônias de um germe de patogenicidade duvidosa (coliformes, por exemplo), podemos admitir que não se trata de infecção e sim de contaminação acidental. Se a semeadura fosse realizada somente em meios líquidos haveria exuberante crescimento de germes com evidente falseamento do resultado;

b) por seu turno, as semeaduras em meios líquidos permitem despistar infecções em potencial ou aparentemente curadas, nas quais o reduzido número de germes pode fazer malograr culturas diretas;

c) a utilização de meios seletivos tais como o caldo-bile e o caldo nitreto de sódio facilitam sobretudo a triagem de infecções mistas.

Semeaduras praticadas em meio para anaeróbios (Tarozzi) foram abandonadas, pois não encontramos, em repetidos exames, anaeróbios estritos ligados a tais infecções.

7) A identificação dos germes isolados foi orientada, basicamente, de acordo com os padrões do BERGEY'S MANUAL (1957). Estabelecemos, contudo, o critério de agrupar como coliformes, todas as amostras de Gram negativos fermentadores de lactose (inclusive lento-fermentadores) que não se comportaram bioquimicamente como *Escherichia coli* nas provas IMVC. De tal forma, nesse grupo figurarão outras *Escherichia*, *Aerobacter*, *Klebsiella*.

Paracolobactrum e os de comportamento intermediário. Entre os estreptococos, consideramos unicamente os beta-hemolíticos e identificamo-los pela atividade fermentadora sôbre a triade lactose-sorbita-trealose. Estreptococos esverdecentes e inertes foram também encontrados, mas nenhuma vez os obtivemos em cultura pura partindo de material patológico. Os estafilococos foram considerados *S. aureus*, (BERGEY'S Manual 1957), quando positivos ao teste da coagulase, fossem ou não hemolíticos, não importando também a pigmentação branca ou dourada das colônias. As demais bactérias e algumas leveduras encontradas não ofereceram problema à identificação sumária, porque apresentam características morfológicas e culturais suficientes ao seu reconhecimento. Referimo-nos ao bacilo piocianico, *Corynebacterium* e *Proteus*.

RESULTADOS

Expressamos nossos resultados no quadro anexo, onde comparamos os dois tipos de material examinado.

FLORA MICROBIOLÓGICA DAS VIAS GENITAIS DE ÉGUAS PURO SANGUE INGLÊS OBSERVADA EM CULTURAS DE MATERIAL RETIRADO DO COLO UTERINO OU ÚTERO

Amostras "Infecção"	G E R M E S	Amostras "Contrôle"
91 — 46,9%Streptococcus zooepidemicus ...	0 — 0 %
25 — 12,8%Staphylococcus aureus	0 — 0 %
29 — 14,9%Escherichia coli	0 — 0 %
23 — 11,8%Coliformes	3 — 1,8%
29 — 8,2%Pseudomonas aeruginosa	0 — 0 %
1 — 0,5%Corynebacterium pyogenes	0 — 0 %
Não considerados (*)Difteroides	4 — 2,4%
1 — 0,5%Proteus vulgaris	0 — 0 %
Não considerados (*)Bacillus sp.	10 — 6,1%
Não considerados (*)Estreptococos "viridans"	8 — 4,9%
Não considerados (*)Estafilococos coagulase negativos	14 — 8,5%
8 — 4,1%Leveduras	0 — 0 %
0 — 0 %Estéreis	124 — 76,0%
194 — 100%T O T A I S.....	163 — 100%

(*) Não considerados, porque estiveram presentes em caráter secundário, como contaminantes.

DISCUSSÃO

A flora bacteriana que conseguimos observar não difere, em linhas gerais, daquela que encontramos em fêmeas bovinas portadoras de metrite (LACERDA JR. e col., 1954), o que sugere que tais infecções estão quase sempre ligadas à flora habitual dos ambientes de criação e que nenhuma etiologia mais específica se deve atribuir a tais processos visando a preconizar orientação terapêutica comum. Essas bactérias devem ganhar as vias genitais profundas através de contágio direto (cobertura por garanhões infectados), contágio indireto (espéculos contaminados), ou em consequência de alteração anatômica freqüente em éguas P. S. I. que conduz à uro-vagina e pneumo-vagina. O progresso da infecção dependerá da relação virulência-resistência, cujo desequilíbrio a favor da primeira permitirá ao germe exercer sua patogenicidade em grau variável, condicionando processos agudos ou crônicos responsáveis pela esterilidade.

Não parece restarem dúvidas quanto ao papel etiológico das bactérias encontradas no grupo "infecção", pois as reconhecidamente patogênicas não foram isoladas nas culturas do grupo "contrôle".

A freqüência maior do *St. zooepidemicus* é evidente no grupo "infecção" comparada à dos demais germes. Houve tempo em que chegamos a conceber a hipótese de éguas portadoras, a exemplo do que ocorre no garrotilho (LACERDA JR. 1952). Nunca encontramos, porém, esta bactéria em éguas normais ou clinicamente recuperadas. É curioso notar que o *St. zooepidemicus*, quando implantado no útero, estabelece processos extremamente rebeldes à antibióticoterapia, fenômeno aparentemente paradoxal em relação à sua reconhecida sensibilidade, "in vitro", a essas substâncias. É provável que tal comportamento encontre explicação no fato de encontrar-se o útero de éguas infectadas comprometido por endometrite mucosa cística, determinada pela excitação provocada pelo germe sobre as glândulas mucosas, nas quais ou entre as quais se aloja. Essa capa mucosa funcionaria como protetor da bactéria contra os antissépticos e antibióticos.

Quanto aos estafilococos, julgamos essencial que se procure diferenciar as amostras patogênicas, desde que podem ser isoladas de éguas recuperadas ou normais, amostras saprófitas. A prova da coagulase parece satisfatória, pois no grupo "contrôle" nunca foram evidenciados estafilococos coagulase-positivos e no grupo "infecção" os coagulase-negativos estavam associados a outras bactérias patogênicas. Mais importante que este fato é a lembrança de que os estafilococos são as bactérias que mais facilmente dão origem a variantes antibiótico-resistentes e o aparecimento destas pode fazer malograr o tratamento. Impõem-se, por isso, as provas de sensibilidade, para melhor orientação terapêutica.

O grupo coliforme está bem representado na pesquisa que fizemos. Considerando como um todo as *Escherichia coli* e os

coliformes, nada menos de 26,7% das infecções tinham estas bactérias como responsáveis. Esperávamos encontrá-las em maior número, uma vez que proliferam com facilidade no ambiente e que algumas delas ocorrem normalmente nas fezes, fatos que condicionam, aparentemente, maior oportunidade de alcançarem as vias genitais. Estas enterobactérias formam um grupamento muito complexo e é difícil definir sua patogenicidade sem o auxílio de uma classificação sorológica, a exemplo do que fizeram FEY e BOKHARI & ORSKOV (citados por Kauffmann, 1953), com amostras isoladas, respectivamente, de mastites e de “curso branco”.

O bacilo piociânico foi observado dezesseis vezes em amostras do grupo “infecção” e não foi isolado no grupo “contrôle”, fato que o coloca como integrante do complexo etiológico estudado. É sempre pouco animador o prognóstico das infecções causadas por este bacilo, face à peculiar resistência que oferece aos mais variados agentes terapêuticos.

Corynebacterium pyogenes e *Proteus vulgaris* foram encontrados apenas uma vez. Bacilos difteroides foram também observados, mas sempre associados a bactérias de reconhecida patogenicidade, o mesmo acontecendo com estreptococos “viridans”, bacilos Gram positivos e estafilococos saprófitas. Sua presença parece meramente acidental.

Foram isoladas leveduras em oito exames. Em todos esses casos, fôra instituído tratamento prolongado com antibióticos. Tratava-se, ao que parece, de super-infecção, fenômeno conhecido em antibioterapia, mas que vem ressaltar, objetivamente no caso, a importância do controle bacteriológico dos processos em discussão.

Analisando o grupo “contrôle”, onde verificamos 76% de culturas estéreis e índices percentuais pequenos de bactérias saprófitas, encontramos o melhor argumento para concluir que as bactérias encontradas no grupo “infecção” foram realmente os agentes responsáveis pelas infecções genitais das éguas examinadas. Parece-nos correto recomendar provas bacteriológicas em processos desta natureza, para assegurar ao clínico melhor orientação e conseqüentemente melhores resultados terapêuticos, uma vez que a etiologia é múltipla.

CONCLUSÕES

1) Infecções bacterianas das vias genitais de éguas puro sangue inglês, ligadas à esterilidade, focalizadas neste trabalho, revelaram etiologia múltipla, com predominância marcante do *St. zooepidemicus*, seguido de *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, coliformes e bacilo piociânico.

2) Outras bactérias podem tomar parte em tais processos, mas quase sempre em associação com espécies reconhecidamente patogênicas.

3) Leveduras puderam ser evidenciadas em casos prolongadamente tratados com antibióticos, em caráter de super-infecção.

4) Bactérias reconhecidamente patogênicas assinaladas em éguas infectadas não foram encontradas em éguas normais ou funcionalmente recuperadas.

5) No exato conhecimento da etiologia, através de exame bacteriológico bem interpretado, assenta-se a base mais segura para uma boa orientação terapêutica.

SUMMARY

In this paper it is presented the results of bacteriological examination of swabs obtained from the "os uteris" or from the uterus of thorough bred mares, distributed in various race-horse farms of the State of São Paulo —Brazil.

The samples were classified according to the origin from infected mares ("infected group") and from non infected, healthy (non treated) and cured mares ("control group").

From the "infected group" we get 194 samples which, on test, gave the following results: *Streptococcus zooepidemicus* - 46,9%; *Staphylococcus aureus* (albus type) - 12,8%; *Escherichia coli* — 11,8%; coliforms - 14,9%; *Pseudomonas aeruginosa* - 8,2%; *Corynebacterium pyogenes* - 0,5% and *Proteus vulgaris* - 0,5%. Eight mares treated for a long period of time with antibiotics gave pure cultures of yeasts (super-infections). Many non pathogenic bacteria were also found on cultures, associated with pathogens.

From the non infected group we obtained 163 samples with the following results: coagulase negative staphylococcus — 8,5% sporulated aerobic bacilli of the *cereus* — *subtilis* group — 6,1%; "viridans" streptococci — 4,9% and diptheroids — 2,4%.

From the 163 samples, 124 (76,0%) gave no growth at all.

The germs found by the A. A. and isolated from the infected group were considered as the etiological agents of the genital infections because they lack in the samples obtained from animals treated or non treated but considered healthy.

Among them, *St. zooepidemicus* were the most frequently found and seems to be the main cause of infection. The A. A. pointed out that this pathogen produces a cistic-mucous-endometritis which constitutes a serious barrier for treatment.

Since these infections reveal a multiple etiology, the bacteriological tests on infected mares seems to be very important. Moreover, this practice will enable the practionners to discriminate between superinfections related to fungi and infections caused by antibiotic resistant bacteria.

All the bacteria found in the genital infections observed, have their habitat, normally, in livestock's environment. The A. A. think

that they establish themselves in the genital tract through some conditions like: direct contact by means of coitus with infected stallions; indirect contact by means of contaminated specula; and in consequence of anatomical defects which give the conditions named uro-vagin and pneumo-vagin.

BIBLIOGRAFIA

- BREED, R. S.; MURRAY, E. G. D. and SMITH, N. R. — 1957 — Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 7.^a ed., Baltimore Williams Wilkins Co.
- KAUFFMANN, F. — 1954 — Enterobacteriaceae — 2.^a ed. Copenhagen — Ejnar Munksgaard Publisher
- LACERDA JR., P. M. G. de; FREITAS, D. C. de — 1952 — “O emprêgo do nitrogeneto de sodio em meios seletivos para estreptococos”. Rev. Fac. Med. Vet. S. Paulo 4 (4): 553-57
- LACERDA JR., P. M. G. de — 1952 — “Etiopizootiologia da Adenite Eqüina”. Rev. Fac. Med. Vet. S. Paulo 4 (4): 559-71
- LACERDA JR., P. M. G. de; FREITAS, D. C. de, ZANI NETO, L. — 1954 — Observações preliminares sôbre a flora bacteriana das metrites bovinas Rev. Fac. Med. Vet. S. Paulo 5 (1): 73-6