

UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC

CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS – CAV

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

ROBERTA FARIAS VEIGA

**OCORRÊNCIA E RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS DE *Streptococcus*
equi subsp *equi* EM SANTA CATARINA**

LAGES, SC

ROBERTA FARIAS VEIGA

OCORRÊNCIA E RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS DE *Streptococcus equi* subsp *equi* EM SANTA CATARINA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade do Estado de Santa Catarina (CAV/UDESC), como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientadora: Prof^a. Dra. Sandra Maria Ferraz

Co-orientadora: Dra. Lidiane Raquel Eloy

LAGES, SC

**Ficha catalográfica elaborada pelo programa de geração automática
da Biblioteca Setorial CAV/UDESC,
com dados fornecidos pela autora.**

Veiga, Roberta Farias
OCORRÊNCIA E RESISTÊNCIA AOS
ANTIMICROBIANOS DO *Streptococcus equi* subsp *equi* EM
SANTA CATARINA / Roberta Farias Veiga. -- 2023.
60 p.

Orientadora: Sandra Maria Ferraz
Coorientadora: Lidiane Raquel Eloy
Dissertação (mestrado) -- Universidade do Estado de
Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias,
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Lages,
2023.

1. Adenite equina. 2. epidemiologia. 3. garrotilho. 4.
multirresistência. 5. cavalo. I. Ferraz, Sandra Maria. II. Eloy,
Lidiane Raquel. III. Universidade do Estado de Santa
Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de
Pós-Graduação em Ciência Animal. IV. Título.

ROBERTA FARIAS VEIGA

OCORRÊNCIA E RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS DE *Streptococcus equi* subsp *equi* EM SANTA CATARINA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade do Estado de Santa Catarina (CAV/UDESC), como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.
Orientadora: Prof. Dra. Sandra Maria Ferraz
Co-orientadora: Lidiane Raquel Eloy

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Sandra Maria Ferraz
Orientadora
Universidade do Estado de Santa Catarina

Dr. David Germano Gonçalves Schwarz
Universidade do Estado de Santa Catarina

Dr. Raylson Pereira de Oliveira
Universidade Federal do Piauí

Lages, 18 de julho de 2023.

Todo amor e gratidão aos meus pais e
meu irmão. Essa conquista devo a vocês.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, que em sua infinita bondade me concedeu saúde e perseverança para chegar até aqui, sem Ele nada é possível!

Agradeço aos meus pais que sempre acreditaram e me incentivaram a seguir todos os meus sonhos, nunca me limitando e sempre encorajando na busca de ser a minha melhor versão. Ao meu irmão, meu xuxu, que sempre está ao meu lado, não me deixa desaminar e, com certeza é a alegria e luz que aquecem meu coração! Ao cunhado maravilhoso por seu cuidado e carinho, obrigada por cuidar de todos enquanto estou longe!

A minha amiga e orientadora Sandra, a melhor pessoa para me ajudar nessa caminhada, você foi e é exemplo a ser seguido, dentro e fora da academia. Aceitou essa difícil tarefa, me incentivou e motivou em todas as etapas. Ao Bira querido, que desde antes do ingresso no mestrado já me auxiliava em conversas e decisões sobre essa nova fase. Ao ser humano incrível que a Anhanguera trouxe para minha vida: Lidiane; obrigada pela amizade, paciência e por dividir comigo essa etapa. A Ana Karina, sempre uma incentivadora e que não mediu esforços para que projeto ganhasse vida!

A toda equipe do CEDIMA, em especial a Rosane nossa Mulher Maravilha dentro do laboratório, obrigada por toda tua dedicação e cuidado, obrigada por ser uma alegria e uma rocha, mas principalmente, obrigada pela amizade. Aos bolsistas do “Projeto Equinos”, obrigada pela dedicação de vocês e por darem uma chance aos cavalos. Ao Ricardo, pessoa tão iluminada que conheci nessa caminhada e que vou levar para a vida! Você é fonte de inspiração, aguentou os desabafos e frustrações e me ajudou (e ainda ajudará muito!) a ser cada vez melhor!

Aos queridos colegas de mestrado que enfrentaram essa difícil jornada ao meu lado. Vocês tornaram esses dois anos mais leves, mais divertidos e com certeza levaram cada um no coração. Deus sabe o que faz, e no momento certo nos presenteia com seres humanos incríveis.

Cada pequena coisa que acontece em nossas vidas, vem no momento certo e hoje, após 15 anos de graduada, concluo mais um sonho. Valeu a pena e chegou a hora de recomeçar!

“Inferior a todos os seus pares no reino animal, menos dotado fisicamente, mais fraco, enxergando pior, ouvindo pior ainda, sentindo a natureza muito pior ainda, o homem fatalmente seria um escravo, o cavalo fez dele um rei”

(Al Mutanabbi)

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi realizar um estudo sobre a prevalência de *Streptococcus equi* subsp *equi* no estado de Santa Catarina e avaliar o seu perfil de resistência aos antimicrobianos. Para tanto, foram coletadas 420 amostras de suabe nasal, nos municípios de maior concentração de animais de cada uma das seis regiões do estado, não sendo feita distinção entre os animais com ou sem sinais clínicos. As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Bacteriologia – CEDIMA (CAV/UDESC), em caixa isotérmica, dentro de 48 horas para isolamento e caracterização fenotípica de cepas de *Streptococcus*. Seguiu-se a análise por meio de semeadura em ágar sangue a 5%, com avaliação das características morfotintoriais e análise bioquímica por meio dos testes de catalase, esculina, bile-esculina, CAMP, Voges-Proskauer (VP) e NaCl 6,5%, além da resistência a bacitracina e sulfametoxazol+trimetoprin (STX). Para a diferenciação dos principais *Streptococcus* beta-hemolíticos dos equinos foi utilizado o teste de fermentação dos açúcares lactose, maltose, sorbitol e trealose. O perfil de sensibilidade foi definido pelo método de difusão em disco, sendo testados 13 antimicrobianos de dez classes diferentes, todos com uso regular na clínica médica de equinos. Após a obtenção dos resultados de sensibilidade o índice de resistência a múltiplos antimicrobianos (IRMA) foi calculado, por meio da razão entre o número de antimicrobianos ao qual o isolado foi resistente pelo total de antimicrobianos testados. Foram isoladas 49 cepas com características fenotípicas do gênero *Streptococcus*, sendo quatro delas caracterizadas como *S. equi* subsp *equi*, determinando uma prevalência de 0,95% (4/420). Estes isolados foram provenientes das regiões do Vale do Itajaí, Oeste e Serrana. No presente trabalho encontrou-se 50% (2/4) dos isolados apresentando um padrão de multirresistência, sendo que 50% (2/4) dos isolados foi resistente a pelo menos um dos antimicrobianos beta-lactâmicos testado. Um dos isolados, no entanto, apresentou 100% de sensibilidade aos antimicrobianos testados. As amostras se mostraram 100% sensíveis a gentamicina, estreptomicina, eritromicina, cloranfenicol, enrofloxacina e levofloxacina. Quando analisados os antimicrobianos: clindamicina, tetraciclina, sulfametoxazol+trimetoprim e vancomicina todos apresentaram 25% (1/4) de resistência e a rifampicina apresentou 75% (3/4) de resistência. Foi possível atingir os objetivos propostos pelo estudo, verificando a prevalência de *S. equi* subsp *equi* em Santa Catarina, identificando e isolando a bactéria em estudo e observando o perfil

de sensibilidade e multirresistência aos antimicrobianos. Conforme o conhecimento desta autora, este se trata do primeiro estudo sobre a ocorrência de *S. equi* subsp *equi* em Santa Catarina.

Palavras-chave: Adenite equina, epidemiologia, multirresistência, cavalo

ABSTRACT

The objective of this work was to carry out a study on the prevalence of *Streptococcus equi* subsp *equi* in the state of Santa Catarina and to evaluate its antimicrobial resistance profile. For this study, 420 nasal swab samples were collected in the municipalities with the highest concentration of animals in each of the six regions of the state, with no distinction being made between animals with or without clinical signs. The samples were sent to the Bacteriology Laboratory – CEDIMA (CAV/UDESC), in an isothermal box, within 48 hours for isolation and phenotypic characterization of *Streptococcus* strains. This was followed by analysis by sowing on 5% blood agar, with evaluation of morphotintorial characteristics and biochemical analysis by means of catalase, esculin, bile-esculin, CAMP, Voges-Proskauer (VP) and NaCl 6.5 tests %, in addition to resistance to bacitracin and sulfamethoxazole+trimethoprin (STX). For the differentiation of the main beta-hemolytic *Streptococcus* in horses, the fermentation test of the sugars lactose, maltose, sorbitol and trehalose was used. The sensitivity profile was defined by the disk diffusion method, testing 13 antimicrobials from ten different classes, all of which are regularly used in equine medical clinics. After obtaining the sensitivity results, the multiple antimicrobial resistance index (IRMA) was calculated, through the ratio between the number of antimicrobials to which the isolate was resistant by the total number of antimicrobials tested. Forty-nine strains with phenotypic characteristics of the genus *Streptococcus* were isolated, four of which were characterized as *S. equi* subsp *equi*, determining a prevalence of 0.95% (4/420). These isolates came from the Vale do Itajaí, Oeste and Serrana regions. In the present study, 50% (2/4) of the isolates showed a multidrug resistance pattern, with 50% (2/4) of the isolates being resistant to at least one of the beta-lactam antimicrobials tested. One of the isolates, however, showed 100% sensitivity to the tested antimicrobials. The samples were 100% sensitive to gentamicin, streptomycin, erythromycin, chloramphenicol, enrofloxacin and levofloxacin. When analyzing the antimicrobials: clindamycin, tetracycline, sulfamethoxazole+trimethoprim and vancomycin all showed 25% (1/4) resistance and rifampicin showed 75% (3/4) resistance. It was possible to achieve the objectives proposed by the study, verifying the prevalence of *S. equi* subsp *equi* in Santa Catarina, identifying and isolating the bacteria under study and observing the profile of resistance and multidrug resistance to antimicrobials. To the knowledge

of this author, this is the first study on the occurrence of *S. equi* subsp *equi* in Santa Catarina.

Keywords: Strangles, epidemiology, multidrug resistance, horse

LISTA DE ILUSTRÇÕES

Figura 01 – Bactérias do gênero *Streptococcus*. Arranjo característico evidenciado pela seta amarela. 21

Figura 02 – Animal da raça Mangalarga Marchador, apresentando secreção mucopurulenta em ambas as narinas..... 25

Figura 03 – Animais da raça Crioulo, com diferentes idades e presença de abscesso submandibular, evidenciado pelas setas amarelas. 25

Artigo

Figura 1. Localização das propriedades nas seis mesorregiões no estado de Santa Catarina, para o estudo de prevalência do *S. equi equi* em equinos..... 45

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 – Caracterização do padrão de fermentação de açúcares de *Streptococcus* beta-hemolíticos isolados de animais..... 30

Artigo

Tabela 01 - Critérios para seleção do número de propriedades a serem coletadas por município..... 45

Tabela 02 – Dados referentes aos 420 animais amostrados, nas seis regiões de Santa Catarina..... 48

Tabela 03 – Características referentes aos isolados de *Streptococcus equi* subsp *equi* em Santa Catarina..... 48

Tabela 04 - Susceptibilidade antimicrobiana e índice de resistência múltipla a diferentes classes de antimicrobianos de *Streptococcus equi* subsp *equi* pelo método de disco difusão..... 49

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AINE	Anti-inflamatório não esteroidal
MALDI-TOF MS	Espectrometria de massa com ionização por dessorção a laser assistida por Matrix
PCR	Reação de polimerase em cadeia
S.	<i>Streptococcus</i>
<i>S. equi equi</i>	<i>Streptococcus equi</i> subsp <i>equi</i>
SeM	proteína semelhante a M
sp.	espécie
subsp	subespécie
ACVIM	American College of Veterinary Internal Medicine
ELISA	Ensaio imuno-enzimático
rRNA	Ácido ribonucleico ribossômico
RAM	Resistência antimicrobiana
CAV	Centro de Ciências Agroveterinárias
UDESC	Universidade do Estado de Santa Catarina
CEDIMA	Centro de Diagnóstico Microbiológico Animal
CIDASC	Companhia Integrada de Desenvolvimento Agrícola
IRMA	Índice de Resistência a Múltiplos Antimicrobianos
ATCC	American Type Culture Collection
kb	kilobase
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
PBPs	Penicilin-Binding Proteins
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
STX	Sulfametoxazol + trimetoprim
TSA	Teste de Sensibilidade aos antimicrobianos
U	Unidade Internacional
NaCl	Cloreto de sódio
µg	micrograma
mm	milímetro
° C	graus Celsius

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	20
2.1	<i>Equinocultura no Brasil.....</i>	20
2.2	<i>Streptococcus equi.....</i>	21
2.3	<i>Adenite equina</i>	23
2.4	<i>Métodos identificação.....</i>	29
2.5	<i>Resistência aos antimicrobianos</i>	31
3	REFERÊNCIAS	34
4	OBJETIVOS	40
4.1	<i>GERAL.....</i>	40
4.2	<i>ESPECÍFICO</i>	40
5	ARTIGO – OCORRÊNCIA E RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS DE <i>Streptococcus equi</i> subsp <i>equi</i> EM SANTA CATARINA	41
5.1	<i>RESUMO</i>	41
5.2	<i>INTRODUÇÃO</i>	41
5.3	<i>MATERIAL E MÉTODOS</i>	43
5.3.1	<i>Código de Ética em Pesquisa.....</i>	43
5.3.2	<i>Área de estudo e população-alvo</i>	43
5.3.3	<i>Amostragem e seleção das propriedades</i>	44
5.3.4	<i>Coleta de amostras.....</i>	45
5.3.5	<i>Isolamento bacteriano e caracterização</i>	46
5.3.6	<i>Análise do perfil de resistência aos antimicrobianos</i>	46
5.3.7	<i>Índice de Resistência a Múltiplos Antimicrobianos (IRMA).....</i>	47
5.3.8	<i>Análise estatística.....</i>	47
5.4	<i>RESULTADOS</i>	47
5.4.1	<i>Isolados de <i>Streptococcus</i> sp. e estudo da Prevalência.....</i>	47
5.4.2	<i>Teste sensibilidade aos antimicrobianos e análise do IRMA</i>	49
5.5	<i>DISCUSSÃO</i>	50
5.6	<i>CONCLUSÃO</i>	54
5.7	<i>AGRADECIMENTOS</i>	54
5.8	<i>REFERÊNCIAS</i>	54

6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	59
7	ANEXOS.....	60
7.1	TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	60

1 INTRODUÇÃO

A adenite equina, também conhecida como garrotinho é uma infecção do trato respiratório superior altamente contagiosa em equídeos. É causada pela bactéria Gram-positiva *Streptococcus equi* subsp *equi* (*S. equi equi*), pertencente ao grupo C de Lancefield, sendo desta forma um dos *Streptococcus* beta-hemolíticos importantes na medicina veterinária (MALLICOTE, 2015).

É uma das doenças infecciosas mais antigas reconhecida nos cavalos (WALLER, 2013) e continua sendo uma das doenças infecciosas mais comumente diagnosticadas e importantes em equídeos ao redor do mundo (MORRIS *et al*, 2020). Todavia, estudos epidemiológicos investigando a prevalência, fatores de risco associados à presença da bactéria nas vias aéreas superiores e a suscetibilidade a antimicrobianos desse microrganismo são escassos (JARAMILLO-MORALES *et al*, 2022).

É altamente transmissível entre animais por contato direto e indireto e quando não manuseada corretamente pode atingir níveis de morbidade de 90 a 100% em populações livres do patógeno, porém sua mortalidade é normalmente baixa (BOYLE, 2023), ocorrendo em até 10% dos animais não tratados ou com diagnóstico tardio (MEDIG *et al*, 2016). Em alguns casos os equinos se recuperam da doença, mas podem se tornar “portadores silenciosos” da bactéria em suas vias aéreas superiores (JARAMILLO-MORALES *et al*, 2022), sendo importantes na disseminação da enfermidade para grupos de cavalos não infectados pelo microrganismo (PRINGLE *et al*, 2019).

Os cavalos afetados perdem o apetite, desenvolvem febre e apatia, o que resulta na perda de peso e letargia, reduzindo sua atividade física, especialmente quando estão sendo criados para fins atléticos e esportivos (IKHOSUO *et al*, 2020). Os surtos resultam em grandes perdas financeiras para a indústria equina e proprietários de cavalos, levantando preocupações com a saúde e bem-estar dos animais (BOYLE *et al*, 2018). A identificação rápida e precisa de cavalos infectados é essencial para a implementação de procedimentos de biosseguridade apropriados para controlar a propagação do patógeno (MORRIS *et al*, 2023).

As complicações da adenite equina incluem celulite secundária em locais de abscesso externo, empiema de bolsa gutural, com possível formação de condróides, sua persistência no estado de portador, abscesso metastático, traqueostomias de

emergência e raramente pneumonia ou miosite (BOYLE, 2016). A infecção (em comum com outras infecções estreptocócicas em cavalos) também pode desencadear a doença do complexo imune púrpura hemorrágica associada à vasculite generalizada, resultando em edema, que geralmente é fatal (WALLER e JOLLEY, 2007).

Streptococcus beta-hemolítico pode sobreviver em secreção purulenta seca durante semanas (MCVEY et al, 2016), podendo chegar a 30 dias em condições de temperatura e umidade favoráveis (DURHAM et al, 2018). A disseminação do agente via linfática ou hematógena pode levar a abscessos bastardos em cavidades (abdominal e torácica), e, em casos menos frequentes, atingir o cérebro, válvulas cardíacas, olhos, articulações e bainhas tendinosas (RADOSTITIS et al, 2002; DURAM e GOEHRING, 2021). Sabe-se que o reconhecimento do estado de portador é de extrema importância para o correto controle e eliminação do problema em propriedades endêmicas. A identificação dos portadores silenciosos no rebanho tem sido associada ao aparecimento de novos casos (PRINGLE et al, 2019).

O teste de suscetibilidade aos antimicrobianos é importante para a escolha do tratamento, principalmente porque o uso de tratamento antimicrobiano em pacientes com adenite equina permanece um ponto de controvérsia (WILSON e MAGDESIAN, 2021; JARAMILLO-MORALES et al, 2022). A penicilina é o antimicrobiano de escolha para o tratamento de infecções causadas por *Streptococcus* (IKHUSO et al, 2020) e relatos de resistência desses patógenos aos beta-lactâmicos são preocupantes.

Laboratórios de diagnóstico veterinário nos Estados Unidos tem observado uma emergente resistência aos antimicrobianos beta-lactâmicos, como a penicilina em cepas de *S. equi equi* e *Streptococcus equi* subsp *zooepidemicus* (BOYLE et al, 2018). Em geral, a incidência de resistência a maioria dos antimicrobianos é baixa, com exceção aos aminoglicosídeos, incluindo a gentamicina, sendo essa constantemente observada (BOYLE et al, 2018).

O aumento da resistência à penicilina entre isolados de *Streptococcus pneumoniae* em todo mundo é resultado de eventos de transferência de genes interespécies que envolvem espécies estreptocócicas comensais (CHI et al, 2007), necessitando de maiores investigações se esses genes também são encontrados em *S. equi equi*. Embora reconhecido como um problema emergente em animais de companhia, a veiculação de bactérias resistentes aos antimicrobianos por cavalos só recentemente começou a ser estudada (MADDOX et al, 2015). A maioria dos estudos

epidemiológicos de bactérias resistentes a antimicrobianos em cavalos centraram-se na resistência em microrganismos como o *Staphylococcus* resistente a Meticilina (MRS) e a *Escherichia coli* produtora de β-lactamase de espectro estendido (ESBL) (MADDOX *et al*, 2015; MOTA *et al*, 2021), não havendo muitas informações disponíveis, até o momento sobre a situação da resistência em *Streptococcus equi* subsp *equi*.

A ausência de dados relativos à situação da adenite equina em Santa Catarina, associado aos poucos dados conhecidos em outros estados (LIBARDONI *et al*, 2016; PANSANI *et al*, 2016) demonstram a necessidade um estudo epidemiológico sobre a prevalência de *S. equi equi* e uma investigação sobre o perfil de sensibilidade e multirresistência desse microrganismo aos antimicrobianos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Equinocultura no Brasil

No Brasil, a partir do século XVIII, o cavalo começou a substituir o boi na aração e nos transportes, o que provocou uma procura crescente pelo cavalo para atender a essa demanda. Atualmente a participação dos equinos no cotidiano está evidente nas mais variadas atividades como no transporte e na proteção pública, no esporte, na medicina, na história e na cultura (JUNIOR e MURAD, 2016). Chama a atenção que mesmo com a incorporação de máquinas de última geração e de ferramentas tecnológicas, o cavalo continua sendo decisivo para o desenvolvimento de atividades pecuárias e agrícolas na grande maioria das propriedades produtivas nacionais (LIMA e CINTRA, 2016).

Segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2021), o rebanho de cavalos em território nacional é de 5.777.406 animais, sendo considerado o maior da América Latina e o quarto maior rebanho do mundo, ficando atrás apenas de Estados Unidos, China e México (JUNIOR e MURAD, 2016). O estado de Santa Catarina ocupa a 15^a posição no ranking em número de animais no Brasil (IBGE, 2021) e práticas como a equoterapia e esportes equestres tem crescido nos últimos anos, aumentando a exposição de pessoas a esses animais.

Além da criação de equinos para trabalho, esporte e lazer, o Brasil se destaca pela comercialização e exportação de animais vivos e carne de equídeos. A utilização da carne de equídeos não implica na mudança do objetivo de sua criação, mas constitui aproveitamento complementar dos exemplares descartados (SILVA, 2017).

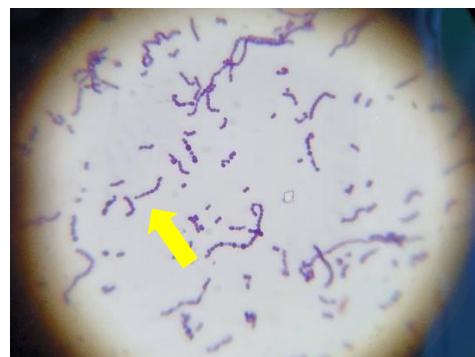
Os negócios envolvidos com a criação e a utilização do cavalo ocupam uma posição destacada tanto nos países desenvolvidos como nos que estão em desenvolvimento (LIMA *et al*, 2006). No complexo Agronegócio do Cavalo, podem ser identificadas e analisadas as relações e as interações de quase 30 diferentes agentes e/ou segmentos envolvidos, revelando sua importância econômica, responsável por uma movimentação de 7,3 bilhões de reais por ano (JUNIOR e MURAD, 2016). Quanto à sua importância social, a atividade responde pelo emprego direto de cerca de 640 mil pessoas, podendo atingir por volta de 3,2 milhões de pessoas se forem também considerados os empregos indiretos (JUNIOR e MURAD, 2016). Mesmo com essa movimentação, os investimentos públicos são irrisórios (LIMA e CINTRA, 2016).

A renda gerada pelo agronegócio do cavalo pode ser encontrada nos mais variados setores envolvendo esses animais, desde estabelecimentos de objetivos comerciais (criação para vender produtos), profissionais (prestação de serviços para terceiros, como, por exemplo, escolas de equitação), e particulares (criação para uso próprio), em si, há uma forte interação nos setores de lazer, cultura, esporte, trabalho, turismo e também na saúde, onde a equoterapia é indicada no tratamento de diversos tipos de comprometimentos motores, mentais, sociais e emocionais (LIMA e CINTRA, 2016).

2.2 *Streptococcus equi*

O gênero *Streptococcus* consiste em bactérias Gram-positivas, com células esféricas ou ovóides que estão tipicamente arranjadas em pares ou cadeias (Figura 01) (HARDIE e WHILEY, 1995). É um gênero importante de patógenos primários, oportunistas e comensais não patogênicos em humanos e animais (TIMONEY, 2022). Esses cocos são aeróbicos facultativos, não esporulados, catalase negativos, homofermentativos, processo no qual o ácido láctico é o único produto da fermentação da glicose e tem um requerimento nutricional complexo (HARDIE e WHILEY, 1995).

Figura 01 – Bactérias do gênero *Streptococcus*. Arranjo característico evidenciado pela seta amarela.



Fonte: Próprio autor, 2023.

A temperatura ótima de incubação varia entre as espécies de *Streptococcus*, porém usualmente encontra-se em torno de 37°C, por um período de 24 a 48 horas (QUINN *et al*, 2005). São classificados sorologicamente através de características antigênicas de um polissacarídeo de composição variável, denominado carboidrato C, detectável por técnicas imunológicas. Tomando por base este polissacarídeo, os

estreptococos foram divididos em 20 grupos sorológicos (grupos de Lancefield), designados por letras maiúsculas do alfabeto de A a V (TEIXEIRA *et al*, 2008).

A hemólise em ágar-sangue é de grande importância na subdivisão deste gênero em espécies. Por exemplo, espécies que produzem os fatores de virulência estreptolisina O ou S formam colônias circundadas por uma grande área de hemólise total de hemácias, quando plaqueadas em ágar-sangue, uma condição denominada beta-hemólise (MADIGAN *et al*, 2016). Um sistema conveniente de diferenciação permite dividi-los nas seguintes categorias: estreptococos beta-hemolíticos (*S. pyogenes*, *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae* e outras espécies dos grupos C e G, assim como outras de ocorrência menos frequente), *Streptococcus pneumoniae*, estreptococos do complexo *Streptococcus bovis/Streptococcus equinus* e estreptococos do grupo “viridans” (TEIXEIRA *et al*, 2008).

Quando nos referimos aos *Streptococcus* patogênicos para equídeos, está incluso o *Streptococcus equi* subespécie *equi* (*S. equi equi*), o agente causador da Adenite equina, *Streptococcus equi* subespécie *zooepidemicus* (*S. zooepidemicus*), um importante causador de doenças respiratórias e metrites e o *Streptococcus dysgalactiae* subespécie *equisimilis* (*S. equisimilis*), responsável esporádico por casos de linfadenite e placentite (TIMONEY, 2004). Todos classificados dentro do grupo C de Lancefield e, por tanto, beta-hemolíticos. A primeira descrição de *Streptococcus equi* foi realizada por Jordanus Ruffus, em 1251 (MEGID *et al*, 2016).

Acredita-se que *S. equi equi* tenha evoluído de uma cepa ancestral de *S. zooepidemicus* através de um processo de ganho e perda de genes, portanto, a população moderna de *S. equi equi* tem relativamente pouca diversidade genômica (ROBINSON *et al*, 2018), que está associada a uma ampla variedade de doenças em cavalos e outros animais, incluindo humanos (HOLDEN *et al*, 2009). Ao mesmo tempo que demonstram uma relação próxima entre *S. equi equi* e *S. zooepidemicus*, seus fenótipos resultam na criação das duas subespécies diferentes (HARDIE e WHILEY, 1995).

Vários são os fatores de patogenicidade descritos para *S. equi equi*, entre eles a proteína M e a cápsula de ácido hialurônico, ambos componentes da parede celular bacteriana. A ação antifagocítica da proteína M ocorre pela inibição do fator H do complemento e pela ligação ao fibrinogênio, impedindo o reconhecimento da bactéria como estranha pelo sistema imune do hospedeiro. A ação antifagocítica do *S. equi equi* é muito similar à proteína M dos Estreptococos do grupo A de Lancefield. A

cápsula de ácido hialurônico está relacionada à aderência da bactéria, quanto maior a quantidade de cápsula, maior a adesão nas células epiteliais. (HOLDEN *et al*, 2009; KIRINUS, 2010). Outros fatores de virulência como a hialuronidase, estreptolisinas, estreptoquinases, peptideoglicano e exotoxinas pirogênicas também contribuem para a evasão do sistema imune e formação de abscessos (TIMONEY, 2004).

2.3 Adenite equina

A adenite equina ou garrotilho é causada pela bactéria Gram-positiva *Streptococcus equi* subsp. *equi* (*S. equi equi*), uma doença altamente contagiosa, aguda, caracterizada por inflamação e produção de secreção mucopurulenta no trato respiratório superior de equídeos e, considerada uma doença de notificação em diversos países (BOYLE *et al*, 2018). Nos Estados Unidos é a doença infecciosa mais frequentemente relatada em cavalos (MORRIS *et al*, 2023).

A enfermidade é onerosa para as fazendas afetadas devido aos gastos diretos com exames diagnósticos, tratamento da doença e suas complicações, exames de acompanhamento, biosseguridade (higienização de equipamentos de proteção, desinfecção de instalações, entre outros) como perda de receita para instalações equinas afetadas (BOYLE *et al*, 2018), envolvendo a queda de performance em treinamentos e impacto estético negativo pelo enfartamento e abscedação de linfonodos, além da morte ocasional de animais (MEGID *et al*, 2016).

A infecção pode ocorrer em cavalos de todas as idades, mas os mais jovens exibem sinais clínicos mais graves. Animais mais velhos, por outro lado, são menos afetados e se recuperam mais rapidamente, devido ao melhor estado imunológico (CHABRA *et al*, 2023).

A natureza da indústria equina, onde os cavalos são movidos regularmente de e para competições ou entre fazendas de criação, torna difícil controlar e prevenir doenças infecciosas altamente contagiosas (DURAN e GOEHRING, 2021). Por ser uma doença que tem distribuição mundial, os surtos podem ocorrer quando muitos cavalos são reunidos ou reintroduzidos e após a diminuição da imunidade da população (DOMINGUEZ *et al*, 2015).

A transmissão pode ocorrer de maneira direta e indireta (MEGID *et al*, 2016), sendo que os *Streptococcus* beta-hemolíticos podem sobreviver em secreção purulenta seca durante semanas (MCVEY *et al*, 2016), podendo chegar a 30 dias em

condições de temperatura e umidade favoráveis (DURHAM *et al*, 2018). A bactéria é inalada ou ingerida após contato com descargas mucopurulentas de animais infectados ou equipamentos contaminados (BOYLE, 2016). Sendo que em condições de laboratório, *S. equi equi* sobrevive em madeira por 63 dias a 2 °C e em vidro e madeira por 48 dias a 20 °C. Em condições de campo em materiais semelhantes, *S. equi equi* parece sobreviver de 34 dias e até 72 dias ao passo que em condições de verão tardias ao ar livre com exposição à luz solar e altas temperaturas, a sobrevivência foi limitada a 1-3 dias (RYDEN *et al*, 2023).

Após a entrada, o agente se liga às células nas criptas das tonsilas nasofaríngea e orofaríngea usando as proteínas de ligação de superfície, de onde penetra no epitélio e entra no tecido linfóide. Dentro de 3 horas após a infecção, a bactéria atinge os gânglios linfáticos da cabeça e pescoço (TIMONEY e KUMAR, 2008). Neste local se replica e desencadeia uma resposta inflamatória, resultando em um influxo de grande número de neutrófilos. Simultaneamente, os peptidoglicanos da parede celular do organismo estimulam o sistema complemento e a geração de fatores quimiotáticos (FRIDBERG *et al*, 2023).

No entanto, o microrganismo possui vários fatores de virulência que o protegem do sistema imunológico do hospedeiro, como uma cápsula de ácido hialurônico, superantígenos e proteínas semelhantes a M (SeM) (TARTOR *et al*, 2020). Em combinação, os fatores de virulência fornecem maior resistência à fagocitose, explicando o fato de que os neutrófilos, até certo ponto, são incapazes de fagocitar o patógeno (FRIDBERG *et al*, 2023).

A enfermidade caracteriza-se por início abrupto de febre, seguida por presença de muco no trato respiratório superior, evidenciado por secreção nasal mucopurulenta (Figura 02) e edema agudo com subsequente formação de abscesso nos linfonodos submandibular e retrofaríngeo (Figura 03) (SWEENEY *et al*, 2005). Outros sinais comumente observados são faringite, dificuldade de deglutição, anorexia, depressão e apatia. Outros linfonodos da região cranial do pescoço também podem ser afetados e formar abscessos. A disseminação do agente via linfática ou hematógena pode levar a abscessos bastardo em cavidades (abdominal e torácica), podendo, em casos menos frequentes atingir o cérebro, válvulas cardíacas, olhos, articulações e bainhas tendinosas (RADOSTITIS *et al*, 2002; DURAM e GOEHRING, 2021). Complicações além do garrotinho bastardo (abscedação metastática), como doenças nas bolsas guturais (desde empiema até a formação de condróides), púrpura hemorrágica e

miosite podem seguir a infecção e devem receber diagnóstico e tratamento adequados (BOYLE, 2016).

Figura 02 - Animal da raça Mangalarga Marchador, apresentando secreção mucopurulenta em ambas as narinas.



Fonte: Próprio autor, 2023.

Figura 03 – Animais da raça Crioulo, com diferentes idades e presença de abscesso submandibular, evidenciado pelas setas amarelas.



Fonte: Próprio autor, 2023.

A eliminação de *S. equi equi* inicia 2 a 3 dias após o início da febre, fornecendo uma janela em que os cavalos febris podem ser separados dos demais (BOYLE, 2016), auxiliando no controle da contaminação do rebanho. Na maioria dos casos, a eliminação persiste por, pelo menos 2 a 3 semanas, chegando com frequência a 6 semanas (SWEENEY *et al*, 2005).

A imunocompetência do cavalo infectado tem grande impacto na gravidade da doença. Cavalos mais velhos geralmente exibem uma forma menos grave da doença, caracterizada por início agudo de febre (inferior a 42°C), secreção nasal e pequenos abscessos, enquanto cavalos mais jovens tendem a ter um desenvolvimento mais grave da doença, caracterizada por abscesso linfonodal que subsequentemente abre e drena (FRIDBERG *et al*, 2023). Isso acontece porque aproximadamente 75% dos equinos desenvolvem sólida e duradoura imunidade ao *S. equi equi* após exposição prévia, que parece ser mediada por IgG e IgA produzidas na mucosa local (SILVA e VARGAS, 2006).

A maioria dos cavalos se recupera da adenite equina em um período de algumas semanas, mesmo sem auxílio terapêutico (MEGID *et al*, 2016), embora as sequelas da infecção por *S. equi equi*, incluindo depressão, apatia e empiema de bolsas guturais, bem como o desenvolvimento de condróides nas bolsas guturais, não sejam incomuns (PUSTERLA *et al*, 2011). Há evidências de que uma proporção moderada de cavalos continua a abrigar *S. equi equi* por várias semanas após o desaparecimento dos sinais clínicos, embora o microrganismo não seja detectável na maioria dos casos em 4 a 6 semanas após a recuperação total do animal (SWEENEY *et al*, 2005). Um cavalo recuperado pode ser uma fonte potencial de infecção por pelo menos 6 semanas após a remissão e resolução dos sinais clínicos (SWEENEY *et al*, 2005).

Um estágio crônico de portador convalescente pode desenvolver- se, com as bactérias presentes na bolsa gutural. De acordo com a declaração de consenso do *American College of Veterinary Internal Medicine* (ACVIM) pelo menos um em cada dez cavalos que se recuperam da adenite equina falhará em livrar *S. equi equi* das bolsas guturais por meses a anos (BOYLE *et al*, 2018). Esses animais são os principais responsáveis na disseminação da enfermidade para grupos de cavalos livres do patógeno e na persistência dessa doença na população mundial de cavalos ao longo de milênios (PRINGLE *et al*, 2019).

Os portadores persistentes de *S. equi equi* representam um desafio especial na prática clínica, pois representam um reservatório oculto do patógeno, embora não apresentem sinais clínicos de adenite equina. Portadores persistentes podem transmitir o microrganismo a cavalos suscetíveis e, assim, complicar a erradicação de surtos de doenças (FRIDBERG *et al*, 2023). Consequentemente, a identificação desses portadores é de extrema importância tanto para a erradicação quanto para a minimização da doença. Estudos mostram que um único portador tem a capacidade de disseminar milhões de bactérias na água de um bebedouro no pasto, após um único gole de água (WALLER, 2014).

Devido à possibilidade de propagação da doença por inalação, é importante garantir a detecção e o diagnóstico precoces para evitar vítimas desnecessárias (IKHOSO *et al*, 2020). O diagnóstico é realizado de acordo com os sinais clínicos apresentados pelo animal, como febre, presença de secreção mucopurulenta nas narinas e pelo isolamento do agente patogênico em esfregaço do exsudato ou pus nasal. A cultura bacteriana de suabes nasais, lavados nasais ou pus aspirado dos abscessos é considerado o padrão ouro para detecção do *S. equi equi* (SWEENEY *et al*, 2005). A presença de outros *Streptococcus* beta-hemolíticos pode dificultar a correta identificação, sendo necessário o teste de fermentação de açúcares para correta identificação do agente (SWEENEY *et al*, 2005).

Outros métodos diagnósticos incluem diversas metodologias de reação de polimerase em cadeia (PCR), sendo em grande parte dos protocolos, a sequência de DNA da proteína semelhante a M (SeM) tem sido utilizada (WALLER, 2014). A sorologia através da técnica de ensaio imuno-enzimático (ELISA) também pode ser utilizada, buscando identificar a superfície da proteína SeM, sendo útil para detectar infecções recentes (4-6 semanas) (BOYLE, 2016).

O tratamento de cavalos que sofrem de adenite deve ser iniciado imediatamente após o diagnóstico. Eles devem ser tratados com base na gravidade, estágio e epidemiologia da doença. Cavalos clinicamente doentes devem ser mantidos em um ambiente quente, seco, livre de poeira e não devem ser mantidos com outros cavalos (CHABRA *et al*, 2023). Como forma de tratamento, em animais com abscesso linfonodal, a compressa quente e agentes amolecedores tópicos podem auxiliar no desenvolvimento e maturação dos abscessos, acelerando a resolução (SWEENEY *et al*, 2005). Em casos clinicamente graves, o tratamento pode incluir o uso de antimicrobianos, pois proporciona uma melhora clínica temporária,

principalmente para aqueles que apresentam dispneia por obstrução parcial das vias aéreas superiores (FRIDBERG *et al*, 2023). Os anti-inflamatórios não esteróides (AINE) são recomendados para diminuir o edema e a febre e, assim, promover o bem-estar e a melhora na alimentação (GUTIÉRREZ, 2013).

O uso de antimicrobianos é considerado controverso, pois cavalos tratados com antibióticos têm menos probabilidade de desenvolver imunidade a infecções por *S. equi equi* e são mais suscetíveis à reinfecção assim que o tratamento com antibióticos é interrompido (BOYLE, 2016; FRIDBERG *et al*, 2023), sendo a penicilina o antimicrobiano de escolha para o tratamento de adenite aguda. Embora *S. equi equi* seja considerado sensível à maioria dos antimicrobianos, exceto aos aminoglicosídeos (FRIDBERG *et al*, 2023), o surgimento de cepas resistentes é inevitável (PANSANI *et al*, 2016). Tem sido relatado por muitos veterinários que os animais com adenite equina se recuperaram melhor quando receberam tratamento com sulfadiazina-trimetoprim (IKHUSO et al, 2020). O isolamento dos animais por um período de 10 dias é uma prática recomendada, como forma de contenção da doença na propriedade (QUINN *et al*, 2005).

Como formas de prevenção destacam-se as boas práticas de higiene de alojamentos e equipamentos, o não compartilhamento de arreios, limpeza frequente de comedouros e bebedouros, bem como de equipamentos veterinários. Todos os cavalos novos, ao entrarem na propriedade deveriam ser isolados por um período de três semanas, monitorando sinais de doença bem como febre (BOYLE, 2016). Atenção especial deve ser dada a cabrestos e outros materiais a base de poliéster, com lavagens em temperatura de 60°C para eliminar o *S. equi equi* (RYDEN *et al*, 2023).

A maioria dos cavalos desenvolvem uma imunidade duradoura quando recuperados do quadro clínico, que persiste em cerca de 75% dos animais por cerca de 5 anos ou mais (SWEENEY *et al*, 2005). Várias vacinas contra adenite equina estão comercialmente disponíveis, no entanto, nenhuma destas pode prevenir totalmente que o animal contraia a enfermidade, embora possam reduzir os sinais clínicos (TONPITAK *et al*, 2016). Devido à falta de dados sobre a proteção que oferecem, a vacinação contra adenite equina raramente é utilizada na Europa (REINHOLD e VENNER, 2010).

A administração de vacinas inativadas (bacterinas) tem sido discutida e mostrase questionável em diversos países (QUINN *et al*, 2005). Apesar da baixa mortalidade

e da boa imunidade desenvolvida pelos animais naturalmente infectados, a vacinação tem sido recomendada em propriedades endêmicas, com grande número de casos crônicos. Estudos têm apontado que o uso de vacinas atenuadas ou de subunidade, que induzem imunidade em mucosas confere, potencialmente, maior proteção aos animais vacinados (MEGID *et al*, 2016).

A reinfecção pode ocorrer entre 10 e 20% dos animais que apresentam manifestações clínicas, denotando que a imunidade pós-infecção não acontece na totalidade de animais expostos (MEGID *et al*, 2016).

Atualmente se trata de um patógeno com potencial zoonótico, embora com baixa incidência de casos humanos (TRELL *et al*, 2017; IKHOSUO *et al*, 2020), mas pode estar associada a bacteremia, sepse e meningite em hospedeiros imunocomprometidos (TORPIANO *et al*, 2020). Apesar de rara a infecção em humanos, deve-se levar em conta que os fatores de risco comumente identificados foram imunocomprometimento, contato regular com cavalos e o consumo de laticínios não pasteurizados (SAMKAR *et al*, 2016; TORPIANO *et al*, 2020; GOSAI e GOSAI, 2023).

2.4 Métodos identificação

A cultura bacteriana é o método diagnóstico padrão, mas esta metodologia pode não ter sucesso durante o período de incubação no trato respiratório e nas fases clínicas iniciais (PREZIUSO e CUTERI, 2012; TIMONEY, 2004). Agentes pertencentes ao mesmo grupo C de Lancefield, como *Streptococcus equi* subsp *zooepidemicus* (*S. zooepidemicus*) e *Streptococcus dysgalactiae* subsp *equisimilis* (*S. equisimilis*) são frequentemente isolados de amostras clínicas como contaminantes secundários de casos de adenite equina sendo, portanto, necessário que se faça a correta diferenciação entre essas subespécies (SILVA e VARGAS, 2006).

É necessário diferenciar *S. equi* subsp. *equi* de *S. equi* subsp. *zooepidemicus*, para iniciar o tratamento específico antes que se dissemine no rebanho (KOWALSKI, 2000). As colônias das duas espécies bacterianas apresentam a mesma morfologia e as coinfecções são difíceis de serem reconhecidas (PREZIUSO e CUTERI, 2012; TIMONEY, 2004).

S. equi equi, produz colônias mucoides, por causa da cápsula de ácido hialurônico, com mais de 4mm de diâmetro e rodeadas por zona larga de beta-hemólise, após 24 a 48 horas de cultivo e apresentam uma coloração dourada em ágar sangue (QUINN *et al*, 2005). *S. zooepidemicus* também produz colônias mucoides, porém a cápsula de ácido hialurônico é frequentemente hidrolisada pela hialuronidase produzida pelo próprio microrganismo durante o cultivo, do que resulta uma colônia achatada, transparente e opaca em ágar sangue e, embora ambas produzam beta-hemólise, mutações no gene da estreptolisina, podem provocar diferenças nas características da hemólise e das colônias (MAY *et al*, 2004; MORAES *et al*, 2009).

A diferenciação bioquímica das subespécies pode ser vista na tabela 01 e baseia-se na capacidade de fermentação de lactose, sorbitol e trealose. *S. equi* não fermenta nenhum desses carboidratos, *S. zooepidemicus*, fermenta lactose e sorbitol e *S. equisimilis*, trealose (KUWAMOTO *et al*, 2001).

Tabela 01 – Caracterização do padrão de fermentação de açúcares de *Streptococcus* beta-hemolíticos isolados de animais.

<i>Streptococcus</i>	<i>S. equi equi</i>	<i>S. equi zooepidemicus</i>	<i>S. dysgalactiae equisimilis</i>
Grupo Lancefield	C	C	C
Lactose	-	+	v
Maltose	+	v	+
Trealose	-	-	+
Sorbitol	-	+	-

Fonte: HARDIE e WHILEY, 1995.

+ positivo; - negativo, v variável

Desenvolvimentos recentes na área da biologia molecular, como o PCR e a análise de 16s rRNA resultaram em novos métodos que podem ser utilizados para a identificação de bactérias. A utilização de segmentos específicos do gene 16s rRNA já vem sendo amplamente utilizada na identificação das espécies de *Streptococcus* (ALBER *et al*, 2004). A alta sensibilidade para detecção de *S. equi equi* com o uso da PCR para detectar microrganismos vivos e mortos drenados a partir da faringe ou bolsas guturais pode ser uma grande ajuda para identificar portadores silenciosos (HARRINGTON *et al*, 2002).

Porém a identificação da subespécie *S. equi equi* com base em reações bioquímicas ou PCR permanece difícil, sendo que a principal desvantagem dos protocolos de PCR atualmente disponíveis é que eles foram desenvolvidos sem considerar a variação entre diferentes cepas de *S. zooepidemicus* e possível perda dos alvos em algumas cepas de ambas as subespécies (KUDIRKIENE *et al*, 2015).

Alternativamente, a espectrometria de massa com ionização por dessorção a laser assistida por Matrix (MALDI-TOF MS), usada para comparar perfis de proteínas de células bacterianas inteiras com os espectros de referência, é cada vez mais usada em muitos laboratórios de diagnóstico em todo o mundo. Em comparação com a PCR, o método é fácil de executar e não requer reagentes caros (KUDIRKIENE *et al*, 2015).

2.5 Resistência aos antimicrobianos

O uso de antimicrobianos reduziu as taxas de morbidade e mortalidade associadas a infecções bacterianas ao redor do mundo, porém o uso extensivo e muitas vezes inapropriado desses fármacos tem levado à seleção de bactérias resistentes, que são capazes de sobreviver na presença dessas drogas, levando a falha terapêutica (MOTA *et al*, 2021). O surgimento e a rápida disseminação da resistência aos antibióticos comprometem seriamente a eficácia clínica das terapias antibióticas atuais, representando uma séria ameaça à saúde pública em todo o mundo (ZHU *et al*, 2023).

A resistência antimicrobiana (RAM) representa uma das maiores ameaças ao avanço da medicina moderna. Em todo o mundo, cerca de 700.000 pessoas morrem a cada ano de RAM, e espera-se que esse número chegue a 10 milhões anualmente até 2050 (ZEON e KIBE, 2023). A epidemiologia da RAM em cavalos tem sido estudada e esses animais são considerados reservatórios de bactérias resistentes a antimicrobianos em vários países; no entanto, esse assunto ainda é pouco compreendido no Brasil (MOTA *et al*, 2021).

Existem duas maneiras de as bactérias desenvolverem resistência, a resistência intrínseca e a resistência adquirida, sendo que a última ocorre com mais frequência no ambiente. Geralmente, bactérias sensíveis a medicamentos podem adquirir resistência a antibióticos por meio de mutação genética ou transferência de genes, entre os quais a transferência horizontal de genes desempenha um papel dominante (ZHU *et al*, 2023).

Os mecanismos de resistência intrínseca se referem a quando as bactérias já possuem, em sua constituição, informações para apresentar o mecanismo responsável pela ineficácia do antimicrobiano (ABRANTES e NOGUEIRA, 2021), sendo transmitido verticalmente. Já a resistência extrínseca ou adquirida ocorre por meio de mutações ou por mecanismos de transferência horizontal (RICE, 2012).

Novos mecanismos de resistência estão surgindo e se espalhando pelo mundo, ameaçando nossa capacidade de tratar doenças infecciosas comuns, o que resulta em doença prolongada, incapacidade e morte (OPAS, 2021). Esforços globais coordenados foram feitos por várias instituições e organizações durante as últimas 2 décadas para lutar contra a RAM (ZEON e KIBE, 2023). Sendo que as mesmas classes de antimicrobianos utilizados para o tratamento em humano também são utilizadas em animais, portanto, o uso incorreto dessas drogas para tratar infecções em animais de estimação pode contribuir para o surgimento de cepas multirresistentes tanto na medicina humana quanto na veterinária (SFACIOTTE, 2019).

Os cavalos são um dos potenciais reservatórios de RAM que podem ser compartilhados com seres humanos por meio de contato direto ou indireto (BOURÉLY *et al*, 2019). É difícil obter uma avaliação clara do estado geral de resistência antimicrobiana em patógenos bacterianos equinos, em parte porque há poucos relatórios de laboratórios de diagnóstico (PRESCOTT, 2020). Outro ponto importante a ser destacado é uso empírico de antimicrobianos na medicina equina como uma prática comum (WILSON e MAGDESIAN, 2021), principalmente devido à falta de acesso aos laboratórios de microbiologia e/ou ao tempo necessário para resultados, que muitas vezes não podem ser esperados pela exigência de rápida resolução do caso (LÖNKER *et al*, 2020).

Segundo o CLSI, 2023, a penicilina e a ampicilina são as drogas de escolha para o tratamento de infecções estreptocócicas beta-hemolíticas. Em contrapartida, diversos estudos envolvendo diferentes espécies estreptocócicas também tem relatado o aumento do gênero aos antimicrobianos beta-lactâmicos, em especial a penicilina. Estudo realizado por PRESCOTT (2020) sugere que *S. equi equi* e *S. zooepidemicus* permanecem extremamente sensíveis à penicilina G, apesar da provação de quase 70 anos de uso, porém, em estudo realizado no Canadá (CLARK *et al*, 2008) já se demonstrava início de resistência de cepas de *S. zooepidemicus* à penicilina (95% das amostras foram consideradas sensíveis). Laboratórios de diagnóstico veterinário nos Estados Unidos tem observado uma

emergente resistência a penicilina em cepas de *S. equi equi* e *Streptococcus equi* subsp *zooepidemicus* (BOYLE *et al*, 2018).

O mecanismo de ação desses antimicrobianos beta-lactâmicos se dá através da ligação de maneira irreversível ao seu receptor de ação, às proteínas ligadoras de penicilinas ou PBPs (do inglês *Penicillin-Binding Proteins*). A ligação dos antibióticos beta-lactâmicos às PBPs impede a formação do peptidoglicano, ficando a célula em crescimento defeituosa, rapidamente ocorrendo a lise osmótica (TAVARES, 2014). Um paradigma para a resistência aos antimicrobianos e a transferência de genes entre espécies de *Streptococcus* é representado pelos genes *pbp* em mosaico que codificam as enzimas-alvo para antibióticos beta-lactâmicos, as proteínas de ligação à penicilina. O mecanismo é baseado em alterações das PBPs resultando na diminuição da afinidade das PBPs aos antibióticos beta-lactâmicos, melhorando a sobrevivência da bactéria mutante (CHI *et al*, 2007).

Informações detalhadas sobre aparecimento da resistência aos antimicrobianos em *S. equi equi* não foram encontradas durante essa revisão, porém o aumento da resistência à penicilina entre isolados de *Streptococcus pneumoniae* em todo mundo é resultado de eventos de transferência de genes interespécies que envolvem espécies estreptocócicas comensais (CHI *et al*, 2007) e o observado em estudo no Japão, com a presença de multirresistência (resistência aos beta-lactâmicos, macrolídeos e quinolonas) em uma nova espécie *Streptococcus* alfa-hemolítico, demonstram a possibilidade de transferência horizontal da resistência entre esses *Streptococcus* (WAJIMA *et al*, 2022).

3 REFERÊNCIAS

- ABRANTES, J. A.; NOGUEIRA, J. M. R. Resistência bacteriana aos antimicrobianos: uma revisão das principais espécies envolvidas em processos infecciosos. **Revista Brasileira de Análises Clínicas.** v. 53, n. 3, p. 219-223, 2021.
- ALBER, J.; EL-SAYED, A.; LÄMMLER, C.; et al. Multiplex Polymerase Chain Reaction for Identification and Differentiation of *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* and *Streptococcus equi* subsp. *equi*. **Journal of Veterinary Medicine: B Infect Dis Vet Public Health.** v. 51, n. 10, p. 455–458, 2004.
- BOURÉLY, C.; CAZEAU, G.; JARRIGE, N.; et al. Antimicrobial resistance in bacteria isolated from diseased horses in France. **Equine Veterinary Journal.** v. 52, n. 1, p. 112–119, 2019.
- BOYLE, A. G. *Streptococcus equi* subspecies *equi*. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice.** v. 39, n. 1, p. 115–131, 2023.
- BOYLE, A. G.; Strangles and its complications. **Equine Veterinary Education.** v. 29, n. 3, p. 149-157, 2016.
- BOYLE, A. G.; TIMONEY, J. F.; NEWTON, J. R.; et al. *Streptococcus equi* Infections in Horses: Guidelines for Treatment, Control, and Prevention of Strangles—Revised Consensus Statement. **Journal of Veterinary Internal Medicine.** v. 32, n. 2, p. 633 – 647, mar. 2018.
- CHABRA, D.; BHATIA, T.; GOUTAM, U.; et al. Strangles in equines: An overview. **Microbial Pathogenesis.** v. 178, p. 106070–106070, mai, 2023.
- CHI, F.; NOLTE, O.; BERGMANN, C.; et al. Crossing the barrier: Evolution and spread of a major class of mosaic pbp2x in *Streptococcus pneumoniae*, *S. mitis* and *S. oralis*. **Internacional Journal of Medical Microbiology.** v. 297, n. 7-8, p. 503–512, 2007.
- CLARK C.; GREENWOOD S.; BOISON J.O.; et al. Bacterial isolates from equine infections in western Canada (1998 –2003). **Can Vet J.** v. 49, n. 2, p. 153 – 160, 2008.
- CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing.** 33st ed. CLSI supplement M100. Informational Supplement M100-S33. 2023.
- DOMINGUEZ M.; MÜNSTERMANN S.; DE GUINDOS I.; TIMONEY P. Equine disease events resulting from international horse events: Systematic review and lessons learned. **Equine Veterinary Journal.** v. 48, n.5, p. 641-653, 2015.
- DURAN, M. C.; GOEHRING, L.S. Equine strangles: An update on disease control and prevention. **Austral Journal of Veterinary Science** v. 53, n. 1, p. 23–31, 2021.
- DURHAM, A. E.; HALL, Y. S.; KULP, L.; et al. A study of the environmental survival of *Streptococcus equi* subspecies *equi*. **Equine Veterinary Journal,** v. 50, n. 6, p. 861– 864, 2018.

FRIDBERG, A.; ADLER, T; JØRGENSEN, M. G.; *et al.* The hygienic aspects in the management of strangles. **Equine Vet Education.** v. 00, p. 1-11, 2023.

GOSAI, F.; GOSAI, N. A Human Case of an Infection by the Pathogenic Streptococci that causes “Strangles” in Horses. **European Journal of Case Reports in Internal Medicine,** v. 10, n. 1, p. 003719–003719, 2023.

GUTIÉRREZ, M. P. A.; Strangles: The most prevalent infectious respiratory disease in horses worldwide. **Ces Med Vet Zoo.** v. 8, n. 1, p. 143-159. 2013.

HARDIE, J. M.; WHILEY, R. A. The genus *Streptococcus*. **The genera of Lactic Acid Bacteria.** v. 2, New York: Springer New York. p. 55-124, 1995. Online ISBN: 978-1-4615-5817-0.

HARRINGTON, D. J.; SUTCLIFFE, I. C; CHANTER, N. The molecular basis of *Streptococcus equi* infection and disease. **Microbes and Infection.** v. 4, n. 4, p. 501–510, 2002.

HOLDEN, M. T. G.; HEATHER, Z.; PAILLOT, R.; *et al;* Genomic Evidence for the Evolution of *Streptococcus equi*: Host Restriction, Increased Virulence, and Genetic Exchange with Human Pathogens. **Plos Pathogens.** v. 5, n. 3, p. e1000346–e1000346, 2009.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Pesquisa da Pecuária Municipal. Rebanho de equinos (cavalos), 2021. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/equinos/br> Acesso em: 11/06/2023.

IKHUOSO, O. A.; MONROY, J. C.; RIVAS-CACERES, R. R.; *et al.* *Streptococcus equi* in Equine: Diagnostic and Healthy Performance Impacts. **Journal of Equine Veterinary Science,** v. 85, p. 102870–102870, fev, 2020.

JARAMILLO-MORALES, C.; GOMEZ, D. E.; RENAUD, D.; *et al.* *Streptococcus equi* culture prevalence, associated risk factors and antimicrobial susceptibility in a horse population from Colombia. **Journal of Equine Veterinary Science,** v. 111, p. 103890, 2022.

JUNIOR, O. A. C.; MURAD, J. C. B; **Animais de grande porte II**, 1 ed, Brasília: NT Editora, 192p, 2016.

KIRINUS, J. K.; **Fenotipia e genotipia de *Streptococcus equi* isolados de equinos da Região Sul do Brasil, Rio Grande do Sul.** 2010. 61 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2010.

KOWALSKI, J.J. Mecanismo da doença infecciosa. *In:* REED, S.M.; BAYLY, W.M. **Medicina interna eqüina.** ed. 1. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. p.54-56.

KUDIRKIENE, E.; WELKER, M.; KNUDSEN, N. R; et al. Rapid and accurate identification of *Streptococcus equi* subspecies by MALDI-TOF MS. **Systematic and Applied Microbiology.** v. 38, n. 5, p. 315–322, 2015.

KUWAMOTO, Y.; ANZAI, T.; WADA, R. Microplate sugar-fermentation assay distinguishes *Streptococcus equi* from other streptococci of Lancefield's group C. **Equine Veterinary Science,** v.12, n.2, p.47-49, 2001.

LIBARDONI, F. et al. Prevalence of *Streptococcus equi* subsp. *equi* in horses and associated risk factors in the State of Rio Grande do Sul, Brazil. **Research in Veterinary Science,** v. 104, p. 53–57, 2016.

LIMA, R. A. S.; SHIROTA, R.; BARROS, G. S. C. Estudo do complexo do agronegócio cavalo. **Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada CEPEA/ESALQ/USP.** Piracicaba: 2006.

LIMA, R. A. S.; CINTRA, A.G., **Revisão do estudo do complexo do agronegócio do cavalo.** Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento 1 ed, Brasília, 56p. 2016.

LÖNKER, N. S.; FECHNER, K.; WAHED, A. A.E. Horses as a Crucial Part of One Health. **Veterinary Sciences** v. 7, n. 1, p. 28–28, 2020.

MADIGAN, M.; MARTINKO, J.; BENDER, K.; et al. Diversidade das Bactérias. **Microbiologia de Brock.** ed 14, Porto Alegre: Artmed. p. 479-516, 2016.

MADDOX, T. W.; CLEGG, P.; WILLIAMS, N.; et al. Antimicrobial resistance in bacteria from horses: Epidemiology of antimicrobial resistance. **Equine Veterinary Journal,** v. 47, n. 6, p. 756–765, 2015.

MALLICOTE, M F. Update on *Streptococcus equi* subsp *equi* Infections. **Veterinary Clinic of North America: Equine Practice** v. 31, n. 1, p. 27–41, 2015.

MAY, J. P.; WALKER, C. A.; MASKELL, D. J.; et al. Development of an *in vivo* *Himar* 1 transposon mutagenesis system for use in *Streptococcus equi* subsp *equi*. **FEMS Microbiology Letters,** n.238, p.401-409, 2004.

MCVEY, S.; KENNEDY, M.; CHENGAPPA, M. M. **Microbiologia veterinária;** tradução José Jurandir Fagliari. ed. 3. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016.

MEGID, I.; RIBEIRO, M. G.; PAES, A. C. **Doenças Infecciosas em animais de produção e de companhia.** ed. 1. Rio de Janeiro: Roca, 2016.

MORAES, C. M.; VARGAS, A. C.; LEITE, F. P. L.; et al. Adenite equina: sua etiologia, diagnóstico e controle. **Ciência Rural.** v. 39, n. 6, p. 1944–1952, 2009.

MORRIS, E. R. A.; SCHROEDER, M. E.; FERRO, P. J.; et al. Development of a novel real-time PCR multiplex assay for detection of *Streptococcus equi* subspecies *equi* and *Streptococcus equi* subspecies *zooepidemicus*. **Veterinary Microbiology.** v. 284, p. 109797–109797, 2023.

MORRIS, E. F.; HILLHOUSE, A. E.; KONGANTI, K.; et al. Comparison of whole genome sequences of *Streptococcus equi* subsp. *equi* from an outbreak in Texas with isolates from within the region, Kentucky, USA, and other countries. **Veterinary Microbiology**. v. 243, p. 108638–108638, 2020.

MOTA, S. L.; SANTOS, L. O.; VIDALETTI, M. R.; et al. Antimicrobial Resistance of Coagulase-positive *Staphylococcus* Isolated From Healthy Crioulo Horses and Associated Risk Factors. **Journal of Equine Veterinary Science**. v. 107, p. 103779–103779, 2021.

OPAS, Organização Pan-Americana da Saúde. **Resistência antimicrobiana**. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/topicos/resistencia-antimicrobiana>. Acesso em: 09/03/2022.

PANSANI, A. M. et al. Prevalência e resistência a antibióticos de *Streptococcus equi* da cavidade nasal de equinos hígidos no município de Fernandópolis, São Paulo, Brasil. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 10, n. 2, p. 144, 22. 2016.

PREScott, J. F. Outpacing the resistance tsunami: Antimicrobial stewardship in equine medicine, an overview. **Equine Veterinary Education**, v. 33, n. 10, p. 539–545. 2021.

PREZIUSO, S.; CUTERI, V. A Multiplex Polymerase Chain Reaction Assay for Direct Detection and Differentiation of β-Hemolytic Streptococci in Clinical Samples from Horses. **Journal of Equine Veterinary Science**. v. 32, n.5, p. 292-296. 2012.

PRINGLE, J. R.; VENNER, M.; TSCHE SCHLOK, L.; et al. Long term silent carriers of *Streptococcus equi* ssp. *equi* following strangles; carrier detection related to sampling site of collection and culture versus qPCR. **The Veterinary Journal**. v. 246, p. 66–70, 2019.

PUSTERLA, N.; KASS, P. H.; MAPES, S.; et al. Surveillance programme for important equine infectious respiratory pathogens in the USA. **The Veterinary Record**. v. 169, n. 1, p. 12, 2011.

QUINN, P. J. et al. **Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas**. ed. 1. Artmed: Porto Alegre. Bactérias Patogênicas. 2005. P. 61-66.

RADOSTITIS, O. M. et al. **Clínica Veterinária – Um Tratado de Doenças dos Bovinos, Ovinos, Suíños, Caprinos e Equinos**. ed. 9, Guanabara Koogan: Rio de Janeiro. Doenças causadas por Bactérias – I. 2002, p. 632-636.

REINHOLD, B.; VENNER, M. Safety of multiple, submucosal inoculations of a live attenuated strangles vaccine in pregnant mares. **Equine Veterinary Education**. v. 22, n. 1, p. 40-42, 2010.

RICE L. B. Mechanisms of Resistance and Clinical Relevance of Resistance to βLactams, Glycopeptides, and Fluoroquinolones. **Mayo Clinic Proceedings**. v. 87, n. 2, p. 198-208, 2012.

- ROBINSON, C.; FRYKBERG, L.; FLOCK, M.; et al. Strangvac: A recombinant fusion protein vaccine that protects against strangles, caused by *Streptococcus equi*. **Vaccine**. v. 36, n. 11, p. 1484–1490, 2018.
- RYDEN, A.; FERNSTRÖM, L. L.; SVONNI, E.; et al. Effectiveness of Cleaning and Sanitation of Stable Environment and Riding Equipment Following Contamination With *Streptococcus equi* Subsp. *equi*. **Journal of Equine Veterinary Science**. v. 121, p. 104204–104204, 2023.
- SAMKAR, A. V.; BROUWER, M. C; ENDE, A. V.; et al. *Streptococcus equi* meningitis. **Clinical Microbiology and Infection**. v. 22, n. 1, p. e3–e4, 2016.
- SFACIOTTE, R. A. P; **Caracterização de micro-organismos multirresistentes isolados do ambiente e colonizando humanos, cães e gatos em um hospital veterinário de ensino**. 2019. 142 p. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2019.
- SILVA, M. S.; VARGAS, A. C. Adenite eqüina – aspectos clínicos, agente etiológico e métodos de diagnóstico. **Arq Inst Biol**. v. 73, n. 4, p. 493–498, 2006.
- SILVA, R. A., **Equideocultura**. Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento. Paraná: 2017.
- SWEENEY, C. R.; TIMONEY, J. F.; NEWTON, R.; et al. *Streptococcus equi* Infections in Horses: Guidelines for Treatment, Control, and Prevention of Strangles. **Journal of Veterinary Intern Medicine**. v. 19, p. 123-134, 2005.
- TARTOR, Y. H.; EL-NAENAEY, EI-S. Y.; GHARIEB, N. M.; et al. Novel *Streptococcus equi* strains causing strangles outbreaks in Arabian horses in Egypt. **Transboudary and Emerging Disease**. v. 67, n. 6, p. 2455–2466, 2020.
- TAVARES, W. **Antibióticos e quimioterápicos para o clínico**. ed. 3. São Paulo: Editora Atheneu, 746p. 2014.
- TEIXEIRA, L. M.; PINTO, T. C. A.; MERQUIOR, V. L. C. *Streptococcus, Enterococcus* e gêneros relacionados. **Microbiologia**, ed. 6, São Paulo: Atheneu, p. 195-200, 2008.
- TIMONEY, J. F. *Streptococcus*. In: PRESCOTT, J. F.; MACINNES, J. I.; IMMERSEEL, F. V.; et al. **Pathogenesis of bacterial infections in animals**, ed. 5, EUA: John Wiley & Sons, Inc. p. 565–587, 2022. Online ISBN:9781119754862
- TIMONEY, J. F.; The patogenic equine *Streptococci*. **Veterinary Research**. v. 35, n. 4, p. 397-409, 2004.
- TIMONEY, J. F; KUMAR, P. Early pathogenesis of equine *Streptococcus equi* infection (Strangles). **Equine Vet J**. v. 40, n. 7, p. 637-642, nov, 2008.

- TONPITAK, W.; SORNKLIEN, C.; WUTTHIWITHAYAPHONG, S. Characterization of a *Streptococcus equi* ssp. *equi* Isolate From a Strangles Outbreak in Thailand. **Journal of Equine Veterinary Science.** v. 38, p. 30–32, 2016.
- TORPIANO, P.; NESTOROVAB, N.; VELLAA, C. *Streptococcus equi* subsp *equi* meningitis, septicemia and subdural empyema in a child. **ID Cases,** v. 21, p. e00808, 2020.
- TRELL, K.; NILSON, B.; PETERSON, A. C.; et al. Clinical and microbiological features of bacteremia with *Streptococcus equi*. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease,** v. 87, i. 2, p. 196-198, 2017.
- WAJIMA, T.; HAGIMOTO, A.; TANAKA, E.; et al. Identification and characterisation of a novel multidrug-resistant *Streptococcus*, *Streptococcus toyakuensis* sp. nov., from a blood sample. **Journal of Global Antimicrobial Resistance.** v. 29, p. 316–322, 2022.
- WALLER, A. S. New Perspectives for the Diagnosis, Control, Treatment, and Prevention of Strangles in Horses. **Veterinary Clinic of North America: Equine Practice,** v. 30, n. 3, p. 591–607, 2014.
- WALLER, A. S. Strangles: Taking steps towards eradication. **Veterinary Microbiology.** v. 167, n. 1-2, p. 50–60, 2013.
- WALLER, A. S; JOLLEY, K. A. Getting a grip on strangles: Recent progress towards improved diagnostics and vaccines. **The Veterinary Journal.** v. 173, n. 3, p. 492–501, 2007.
- WILSON, D. W.; MAGDESIAN, K. G.; Antimicrobial Selection for the Equine Practitioner. **Veterinary Clinic of North America: Equine Practice,** v. 37, n. 2, p. 461–494, 2021.
- ZEON, O.; KIBE, L. W. Antimicrobial Drug Resistance and Antimicrobial Resistant Threats. **Physician Assistant Clinics,** v. 8, n. 3, p. 411-420, jul, 2023.
- ZHU, S.; YANG, B.; WANG, Z.; et al. Augmented dissemination of antibiotic resistance elicited by non-antibiotic factors. **Ecotoxicology and Environmental Safety.** v. 262, p. 115124–115124, 2023.

4 OBJETIVOS

4.1 GERAL

Verificar a prevalência da bactéria causadora de adenite equina, *Streptococcus equi* subsp *equi*, em rebanhos do Estado de Santa Catarina.

4.2 ESPECÍFICO

Identificar a presença de *Streptococcus equi* subsp *equi* em animais com ou sem sinais clínicos.

Identificar o perfil de sensibilidade e multirresistência do *Streptococcus equi* frente aos antimicrobianos de uso na Medicina Veterinária.

5 ARTIGO – OCORRÊNCIA E RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS DE *Streptococcus equi* subsp *equi* EM SANTA CATARINA

5.1 RESUMO

O objetivo deste trabalho foi realizar um estudo sobre a prevalência de *Streptococcus equi* subsp *equi* (*S. equi*) no estado de Santa Catarina e avaliar o perfil de resistência aos antimicrobianos nos isolados. Foram coletadas 420 amostras de suave nasal de equinos com e sem sinais clínicos. O isolamento e caracterização fenotípica dos isolados se deu por meio da semeadura em ágar sangue a 5% ovino, seguido por análise das características morfotintoriais e análise bioquímica. Para a diferenciação dos principais *Streptococcus* beta-hemolíticos dos equinos foi utilizado o perfil de fermentação dos açúcares lactose, maltose, sorbitol e trealose. O perfil de resistência aos antimicrobianos foi definido pelo método de difusão em disco, sendo testados 13 antimicrobianos de dez classes diferentes, todos com uso regular na clínica médica de equinos, seguido pelo cálculo do índice de resistência a múltiplos antimicrobianos (IRMA). Foram isoladas 4 cepas de *S. equi*, sendo a prevalência de 0,95% (4/420). Quando analisados os antimicrobianos: penicilina, ceftiofur, clindamicina, tetraciclina, sulfametoxazol+trimetoprim e vancomicina todos apresentaram 25% (1/4) de resistência e a rifampicina apresentou 75% (3/4) de resistência. Dois, dos quatro isolados (50%) apresentaram padrão de multirresistência. Os isolados se mostraram 100% (4/4) sensíveis a gentamicina, estreptomicina, eritromicina, cloranfenicol, enrofloxacina e levofloxacina. Este foi o primeiro estudo realizado no estado e, a partir desses dados, pode-se dizer que Santa Catarina apresenta uma baixa prevalência de *S. equi* e comprovou-se a presença de cepas de *S. equi* multirresistentes no rebanho equino em Santa Catarina.

Palavras-chave: Adenite equina, epidemiologia, multirresistência, trato respiratório superior

5.2 INTRODUÇÃO

A criação de equinos no Brasil tem grande relevância econômica e social, representando uma grande parcela no agronegócio brasileiro, responsável por uma movimentação de 7,3 bilhões de reais por ano e responde pelo emprego direto de cerca de 640 mil pessoas, podendo atingir por volta de 3,2 milhões de pessoas se forem também considerados os empregos indiretos (JUNIOR e MURAD, 2016). O país possui o maior da América Latina e o quarto maior rebanho do mundo, ficando atrás apenas de Estados Unidos, China e México (JUNIOR e MURAD, 2016) e estado de Santa Catarina ocupa a 15^a posição no ranking de número de animais (IBGE¹, 2021).

As afecções do sistema respiratório são de grande importância na equideocultura, produzindo significativas perdas econômicas se sua detecção e

tratamento não forem realizados precocemente (LACERDA, 2020). Dentre as patologias que acometem o trato respiratório destaca-se a adenite equina, sendo um sério problema para os criadores de equídeos no mundo todo (WALLER e JOLLEY, 2007). Os prejuízos relacionados com a doença estão relacionados a interrupção de trabalho, queda na performance de treinamento, bem como a gastos com tratamentos, além do impacto estético negativo devido a abscedação de linfonodos (MEGID *et al*, 2016).

Streptococcus equi subsp. *equi* (*S. equi equi*), bactéria Gram-positiva, beta-hemolítica e pertencente ao grupo C de Lancefield (BOYLE, 2023), é o agente causador da adenite equina ou garrotilho, uma doença do trato respiratório superior em cavalos, altamente contagiosa e que continua sendo a doença infecciosa equina mais frequentemente diagnosticada em todo o mundo (NOLL *et al*, 2020). Consequentemente, os esforços para melhorar o diagnóstico e a prevenção são de suma importância para a indústria equina (MORRIS *et al*, 2020). A infecção pode ocorrer em cavalos de todas as idades, mas os cavalos mais jovens exibem sinais clínicos mais graves. Cavalos mais velhos, por outro lado, são menos afetados e se recuperam mais rapidamente, devido ao melhor estado imunológico (CHABRA *et al*, 2023), por terem adquirido imunidade após exposição (TIMONEY, 2004).

Sabe-se que o reconhecimento do estado de portador é de extrema importância para o correto controle e erradicação da enfermidade em propriedades com potencial endêmico e, que a identificação dos portadores silenciosos no rebanho tem sido associada ao aparecimento de novos casos (PRINGLE *et al*, 2019). Esses portadores persistentes podem transmitir o microrganismo a cavalos suscetíveis comprometendo a erradicação de surtos da doença (FRIDBERG *et al*, 2023).

A abordagem terapêutica para essa enfermidade depende dos sinais clínicos e gravidade da doença (MEGID *et al*, 2016). A maioria dos animais clínicos não exige tratamento medicamentoso, requerendo apenas repouso e boas condições de manejo (BOYLE *et al*, 2018). Em casos clinicamente graves, o tratamento pode incluir o uso de antimicrobianos (FRIDBERG *et al*, 2023).

A penicilina é o antimicrobiano de escolha para o tratamento de adenite aguda, embora *S. equi equi* seja considerado sensível à maioria dos antibióticos (FRIDBERG *et al*, 2023; CLSI, 2023), o surgimento de cepas resistentes é inevitável (PANSANI *et al*, 2016). O aumento da resistência à penicilina entre isolados de *Streptococcus pneumoniae* em todo mundo é resultado de eventos de transferência de genes

interespécies que envolvem espécies estreptocócicas comensais (CHI *et al*, 2007). O mecanismo é baseado em alteração das proteínas de ligação as penicilinas (PBP's), alvo dos antimicrobianos beta-lactâmicos, resultando em diminuição da afinidade das PBP's ao fármaco (TAVARES, 2014). No Japão, a presença de multirresistência (resistência aos beta-lactâmicos, macrolídeos e quinolonas) em uma nova espécie *Streptococcus* alfa-hemolítico, demonstrou a possibilidade de transferência horizontal da resistência entre esses *Streptococcus* (WAJIMA *et al*, 2022). Poucos dados estão disponíveis sobre a resistência aos antimicrobianos do *S. equi*, em especial no que diz respeito a penicilina.

Os cavalos são um dos potenciais reservatórios de microrganismos multirresistentes que podem ser compartilhados com seres humanos por meio de contato direto ou indireto (BOURÉLY *et al*, 2019). Atualmente *S. equi* é considerado um agente com potencial zoonótico (IKHOSO *et al*, 2020), embora com baixa incidência em humanos (TRELL *et al*, 2017), podendo estar associado a bacteremia, sepse e meningite em hospedeiros imunocomprometidos.

O presente estudo teve como objetivo verificar a prevalência de *Streptococcus equi* subsp *equi* (*S. equi equi*) no rebanho equino do estado de Santa Catarina – Brasil e avaliar o seu perfil de sensibilidade e multirresistência aos antimicrobianos.

5.3 MATERIAL E MÉTODOS

5.3.1 Código de Ética em Pesquisa

O projeto foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC) sob o protocolo 1476210622, no Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV).

5.3.2 Área de estudo e população-alvo

O estado de Santa Catarina tem uma área de 95.730.684 km² está localizado na região Sul do Brasil, fazendo fronteira com Paraná ao Norte, Rio Grande do Sul ao Sul e com a Argentina a Oeste. Santa Catarina está situada entre os paralelos 25° 57' 41" S e 29° 23' 55" S e entre os meridianos 48° 19' 37" O e 53° 50' 00" O, na zona temperada meridional do planeta (SANTA CATARINA, 2016). Geograficamente o estado foi dividido em seis mesorregiões pelo Instituto Brasileiro

de Geografia e Estatística (IBGE², 2022), sendo Grande Florianópolis, Vale do Itajaí, Norte Catarinense, Sul Catarinense, Serrana e Oeste Catarinense. De acordo com a Companhia Integrada de Desenvolvimento Agrícola de Santa Catarina (CIDASC), por meio da base de dados do Sistema de Gestão da Defesa Agropecuária Catarinense (SIGEN+/CIDASC, 02/2022) o rebanho equino catarinense consiste em 106.354 animais distribuídos da seguinte forma: Grande Florianópolis com 11.186, Vale do Itajaí com 17.282, Norte Catarinense com 15.453, Sul Catarinense com 15.242, Serrana com 17.271 e Oeste Catarinense com 29.920 animais.

5.3.3 Amostragem e seleção das propriedades

Para o levantamento epidemiológico, todas as seis mesorregiões do estado foram contempladas, considerando como população em estudo o total de animais no rebanho catarinense (Sigen+ 02/2022) e o número de amostras foi definido por meio do teste de suficiência amostral utilizando o pacote *samplingbook* (MANITZ *et al.*, 2021) do programa RStudio (versão 1.4.1717). O teste de suficiência amostral utilizou a seguinte fórmula: $n = Z^2 \times P \times Q \times N / e^2 \times (N-1) + Z^2 \times P \times Q$, onde n = tamanho da amostra; Z = Intervalo de confiança; P = população pertencente a categoria estudada; Q = população que não pertencente a categoria estudada; N = tamanho da população; e = erro máximo. Sendo a frequência antecipada de 50% de prevalência, por se tratar da máxima estimada, com limite de confiança de 5% e intervalo de confiança de 95%, chegando assim a uma amostragem mínima de 383 animais. Para definir os municípios integrantes do estudo, foi estipulado que fariam parte do estudo os municípios com maior população equina de cada região, com um número mínimo de 700 animais no município para que este fosse considerado, chegando-se a um mínimo de três municípios de cada região. Por não haver diferença estatística entre o número de animais por região, foi estipulado um padrão de 70 amostras em cada região, totalizando assim 420 amostras no estado e obtendo-se uma margem de segurança no número de amostras. As propriedades foram selecionadas de forma aleatória e representaram diferentes perfis de criação e manejo (Figura 1), sendo que o número de propriedades selecionadas por município foi determinado segundo critérios da tabela 01. Os equinos foram selecionados de forma aleatória, representando diferentes raças, ambos os sexos e idade entre 8 meses e 15 anos. Em cada propriedade visitada, foi obtido o consentimento para realização das coletas através

da assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE). As amostras foram coletadas no inverno catarinense, nos meses de julho e agosto de 2022.



Figura 1. Localização das propriedades nas seis mesorregiões no estado de Santa Catarina, para o estudo de prevalência do *S. equi equi* em equinos.

Tabela 01 – Critérios para seleção do número de propriedades a serem coletadas por município.

Número de animais por município	Número de propriedades	Número de animais por propriedade
Até 700 animais	1 a 2	5 a 10
Entre 701 e 1.000 animais	2 a 3	5 a 15
Acima de 1.001 animais	3 a 4	10 a 20

5.3.4 Coleta de amostras

As coletas das amostras foram realizadas com auxílio de suabes estéreis da cavidade nasal no trato respiratório superior de animais com e sem sinais clínicos, dentro das propriedades selecionadas. A coleta foi realizada em ambas as narinas,

limpando a região externa com toalha de papel e a região rostro-mediana foi levemente friccionada com o suave por cerca de 15 segundos em cada narina. Após a coleta as amostras foram acondicionadas em meio de transporte (Ágar-ágar 15%) dentro de caixa isotérmica refrigerada (temperatura entre 2º e 8º C) e encaminhadas ao Laboratório de Bacteriologia – Centro de Diagnóstico Microbiológico Animal (CEDIMA) do CAV/UDESC, em prazo máximo de 48 horas, para o isolamento e identificação bacteriana.

5.3.5 Isolamento bacteriano e caracterização

As amostras foram semeadas por esgotamento em meio de cultivo ágar sangue ovino 5%, incubadas em estufa a 37°C, por até 48 horas. Após o isolamento, seguiu-se a análise macro e microscópica das colônias. As amostras que apresentavam características morfotintoriais compatíveis com o gênero *Streptococcus* foram submetidas a realização de provas bioquímicas para a identificação da espécie, sendo realizados os testes de esculina, bile-esculina, CAMP, Voges-Proskauer (VP) e NaCl 6,5%, além da resistência a bacitracina e sulfametoxazol+trimetoprin (STX) conforme Hardie e Whiley (1995) e McVey (2016). Na sequência a fermentação dos açúcares sorbitol, trealose, maltose e lactose, conforme Kuwamoto *et al* (2001). Os testes de fermentação de açúcares permitiram diferenciar as subespécies de *S. equi equi*, *S. zooepidemicus* e *S. equisimilis*. Para o controle positivo nos testes bioquímicos e de fermentação de açúcares foi utilizada amostra de *Streptococcus equi* subsp *equi* ATCC33398.

5.3.6 Análise do perfil de resistência aos antimicrobianos

Para verificar o perfil de resistência aos antimicrobianos dos isolados foi utilizado o método de difusão em disco, em Agar Muller-Hinton acrescido de 5% de sangue ovino desfibrinado (CLSI, 2023). Dez classes de antimicrobianos foram selecionadas para o teste de sensibilidade (TSA), tendo como critério os 13 antimicrobianos mais utilizados para o tratamento de infecções do trato respiratório e demais infecções bacterianas em equinos. Foram utilizados os seguintes antimicrobianos: Beta-lactâmicos: penicilina G (10U) e ceftiofur (30µg); Aminoglicosídeos: gentamicina (120µg) e estreptomicina (300µg); Macrolídeos: eritromicina (15 µg); Lincosamidas: clindamicina (2 µg); Ansamicinas: rifampicina (5

μg); Fenicóis: cloranfenicol (30 μg); Fluorquinolonas: enrofloxacina (5 μg) e levofloxacina (5 μg); Tetraciclinas: tetraciclina (30 μg); Sulfonamidas: sulfametoxazol-trimetoprim (25 μg); Glicopeptídeos: Vancomicina (30 μg). As zonas de inibição de crescimento ao redor de cada disco de antimicrobiano foram medidas e interpretadas usando os critérios estabelecidos pelo CSLI humano e animal (2023).

5.3.7 Índice de Resistência a Múltiplos Antimicrobianos (IRMA)

Duas formas são utilizadas para o cálculo do IRMA: a primeira é quando o isolado testado se apresenta resistente a pelo menos um antimicrobiano de três classes diferentes (CDC, 2019). A segunda é calculada pela razão entre o número de antimicrobianos contra as quais cada isolado fora resistente e o número total de antimicrobianos testados (KRUMPERMAN, 1983). Comumente são testadas, no mínimo, dez classes e, neste caso, consideram-se índices $\geq 0,2$ indicadores fenotípicos de multirresistência (PANSANI *et al*, 2016). Ambos os critérios foram utilizados e avaliados neste estudo.

5.3.8 Análise estatística

Para análise de prevalência foi utilizado a fórmula padrão Prevalência = Número de isolados/população amostrada $\times 100$ (THRUSFIELD, 2007). O teste de suficiência amostral foi realizado com o uso do pacote *samplingbook* (MANITZ *et al*, 2021). A estatística descritiva foi realizada com o uso da frequência absoluta (função *table*) e frequência relativa (função *prop.table*). Todas as análises estatísticas foram realizadas com auxílio do programa estatístico RStudio (versão 1.4.1717).

5.4 RESULTADOS

5.4.1 Isolados de *Streptococcus sp.* e estudo da Prevalência

Das 420 amostras de suave nasal coletados dos equinos, quatro foram positivos para *S. equi equi*, determinando uma prevalência no rebanho equino de Santa Catarina de 0,95% (4/420). Em relação aos dados por propriedade, obtivemos uma prevalência de 7,69% (3/39) para o *S. equi equi*. Os dados referentes aos animais coletados podem ser visualizados na tabela 02.

Tabela 02 – Dados referentes aos 420 animais amostrados, nas seis regiões de Santa Catarina.

		Número de animais
Sinais Clínicos	Sim	27
	Não	393
Sexo	Fêmeas	223
	Machos	197

Do total de amostras analisadas, 11,66% (49/420) dos isolados apresentaram características pertencentes ao gênero *Streptococcus*, sendo cocos, Gram-positivos, catalase e teste de NaCl 6,5% negativos. Os quatro isolados de *S. equi equi* apresentaram perfil bioquímico e de fermentação padrão, fermentando apenas a maltose e não fermentando lactose, trealose e sorbitol (KUWAMOTO *et al*, 2001). Dois desses isolados são provenientes da região do Vale do Itajaí (na mesma propriedade), um da região Oeste e um da região Serrana, podendo ser observados demais dados na tabela 03.

Tabela 03 – Características referentes aos isolados de *Streptococcus equi* subsp *equi* em Santa Catarina.

Isolado	Região	Município	Sinal clínico	Idade	Histórico de surto na propriedade		Surto resolvido
1	Vale do Itajaí	Camboriú	Sim	1 a	Sim	Sim	Não
2	Vale do Itajaí	Camboriú	Sim	1 a	Sim	Sim	Não
3	Oeste	Xanxerê	Não	8 m	Sim	Sim	Sim
4	Serrana	Lages	Sim	5 a	Não	Não	Não aplica

a= anos; m= meses

Nas demais amostras foram observadas características padrão para os testes bioquímicos, bem como fermentação de açucares, para os *Streptococcus* beta-hemolíticos *S. zooepidemicus* e *S. equisimilis* e para os alfa-hemolíticos *S. bovis* e *S. uberis*. Sendo um isolado (0,23%) de *S. zooepidemicus* na região do Vale do Itajaí, 25 isolados (5,95%) de *S. equisimilis* provenientes das regiões do Vale do Itajaí, Sul, Oeste e Serrana. Um isolado (0,23%) de *Streptococcus bovis* (*S. bovis*) oriundo da

região Serrana e 17 isolados (4,04%) de *Streptococcus uberis* (*S. uberis*) provenientes das regiões Sul, Oeste e Serrana.

5.4.2 Teste sensibilidade aos antimicrobianos e análise do IRMA

Neste estudo verificou-se o uso rotineiro de beta-lactâmicos nos tratamentos de doenças infecciosas, em especial nas afecções do trato respiratório, sendo a preferência para o uso de penicilinas observada em 48,7% (19/39) e de ceftiofur em 17,95% (7/39) das propriedades visitadas. A sulfametoxazol-trimetoprim é a opção de escolha para o tratamento em 46,15% (18/39) das propriedades visitadas. Os resultados do teste de sensibilidade aos antimicrobianos (TSA), dos isolados de *S. equi equi* podem ser observados na tabela 04.

Tabela 04 - Susceptibilidade antimicrobiana e índice de resistência múltipla a diferentes classes de antimicrobianos de *Streptococcus equi* subsp *equi* pelo método de disco difusão.

Amostra	Beta-lac		Aminog		Mac	Linco	Ans	Fen	Fluorq	Tetra	Sulf	Glico	IRMA	
	PEN	CFT	GEN	EST	ERI	CLI	RIF	CLO	ENO	LEV	TET	SUT	VAN	
1	S	R	S	S	S	S	R	S	S	S	R	R	R	0,38
2	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	0,00
3	R	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	0,23
4	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	0,07

Beta-lac = beta-lactâmicos; Aminog = aminoglicosídeos; Mac = macrolídeos; Lin = lincosamidas; Ans = ansamicinas; Fen = fenicóis; Fluorq = fluorquinolonas; Tetra = tetraciclínas; Sulf = sulfonamidas; Glico = glicopeptídeos; IRMA = índice de resistência múltipla aos antimicrobianos; PEN = penicilina G; CFT = ceftiofur; GEN = gentamicina; EST = estreptomicina; ERI = eritromicina; CLI = clindamicina; RIF = rifampicina; CLO = cloranfenicol; ENO = enrofloxacina; LEV = levofloxacina; TET = tetraciclina; SUT = sulfametoxazol-trimetoprim; VAN = vancomicina; R = resistente; I = intermediário; S = sensível.

Os isolados apresentaram 100% de sensibilidade para a gentamicina, estreptomicina (classe dos aminoglicosídeos), eritromicina (macrolídeo), cloranfenicol (fenicóis), enrofloxacino e levofloxacino (fluorquinolonas). Para os antimicrobianos beta-lactâmicos (penicilina e ceftiofur), a clindamicina, tetraciclina, sulfametoxazol+trimetoprim e vancomicina apresentaram-se resistentes em 25% dos isolados (1/4) e 75% (3/4) destes apresentaram resistência para a rifampicina.

Uma amostra (25%) demonstrou sensibilidade a 100% dos antimicrobianos testados, enquanto duas amostras (50%) apresentaram padrão de multirresistência em ambos os critérios referenciados.

5.5 DISCUSSÃO

Dos quatro isolados de *S. equi equi*, três pertencem a animais com sinais clínicos e um dos isolados é oriundo de animal sem sinais clínicos. As idades dos animais positivos variaram entre 8 meses e 5 anos, conforme observado na tabela 03.

Dois desses isolados foram provenientes de uma mesma propriedade, na região do Vale do Itajaí com histórico de surto de adenite equina recorrente. As mães dos animais positivos apresentavam sinais clínicos durante o período final da amamentação e desmame. Alguns meses após o desmame todos os animais desse lote começaram a apresentar sinais clínicos característicos de adenite como tosse, corrimento nasal e formação de abscesso submandibular. O fato de os animais permanecerem no mesmo piquete em que se encontravam com as mães com manifestação clínica e em contato direto uns com os outros, demonstra o potencial risco de transmissão da doença, sendo que todos os 12 animais que estavam no mesmo piquete apresentavam sinais clínicos semelhantes. Conforme Durham *et al* (2018) a bactéria pode-se manter viva em diversas superfícies, por diferentes períodos, porém com a colonização constante dessas superfícies o controle da infecção torna-se ainda mais difícil.

Um dos isolados foi procedente de um animal sem sinais clínicos, porém a fazenda apresenta histórico de surto de adenite equina há cerca de oito meses, tendo sido solucionado. O animal em questão teve contato prévio com animais clínicos do local, podendo assim inferir que a propriedade, de alguma forma ainda alberga o *S. equi equi* e que sua sobrevida pode ser mais longa do que encontrada em estudos anteriores de Durham *et al* (2018) apontam para uma sobrevivência de *S. equi equi* de 30 dias. Conforme Frosth *et al* (2018) a sobrevivência do patógeno é de cerca de sete dias fora do hospedeiro e estudo realizado por Ryden *et al* (2023) demonstra sobrevivência por cinco dias em diferentes superfícies.

Por fim, um dos isolados é proveniente de um animal com sinais clínicos leves de descarga nasal serosa, porém a propriedade não apresenta histórico de surto no último ano. Os animais dessa fazenda são criados de forma extensiva, mantidos em campo nativo e com acesso a córregos e riachos, não possuindo bebedouros manufaturados nos campos, sendo que apenas o animal positivo apresentava sinais respiratórios, sem registro de movimentação de animais (entrada e saída) nos últimos

seis meses. Como a bactéria é transmitida diretamente pelo contato com cavalos infectados ou indiretamente através de equipamentos contaminados, como equipamentos de treinamento, baias/objetos de pasto e baldes de água (RYDEN *et al*, 2023) e a contaminação ambiental com bactérias excretadas de um cavalo infectado pode representar uma fonte significativa de contágio (DURHAM *et al*, 2018) não é possível inferir a forma de contágio com a bactéria para esse animal, necessitando de maior investigação.

A identificação rápida e precisa de cavalos infectados por *S. equi equi* é essencial para a implementação de procedimentos de biosseguridade apropriados para controlar a adenite equina (MORRIS *et al*, 2023). Após o tratamento ou uma resposta imune adaptativa, a maioria dos cavalos se recupera da enfermidade dentro de algumas semanas (NOLL *et al*, 2020). No entanto, em aproximadamente 10% dos cavalos convalescentes, material de abscesso residual seco e endurecido nas bolsas guturais ou tratos sinusais formam condróides, que podem abrigar *S. equi equi* vivos (WALLER, 2014). Esses animais “portadores” são tipicamente subclínicos, mas eliminam *S. equi equi* intermitentemente em seu ambiente por meses ou até anos, servindo assim como uma fonte persistente de infecção para outros cavalos (BOYLE, 2016), podendo justificar o quarto animal positivo. Por esse motivo um estudo de prevalência, que envolve animais sem sinais clínicos se faz tão importante.

A prevalência de *S. equi equi* encontrada em Santa Catarina foi de 0,95%. Em um trabalho realizado no Rio Grande do Sul - Brasil (LIBARDONI *et al*, 2016) foi encontrado uma prevalência de 2,37% e na Índia (MIR *et al*, 2013) encontraram 2,87%, em ambos estudo as amostras foram coletadas por suabes nasais de animais clínicos e subclínicos. Um ponto a ser considerado com relação aos estudos anteriores é a amostragem de animais subclínicos e a coleta de material apenas da cavidade nasal, conforme realizado no presente estudo.

A prevalência observada difere do encontrado nos estudos realizados por Clark *et al* (2008), Ijaz *et al* (2012) e Jaramillo-Morales *et al* (2022), que registraram prevalência de 18,4%, 45,2% e 13,8%, respectivamente. Esses estudos envolveram animais conhecidamente clínicos, coleta de material de lesões características, coleta de material de bolsas guturais o que tornam mais fácil o isolamento do patógeno, podendo ter contribuído para a observação de maior prevalência.

Para a prevalência das propriedades de 7,69% (3/39), os resultados encontrados vêm de encontro aos obtidos em estudo realizado por Libardoni *et al*

(2016) que encontrou uma prevalência de 5,86% (20/341) e difere do encontrado no estudo de Jaramillo-Morales *et al* (2022) onde a prevalência para rebanho foi de 60% (9/15). Em todos os trabalhos, as propriedades selecionadas não foram exclusivamente positivas.

As práticas de biosseguridade em propriedades equestres costumam ser quase nulas, sendo que diferentes pessoas podem ter acesso com facilidade aos animais. Da mesma forma, a ausência de espaço e emprego de quarentena em todas as propriedades equestres visitadas aumenta as chances de introdução de *S. equi equi* bem como de outros patógenos. Conforme descrito por Boyle *et al* (2018), limitar a exposição dos animais continua sendo o melhor método para evitar infecções por *S. equi equi*. As medidas de biosseguridade devem incluir, mas não se limitar a quarentena e triagem dos recém-chegados, desinfecção e limpeza apropriada dos equipamentos, isolamento e monitoramento de animais clínicos e seus contactantes (FRIDBERG *et al*, 2023).

Neste estudo foi constatado o uso rotineiro de penicilinas em 48,8% e de ceftiofur em 16,43% das propriedades visitadas, o que pode justificar o aparecimento da resistência em 25% dos isolados para ambos antimicrobianos. Muitos clínicos a campo e a própria literatura internacional ainda se referem ao *S. equi equi* como geralmente sensível aos antimicrobianos beta-lactâmicos (BOYLE *et al*, 2018; BUSTOS *et al*, 2018), justificando assim o uso empírico desses fármacos. Porém em estudo realizado no Canadá (CLARK *et al*, 2008) já se demonstrava início de resistência de isolados de *S. equi zooepidemicus* à penicilina (95% das amostras foram consideradas sensíveis) e mantendo a sensibilidade de 100% dos isolados de *S. equi equi* a penicilina e ceftiofur. Por essa visão acerca da sensibilidade do *S. equi equi* aos beta-lactâmicos, diferentes investigadores e clínicos experientes não consideram necessário realizar testes de sensibilidade antimicrobiana de rotina e utilizam a penicilina empiricamente (BUSTOS *et al*, 2018).

A sulfametoazol-trimetoprim é opção de escolha em 45% das propriedades visitadas, quando do tratamento de enfermidades infecciosas diversas podendo estar contribuindo para o aparecimento da resistência a esses fármacos, mesmo em microrganismos comensais e oportunistas. Quanto a sensibilidade a sulfametoazol-trimetoprim, Clark *et al* (2008) encontrou uma sensibilidade de 79% para *S. equi equi*, semelhante ao 75% encontrado no presente estudo. Ambos resultados diferem do encontrado por Jaramillo-Morales *et al* (2022) e Kirinus *et al* (2011) onde 100% dos

isolados de *S. equi equi* foram sensíveis a sulfametoxazol-trimetoprim. Tem sido relatado por muitos veterinários que os animais com adenite equina se recuperaram melhor quando receberam tratamento com sulfadiazina-trimetoprim (IKHUOSO *et al*, 2020).

Segundo Boyle *et al* (2018) a incidência de resistência a maioria dos antimicrobianos é baixa, com exceção aos aminoglicosídeos, incluindo a gentamicina, sendo essa constantemente observada, o que vai contra os achados no presente estudo, onde a sensibilidade aos aminoglicosídeos, incluindo a gentamicina foi de 100% (4/4). Esse resultado demonstra a importância do médico veterinário alinhar seu tratamento com a suspeita clínica e fundamentar a escolha do fármaco com base nos testes de sensibilidade aos antimicrobianos em sua região de atuação.

Quando analisado o índice de resistência a múltiplos antimicrobiano de *S. equi equi* isoladas nesse estudo, a multirresistência foi caracterizada em 50% (2/4) dos isolados e 25% (1/4) dos isolados foram sensíveis a todos os antimicrobianos testados. Estudos realizados no Rio Grande do Sul, Brasil (KIRINUS *et al*, 2011), encontraram 13% (5/38) de multirresistência e 39,4% (15/38) foram sensíveis a todos os antimicrobianos testados (20 antimicrobianos em 10 classes). Em estudo realizado em São Paulo, Brasil (PANSANI *et al*, 2016), 70% das amostras identificadas como *S. equi equi* apresentaram multirresistência. O surgimento de resistência a diversos antimicrobianos é de considerável importância médica e pode estar relacionada com a utilização irracional e às vezes sem controle no tratamento de doenças infecciosas (MORALES, 2010).

O tratamento das infecções no trato respiratório superior de equinos depende do estágio e severidade da doença (BOYLE *et al*, 2018). Quando se trata de casos de adenite equina, a opinião veterinária permanece dividida quanto à utilidade do tratamento com antimicrobianos (WALLER, 2014). Dependendo do local da infecção, a penicilina é comumente vista como a escolha preferida para o tratamento da doença estreptocócica não pneumocócica (CLSI, 2023), enquanto outras drogas são consideradas dependendo da facilidade de administração.

Conforme WILSON e MAGDESIAN (2021) o perfil de sensibilidade antimicrobiana de *Streptococcus* beta-hemolíticos, são um tanto previsíveis e não apresentam grande variação entre diferentes localizações geográficas, sendo tal afirmativa refutada pelo presente estudo onde os perfis de sensibilidade foram bastante variados dentro das regiões de um mesmo Estado. Por esse motivo, é de

extrema importância que o veterinário realize exames de diagnóstico e antibiograma para correta identificação do agente infeccioso e seu perfil de sensibilidade aos antimicrobianos antes da tomada de decisão sobre o curso de tratamento.

Os veterinários de equinos têm muitas questões a considerar ao decidir se os antimicrobianos são indicados para o tratamento de um determinado paciente, em especial quando analisamos o contexto da preocupação com a crescente resistência adquirida de bactérias isoladas de humanos e animais (incluindo os cavalos) aos antimicrobianos existentes e a escassez de novas drogas (WILSON e MAGDESIAN, 2021).

5.6 CONCLUSÃO

O estado de Santa Catarina apresenta uma baixa prevalência de *S. equi equi* e a presença de *S. equi equi* multirresistente no seu rebanho equino. Esses isolados circulantes apresentam resistência inclusive aos antimicrobianos de primeira escolha no tratamento de infecções estreptocócicas respiratórias em animais e humanos, devendo-se investigar a presença de genes de resistência nos isolados. Para essa autora esse é o primeiro relato científico sobre a ocorrência e resistência de *Streptococcus equi* subsp *equi* realizado em Santa Catarina.

5.7 AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001. Agradecemos a Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina (FAPESC), além da Companhia de Integrada de Desenvolvimento Agrícola de Santa Catarina (CIDASC).

5.8 REFERÊNCIAS

- BOURÉLY, C.; et al. Antimicrobial resistance in bacteria isolated from diseased horses in France. **Equine Vet J.** v. 52, n. 1, p. 112–119, 2019.
- BOYLE, A. G. *Streptococcus equi* subspecies *equi*. **Vet Clin Equine Pract.** v. 39, n. 1, p. 115–131, 2023.

BOYLE, A. G.; Strangles and its complications. **Equine Vet Educ.** v. 29, n. 3, p. 149-157, 2016.

BOYLE, A. G.; et al. *Streptococcus equi* Infections in Horses: Guidelines for Treatment, Control, and Prevention of Strangles—Revised Consensus Statement. **J Vet Intern Med.** v. 32, n. 2, p. 633 – 647, mar. 2018.

BUSTOS, C. P.; et al. Sensibilidad a los antimicrobianos de aislamientos de *Streptococcus equi* subsp. *equi* de la provincia de Buenos Aires, Argentina. **Rev Argent Microbiol.** v. 50, n. 3, p. 295–300, 2018.

CDC. **2019 Antibiotic Resistance Threats Report.** Centers for Disease Control and Prevention. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/drugresistance/biggest-threats.html>>. Acesso em: 3 jun. 2023.

CHABRA, D.; et al. Strangles in equines: An overview. **Microbial pathogenesis.** v. 178, p. 106070–106070, mai, 2023.

CHI, F.; et al. Crossing the barrier: Evolution and spread of a major class of mosaic pbp2x in *Streptococcus pneumoniae*, *S. mitis* and *S. oralis*. **Int J Med Microbiol.** v. 297, n. 7-8, p. 503–512, 2007.

CLARK C.; et al. Bacterial isolates from equine infections in western Canada (1998 – 2003). **Can Vet J.** v. 49, n. 2, p. 153 – 160, Fev. 2008.

CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing.** 33st ed. CLSI supplement M100. Informational Supplement M100-S33. 2023.

DURHAM, A. E.; et al. A study of the environmental survival of *Streptococcus equi* subspecies *equi*. **Equine Vet J.** v. 50, n. 6, p. 861–864, 2018.

FRIDBERG, A.; et al. The hygienic aspects in the management of strangles. **Equine Vet Educ.** v. 00, p. 1-11, 2023.

FROSTH, S.; PRINGLE, J.; LEWERIN, S. W. Potential Transmission of Bacteria, Including *Streptococcus equi* spp., Between Stables via Visitors' Clothes. **J Equine Vet Sci.** v. 71, p. 71–74, 2018.

HARDIE, J. M.; WHILEY, R. A. The genus *Streptococcus*. **The genera of Lactic Acid Bacteria.** v. 2, New York: Springer New York. p. 55-124, 1995. Online ISBN: 978-1-4615-5817-0.

IBGE¹, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Pesquisa da Pecuária Municipal. Rebanho de equinos (cavalos), 2021. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/equinos/br> Acesso em: 11/06/2023.

IBGE², Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Relatório da Divisão Territorial Brasileira, 2022. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/equinos/br> Acesso em: 11/06/2023.

IJAZ, M.; et al. Prevalence and haemato-biochemical studies of strangles (*Streptococcus equi*) affected horses in Pakistan. **The J Ani & Plant Sci.** v. 22. p. 295-299, 2012.

IKHOSO, O. A.; et al. Streptococcus equi in Equine: Diagnostic and Healthy Performance Impacts. **J Equine Vet Sci.** v. 85, p. 102870–102870, fev, 2020.

JARAMILLO-MORALES, C.; et al. Streptococcus equi culture prevalence, associated risk factors and antimicrobial susceptibility in a horse population from Colombia. **J Equine Vet Sci.** v. 111, p. 103890, 2022.

JUNIOR, O. A. C.; MURAD, J. C. B; **Animais de grande porte II**, 1 ed, Brasília: NT Editora, 192p, 2016.

KIRINUS, J. K. et al. Perfil fenotípico e susceptibilidade antimicrobiana de *Streptococcus equi* isolados de equinos da região Sul do Brasil. **Pesq Vet Bras.** v. 31, n. 3, p. 231–238, mar. 2011.

KRUMPERMAN, P. H. Multiple antibiotic resistance indexing of *Escherichia coli* to identify high-risk sources of fecal contamination of foods. **Appl Environ Microbiol.** v. 46, n. 1, p. 165–170, abr. 1983.

KUWAMOTO, Y.; et al. Microplate sugar-fermentation assay distinguishes *Streptococcus equi* from other streptococci of Lancefield's group C. **Equine Vet Sci**, v.12, n.2, p.47-49, 2001.

LACERDA, J. da S.; **Adenite equina na microrregião de Araçatuba, São Paulo.** 2020. 46 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2020.

LIBARDONI, F. et al. Prevalence of *Streptococcus equi* subsp. *equi* in horses and associated risk factors in the State of Rio Grande do Sul, Brazil. **Res Vet Sci**, v. 104, p. 53–57, 2016.

MANITZ, J.; et al. samplingbook: Survey sampling procedures. Disponível em: <<https://cran.r-project.org/web/packages/samplingbook/index.html>>. Acesso em: 17/05/2023.

MCVEY, S.; KENNEDY, M.; CHENGAPPA, M. M. **Microbiologia veterinária;** tradução José Jurandir Fagliari. ed. 3. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016.

MEGID, I.; RIBEIRO, M. G.; PAES, A. C. **Doenças Infecciosas em animais de produção e de companhia.** ed. 1. Rio de Janeiro: Roca, 2016.

MIR, I. A.; et al. The study of aerobic bacterial flora of the upper respiratory tract of equines from Jammu and Kashmir region of India. **Veterinary World**, v. 6, n. 9, p. 623–627, 2013.

MORALES, A. B.; *et al.* Múltiple resistencia antibacterial en aislados de equinos pura sangre de carreras en el hipódromo —La Rinconadall, Caracas, Venezuela. **Rev Inv Vet Perú**, v. 21, n. 2, p. 187-191, 2010.

MORRIS, E. R. A; *et al.* Development of a novel real-time PCR multiplex assay for detection of *Streptococcus equi* subspecies *equi* and *Streptococcus equi* subspecies *zooepidemicus*. **Vet Microbiol.** v. 284, p. 109797–109797, 2023.

MORRIS, E. R. A.; *et al.* Comparison of whole genome sequences of *Streptococcus equi* subsp. *equi* from an outbreak in Texas with isolates from within the region, Kentucky, USA, and other countries. **Vet Microbiol.** v. 243, p. 108638–108638, 2020.

NOLL, L. W.; *et al.* Development of a nested PCR assay for detection of *Streptococcus equi* subspecies *equi* in clinical equine specimens and comparison with a qPCR assay. **J Microbiol Methods.** v. 172, p. 105887–105887, 2020.

PANSANI, A. M.; *et al.* Prevalência e resistência a antibióticos de (*Streptococcus equi*) da cavidade nasal de equinos hígidos no município de Fernandópolis, São Paulo, Brasil. **Acta Vet Bras.** v. 10, n. 2, p. 144, 22 abr. 2016.

PRINGLE, J. R.; *et al.* Long term silent carriers of *Streptococcus equi* ssp. *equi* following strangles; carrier detection related to sampling site of collection and culture versus qPCR. **The Vet J.** v. 246, p. 66–70, abr. 2019.

RYDEN, A.; *et al.* Effectiveness of Cleaning and Sanitation of Stable Environment and Riding Equipment Following Contamination With *Streptococcus equi* Subsp. *equi*. **J Equine Vet Sci.** v. 121, p. 104204–104204, fev. 2023.

SANTA CATARINA. Secretaria do Estado do Planejamento; ROCHA, O. O. (Org.). **Atlas Geográfico de Santa Catarina: estado e território: fascículo 1**. Florianópolis: Editora da UDESC, 2 ed, 2016.

Sigen+/Cidasc – Saldo equinos 02/2022. Disponível em: <<https://sigen.cidasc.sc.gov.br/Account/LogOn?ReturnUrl=%2f>> Acesso em: 21/02/2022.

TAVARES, W. **Antibióticos e quimioterápicos para o clínico**. 3. ed. rev. e atual. São Paulo: Editora Atheneu, 746p. 2014.

THURSFIELD, M. **Veterinary Epidemiology**. 3 ed, UK, Blackwell Science. 2007

TIMONEY, J. F.; The patogenic equine *Streptococi*. **Vet Res.** v. 35, n. 4, p. 397-409, 2004.

TRELL, K.; *et al.* Clinical and microbiological features of bacteremia with *Streptococcus equi*. **Diagn Microbiol Infect Dis**, v. 87, i. 2, p. 196-198, fev. 2017

WAJIMA, T.; *et al.* Identification and characterisation of a novel multidrug-resistant *Streptococcus*, *Streptococcus toyakuensis* sp. nov., from a blood sample. **J Glob Antimicrob Resist.** v. 29, p. 316–322, 2022.

WALLER, A. S. New Perspectives for the Diagnosis, Control, Treatment, and Prevention of Strangles in Horses. **Vet Clin Equine Pract.** v. 30, n. 3, p. 591–607, 2014.

WALLER, A. S.; JOLLEY, K. A. Getting a grip on strangles: Recent progress towards improved diagnostics and vaccines. **The Veterinary Journal**, v. 173, n. 3, p. 492–501, maio, 2007.

WILSON, D. W.; MAGDESIAN, K. G.; Antimicrobial Selection for the Equine Practitioner. **Vet Clin Equine Pract.** v. 37, n. 2, p. 461–494, 2021.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados encontrados nesse trabalho são de extrema importância para o aumento na vigilância das infecções por *Streptococcus equi* subsp *equi*, não só no estado de Santa Catarina como no Brasil. A literatura internacional já aponta casos de resistência aos antimicrobianos, incluindo os beta-lactâmicos e medidas de controle e prevenção devem ser implementadas no máximo de propriedades equestrais. Apesar da baixa prevalência de infecções por *S. equi*, 50% das amostras mostraram-se multirresistentes o que nos faz questionar como os médicos veterinários de campo estão lidando com essas infecções. Estudos envolvendo o sequenciamento genético dos isolados ainda serão realizados.

Durante o período de coleta das amostras, um questionário foi aplicado em busca de informações sobre os animais e propriedades positivos, sendo que esses dados serão posteriormente analisados, na tentativa de identificar falhas no manejo e melhores métodos de prevenção na introdução do *S. equi equi* em propriedades livres do problema e sem histórico de surto.

Um dado importante que surgiu durante esse estudo é o grande número de isolados de *Streptococcus dysgalactiae* subsp *equisimilis*, sendo até o momento considerado um microrganismo comensal, que pode causar doença semelhante a adenite equina assim como metrite. Mais estudos devem ser realizados com o objetivo de entender melhor a importância desse patógeno, bem como se há potencial zoonótico, como já demonstrado por outros *Streptococcus* beta-hemolíticos do grupo C de Lancefield.

7 ANEXOS

7.1 TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC

CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS – CAV

PROGRAMA DE PÓSGRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL – PPGCA

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado (a) a participar de uma pesquisa sobre a presença de Garrotilho (Adenite equina) no rebanho catarinense. O projeto tem como objetivo conhecer a prevalência (presença) dessa doença em nossos animais, sendo que os resultados serão divulgados por região e nenhum dado do animal ou da propriedade em que ele se encontra será divulgado. Para participar você precisa autorizar a coleta de material biológico do seu animal; saiba que é um procedimento indolor ao animal: o material coletado será um suave nasal (vamos passar um cotonete no nariz e o procedimento dura em torno de 30 segundos). A sua participação é de extrema importância para conhecermos melhor o Garrotilho e para que possamos elaborar melhores medidas de segurança para o nosso rebanho. Esse procedimento de coleta, bem como o exame não terá nenhum custo.

Eu, _____ CPF
nº _____, proprietário e/ou responsável do animal de nome _____, espécie _____, raça _____ estou ciente da coleta de material biológico e autorizo o procedimento para realização dos exames.

Santa Catarina, _____ de _____ de 20____.

Proprietário do animal