

Microbiota conjuntival normal de eqüinos

Normal conjunctival microflora in horses

Enely Helena Rodrigues PISANI¹; Paulo Sérgio de Moraes BARROS¹;
Fernando Antônio de ÁVILA²

CORRESPONDENCE TO:
Enely Helena Rodrigues Pisani
Departamento de Cirurgia
Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia da USP
Av. Prof. Dr. Orlando Marques
de Paiva, 87 - Cidade
Universitária Armando de Salles
Oliveira
05508-000 - São Paulo - SP -
Brasil
e-mail: pauloeye@usp.br

1 - Departamento de Cirurgia
Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia da USP
2 - Departamento de
Microbiologia
Faculdade de Ciências Agrárias
e Veterinária da UNESP -
Jaboticabal - SP

RESUMO

O conhecimento da microbiota conjuntival normal de eqüinos e a realização de testes de sensibilidade diante de antibióticos e quimioterápicos são fundamentais para o diagnóstico e tratamento de afecções oculares. Colheram-se amostras do saco conjuntival de eqüinos isentos de afecções oculares e/ou sistêmicas que, eventualmente, pudessem levar à alteração ocular. Essas coletas foram realizadas, durante o inverno e o verão, com animais sob diferentes formas de manejo: regime de hospitalização, de estabulação e extensivo. O material coletado foi submetido a exames bacteriológicos e a testes de sensibilidade diante de antibióticos e quimioterápicos. A microbiota conjuntival normal de eqüinos foi composta por bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e leveduras, tais como: *Bacillus subtilis*, *Stafilococcus* spp., *Streptococcus* spp., Enterobactérias, *Candida* spp.

UNITERMOS: Conjuntiva; Olhos; Flora microbiana; Equidae.

INTRODUÇÃO

Desde o seu nascimento, o animal apresenta em seu saco conjuntival grande variedade de microorganismos estabelecidos, os quais formam a microbiota ou flora conjuntival normal.

A microbiota conjuntival mantém-se estável em animais clinicamente saudáveis, isentos de afecções oculares e/ou sistêmicas que, eventualmente, acarretam alteração ocular.

Em virtude do número reduzido de trabalhos na literatura estrangeira e da inexistência na literatura nacional, este trabalho teve por objetivo estabelecer, em nosso meio, quais os microorganismos que compõem a microbiota conjuntival normal de eqüinos nas diferentes estações do ano e sob manejos diferentes, bem como determinar a sensibilidade dos microorganismos isolados diante de diferentes antibióticos e quimioterápicos.

MATERIAL E MÉTODO

Foram utilizados 90 eqüinos, machos e fêmeas, de idades e raças variadas, e isentos de afecções oculares e/ou sistêmicas.

Esses animais foram divididos em dois grupos (A e B) em função da estação climática (inverno e verão, respectivamente).

Cada grupo foi dividido em três subgrupos (1, 2 e 3) em função do manejo ao qual foram submetidos (hospitalização, estabulação e extensivo, respectivamente).

Após contenção adequada e limpeza de ambos os olhos com algodão estéril e água bidestilada, foram colhidas três amostras do saco conjuntival de cada animal com auxílio de *swab* seco estéril. Um *swab* destinou-se ao isolamento de microorganismos aeróbicos (Wolf *et al.*³⁵, 1975 e Carter⁶, 1988). Outro destinou-se ao isolamento de microorganismos anaeróbicos (Schocken-Iturrino *et al.*²⁹, 1988 e Carter⁶, 1988). O terceiro *swab* destinou-se ao isolamento de fungos (Wolf *et al.*³⁵, 1975 e Carter⁶, 1988).

Após o isolamento e a identificação das bactérias e fungos contidos nas amostras, estes microorganismos foram submetidos a testes de sensibilidade diante de antibióticos e quimioterápicos: ácido nalidíxico, ampicilina, cefalotina, cloranfenicol, eritromicina, estreptomomicina, gentamicina, canamicina, lincomomicina, penicilina, novobiocina, neomicina, nitrofurantoína e tetraciclina (Bauer *et al.*³, 1966).

RESULTADOS

Os resultados das amostras coletadas estão expressos nas Tabs. 1 a 5, nas quais temos os microorganismos isolados durante o inverno e o verão nos diferentes tipos de manejo, bem como os antibiogramas realizados.

Tabela 1

Microorganismos isolados do saco conjuntival de animais em regime de hospitalização – inverno (julho/91) e verão (janeiro/92) (Hospital Veterinário – UNESP - Jaboticabal - SP).

MICROORGANISMOS	INVERNO	VERÃO
	%	%
<i>Arizona</i> spp.	46,7	46,7
<i>Bacillus subtilis</i>	66,7	86,7
<i>Candida</i> spp.	6,7	33,3
<i>Citrobacter</i> spp.	40,0	26,7
<i>Clostridium</i> spp.	33,3	6,7
<i>Enterobacter</i> spp.	-	26,7
<i>Micrococcus</i> spp.	13,3	-
<i>Stafilococcus aureus</i>	13,3	13,3
<i>Stafilococcus epidermidis</i>	6,7	66,7
<i>Streptococcus</i> spp.	-	6,7

Tabela 2

Microorganismos isolados do saco conjuntival de animais em regime de estabulação – inverno (julho/91) e verão (janeiro/92) (Jóquei Clube – Ribeirão Preto - SP):

MICROORGANISMOS	INVERNO	VERÃO
	%	%
<i>Arizona</i> spp.	6,7	26,7
<i>Bacillus subtilis</i>	13,3	93,4
<i>Candida</i> spp.	-	6,7
<i>Citrobacter</i> spp.	26,7	33,3
<i>Clostridium</i> spp.	20,0	-
<i>Corynebacterium</i> spp.	6,7	-
<i>Diplococcus</i> spp.	13,3	6,7
<i>Enterobacter</i> spp.	6,7	20,0
<i>Escherichia coli</i>	33,3	6,7
<i>Stafilococcus epidermidis</i>	73,3	73,3
<i>Streptococcus</i> spp.	6,7	-

Tabela 3

Microorganismos isolados do saco conjuntival de animais em regime extensivo – inverno (julho/91) e verão (janeiro/92) (Haras Santa Maria – Bonfim Paulista - SP).

MICROORGANISMOS	INVERNO	VERÃO
	%	%
<i>Arizona</i> spp.	46,7	46,7
<i>Bacillus subtilis</i>	6,7	100,0
<i>Candida</i> spp.	6,7	13,3
<i>Citrobacter</i> spp.	-	46,7
<i>Clostridium</i> spp.	13,3	6,7
<i>Enterobacter</i> spp.	20,0	13,3
<i>Escherichia coli</i>	13,3	6,7
<i>Pasteurela</i> spp.	6,7	-
<i>Stafilococcus aureus</i>	-	13,3
<i>Stafilococcus epidermidis</i>	33,3	53,4
<i>Streptococcus</i> spp.	-	13,3

DISCUSSÃO

A microbiota conjuntival normal de equínos, nas condições do nosso trabalho, foi composta por bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e leveduras, e esses resultados estão em concordância com diversos autores (Lundvall¹⁸, 1967; Cattabiani⁷, 1976; Beech *et al.*⁴, 1983; Whitley *et al.*³², 1983; Whitley; Moore³³, 1984; Samuelson *et al.*²⁸, 1984; Moore *et al.*²⁴, 1988).

Observamos que a microbiota conjuntival normal de equínos varia em função da estação climática, conforme os resultados contidos nas Tabs. 1, 2 e 3; o que também fora observado por Whitley *et al.*³² (1983) e Moore *et al.*²⁴ (1988).

Observamos ainda que a microbiota conjuntival normal de equínos também varia em função do manejo ao qual o animal é submetido, conforme resultados contidos nas Tabs. 1, 2 e 3 (inverno e verão, respectivamente), fato concordante com Moore *et al.*²⁴ (1988).

Os resultados obtidos nas Tabs. 1, 2 e 3 mostram a semelhança entre a microbiota conjuntival normal de equínos e de cães, segundo resultados obtidos por Bistner *et al.*⁵ (1969), Gaskin¹⁰ (1980), Costa *et al.*⁸ (1989) e Gerding; Kakoma¹² (1990), bem como a diferença entre a microbiota conjuntival normal de equínos e a de bovinos, segundo Wilcox³⁴ (1970). Esses resultados também mostraram a semelhança entre a microbiota conjuntival normal de equínos e a de gatos, segundo Gaskin¹⁰ (1980) e Gerding; Kakoma¹² (1990), e a de lhamas, segundo Gionfriddo *et al.*¹³ (1991).

Algumas bactérias encontradas neste estudo como pertencentes à microbiota conjuntival normal de equínos (*Stafilococcus* spp., *Streptococcus* spp. e *Escherichia coli*) são citadas por alguns autores como agentes etiológicos de abscessos no estroma corneano pós-traumas (Rebhun²⁵, 1982; Moore *et al.*²⁴, 1988; Rebhun²⁶, 1992 e McLaughlin *et al.*²¹, 1992).

Hughes; Pug Jr.¹⁵ (1970) e Huntington *et al.*¹⁶ (1987) relataram como agente etiológico de conjuntivite em equínos a *Moraxella* spp., a qual não foi encontrada em nosso estudo como pertencente à microbiota conjuntival normal de equínos.

A alta prevalência do *Bacillus subtilis* e do *Stafilococcus epidermidis* na microbiota conjuntival normal de equínos deve-se, respectivamente, ao fato de serem um microorganismo anemófilo e uma bactéria residente na microbiota normal da pele.

Os resultados expressos nas Tabs. 4 e 5 mostram que os microorganismos isolados são bastante resistentes aos antibióticos e quimioterápicos testados, tais quais: ampicilina, lincomicina e penicilina; e sensíveis a alguns, como o cloranfenicol e a gentamicina.

Conforme as citações de Hodgson; Jacobs¹⁴ (1982), Dice; Cooley⁹ (1990), Barrat-Boyes *et al.*² (1991) e McLaughlin *et al.*²¹ (1992), a colheita de material, a identificação dos microorganismos através de testes bacteriológicos e a realização de testes de sensibilidade diante de antibióticos e quimioterápicos são necessárias para estabelecer tratamentos corretos e eficazes, o que parece perfeitamente justificado em face da multiplicidade de microorganismos encontrados no saco conjuntival dos equínos por nós estudados.

Tabela 4

Teste de sensibilidade diante de antibióticos e quimioterápicos dos microorganismos isolados do saco conjuntival dos animais, nos diferentes manejos, durante o inverno (UNESP - Jaboticabal - 1991).

MICROORGANISMOS	ANTIBIOGRAMA		
	SENSÍVEL	INTERMEDIÁRIO	RESISTENTE
<i>Arizona</i> spp.	CO GN	KN NT AN NO TT	AP CF EI LN PN ET NOV
<i>Bacillus subtilis</i>	ET EI GN NT	KN TT	AN AP CF CO LN NO NOV PN
<i>Candida</i> spp.	CO GN KN	ET NO TT	AN AP CF EI LN NT NOV PN
<i>Citrobacter</i> spp.	CO GN	AN ET KN NO NT	AP CF EI LN PN NOV TT
<i>Clostridium</i> spp.	AN CF CO GN NT TT	KN NO	AP EI ET LN NOV
<i>Enterobacter</i> spp.	GN	CO KN	AN AP CF ET EI LN NO NT PN NOV TT
<i>Escherichia coli</i>	CO GN	AN KN TT	AP CF EI ET LN NO NT NOV PN
<i>Stafilococcus aureus</i>	CF GN NT	AP CO NO NOV PN	AN EI ET KN LN TT
<i>Stafilococcus epidermidis</i>	CF CO NT	AP EI GN TT	AN ET KN LN NO PN NOV

Siglas dos antibióticos e quimioterápicos: AN = ácido nalidíxico; KN = canamicina; AP = ampicilina;

CF = cefalotina; CO = cloranfenicol; EI = eritromicina; ET = estreptomicina; LN = lincomicina; GN = gentamicina;

NO = neomicina; NOV = novobiocina; NT = nitrofurantoína; PN = penicilina; TT = tetraciclina.

Tabela 5

Teste de sensibilidade diante de antibióticos e quimioterápicos dos microorganismos isolados do saco conjuntival dos animais, nos diferentes manejos, durante o verão (UNESP - Jaboticabal - 1992).

MICROORGANISMOS	ANTIBIOGRAMA		
	SENSÍVEL	INTERMEDIÁRIO	RESISTENTE
<i>Arizona</i> spp.	CO GN KN	AN ET TT NO	AP CF EI LN NT NOV PN
<i>Bacillus subtilis</i>	CO ET GN KN NO TT	AN	AP CF EI LN NT NOV PN
<i>Candida</i> spp.	CO TT	ET GN KN NO	AN AP CF EI LN NT NOV PN
<i>Citrobacter</i> spp.	CO GN KN NO TT	NOV	AN AP CF ET EI LN NT PN
<i>Clostridium</i> spp.	CO	CF EI GN NO NT NOV	AN EP ET KN LN PN TT
<i>Diplococcus</i> spp.	CO ET	AP CF EI GN KN LN NT NOV TT	AN NO PN
<i>Enterobacter</i> spp.	CF GN NT	AN CO EI ET KN NO NOV TT	AP LN P
<i>Escherichia coli</i>	AN AP CF CO EI ET GN KN NO NOV NT TT	LN	PN

(continua)

(continuação)

MICROORGANISMOS	ANTIBIOGRAMA		
	SENSÍVEL	INTERMEDIÁRIO	RESISTENTE
<i>Stafilococcus aureus</i>	AN CF LN NT	CO EI ET GN NO NOV	AP KN PN TT
<i>Stafilococcus epidermidis</i>	CO ET GN KN NT	EI NO NT	AN AP CF LN PN NOV
<i>Streptococcus spp.</i>	CO ET GN KN NO TT	AN EI	AP CF LN NT PN NOV

Síglas dos antibióticos e quimioterápicos: AN = ácido nalidíxico; KN = canamicina; AP = ampicilina; CF = cefalotina; CO = cloranfenicol; EI = eritromicina; ET = estreptomicina; LN = lincomicina; GN = gentamicina; NO = neomicina; NOV = novobiocina; NT = nitrofurantoína; PN = penicilina; TT = tetraciclina.

CONCLUSÕES

1) A microbiota conjuntival normal de eqüinos variou em função da estação climática e do manejo ao qual o animal foi submetido;

2) Foi composta, predominantemente, por *Bacillus subtilis*, Enterobactérias, *Stafilococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Candida spp.* e *Clostridium spp.*;

3) Foi semelhante à microbiota conjuntival normal de cães, gatos e lhamas;

4) A prevalência do *Bacillus subtilis* é em função de este ser um microorganismo anemófilo e a prevalência do *Stafilococcus epidermidis* por ser um microorganismo residente na flora normal da pele;

5) Os antimicrobianos de maior atuação foram o cloranfenicol e a gentamicina e o de menor atuação foi a ampicilina, nas condições de nosso estudo.

SUMMARY

The knowledge of the normal conjunctival microflora in horses and the performance of sensibility tests with antibiotic and chemiotherapeutic drugs are fundamental for ocular diseases diagnostic and treatment. Conjunctival sac samples of healthy horses were obtained. Samplings were performed in Winter and Summer, using animals under different handling systems: hospitalization, stabulation and extensive system. The samplings were subjected to bacteriological examination and sensibility tests with antibiotic and chemiotherapeutic drugs. Normal conjunctival microflora in horses was composed of Gram-positive bacteria, Gram-negative bacteria and yeasts, such as: *Bacillus subtilis*, *Stafilococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Clostridium spp.*, Enterobacterias, *Candida spp.*

UNITERMS: Conjunctiva; Eyes; Microbial flora; Equidae.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - BANICH, J. Microflora of normal and disease conjunctiva in horses and dogs. *Acta Veterinária*, n. 9, p.97-108, 1959.
- 2 - BARRAT-BOYES, S. M.; YOUNG, R. L.; CANTON, D. D.; MOHR, F.C. *Streptococcus equi* infection as a cause of panophthalmitis in a horse. *Journal of Equine Veterinary Science*, v.11, n.4, p.229-31, 1991.
- 3 - BAUER, A.W.; KIRBY, W. M.; SHERRIS, J.C. Antibiotic susceptibility testing by standardizes single disc method. *American Journal of Clinical Pathology*, v.45, p.493-6, 1966.
- 4 - BEECH, J.; SWEENEY, C.R.; IRBY, N. Keratomycoses in eleven horses. *Equine Veterinary Journal* p.39-4, 1983. Supplement 2.
- 5 - BISTNER, S.; ROBERTS, S.R.; ANDERSON, R. P. Conjunctival bacteria: clinical appearances can be deceiving. *Modern Veterinary Practice*, v.50, n.12, p.45-7, 1969.
- 6 - CARTER, G.R. *Fundamentos de bacteriologia e micologia veterinária*. São Paulo: Roca, 1988. 249p.
- 7 - CATTABIANI, F.; CABASSI, E.; ALLODI, C.; GIANELLI, F. Bacterial flora of the conjunctival sac of the horse. *Annali Sclavo*, v.18, n.1, p.91-119, 1976.
- 8 - COSTA, M.; CARDOSO, M.; FERNANDES, J.C.T. Flora bacteriana aeróbica conjuntival de cães clinicamente normais. *Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS*, v.17, p.53-7, 1989.
- 9 - DICE, P. F.; COOLEY, P. L. Peripheral corneal ulcers in the horse. *Equine Veterinary Journal*, p.18-21, 1990. Supplement 10.
- 10 - GASKIN, J. M. Microbiology of the canine and feline eye. *Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice*, v.10, n.2, p.303-16, 1980.
- 11 - GEORGE, L.W. Clinical infectious bovine keratoconjunctivitis. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, v.6, n.12, p.712-22, 1984.
- 12 - GERDING JR., P. A.; KAKOMA, I. Microbiology of the canine and feline eye. *Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, v.20, n.3, p.615-25, 1990.
- 13 - GIONFRIDDO, J. R.; ROSENBUSCH, R.; KINYON, J. M.; BETTS, D. M.; SMITH, T. M. Bacterial and mycoplasmal flora of the health camelid conjunctival sac. *American Journal of Veterinary Research*, v.52, n.7, p.1061-4, 1991.
- 14 - HODGSON, D. R.; JACOBS, K.A. Two cases of *Fusarium* keratomycosis in the horse. *Veterinary Record*, v.10, p.520-2, 1982.

- 15 - HUGHES, D. E.; PUG Jr., G. W. Isolation and description of a *Moraxella* from horses with conjunctivitis. **American Journal Veterinary Research**, v.31, n.3, p.457-62, 1970.
- 16 - HUNTINGTON, P. J.; COLOE, P.J.; BRYDEN, J.D.; MacDONALD, F. Isolation of *Moraxella* spp. from horses with conjunctivitis. **Australian Veterinary Journal**, v.64, n.4, p.118-8, 1987.
- 17 - LAVACH, J.D. **Large animal ophthalmology**. St. Louis: Mosby, 1990. p.67-84.
- 18 - LUNDVALL, R. L. The bacterial and mycotic flora of the normal conjunctival sac in the horse. **Proceedings of the American Association of Equine Practitioners**, v.13, p.101-7, 1967.
- 19 - MARTIN, C. L.; ANDERSON, B. G. Ocular Anatomy. In: GELATT, K. N. **Veterinary ophthalmology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1981. p.12-121.
- 20 - McLAUGHLIN, S. A.; BRIGHTMAN, A. H.; HELPER, L. C.; MANNING, J. P.; TOMES, J. E. Pathogenic bacteria and fungi associated with extraocular diseases in the horse. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.182, n.3, p.241-2, 1983.
- 21 - McLAUGHLIN, S. A.; GILGER, B. C.; WHITLEY, R. D. Infectious keratitis in horses: evaluation and management. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v.14, n.3, p.372-80, 1992.
- 22 - MILLER, T. R.; GASKIN, R. D.; WITTCOFF, W.; WITTCOFF, M. L. Herpetic keratitis in a horse. **Equine Veterinary Journal**, p.15-7, 1990. Supplement 10.
- 23 - MOORE, C. P.; FALES, W. H.; WHITTINGTON, P.; BAUER, L. B. Bacterial and fungal isolates from equidae with ulcerative keratitis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.182, n.6, p.600-3, 1983.
- 24 - MOORE, E. C.; HELLER, N.; MAJORS, I.J.; WHITLEY, R.D.; BURGESS, E.C.; WEBER, J. Prevalence of ocular microorganisms in hospitalized and stabled horses. **American Journal of Veterinary Research**, v.49, n.6, p.773-7, 1988.
- 25 - REBHUN, W. C. Corneal stromal abscesses in the horse. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.181, n.7, p.677-9, 1982.
- 26 - _____. Corneal stromal infections in horses. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v.14, n.3, p.363-71, 1992.
- 27 - RIIS, R. C. Equine Ophthalmology. In: GELATT, K. N. **Veterinary ophthalmology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1981. p.569-605.
- 28 - SAMUELSON, D. A.; ANDRESEN, T. L.; GWIN, R. M. Conjunctival fungal flora in horses, cattle, dogs and cats. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.184, n.10, p.1240-2, 1984.
- 29 - SCHOCKEN-ITURRINO, R. P.; ÁVILA, F. A.; BERCHIELLI, S. C. P.; ROSSI JR., O. D.; NADER FILHO, A.; YKOYA, F. Isolation and characterization of pathogenic *Clostridium* in commercialized meat products. **Ars Veterinária**, v.4, n.1, p.91-8, 1988.
- 30 - SLATTER, D. **Fundamentals of veterinary ophthalmology**. 2.ed. Philadelphia, W. B. Saunders, 1990. p.204-25.
- 31 - SWEENEY, C. R.; SWEENEY, W. R.; ROBY, K. A. W.; IRBY, N. Corneal stromal abscess in two horses. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v.6, n.10, p.595-606, 1984.
- 32 - WHITLEY, R. D.; BURGESS, E. C.; MOORE, C. P. Microbial isolates of the normal equine eye. **Equine Veterinary Journal**, p.138-40, 1983. Supplement 2.
- 33 - WHITLEY, R. D.; MOORE, C. P. Microbiology of the equine eye in health and disease. **Veterinary Clinics of North America. Large Animal Practice**, v.6, n.3, p.451-66, 1984.
- 34 - WILCOX, G. E. Bacterial flora of the bovine eye with special reference to the *Moraxella* and *Neisseria*. **Australian Veterinary Journal**, v.46, n.6, p.253-7, 1970.
- 35 - WOLF, P. L.; RUSSEL, R.; SHIMODA, A. **Practical clinical microbiology and micology – techniques and interpretations**. New York: John Wiley, 1975.

Recebido para publicação: 24/9/96
Aprovado para publicação: 23/9/97