

IDENTIFICAÇÃO E COMPARAÇÃO DA MICROBIOTA CONJUNTIVAL DE GATOS CLINICAMENTE SAUDÁVEIS, DA RAÇA RAGDOLL, DE UM GATIL DA GRANDE FLORIANÓPOLIS/SC.

Modalidade: () Ensino (X) Pesquisa () Extensão

Nível: () Médio (X) Superior () Pós-graduação

Área: () Química () Informática (X) Ciências Agrárias () Educação () Multidisciplinar

Aline Broda COIROLO¹, Sabrina Neves dos SANTOS¹, Francielle MEDEIROS², Matheus Folgareini da SILVEIRA³, Marlise Pompeo CLAUS³, Eriane de Lima CAMINOTTO⁴

¹Acadêmicos de medicina veterinária, Instituto Federal Catarinense (IFC) – Campus Araquari, ²Médica veterinária, Laboratório Medivet Centro de Diagnósticos Veterinários ³Docentes do Instituto Federal Catarinense (IFC) – Campus Araquari, ⁴Docente e orientadora do IFC - Campus Araquari

Introdução

O filme lacrimal protege e favorece um ambiente para a microbiota oftálmica normal se desenvolver no saco conjuntival, através de uma interação de simbiose, na qual hospedeiro e microrganismos são beneficiados (Cunha, 2008).

A microbiota oftalmológica pode variar de acordo com diversos parâmetros, assim como a espécie, a raça, a região, a sazonalidade e o estado fisiológico (Andrade et al., 2002). Em felinos sadios existem poucos estudos sobre a avaliação da microbiota oftalmológica, assim como é desconhecida a existência de diferenças entre felinos sem raça definida e de determinada raça; porém, atentando-se a esta informação, faz-se necessário empreender mais nesta área, pois diversas patologias ocorrem por invasão de microrganismos potencialmente patogênicos (Andrade et al., 2002; Souza et al., 2010).

Os gêneros de maior significância nos isolamentos bacterianos em gatos foram: *Mycoplasma*, *Corynebacterium sp.*, *Bacillus sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella sp.*, *Neisseria sp.* e *Fusobacterium sp.* Com relação aos fungos isolados foram: *Penicillium sp.*, *Fusarium sp.*, *Dermatium sp.*, *Cladosporium sp.* e *Curvularia sp.* (Souza et al., 2010).

Mais de 65% dos gatos podem apresentar cultura da microbiota oftalmológica negativa, sendo a prevalência de bactérias mais baixa que nas outras espécies domésticas (Santos, 2011; Souza et al., 2010).

A desestabilização da microbiota normal do indivíduo leva ao aparecimento de sinais clínicos oftalmológicos de conjuntivite que variam na severidade, mas incluem blefarospasmo, hiperemia conjuntival, quemose e descarga ocular, de serosa a mucopurulenta, uni ou bilateral. Alguns gatos persistem com os sinais por longo período ou, em seguida, os mesmos diminuem após o aumento da imunidade (Hartmann et al., 2010). Logo, o diagnóstico clínico presuntivo (observação dos sinais clínicos gerais e oftalmológicos) pode

ser realizado para selecionar animais sadios para a coleta de material para as análises microbiológicas do saco conjuntival, teoricamente, sem agentes patológicos (Mira, 2010).

Portanto, o objetivo deste trabalho foi identificar e comparar a microbiota conjuntival, bactérias aeróbias e fungos, de gatos hígidos da raça Ragdoll clinicamente saudáveis, e comparar os padrões populacionais identificados com os isolados por outros autores em estudos anteriores, pois para deliberar sobre as possíveis patologias infecciosas que possam ser a causa de desequilíbrio da microbiota conjuntival e, assim, poder adotar medidas preventivas e terapêuticas com maior efetividade, é necessário conhecer os microrganismos considerados como parte da microbiota saudável.

Material e Métodos

Foram selecionados 20 animais ($n=20$) provenientes de um gatil localizado na grande Florianópolis-SC. O gatil é um ambiente fechado, onde todos os animais ficam em ambiente interno, sem acesso à rua. Os animais foram divididos em dois grupos de acordo com a faixa etária: 5 filhotes até 12 meses e 15 adultos, maiores de 12 meses. A idade variou de 5 meses a 8 anos.

Previamente à colheita esses animais foram avaliados clínica e oftalmologicamente pelo mesmo avaliador, para a exclusão de alterações sistêmicas concorrentes com a execução da proposta. Foi garantido assim que todos eles estavam clinicamente saudáveis, que não tinham histórico de tratamento local ou sistêmico com antibióticos ou antifúngicos nas últimas 6 semanas e sem histórico de doença ocular neste período.

Após a contenção física adequada do animal, foi colhida uma amostra do fórnice inferior de cada olho, com o auxílio de swabs de algodão estéril com meio de transporte de Stuart, sendo que cada swab foi usado para semear em duas placas distintas, uma para a cultura bacteriana e outra fúngica. Na colheita do material, os swabs foram pressionados direta e levemente no saco conjuntival inferior, através de movimentos rotatórios, sem entrar em contato com o tarso palpebral e pálpebras. Não foi realizada uma higienização pré-coleta e em até 24 horas após as coletas, as amostras foram encaminhadas para o laboratório, localizado na cidade de Joinville-SC, para o cultivo, isolamento e identificação das bactérias e fungos.

Os resultados foram organizados em dois grupos: culturas fúngicas e culturas bacterianas. As culturas bacterianas foram analisadas através dos testes estatísticos não paramétricos de Tukey e qui quadrado, através do software Statistix versão 8.0.

Resultados e Discussão

Não foi realizada uma higienização pré-coleta, pois o fato de realizar esta pode abrir precedente para contaminação com microrganismos saprófitas da pele e anexos, residentes nas proximidades da comissura palpebral, para dentro do saco conjuntival (Andrade et al., 2002; Souza et al., 2010).

Das amostras coletadas 40% (16/40) foram negativas para culturas bacterianas. Sendo que se considerarmos os animais, 25% (5/20) obtiveram resultado negativo para os dois olhos, dentre esses são 1 macho e 4 fêmeas. Em gatos é comum ter uma negatividade de amostras de aproximadamente 46% das culturas (Santos, 2011).

Nas análises estatísticas não houve correlação entre olho direito e olho esquerdo, nem entre bactérias ($p>0,05$). Porém, entre as culturas bacterianas positivas o gênero de maior expressão foi *Staphylococcus*, sendo 4 as espécies prevalentes: *S. saprophyticus*, *S. intermedius*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, respectivamente. Esse gênero é Gram-positivo e, somadas, totalizam 57,5% (23/40) das amostras, este gênero é comum em diversas espécies de animais (Souza et al., 2010; Santos, 2011). A maior sobrevivência entre bactérias do tipo Gram-positivas pode ter relação com a parede celular, pois elas possuem a parede mais espessa e rígida, com uma maior camada peptidoglicana e ausência de membrana externa, conseguindo suportar melhor as substâncias antimicrobianas presentes no olho (Souza et al., 2010). São bactérias produtoras de bacteriocinas que impedem a colonização por outras bactérias (Santos, 2011).

Os gêneros encontrados de *Escherichia coli* e *Klebsiella spp.* são enterobactérias Gram-negativas, mas como os animais não demonstraram sinais clínicos visíveis de conjuntivite, essas apresentam-se como parte da microbiota normal de gatos. A presença de *E. Coli*, por ser comum no trato intestinal dos gatos, pode significar apenas uma bactéria transitória da conjuntiva, para confirmar essa suspeita seria necessário realizar estudos sequenciais com novas coletas do mesmo animal (Souza et al., 2010). Grande parte das bactérias encontradas na microbiota ocular são encontradas no trato respiratório ou na pele dos animais (Santos, 2011; Andrade et al., 2002).

Do total de animais, em 3 houve o crescimento da mesma bactéria em ambos os olhos, sendo uma fêmea de 6 anos com *Staphylococcus intermedius* e dois machos, 1 e 3 anos, com *Staphylococcus saprophyticus*. Esses, somados aos animais que também foram negativos para os dois olhos, inteiram em 40% (8/20) do total de animais que obtiveram

resultados iguais para as culturas bacterianas dos dois olhos. Indivíduos sem doença ocular, geralmente possuem a microbiota dos dois olhos similares e geralmente são colonizados por menos de 3 tipos diferentes de bactérias (Santos, 2011). Nos resultados obtidos, foram poucos indivíduos com os dois olhos semelhantes, mas todos cresceram somente uma colônia bacteriana excetuando uma gata que cresceram 2 colônias em um dos olhos.

Os animais do presente estudo encontram-se divididos em ambientes separados dentro do mesmo estabelecimento. Dentre os dois animais no ambiente “A” houve uma correlação das bactérias que cresceram. Nos dois olhos ambos foram positivos para *Staphylococcus saprophyticus*. Os gatos que estão no ambiente “D” também obtiveram relação entre as culturas: foram negativos nos dois olhos para a cultura bacteriana e houve o isolamento de *Cladosporium spp.* em um dos olhos de cada um na cultura fúngica. Também observou-se que nos machos, os quais totalizaram em 5 animais, observou-se uma particularidade: 5 olhos, de 10 coletados, resultou positivo para *Staphylococcus saprophyticus* e 4 olhos foram negativos. Mas o número amostral dessas duas observações é muito baixo e não apresenta significância estatística.

Um total de 15% (3/20) dos animais, sendo todas fêmeas, resultaram negativos para os dois olhos tanto para a cultura fúngica quanto a bacteriana. Não foi observado correlação entre a idade e o crescimento microbiológico, também não foi possível realizar uma correlação dentre os resultados obtidos das fêmeas.

Com relação às culturas fúngicas, 60% (12/20) dos animais obtiveram resultado negativo para os dois olhos e, 75,61% (31/40), dentre o total de culturas, foram negativas. As culturas bacterianas são mais prevalentes que às fúngicas (Santos, 2011). Apenas 22,5% (9/40) das amostras foram positivas. Em relação aos fungos isolados os de maior prevalência são *Candida albicans*, *Penicillium sp.* foram os mais prevalentes seguido do *Cladosporium spp.* e *Aspergillus spp.*. Em equinos, os quatro gêneros de fungos são frequentes em ceratites micóticas mas tem sido isolados como parte da microbiota em cães e gatos saudáveis (Andrade et al., 2002). O último gênero é comum na ocorrência de uveíte infecciosa no cão e no gato (Cardoso, 2013). Nenhum dos gatos mostrou-se positivo para a mesma cultura fúngica nos dois olhos, possivelmente devido ao grande número de gatos negativos.

Conclusões

O presente trabalho revelou a presença de algumas bactérias dos gêneros *Staphylococcus spp.*, *Escherichia coli* e *Klebsiella spp.* e fungos dos gêneros *Candida sp.*,

Cladosporium spp., *Penicillium sp.* e *Aspergillus spp.* no saco conjuntival de felinos da raça Ragdoll, sem interferência na clínica oftalmológica e sem haver diferença significativa entre gatos Ragdolls e gatos sem raça definida.

Referências Bibliográfica

- ANDRADE A. L., STRINGHINI G., BONELLO F. L., MARINHO M., PERRI S. H. V. Microbiota conjuntival de cães sadios da cidade de Araçatuba. *Arquivo Brasileiro Oftalmológico*, vol. 66, p. 323-326, 2002.
- CARDOSO D. D. *Uveíte de etiologia infecciosa em cães e gatos*. 2013. Dissertação (Mestrado) – Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Portugal.
- CUNHA O. da. Manual de oftalmologia veterinária. *Brasil: Universidade Federal Do Paraná*, 2008.
- HARTMANN A. D., HAWLEY J., WERCKENTHIN C., LAPPIN M. R. & HARTMANN K. Detection of bacterial and viral organisms from the conjunctiva of cats with conjunctivitis and upper respiratory tract disease. *Journal of feline medicine and surgery*, v. 12, n. 10, p. 775-782, 2010.
- MIRA A. S. S. C. de. *Utilização do PCR real-time na detecção de herpesvírus felino-1 e Chlamydomphila felis em gatos com manifestações oculares*. 2010. Dissertação (Mestrado) – Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2010.
- SANTOS L. L. dos. *Características da microbiota da superfície ocular Bacteriana em animais domésticos e silvestres*. 2011. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, 2011.
- SOUZA J. O. T., ANGÊLO F. F., HOMEM L. A. S. Microbiota bacteriana conjuntival de felinos domésticos (*felis s. Catus, linnaeus*, 1758) sadios da cidade de Juiz de Fora – MG. *Revista científica eletrônica de Medicina Veterinária*, Ano VIII, n.15, 2010.