

# **ESTUDO DA MICROBIOTA OCULAR COMO MONITOR DO 2-1 FOSFATO DISSÓDICO DE BETAMETASONA E DO FOSFATO DISSÓDICO/ACETATO DE DEXAMETASONA, EM CÃES QUE RECEBERAM TRANSPLANTES COM CÓRNEAS DE SUÍNOS<sup>1</sup>**

Nilo Sérgio Troncoso Chaves<sup>2</sup>, Paulo Sérgio de Moraes Barros<sup>2</sup>, Apóstolo Ferreira Martins<sup>2</sup>, Eugênio Gonçalves de Araújo<sup>2</sup>, Larissa Franco de Araújo<sup>3</sup>, Maria Auxiliadora Andrade<sup>2</sup>, Duvaldo Eurides<sup>4</sup> e Clausmir Zanetti Jacomini<sup>5</sup>

## **ABSTRACT**

### **Ocular Microbial Population as a 2-1 Betamethasone Dissodic Fosphate and Dissodic Fosphate/Acetate Dexamethasone Monitor in Swine Cornea Transplanted Dogs**

Ten mixed breed dogs, with a 10 kg average weight, were selected Centro de Zoonoses de Goiânia. After being examined and considered healthy, the dogs were enumerated from 11 to 20 on their collars. Each animal had swine cornea implanted into the left eye. The swine cornea was obtained at Casa de Banha Caçula, a slaughterhouse, and conserved in humid chamber during a maximum 6 hour period. Before surgery, each animal received 4 mg dissodic fosphate/acetate of dexamethasone IM and one drop of betamethasone dissodic fosphate and gentamycin sulphate. This medication was kept until euthanasia. Each dog had a superior fornix sample collected, the sample was immersed in 0.1% peptonized water, so that tests for aerobic bacteria and fungus could be realized. Each test was repeated with samples collected on days 7,14,21 and 28, after graft, and compared with those from day 0. The 12,8% *Staphylococcus epidermidis* on initial samples was caused by contamination during collection because it wan't found on the 28<sup>th</sup> day samples. This fact suggests that, although corticosteroids had caused systemic imunocellular supression, they didn't make easier the bacterial development into the grafted eye.

**KEY WORDS:** Microbial population, corticosteroids, xenotranplants, cornea, canine and swine.

---

1 - Entregue para publicação em outubro de 1996. Trabalho parcial de tese.

2 - Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás - Cx. Postal 131 - CEP 74001-970 -Goiânia-GO.

3 - Bolsista da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás.

4 - Universidade Federal de Uberlândia.

5 - Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás.

## RESUMO

Foram utilizados dez cães, sem raça definida, com peso médio de 10kg, selecionados no Centro de Zoonoses da Prefeitura de Goiânia. Após examinados e considerados sadios, foram numerados de 11 a 20 na respectiva coleira. Cada cão, a seu tempo, teve implantada no olho esquerdo córnea de suíno, este abatido no frigorífico Casa de Banha Caçula. A córnea foi conservada em câmara úmida pelo período máximo de seis horas. Cada animal antes da cirurgia recebeu 4mg de fosfato dissódico/acetato de dexametasona, por via intramuscular, e uma gota de fosfato dissódico de betametasona/sulfato de gentamicina. A medicação foi mantida até o seu sacrifício. De cada cão colheu-se no dia 0, antes da cirurgia, uma amostra do fórnice superior do olho esquerdo, com zaragatoa estéril e imediatamente embebida em água peptonada 0,1%, para os testes das bactérias aeróbicas e fungos. Cada teste foi repetido nas amostras colhidas no 7°, 14°, 21° e 28° dias, após o enxerto e comparado ao do dia 0. Das 39 amostras obtidas do saco conjuntival encontrou-se a prevalência do *Staphylococcus epidermidis* (12,8%), que, nas amostras iniciais, foram contaminação de colheita, pois não se manifestaram nas amostras do 28° dia, sugerindo a eficiência do antibiótico de escolha.

**PALAVRAS-CHAVE:** Microbiota, corticosteróides, xenotransplantes, córnea, canino e suíno.

## INTRODUÇÃO

O globo ocular dos animais domésticos está naturalmente protegido contra patógenos, devido à ação mecânica das pálpebras, ao efeito da lavagem das secreções – que contêm a enzima bacteriostática lizosima – e à produção de inibidores da flora. Porém, quando se altera a microbiota natural do globo ocular com intervenções cirúrgicas, uso de medicamentos, acidentes etc., prevalecem os processos infecciosos. Para analisar a variação desta microbiota ocular nos cães, submetidos a xenotransplantes de córnea e tratados com 2-1 fosfato dissódico de betametasona/sulfato de gentamicina colírio e fosfato dissódico/acetato de dexametasona intramuscular, realizou-se este trabalho.

Bistner *et al.* (1969) afirmaram que normalmente o olho conta com quatro mecanismos de proteção contra infecções: 1 - fluxo mecânico da lágrima; 2 - ação fagocitária; 3 - barreiras mecânicas; e 4 - ação bacteriostática da lizosima. Qualquer desequilíbrio de um desses fatores é suficiente para predispor o olho a infecções com agentes patógenos exógenos e endógenos.

Murphy *et al.* (1978) isolaram bactérias em 68% de amostras de sacos conjuntivais de 120 cães com doença ocular, com prevalência de *S. aureus* (68%), *S.*

*epidermidis* (27%), *S. beta-hemolítico* (19%), *E. alfa-hemolítico* (17%), *E. coli* (10%), *Bacillus spp* (11%) e *Proteus spp* (7%).

Gerding *et al.* (1988) coletaram material de 131 cães com doença ocular e encontraram bactérias em 66%, que foram consideradas parcialmente patogênicas. Os microrganismos mais frequentes foram: *Staphylococcus spp* (22%), *S. intermedius* (17%), *Streptococcus canis* (16,5%), *Pseudomonas spp* (9,4%) e outros *Streptococcus spp* (8,7%). Os fungos foram isolados em apenas 4,6% das amostras. Afirmaram ainda que para os Gram-negativos a gentamicina é o antibiótico de eleição, enquanto a associação de neomicina+bacitracina+ polimixina B deve ser preferida para os Gram-positivos.

Costa *et al.* (1989) isolaram 18 espécies de bactérias em culturas de conjuntiva de cães saudáveis, prevalecendo *S. aureus*, *S. intermedius*, *E. coli* e *S. epidermidis*.

Andrade *et al.* (1990) analisaram bacteriologicamente 200 amostras colhidas do ambiente do Hospital Veterinário/EV/UFG, do pessoal envolvido no trabalho hospitalar e das feridas cirúrgicas nos cães. A ordem percentual das frequências para as colônias de bactérias foram as seguintes: *Staphylococcus coag(-)* (32,32%), *Streptococcus spp* (16,36%), *Enterobacter spp* (12,72%), *Micrococcus Staphylococcus coag(+)* (6,54%), *Pseudomonas spp* (6,18%), *E. coli* (4,36%), *spp* (9,81%), *Citrobacter spp* (4,0%), *Proteus spp* (2,90%), *Klebsiella spp* (1,45%) e *Providencia spp* (0,36%).

Mesquita *et al.* (1991) fizeram testes de sensibilidade a antibióticos e quimioterápicos para as mesmas amostras de Andrade *et al.* (1990) e concluíram que a gentamicina e o cloranfenicol demonstraram maior eficiência para os Gram-negativos, porém com resultados negativos para os Gram-positivos.

Joklik *et al.* (1994) isolaram com frequência *Staphylococcus epidermidis* e vários diferóides aeróbicos do saco conjuntival, que, presumivelmente, se originam da flora das pálpebras.

## MATERIAL E MÉTODOS

Antes do implante (dia 0), foram colhidas amostras do saco conjuntival de cada um dos 10 cães, obedecendo ao procedimento técnico detalhado a seguir: com uma zaragatoa estéril, foi feita uma única colheita no fórnice superior do olho a ser operado e imediatamente embebido em água peptonada 0,1%, para os testes das bactérias aeróbicas e fungos.

Para os Gram-positivos, o material foi repicado em caldo de tioglicolato e ágar sangue a 37°C/24 h, sendo aqueles Gram-positivos repicados novamente em caldo Casoy, e em seguida foi feita a prova de catalase. As culturas catalase-negativas foram identificadas como *Streptococcus spp*. Para as catalase-positivas foi feita a prova de oxidase. As culturas oxidase-negativas foram identificadas como *Micrococcus spp*. Para as oxidase-positivas foi feita a prova coagulase (plasma de coelho), identificando

as cepas de *S. coagulase-positivas* e *S. coagulase-negativas* no Laboratório de Microbiologia da EV/UFG.

Para os Gram-negativos, o material foi repicado em caldo selenito e MacConkey e incubado a 37°C/24 h, sendo novamente incubado no meio MacConkey na mesma temperatura e tempo, e direto do MacConkey para o *Triplíce Sugar Iron* (TSI) a 37°C/24 h, através de 3 colônias lactose-positivas e 3 negativas. De acordo com o crescimento no TSI, foram selecionados os tubos para as provas bioquímicas: Uréia, Indol, Vermelho de metila (VM), Citrato de Simmons, Ágar fenilamine, Glicose, Lactose, Manitol e Malonato. A leitura e a interpretação foram feitas em 24 ou 48 h (Edwards & Ewing 1972). Cada um destes testes foi repetido no 7º, 14º, 21º e 28º dias após o enxerto e comparado ao do dia 0. Após as cirurgias, cada animal recebeu uma gota de sulfato de gentamicina e fosfato dissódico de betametasona colírio, 4 vezes por dia, e 4mg de fosfato/acetato de dexametasona intramuscular semanalmente, até o sacrifício.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas 39 amostras obtidas do saco conjuntival dos cães para cultura bacteriana, encontrou-se a seguinte prevalência: em 87,2% não houve crescimento de microrganismos e em 12,8% cresceram *Staphylococcus epidermidis*. (Tabela 1). Cinco cães (50%) terminaram vivos o experimento, 3 cães (30%) foram sacrificados no intervalo entre 14º o 21º dia e 2 cães (20%) se autotraumatizaram, inviabilizando as muitas colheitas. Todos os animais apresentaram sinais de hiperadrenocorticismismo secundário (alopecia, diarreia com sangue, perda de peso, fraqueza e atrofia muscular, necrose de pele e de gengiva), o que levou sacrifício abreviado de 3 unidades experimentais.

Andrade *et al.* (1990) identificaram o *S. epidermidis* como prevalente no ambiente onde foi desenvolvido este experimento. Gerding *et al.* (1988) e Murphy *et al.* (1988), isolaram *S. epidermidis* de saco conjuntival de cães com doença ocular e Costa *et al.* (1989) isolaram o mesmo agente em cães normais. O fato de ter-se aqui isolado o *S. epidermidis* corrobora com estes pesquisadores, pois, além de fazer parte da microbiota ocular normal, essa bactéria pode ser contaminante, proveniente das pálpebras, como afirma Joklik (1994). Acredita-se que a presença do *S. epidermidis* nas primeiras amostras foi em decorrência de falha nas colheitas. Tal evidência sugere também a eficiência do sulfato de gentamicina como antibiótico de escolha, preconizado por Gerding *et al.* (1988) e Mesquita (1991), mais do que os mecanismos naturais de proteção que o olho possui contra os microrganismos descritos por Bistner (1969), e Joklik *et al.* (1994).

Tabela 1 - Distribuição das culturas de bactérias desenvolvidas nas amostras de fórnice conjuntival, coletadas nos 0, 7º, 14º, 21º e 28º dias, dos olhos dos cães xenotransplantados com córneas de suínos e tratados com sulfato de gentamicina/2-1 fosfato dissódico de betametasona colírio e fosfato de dexametasona/acetato de dexametasona via intramuscular, em junho de 1995. Goiânia-GO.

### DISTRIBUIÇÃO DAS CULTURAS

CÃO	DIA 0	7º DIA	14º DIA	21º DIA	28º DIA
11	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-
14	-	-	-	S/C	S/C
15	-	-	-	-	-
16	<i>S. epidermidis</i>	-	-	S/C	S/C
17	<i>S. epidermidis</i>	-	-	S/C	S/C
18	<i>S. epidermidis</i>	-	-	S/C	S/C
19	<i>S. epidermidis</i>	-	S/C	S/C	S/C
20	<i>S. epidermidis</i>	-	-	-	-

(-) - Sem crescimento

S/C - Sem coleta

### CONCLUSÕES

A prevalência do *Staphylococcus epidermidis* (12,8%), nas amostras iniciais, como parte integrante da microbiota normal ou como contaminante na colheita, se deve ao fato de terem se concentrado no tempo 0 e não se manifestarem nas amostras subsequentes. O fato de não haver crescimento bacteriano em 87,2% das amostras sugere a eficiência do sulfato de gentamicina como antibiótico de escolha.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- Andrade, M.A., A.J. Mesquita, L.A.F. Silva & N.M. Paulo. 1991/92.** Frequência de bactérias isoladas de ambiente hospitalar, feridas cirúrgicas, Médicos Veterinários, Enfermeiros e Auxiliares de Enfermagem - I -Infecção em Hospital Veterinário. Anais da Escola de Agronomia e Veterinária, 21/22(1) : 101-1.
- Bistner, I.S., R.S. Roberts & P.R. Anderson. 1969.** Conjunctival bacteria:clinical appearances can be deceiving. Modern. Vet. Pract., 12 : 45-7.
- Gerding, P.A., S.A. Maclaughlin & M.V. Troop. 1988.** Pathogenic bacteria and fungi associated with enfermal ocular diseases in dog. Journ. of the Am.Vet. Med Ass., 193 (2) : 242-4.
- Joklik, W. K., H.P. Willet & D. B. Ramos. 1994.** Microbiologia.20 Buenos Aires. Ed. Panamericana. 1.696 p.
- Mesquita, A.J., L.A.F. Silva, M.A. Andrade & M.A.C. Batista. 1991/92.** Resistência de bactérias, isoladas no ambiente, em feridas cirúrgicas, em Médicos Veterinários, Enfermeiros e Auxiliares de Enfermagem -II-Infecção em Hospital Veterinário. Anais da Esc. de Agron. e Vet., 21/22 (1) : 1-8.
- Murphy, J.M., J.D. Lavach & G.A. Severin. 1978.** Survey of conjunctival flora in the dogs with clinical signs of external eye diseases. Journ. of the Am. Med. Ass., 172 (1) : 66-8.