

IDENTIFICAÇÃO DA MICROBIOTA DA CAVIDADE ORAL DE EQUINOS

Vieira, C.A.^{11*}; Fernando, F.S.¹; Vignoto, V.C.¹; Wosiacki, S.R.¹; Ribeiro, M.G.¹

Resumo:

Este trabalho descreve a recuperação e a identificação de bactérias da microflora oral de equinos sadios provenientes da Sociedade Rural de Umuarama e de centros de treinamento de Quarto de Milha da região. Foram coletados espécimes orais de 48 animais adultos de ambos os sexos, utilizando suabe estéril que foram semeados em ágar-sangue. As cepas isoladas foram identificadas segundo as suas características morfológicas, morfotinturiais e testes bioquímicos. Foram isolados a partir desses animais cocos gram-positivos (*Staphylococcus* spp e *Streptococcus* spp, *Moraxella* spp, *Nocardia* spp) e gram-negativos (*Bacillus* spp) residentes das regiões periodontal e terço médio da língua. Das espécimes periodontais foram isolados uma grande concentração de *Staphylococcus* spp em relação aos *Streptococcus* spp. Os achados derivados das amostras da língua, mostraram maior colonização de *Streptococcus* spp comparada aos *Staphylococcus* spp. Os resultados obtidos representaram contribuição original para o conhecimento da microbiota oral de equinos, tendo significado para a Microbiologia comparada.

Palavras-chave: microbiota, oral, equinos, *Streptococcus* spp, *Staphylococcus* spp.

Introdução

Em ecologia, chama-se microbiota ao conjunto dos microorganismos que habitam num ecossistema, principalmente bactérias, mas também alguns fungos, que geralmente têm funções importantes na decomposição da matéria orgânica e, portanto, na reciclagem dos nutrientes. Já em medicina, microbiota é o conjunto dos microorganismos encontrado geralmente associados a tecidos do organismo. Pele, cavidade oral, trato respiratório, gastrointestinal e gênito-urinário são colonizados por microorganismos bem adaptados a esses ecossistemas e constituem coletivamente a microflora residente de um animal (Tannock, 1988; Midtvedt, 1990). De acordo com Carter e Cole Junior (1990), o termo "microbiota" abrange uma grande variedade de fungos e bactérias que habitam o organismo de animais sadios e, apesar de constituírem-se tanto de microorganismos oportunistas quanto de patógenos em potencial, não produzem doenças no hospedeiro em condições normais. Essa microbiota é descrita com diversos termos como autóctones, alóctones, xenóctones, indígenas e residentes (Rusch, 1989).

¹ Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Agrárias / Campus Regional de Umuarama, Estrada da Paca, s/n, Bairro São Cristóvão – Umuarama – Paraná. Fone/fax (44) 3621-9412

e-mail de contato: mgrvet@bol.com.br (Prof. Dr. Max Gimenez Ribeiro)

Muitos microorganismos residem na cavidade oral de animais, fazendo parte da microbiota normal destes, e outros são patógenos, que encontram nos tecidos bucais um meio favorável à sua multiplicação. Na pele, por exemplo, estes excedem os anaeróbios facultativos na razão de 10:1. A cavidade oral do homem possui uma microbiota bastante complexa constituída por bactérias, leveduras, protozoários e alguns vírus (Loesche, 1997; Marsh; Martin, 1999). É relevante salientar que a microbiota residente não é a mesma nas diversas espécies animais, devido a diferenças fisiológicas e anatômicas existentes entre elas (Savage, 1977; Tannock, 1988).

A microbiota indígena oral de humanos e animais é extensamente diversificada e complexa, necessitando de maiores estudos sobre sua composição e interação. Esses microrganismos estão freqüentemente envolvidos em muitas doenças infecciosas polimicrobianas como as doenças periodontais (Finegold, 1990). Estas podem ser classificadas em gengivite, inflamação restrita ao tecido gengival livre, e periodontite, forma mais grave, na qual ocorre perda óssea e eventual perda do dente (Harvey e Emily, 1998). Embora mais de 400 espécies bacterianas diferentes possam ser detectadas na cavidade oral, somente um número limitado pode ser implicado como patógenos periodontais (Lindhe et al., 1973).

A caracterização da microbiota oral tem sido pouco referida na Medicina Veterinária, fazendo-se assim necessário o estudo destes microorganismos, considerando a escassa bibliografia acerca da microbiota constituinte da cavidade oral de equinos.

Materiais e Métodos

Foram selecionados 48 equinos adultos de ambos os sexos, que não possuíam doença periodontal evidente. Foi feita uma limpeza prévia da cavidade oral com água corrente até que se removesse todas as sujidades da boca. Após a higienização, foram realizados suabes da mesa dentária dos dentes (P) pré-molares inferiores e terço médio da língua (L). Os suabes foram mantidos em tubos de ensaio contendo 1mL de água peptonada a 2% e em ambiente isotérmico por aproximadamente 1 hora até a chegada ao Laboratório de Microbiologia Animal da Universidade Estadual de Maringá (UEM). O suabes foram inoculados em placas de ágar-sangue ovino 5% (ASO), pela técnica de semeadura por esgotamento, sendo incubadas a 37°C durante 24 horas em aerobiose. Quando houve crescimento de três ou mais colônias semelhantes na mesma amostra, foi realizado repiques em ASO e as placas foram incubadas por mais 48 horas. As colônias foram identificadas através de suas características morfo-tintoriais e bioquímicas, utilizando a coloração de Gram e as provas da catalase e coagulase, segundo Brito *et al.* (1999).

Resultados e Discussão

Foram isolados a partir das amostras estudadas cocos gram-positivos (*Staphylococcus* spp e *Streptococcus* spp, *Moraxella* spp, *Nocardia* spp) e

gram-negativos (*Bacillus* spp) residentes das regiões periodontal e terço médio da língua, de forma isolada ou em associação, conforme tabela 1 e 2.

Tabela 1. Identificação bacteriana da mesa dentária e terço médio da língua de 48 equinos adultos da raça Quarto de Milha da região de Umuarama - Paraná

| Amostras | <i>Staphylococcus</i> | <i>Streptococcus</i> | <i>Nocardia</i> | <i>Moraxella</i> | <i>Bacillus</i> |
|----------|-----------------------|----------------------|-----------------|------------------|-----------------|
| 1 | P/L | L | | | |
| 2 | P/L | L | | | P |
| 3 | P/L | | L | | |
| 4 | P | P/L | | | |
| 5 | P/L | | P/L | | |
| 6 | P/L | P | | | |
| 7 | P/L | P | | | |
| 8 | P/L | | L | | |
| 9 | P | P/L | | | |
| 10 | P | L | L | | |
| 11 | P | P/L | | | |
| 12 | | L | P | | |
| 13 | | L | | | L |
| 14 | L | L | | P | L |
| 15 | P/L | L | | | |
| 16 | | L | | P | |
| 17 | P/L | | | | |
| 18 | P | L | L | | |
| 19 | P | P | | L | |
| 20 | P | P/L | | | |
| 21 | L | P/L | P | | P |
| 22 | P | | L | P | |
| 23 | P | P;L | L | | |
| 24 | P/L | P | | | |
| 25 | P/L | P | P/L | | |
| 26 | | P/L | | | P |
| 27 | P/L | P/L | | | |
| 28 | P | L | P/L | | |
| 29 | P/L | P | L | | |
| 30 | | | | L | P |
| 31 | P/L | P | | | |
| 32 | P | L | | | |
| 33 | | L | | P | |
| 34 | P/L | P/L | | | |
| 35 | | L | P/L | | |
| 36 | P/L | L | | | |
| 37 | P/L | | L | | |
| 38 | P/L | | P | | |
| 39 | P/L | P/L | | | |

| | | | | | |
|----|-----|-----|-----|-----|---|
| 40 | P/L | P/L | | L | |
| 41 | P/L | | | | |
| 42 | P/L | | P/L | | |
| 43 | P | L | | P | |
| 44 | P/L | L | | | P |
| 45 | P | P/L | | L | |
| 46 | P/L | P/L | | P/L | |
| 47 | P | L | P | | |
| 48 | P/L | | | | P |

P: mesa dentária; L: língua.

Tabela 2. Associação das bactérias residentes na mesa dentária e terço médio da língua de equinos adultos da raça Quarto de Milha da região de Umuarama - Paraná

| | Mesa dentária (n=48) | Língua (n=48) | Total (n=96) |
|----------------------|-------------------------|------------------|-----------------|
| Staphylo | 39 | 27 | 66 |
| Strepto | 20 | 29 | 49 |
| Nocardia | 9 | 13 | 21 |
| Moraxela | 6 | 5 | 11 |
| Bacillus | 7 | 2 | 9 |
| Staphylo + Strepto | 18 | 12 | 30 |
| Staphylo + Nocardia | 6 | 7 | 13 |
| Staphy + Strep + Noc | 1 | 0 | 1 |
| Strepto + Bacillus | 2 | 2 | 4 |
| Strepto + Noc + Bac | 1 | 0 | 1 |
| Strepto + Nocardia | 2 | 5 | 7 |

Das amostras examinadas, provenientes dos suabes da mesa dentária, observou-se a prevalência do gênero *Staphylococcus* spp, contendo colônias em 81,25% (39/48) das amostras, seguido pelo gênero *Streptococcus* spp, 41,67% (20/48). Esses resultados não condizem com os descritos na literatura relacionada a microbiota oral de humanos, onde 90 a 94% de humanos adultos saudáveis são colonizados por *Staphylococcus* spp (Percival *et al.*, 1991; Jackson *et al.*, 1999; Kim *et al.*, 1995). Segundo Smith e MacFarlane (1999), da mesma forma que o estafilococos pode ser considerado um organismo transiente da cavidade oral, sua freqüente presença neste local pode ser considerada uma potencial fonte de infecção, sugerindo uma detecção detalhada da microbiota oral não só de animais clinicamente saudáveis.

O crescimento bacteriano de *Streptococcus* spp, das amostras do terço médio da língua foi superior ao de *Staphylococcus* spp, estando presente em 60,42% (29/48), enquanto *Staphylococcus* spp esteve presente em 56,25% (27/48) dos animais. Os isolamentos de microrganismos, particularmente *Streptococcus* spp e *Staphylococcus* spp, agentes associados a diferentes patologias no homem e animais, demonstraram prevalência sobre os isolados da superfície periodontal e terço médio da

língua, demonstrando uma parcialidade em relação às bactérias isoladas da microbiota oral de humanos.

Bactérias dos gêneros *Nocardia*, *Moraxella* e *Bacillus*, também foram isoladas das amostras. Nos suabes periodontais *Nocardia* spp foi encontrada em 18,75% (9/48) dos animais, seguido de *Bacillus* spp 14,58% (7/48) e *Moraxella* spp 12,5% (6/48). No terço médio da língua, *Nocardia* spp estava presente em 27,1% (13/48), *Moraxella* spp 10,42% (5/48) e *Bacillus* spp em 4,16% (2/48) dos animais. A presença do gênero *Nocardia* sugere uma análise da alimentação dos animais, pois as espécies de nocardia são saprofíticas e encontradas em vegetação em deteriorização (Quinn *et al.*, 2005).

Aiello e Mays (2001) referem que a microbiota bacteriana normalmente encontrada na cavidade oral de pequenos animais que não apresentam periodontopatias constitui-se fundamentalmente de bactérias Gram-positivas aeróbias o que também foi observado no presente estudo.

Conclusões

Os dados do presente estudo sugerem que há grande heterogeneidade na microbiota oral de equinos em estado clínico normal. Entretanto, como nem todas as bactérias presentes na cavidade oral podem ser cultivadas, é provável que estas bactérias não detectadas possam também ter alguma importância na patogênese das doenças periodontais. Com a conclusão deste trabalho, faz-se necessário o isolamento de uma gama maior de animais a identificação detalhada de cada gênero.

Referências

AIELLO, S.E.; MAYS, A. (Eds.). *Manual merck de veterinária*. 8.ed. São Paulo: ROCA, 2001. p.114.

CARTER, G.R.; COLE JUNIOR, J.R. *Diagnostic procedures in veterinary bacteriology and mycology*, Academic Press, San Diego, 1990.

FINEGOLD, S. Anaerobes: problems and controversies in bacteriology, infections and susceptibility testing. *Ver. Infec. Dis.* 12, 223, 1990.

KIM, K.J.; YO, Y.O.; KIM, E.S. Hemolysin like gene of *Staphylococcus lugdenensis* in acute oral infection have partial homology with hemolysin gene of *Staphylococcus aureus*. *J. Oral Biol.* 1995, 19, 61.

LINDHE, J.; HAMP, S.E.; LÔE, H. Experimental periodontitis in the beagle dog. *Int. Dent. J.* 1973, 23, 432.

LOESCHE, W.J. Ecology of the oral flora. IN: R.J. NISENGARD, M.G. (Org.). *Microbiologia oral e imunologia*. 2.ed. Rio de Janeiro:Guanabara Koogan, 1997. 395p.

MARSH, P.; MARTIN, M.V. *Oral microbiology*. British Library, London, 1999.
Microecol. Therapy. 1989, 19, 33.

MIDTVEDT, T. Ecosystems: development functions and consequences of disturbances with especial reference to the oral cavity. *J. Clin. Periodontal*. 1990, 17, 474.

NEWMAN. *Microbiologia oral e imunologia*. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1997

PERCIVAL, R.S.; CHALLACOMBE, S.J.; MARSH, P.D. Age-related microbiological changes in the salivary and plaque microflora of healthy adults. *J. Med. Microbiol.* 1991, 35, 5.

QUINN, P.J.; MARKEY, B.K.; CARTER, M.E.; DONNELLY, W.J.; LEONARD, F.C. *Microbiologia veterinária e doenças infecciosas*. Artmed, Porto Alegre, 2005.

RUSCH, V. The concept of symbiosis: a survey of terminology used in description of associations of dissimilarly named organisms.

SAVAGE, D.C. Microbiol ecology of the gastrointestinal tract. *Ann. Rev. Microbiol.* 1977, 31, 107.

TANNOCK, G.W. The normal microflora: new concepts in health promotion. *Microbiol.* 1988, 5, 4.