

FLORA RESIDUAL NA QUERATOCONJUNTIVITE BOVINA.

Residual flor in bovine keratoconjunctivitis.

Antonio J. Dreon de Albuquerque* e Therezinha M. B. Mota**

RESUMO

Foi feito um estudo da flora residual em casos de queratoconjuntivite bovina, após o tratamento, durante 7 dias, com uma associação de penicilina, estreptomina e neomicina. Foram isolados germes considerados como, normalmente, não patogênicos e em um caso, *Moraxella bovis*. A persistência do quadro infeccioso na ausência do agente primário da infecção traz a baila o papel de microorganismos menos sensíveis, talvez não cultiváveis nas condições empregadas, os quais podem produzir efeitos sinérgicos com a *Moraxella bovis*, agravando o problema.

SUMMARY

Residual flora from bovine keratoconjunctivitis cases, after seven days treatment with an association of three antibiotics (penicilin, streptomycin, neomycin) was studied.

Non pathogenic microorganisms were isolated. *Moraxella bovis* was isolated only in one case. The persistence of the clinical picture in the absence of the primary agent of the infection suggest that more resistant microorganisms, not cultivated in our laboratory conditions, can produce synergistic effects worsening the problem.

INTRODUÇÃO

O gênero *Moraxella* está classicamente associado a problemas de conjuntivite humanas ou de animais. Seu nome foi dado em homenagem a Morax, um oftalmologista suíço, que isolou a espécie-tipo, *Moraxella lacunata*, em 1896, em casos de conjuntivite subaguda humana. Na 8ª edição do Manual de Bergey (12) constam mais 4 espécies, sendo 3 delas de patogenicidade incerta. A 2ª espécie em ordem de importância é assim a *Moraxella bovis*, descrita por Jones e Little (segundo TATUM, 23) em 1929, como causa primária da conjuntivite bovina, conhecida como "lágrima" ou "olho branco". Esta espécie está

* Professor Assistente do Departamento de Patologia - UFSM.

** Professora Titular do Departamento de Patologia - UFSM.

hoje identificada à *M. caprae* e *M. equi*, isoladas, respectivamente, de queratite em cabras e conjuntivite em cavalos.

O germe apresenta-se como um diplo-bacilo gram negativo, que cresce em ágar sangue, apresentando zona de hemólise beta. Existem estirpes não hemolíticas. Como as outras espécies do gênero, é oxidase positivo, aeróbio estrito, não utiliza carboidratos e é altamente sensível a penicilina (12).

A doença em bovinos é uma epizootia que acarreta problemas de ordem econômica por se propagar rapidamente e produzir dor, desconforto, cegueira temporária ou permanente, redução no peso e crescimento (7).

Na prevenção da infecção tem sido usadas vacinas de valor duvidoso, principalmente devido a inexistência de imunidade cruzada entre as "strains" (18). Quanto ao tratamento, apesar da sensibilidade da *Moraxella* à penicilina, nem sempre surte o efeito desejado. Isto tem levado à proposição do uso associado de mais de um agente terapêutico ou emprego de dispositivos sofisticados, como anéis adaptáveis ao olho do animal, os quais liberam antibióticos na medida em que vão sendo destruídos naturalmente (10).

No presente trabalho é feito um estudo de 3 lotes de bovinos, atingidos no verão de 1975, nos municípios de Alegrete, Livramento e São Francisco de Assis, tratados com uma associação de três antibióticos.

MATERIAL E MÉTODO

De 28 bovinos doentes, de 18 a 24 meses de idade, antes do tratamento, colheu-se, com "swab", material de 39 olhos, em placa de "tripticase-soy-agar", adicionado de 5% de sangue de carneiro. A semeadura foi feita no campo, imediatamente após a coleta. As placas foram incubadas por 48 horas a 37° C. O exame das colônias hemolíticas foi feito morfológica e culturalmente de acordo com o esquema de OETJEN et alii (14).

O tratamento consistiu de uma aplicação local, diária, de uma associação de penicilina, estreptomina e neomicina, preparada em laboratório industrial. A aplicação foi praticada por veterinário, durante 7 dias consecutivos.

No 12º dia após a primeira aplicação, foi feita nova coleta, no mesmo meio, de material retirado de 10 animais que ainda apresentavam sinais de doença. Após 48 horas de incubação, foram selecionadas 10 colônias por placa, tanto quanto possível diferentes morfológicamente. Estas colônias foram semeadas em caldo simples e identificadas de acordo com os métodos convencionais (2, 5, 6, 8).

RESULTADOS

A classificação das lesões e os resultados clínicos obtidos constam da Tabela 1.

Tabela 1. Resultados obtidos após o uso da associação de 3 antibióticos em bovinos com conjuntivite ou queratoconjuntivite.

| RESULTADOS | TIPO DE LESÃO | | | TOTAL |
|---------------------|---------------|-------|-------|-------|
| | Inicial | Média | Grave | |
| Cura clínica | 3 | 5 | - | 8 |
| Regressão | 1 | 7 | 1 | 9 |
| Doença estacionária | 1 | 8 | 11 | 20 |
| Cegueira | - | - | 2 | 2 |
| Total | 5 | 20 | 14 | 39 |

Classificou-se como "lesão inicial" desde lacrimejamento até presença de um ponto opaco na córnea; "lesão média", a presença de nuvem parcial ou total ou a existência de protuberância, sem ulceração e "lesão grave", a presença de ulceração.

Antes do tratamento isolou-se *M. bovis* de 8 animais e neissérias de 11 animais. Após o tratamento, das 100 colônias isoladas, foram identificadas:

| | |
|---|------------|
| <i>Moraxella bovis</i> | 1 |
| Neissérias saprófitas..... | 8 |
| Bacilos gram negativos não fermentadores..... | 14 |
| <i>Micrococcus</i> sp..... | 28 |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> | 8 |
| <i>Streptococcus</i> alfa-hemolíticos..... | 8 |
| Bacilos gram positivos (difteróides e esporulados)..... | 31 |
| | <u>100</u> |

DISCUSSÃO

A etiologia da queratoconjuntivite bovina tem dado margem a grande número de publicações, em grande parte devidas a suspeita da responsabilidade de um vírus ou outro microrganismo não cultivável pelas técnicas mais comuns. Assim foram indiciados adenovírus (26) vírus da rinotraqueite (21, 16), *Chlamydia* (5) ou *Mycoplasma* (11). Ho

je não existem mais dúvidas quanto ao papel da *Moraxella bovis* como agente principal da infecção (15, 9, 25, 17, 4, 3).

Entretanto, há muitos fatores que parecem propiciar o deflagrar do quadro infeccioso ou complicá-lo, como a luz rica em radiações U.V., poeira, vento, flora associada (19), presença de insetos vetores (9) ou chuvas (7). Por outro lado há animais que se comportam como portadores, não apresentando a doença (18).

A patogênica da *Moraxella bovis* também tem sido alvo de especulações, sem grandes progressos. Foi assinalado o papel da hemolisina, já que as amostras não hemolíticas não produzem lesões características (22) e a relação entre a virulência e a presença de pili (18).

As técnicas para diagnóstico também tem sido sofisticadas pelo uso de anticorpos fluorescentes (20) ou hemaglutinação passiva (1).

No entanto o problema continua a existir em grande parte do mundo e há vários pontos obscuros que dificultam o entendimento da persistência de casos após o tratamento.

Em nosso estudo a percentagem de isolamento de *Moraxella bovis*, antes do tratamento, foi de 28,6%, que pode ser considerada média em relação ao que encontraram outros autores (9, 24, 4, 3). Neisserias foram isoladas em 39,2% dos casos, também considerada percentagem média (21, 24, 3).

Após o uso da medicação, isolou-se *M. bovis* de apenas 1 olho, o que evidencia sua eficácia sobre este germe. No entanto somente 8 olhos apresentaram cura clínica completa. Apresentaram regressões das lesões, que variaram desde lesão inicial constituída de lacrimajamento até ulceração da córnea, 9 animais. Mostraram estacionamento da lesão 20 olhos e em 2 a lesão progrediu até a cegueira. Isto é: de 39 olhos tratados, 31 apresentaram lesão mais ou menos rebelde ao tratamento.

O estudo da flora residual evidenciou *Moraxella bovis* em um olho. O restante do microbiota era constituído de bactérias desprovidas, via de regra, de qualquer patogenicidade, incluindo os bacilos gram negativos como *Achromobacter* sp. (13). 8% das amostras com portaram-se como estreptococos alfa-hemolíticos, aos quais poderia ser atribuída alguma responsabilidade na persistência do quadro infeccioso.

CONCLUSÃO

Conclui-se que o uso de agentes antibacterianos, não é suficiente para eliminar o processo infeccioso em muitos casos, mesmo sendo eficazes "in vitro" contra *Moraxella bovis*. O papel de microorganismos menos sensíveis, talvez não cultiváveis em condições comuns, que podem produzir efeitos sinérgicos não é ainda bem claro (19).

LITERATURA CITADA

1. ASORA, A. K.; KILLINGER, A. H. & MYERS, W. O. - Detection of *M. bovis* antibodies in infectious bovine keratoconjunctivitis by passive hemagglutination test. *Am. J. Vet. Res.*, 37:1489-1495, 1976.
2. BAYLEY, R. W. & SCOTT, E. G. - *Diagnostic microbiology*. Saint Louis, Mosby, 1970, 385 p.
3. BAPTISTA, P. H. H. P. - Estudos sobre a Queratoconjuntivite infecciosa dos bovinos no Rio Grande do Sul. In: CONGRESSO ESTADUAL DA SOVERGS, III, P. Alegre, 1973. *Anais... P. Alegre*, Sovergs, 1973. p. 89-100.
4. BRYAN, H. S.; HELPER, L. C.; KILLINGER, A. H.; RHOADES, H. E. & MANSFIELD, M. E. - Some bacteriologic and Ophthalmologic observations on bovine infectious Keratoconjunctivitis in an Illinois beef herd. *JAVMA*, 163:739-741, 1973.
5. COCKRAM, F. A. & JACKSON, A. R. B. - Isolation of chlamydia from cases of Keratoconjunctivitis in koalas. *Aust. Vet. J.*, 50:82, 1974.
6. COHEN, J. O. - Laboratory identification of staphylococci and streptococci. In: GRABER, C. *Rapid diagnostic methods in medical microbiology*. Baltimore, Williams e Wilkins Co., 1970. p. 3-11.
7. DODD, R. M. - The prevalence of Bovine Keratoconjunctivitis in beef cattle Herd in north eastern Queensland. *Aust. Vet. J.*, 53:128-131, 1977.
8. GRAEVENITZ, A. von - Economical system for the identification of non-fermentative gram-negative rods. *Antonie van Leeuwenhoek*, 37:201-208, 1971.
9. HUGHES, D. E. & PUGH, G. W. - A five years study of infectious bovine keratoconjunctivitis in a Belf herd. *J. Vet. Med. Assoc.*, 157:443-451, 1970.
10. HUGHES, D. E. & PUGH, G. W. - Infectious bovine Keratoconjunctivitis: a ring device designed for prolonged retention in the bovine eye. *Am. J. Vet. Res.*, 36:1043-1045, 1975.
11. LANGFORD, E. V. & DOWARD, W. J. - A mycoplasma isolated from cattle with infectious bovine Keratoconjunctivitis. *Can. J. Comp. Med.*, 33:275-279, 1969.
12. LANTROP, H. - Genus *Moraxella*, Lwoff 1939. In: BUCHANAN, R. E. & GIBONS, N. E. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 89 ed., Baltimore, Williams e Wilkins Co., 1974. p. 433-436.

13. LEDUC, A.; FONTAINE, J.; BRAZEAU, M.; PANISSET, L. C. & MONT PLAISIR, S. - Le bacteriologiste clinique face a um pro blème de classification: *Moraxella*, *Achromobacter*, *Acine tobacter*. *Can. J. Microbiol.*, 15:655-663, 1969.
14. OETJEN, K. A. B. & HARRIS, D. L. - Scheme for systematic identification of aerobic pathogenic bacteria. *JAVMA*, 163: 169-175, 1973.
15. PUGH, G. W. & HUGHES, D. E. - Bovine infectious Keratocon junctivitis: *M. bovis* as the sole etiologic agent in a winter epizootie. *JAVMA*, 161:481-486, 1972.
16. PUGH, G. W. & HUGHES, D. E. - Bovine infectious Keratocon junctivitis: carrier state of *M. bovis* and the Develop ment of preventive measures against disease. *JAVMA*, 167: 310-313, 1975.
17. PUGH, G. W.; HUGHES, D. E. & McDONALD, T. J. - Keratocon junctivitis produced by *Moraxella bovis* in laboratory ani mals. *Am. J. Vet. Res.*, 29:2057-2061, 1968.
18. PUGH, G. W.; HUGHES, D. E. & PACKER, R. A. - Bovine infec tious Keratoconjunctivitis: Interactions of *M. bovis* and infectious bovine rhinotracheitis virus. *Am. J. Vet. Res.* 31:653-662, 1970.
19. PUGH, G. W.; HUGHES, D. E. & SCHULTZ, V. E. - Infectious bo vine Keratoconjunctivitis: Experimental induction of in fection in calves with *Mycoplasma* and *M. bovis*. *Am. J. Vet. Res.*, 37:493-495, 1976.
20. PUGH, G. W.; HUGHES, E. E.; KOHLMEIER, R. H.; WALLACE, J. R. & GRAHAM, C. K. - Infectious bovine Keratoconjunctivitis: comparison of a fluorescent antibody technique and cultu ral isolation for the dectetion of *M. bovis* in eye secre tions. *A. J. Vet. Res.*, 38:1349-1352, 1977.
21. SANDHU, T. S. & WHITE, V. H. - Production and characteriza tion of *M. bovis* haemolysin. *A. J. Vet. Res.*, 38:883-885, 1977.
22. SPRADBROW, P. B. - A microbiological study of bovine conjunc tivitis and keratoconjunctivitis. *Aust. Vet. J.*, 43:55-58, 1967.
23. TATUM, H. O. - Miscellaneous gram negative bacteria. In: BLAIR M. E.; LENNETTE, E. H. & TRUANT, J. P. *Manual of Clinical Microbiology*, Atlanta, American Soc. for Micro biology, 1970. p. 191-198.
24. WILCOX, G. E. - Bacterial flora of the bovine eye with spe cial reference to the *Moraxella* and *Neisseria*. *Aust. Vet. J.*, 46:253-257, 1970.

-
25. WILCOX, G. E. - The aetiology of infectious bovine Keratoconjunctivitis in Queensland. *Aust. Vet. J.*, 46:409-414, 1970.
 26. WILCOX, G. E. - The aetiology of infectious bovine Keratoconjunctivitis in Queensland: 2. Adenovirus. *Aust. Vet. J.*, 46:415-420, 1970.