

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS BOTUCATU

**PERFIL BACTERIOLÓGICO DE BIÓPSIA PULMONAR E
LAVADO TRAQUEOBRÔNQUICO DE EQÜINOS SADIOS
MANTIDOS EM SISTEMA EXTENSIVO E ESTABULADO**

RODRIGO ROLIM DUARTE

Dissertação de Mestrado apresentada à
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
da UNESP – Campus de Botucatu, Área de
Cirurgia Veterinária, como exigência parcial
para obtenção do título de Mestre.

BOTUCATU - SP
Junho - 2007

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS BOTUCATU

**PERFIL BACTERIOLÓGICO DE BIÓPSIA PULMONAR E
LAVADO TRAQUEOBRÔNQUICO DE EQÜINOS SADIOS
MANTIDOS EM SISTEMA EXTENSIVO E ESTABULADO**

RODRIGO ROLIM DUARTE

**Orientador: Prof. Dr. Roberto Calderon
Gonçalves**

Dissertação de Mestrado apresentada à
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
da UNESP – Campus de Botucatu, Área de
Cirurgia Veterinária, como exigência parcial para
obtenção do título de Mestre.

BOTUCATU - SP
Junho - 2007

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO
DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
1. *BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: Selma Maria de Jesus*

Duarte, Rodrigo Rolim.

Perfil bacteriológico de biópsia pulmonar e lavado traqueobrônquico de eqüinos sadios mantidos em sistema extensivo e estabulado / Rodrigo Rolim Duarte. – Botucatu : [s.n.], 2007

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2007.

Orientador: Roberto Calderon Gonçalves

Assunto CAPES: 50501070

1. Eqüino -Aparelho respiratório - Biopsia - Estudos experimentais
2. Citologia veterinária

CDD 636.10896

Palavras-chave: Biopsia pulmonar; Eqüinos; Lavado traqueobrônquico

Composição da Banca Examinadora da dissertação de autoria de Rodrigo Rolim Duarte à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista – UNESP, Campus de Botucatu, para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária

Prof. Dr. Roberto Calderon Gonçalves

Prof. Dr. Simone Biagio Chiacchio

Prof. Dr. Luis Carlos Vianna

Aos meus filhos, Letícia, Nathalia, Bruno e João Gabriel, cuja existência me ajuda a superar os obstáculos e as lembranças me estimulam a procurar evoluir cada dia mais, sem me permitir fraquejar frente às intempéries da vida.

Amo muito vocês!

A Deus pela oportunidade de conseguir fazer o que gosto, servir aos cavalos e dividir estas experiências com meus alunos.

Aos meus pais, Naldir e Conceição, pela educação baseada em exemplos concretos de honestidade, caráter, personalidade, carinho, amor e apoio. Orgulho-me de trazer comigo um pouco de vocês; gostaria de ter bem mais.

Aos meus avós, José e Hilda, pais por mérito que sempre estiveram do meu lado, principalmente nos momentos mais difíceis, orientando-me a fazer sempre o melhor.

A Maria do Carmo, minha esposa, pela dedicação, compreensão, apoio incondicional no transcorrer deste trabalho. Seu companheirismo foi fundamental para isto tornar-se realidade.

Ao meu orientador, Roberto Calderon Gonçalves, pela confiança depositada no momento que mais precisei. Conhecer pessoa assim nos faz refletir e acreditar que podemos ser bons profissionais sem deixar de lado nossos valores humanos. Muito obrigado meu amigo.

Ao meu amigo Rogério Giuffrida, pela orientação e dedicação na confecção deste trabalho, sem as quais certamente não teria tanto êxito.

Ao grande amigo Marcelo Sávio, contar com pessoas como você é realmente um privilégio. Obrigado por tudo.

Aos meus amigos e colegas do Hospital Veterinário, professores, residentes e funcionários, pela convivência que muito me ensina na arte de respeitar as diferenças.

Aos meus alunos cujo aprendizado mútuo torna inigualáveis nossas relações.

Ao Professor Armen Thomassian pela oportunidade que me foi dada. Obrigado pelos ensinamentos e pelo exemplo.

À Universidade do Oeste Paulista pelas condições oferecidas para realizar este trabalho.

As diferentes condições de estabulação podem influenciar a microbiota do trato respiratório de eqüinos hígdos e conseqüentemente o desenvolvimento de afecções pulmonares nestes animais. O diagnóstico etiológico de afecções do sistema respiratório em eqüinos pode ser obtido mediante realização de lavado traqueobronquial e de biópsia pulmonar. O presente estudo objetivou avaliar qualitativamente a microbiota traqueobronquial e pulmonar de eqüinos hígdos submetidos a diferentes manejos de estabulação. Foram utilizados 18 eqüinos hígdos, adultos, da raça quarto-de-milha, machos, oriundos do rancho Quarto-de-milha de Presidente Prudente, distribuídos em dois grupos de nove animais: Grupo1 (mantidos integralmente em regime extensivo, permanecendo em piquete); Grupo2 (mantidos integralmente em regime intensivo permanecendo em baia e saindo apenas para a lida). Os lavados traqueobrônquicos foram colhidos inoculou-se solução fisiológica no lume traqueobronquial por meio de catéteres intravenosos (14G x 30 cm). As biópsias pulmonares foram colhidas utilizando-se agulhas "tru-cut" semi-automáticas (16G x 20cm). Os materiais colhidos foram submetidos à cultura microbiológica. Não foram observadas complicações durante as técnicas empregadas. Todos os animais estudados apresentaram cultura positiva para pelo menos uma espécie bacteriana nos lavados traqueobrônquicos. Observou-se nos lavados traqueobrônquicos predominância de microrganismos Gram-negativos, bem como dos microrganismos aeróbios facultativos. Em quase 40% dos lavados foram isolados grupos de cocos gram-positivos, sendo o gênero predominante *Staphylococcus*. Dentre o grupo dos gram-negativos prevaleceram os que pertencem à família *Enterobacteriaceae*. Nas biopsias analisadas não houve crescimento negativo. Nas biopsias pulmonares houve predominância de microrganismos Gram-positivos e anaeróbios facultativos Dentre os gram-positivos o gênero predominante

foi o *Staphylococcus*. As espécies de gram-negativos mais isoladas foram *Escherichia coli* e *Enterobacter*. Nas duas técnicas de colheita (biopsia e lavado) observou-se maior número de espécies bacterianas nos isolamentos dos animais estabulados, em relação aos que estavam a pasto.

The differences in stabling conditions may influence the microbiota in airway of healthy horses, and consequently result changes in airway infections. Diagnosis of airway affections may be reach by using tracheobronchial (TB) wash and pulmonary biopsy as well. The aim of this study was to evaluate the pulmonary and TB microbiota in healthy horses submitted to different stabling. Eighteen healthy adult male quarterhorses were distributed in two groups: Group 1 (nine animals maintained in extensive regimen); and Group 2 (nine animals kept in stall conditions). The washes were carried out using physiologic solution in TB lumen through the intravenous catheter (14G x 30 cm). Pulmonary biopsies were collected using semi-automatic Tru-cut needles (16G x 20 cm). The material collected was submitted to microbiological culture. No trickiness was observed in the animals. At least one species of bacteria grown in wash tracheobronchial culture in the horses studied. In TB washes was observed predominance both of Gram negative and facultative aerobic microorganisms. In 38.5% out of the washes were isolated Gram-positive coccus, predominantly *Staphylococcus*. *Escherichia coli* and *Enterobacter* were isolated in 3% and 11%, respectively. The culture of airway in stabling animals showed a higher number of isolates in both wash and biopsy techniques comparing to the horses kept in extensive regimen.

1 Introdução.....	21
2 Revisão de literatura.....	24
2.1 Citologia do TRI de eqüinos.....	25
2.2 Histopatologia pulmonar eqüinos.....	27
2.3 Microbiota bacteriana do TRI de eqüinos.....	28
3 Material e métodos.....	32
3.1 População estudada	33
3.2 Exame Clínico Pré-Colheita	33
3.3 Exames laboratoriais	34
3.3.1 Hemograma	34
3.3.2 Lavado traqueobrônquico	34
3.3.3 Biópsia pulmonar	35
3.3.4 Análise bacteriológica.....	36
4 Resultados.....	37
5 Discussão	49
5.1 Considerações sobre as técnicas de colheita empregadas	50
5.2 Análises dos resultados dos lavados traqueobrônquicos.....	51
5.3 Resultados das análises de biópsia	61
5.4 Comparação de resultados entre animais estabulados e a pasto	66
5.5 Importância da microbiota do TR para o diagnóstico das pneumonias em eqüinos	68
6 Conclusões.....	71
Referências Bibliográficas	73
Artigo - Perfil Bacteriológico de Biópsia Pulmonar e Lavado Traqueobrônquico de Eqüinos Sadios Mantidos em Sistema Extensivo e Estabulado.....	88

Tabela 1 – Perfil microbiológico de amostras de lavado traqueobrônquico colhidas em 18 eqüinos mantidos sob diferentes regimes de manejo.....	39
Tabela 2 – Perfil microbiológico de amostras de biópsia pulmonar colhidas em 18 eqüinos mantidos sob diferentes regimes de manejo.....	40
Tabela 3 – Características tintoriais de microrganismos bacterianos isolados de amostras de lavado traqueobrônquico e biópsia pulmonar colhidas em 18 eqüinos mantidos sob diferentes regimes de manejo.....	43
Tabela 4 – Características metabólicas de microrganismos bacterianos de amostras de lavado traqueobrônquico colhidas em 18 eqüinos mantidos sob diferentes regimes de manejo.....	45
Tabela 5 – Características metabólicas de microrganismos bacterianos isolados de biópsia pulmonar colhidas em 18 eqüinos mantidos sob diferentes regimes de manejo.....	47

Figura 1 – Perfil microbiológico de amostras de lavado traqueobrônquico colhidas em 18 equinos mantidos sob diferentes regimes de manejo.....	41
Figura 2 – Perfil microbiológico de amostras de biópsia pulmonar colhidas em 18 equinos mantidos sob diferentes regimes de manejo.....	42
Figura 3 – Características tintoriais de microrganismos bacterianos isolados de amostras de lavado traqueobrônquico e biópsia pulmonar colhidas em 18 equinos mantidos sob diferentes regimes de manejo.....	44
Figura 4 – Características metabólicas de microrganismos bacterianos de amostras de lavado traqueobrônquico colhidas em 18 equinos mantidos sob diferentes regimes de manejo.....	46
Figura 5 – Características metabólicas de microrganismos bacterianos isolados de amostras de biópsia pulmonar colhidas em 18 equinos mantidos sob diferentes regimes de manejo.....	48

1 Introdução

Diante das diversas finalidades criatórias de eqüinos, a utilização em práticas esportivas pode ser considerada aquela que mais se destaca. Devido a esta tendência, inúmeros estudos vêm sendo desenvolvidos com o intuito de incrementar o desempenho dos eqüinos nas provas a que são submetidos.

Porém, é fato que o desempenho atlético dos cavalos é produto de uma combinação de vários fatores. Segundo Rose e Hodgson (1994), “o sucesso dos eqüinos atletas deve-se a uma complexa interação entre diversos sistemas orgânicos, dentre eles o sistema respiratório”.

A capacidade respiratória tem grande importância em cavalos atletas e sua redução promove um declínio significativo no desempenho do animal em provas. As principais causas desta redução são os processos inflamatórios e/ou infecciosos, comuns em locais onde há aglomeração de eqüinos e em animais submetidos a transportes prolongados, principais condições às quais os atletas estão sujeitos.

Reduzir a incidência destas afecções ou estabelecer protocolos terapêuticos eficientes e precoces é de fundamental importância. Desta forma, faz-se necessário um diagnóstico preciso, o qual pode ser alcançado por meio de várias técnicas.

Nas últimas duas décadas houve um rápido aumento na compreensão das doenças pulmonares em eqüinos, primeiramente com os avanços na imunologia e virologia, na introdução da broncoscopia e, em menor extensão, nos testes de função pulmonar (DIXON, 1997).

Apesar das técnicas de diagnóstico por imagem serem úteis na localização do processo clínico, nem sempre fornecem um diagnóstico etiológico (ETTINGER; FELDMAN, 1995). Análises de amostras colhidas do trato respiratório inferior (TRI) são importantes na pesquisa etiológica (NELSON; COUTO, 1998). A avaliação microbiológica do TRI pode auxiliar no estabelecimento da etiologia (ETTINGER;

FELDMAN, 1995), na compreensão do mecanismo da doença e determinação da existência ou não de processos infecciosos (COLLEGE OF VETERINARY MEDICINE, CVM, 2003), fornecendo direcionamento na terapia a ser instituída (HAWKINS, 1995).

O conhecimento da microbiota traqueal de eqüinos híidos permitirá saber quais as espécies bacterianas de maior importância e seu potencial em causar pneumonia. Os estudos comparativos das diferentes populações bacterianas presentes no lume traqueal de eqüinos, consubstanciados com as diferentes características do manejo de estabulação, permitirão prever quais situações oferecem maior risco ao desenvolvimento de infecções pulmonares bacterianas.

O lavado traqueobrônquico é comumente utilizado na rotina clínica para obtenção de fluidos presentes no TRI de eqüinos com problemas respiratórios. Comparações desta técnica com a biopsia pulmonar permitirão avaliar quais as diferentes situações onde poderão ser solicitadas e aplicadas. Entretanto, para que se obtenha sucesso com protocolos terapêuticos é indispensável o conhecimento prévio dos microrganismos encontrados no TRI dos eqüinos.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar qualitativamente a microbiota pulmonar e traqueobrônquica por meio de técnicas de biopsia pulmonar e lavado traqueobrônquico em eqüinos híidos submetidos a diferentes regimes de estabulação.

2 Revisão de Literatura

2.1 Lavado Traqueobrônquico

O lavado traqueobrônquico transtraqueal para exames bacteriológicos é considerado uma das técnicas mais acuradas para obter espécimes de secreção respiratória para exames microbiológicos (DIXON, 1997). Esta técnica permite avaliar qualitativamente a microbiota traqueal de animais domésticos, não sendo indicada para quantificar microrganismos nos lavados traqueobrônquicos, pois a injeção de líquidos no lume traqueal pode diluir o muco e mascarar a real concentração de bactérias existentes na traquéia (HEWSON; VIEL, 2002).

A análise do fluido de lavados traqueobrônquicos, de eqüinos clinicamente saudáveis, demonstra presença de macrófagos, hemosideróforos, células gigantes, neutrófilos, linfócitos e eosinófilos (CHRISTLEY, et al., 1999). Os tipos celulares predominantes, em cavalos adultos, são macrófagos e linfócitos (cerca de 60 e 30%, respectivamente), já em potros, a situação é distinta, pois aproximadamente 80 a 90% das células recuperadas inicialmente são macrófagos alveolares (SPEIRS, 1999).

Na avaliação citológica de lavados traqueobrônquicos de eqüinos hígidos, muco, grandes esporos e hifas fúngicas podem ser encontrados, porém, devido à forma de obtenção, utilizando solução fisiológica, a contagem de células do lavado traqueobrônquico fica prejudicada, embora seja de grande utilidade às características de celularidade (SWEENEY, 1996).

Os processos inflamatórios agudos apresentam, no fluido traqueal, aumento de mais de 40% na proporção relativa de neutrófilos; em bronquites crônicas, o aumento de macrófagos é característico, enquanto que elevação na contagem de eosinófilos (>75%) sugere bronquite alérgica. Observa-se que alterações na

aparência dos neutrófilos, evidenciadas por mudanças no aspecto do núcleo, são utilizadas para determinar se há ou não processo infeccioso (BAIN, 1997).

A análise do fluido traqueal de eqüinos com doenças pulmonares crônicas demonstra grande quantidade de neutrófilos e células epiteliais, reduzido número de macrófagos e linfócitos, e raros eosinófilos (DERKSEN, et al., 1989).

De acordo com Christley et al. (1999), existe uma correlação positiva entre a descamação de células epiteliais da traquéia e o número total de bactérias encontradas em lavados traqueobrônquicos de eqüinos.

Raidal et al. (1997), avaliando o efeito do transporte em eqüinos, relataram que imediatamente após o transporte, a celularidade e a presença de muco no lavado traqueobrônquico aumentaram significativamente, com destaque para os macrófagos alveolares.

Estudando o efeito do confinamento em eqüinos, Raidal et al. (1995), não observaram alterações significantes sobre as características do fluido traqueal, que variou de transparente a cinza claro com pequena quantidade de muco em amostras coletadas após 24 horas de estabulação, as células encontradas em maior quantidade foram do epitélio respiratório e macrófagos alveolares. Racklyeft; Love (1990), em pesquisa semelhante, afirmaram que em alguns animais o lavado traqueobrônquico mostrou-se opaco e cremoso, com os neutrófilos representando 80% da celularidade.

O posicionamento da cabeça é fator importante na instalação de quadros pneumônicos. Raidal et al. (1995), relataram que a manutenção da cabeça elevada promoveu aumento da turbidez e viscosidade das amostras de lavados traqueobrônquicos, onde os neutrófilos chegaram a representar cerca de 85% das células totais.

2.2 Biopsia Pulmonar

Uma técnica pouco utilizada para avaliar pneumonias bacterianas em eqüinos é a análise microbiológica de fragmentos dos tecidos pulmonares colhidos por biópsia. Esta técnica é considerada útil nos casos de pneumonias difusas (MANSMANN; KNIGHT, 1972) e até pneumonias focais (RILEY, et al., 1992).

Biópsia pulmonar via endoscópio e biópsia percutânea são as técnicas mais amplamente utilizadas para conseguir um diagnóstico citológico ou histológico preciso de câncer de pulmão (LAURENT, et al, 2003). Segundo Niden e Salem (1997), “a biópsia pulmonar percutânea é mais eficiente que a realizada por endoscópio, pois propicia a obtenção de uma amostra mais adequada de tecido e possui baixos índices de mortalidade e complicações”.

A broncopneumonia é sem dúvida a forma mais comum de pneumonia dos animais domésticos, e nos estágios iniciais pode-se observar hiperemia, edema e acúmulo de neutrófilos e macrófagos alveolares nos espaços broncoalveolares. Na broncopneumonia supurativa, ocorre um predomínio de neutrófilos no exsudato inflamatório, enquanto que, na broncopneumonia fibrinosa há o predomínio de fibrina (LÓPEZ,1998; JONES et al, 2000).

As alterações microscópicas observadas em eqüinos com hemorragia pulmonar induzida por exercício, consistem de ruptura da parede alveolar com conseqüente hemorragia, macrófagos contendo hemossiderina no lume alveolar e discreta fibrose intersticial (JONES; et al, 2000). Na doença pulmonar obstrutiva crônica, as principais alterações microscópicas incluem a metaplasia de células caliciformes, acúmulo de eosinófilos e hipertrofia da musculatura lisa ao redor das

vias aéreas. Nos casos graves o acúmulo de muco pode levar ao tamponamento das vias aéreas de pequeno calibre, culminando com enfisema alveolar (LÓPEZ, 1998).

As alterações teciduais pulmonares irão variar conforme o grau de lesão, com a extensão e com o agente que as causou. De acordo com López (1998), o tamanho da partícula é de grande importância na doença pulmonar. Tizard (2000) comenta que partículas com 10, 5 e 1 μm , atingem os brônquios, bronquíolos e alvéolos respectivamente. Quando o animal se encontra hígido os microrganismos que entram em contato com o tecido pulmonar, são rapidamente eliminados pelo sistema de defesa tecidual. Cheville (1980) relata que 85% dos microrganismos que chegam ao pulmão são eliminados após quatro horas.

2.3 Microbiota bacteriana do TRI de eqüinos

Na traquéia de eqüinos pode-se encontrar diversas espécies bacterianas. Cujos crescimento e isolamento podem ser influenciado pelo “habitat” do animal, a raça e a contaminação ambiental (MANSMANN; STROUSS, 1976; LAVOIE et al., 1994).

A identificação de múltiplas espécies bacterianas no lume traqueal eqüino, nos casos em que o animal apresenta quadro compatível com pneumonia, pode dificultar a identificação de qual espécie é responsável pela enfermidade (RACKLYEFT; LOVE, 2000).

A quantidade de bactérias presentes no lume traqueal dos eqüinos varia de zero a $2,43 \times 10^3$ unidades formadoras de colônia (UFC) por mL de lavado (RAIDAL et al., 1995). Uma quantidade maior que 10^6 UFC é indicativa de infecção bacteriana, principalmente se esta contagem for de um único microrganismo (MO), enquanto

isolamento menor que 10^4 UFC/mL pode não ter significado clínico, especialmente se for composto por vários microrganismos (DIXON, 1997).

Entretanto esta densidade aumenta significativamente em situações que possam comprometer os mecanismos de depuração traqueal e fatores estressantes, como por exemplo, a permanência de eqüinos com a cabeça elevada por períodos superiores a 24-48 horas, o que leva ao prejuízo dos mecanismos de depuração microbiana, pois as bactérias presentes no lume traqueal apresentam um aumento significativo na sua população (RACKLYYEFT; LOVE, 1990). Outras pesquisas detectaram associação significativa entre contagens bacterianas acima de 10^3 UFC no lume traqueal e presença de tosse em cavalos de corrida (CHRISTLEY, et al., 2001).

Uma elevação nas contagens de microrganismos no lume traqueal não resulta necessariamente em quadros clínicos de infecção respiratória ou alterações em leucogramas (RACKLYYEFT; LOVE, 1990). O conhecimento da microbiota pulmonar e traqueal permite fazer hipóteses sobre o potencial patogênico de microrganismos, ora presentes como saprofíticos, e que podem ter algum potencial patogênico no momento em que o animal sofrer um estresse ou um desequilíbrio orgânico (LAMBOTTE, et al., 2002).

Os microrganismos que afetam o trato respiratório dos eqüinos podem ser oriundos de fontes exógenas, mediante o convívio com animais portadores, e a partir de fontes endógenas, como os microrganismos que habitam a orofaringe. As bactérias da orofaringe podem contaminar o lume traqueal e subseqüentemente, os pulmões, estabelecendo quadros de pneumonia e/ou pleuropneumonia (RAIDAL, et al., 1995).

Os processos infecciosos do trato respiratório dos eqüinos são enfermidades provocadas, principalmente, por vírus e bactérias, sendo comuns em animais submetidos a transporte prolongado, ou que permanecem em contato direto com animais portadores de microrganismos patogênicos durante treinos esportivos (WILKINS, 2003). E o tratamento destas afecções deve ser feito rapidamente para que se tenha um bom prognóstico (RAKLYEFT; LOVE, 2000).

Os fatores que contribuem para que microrganismos da orofaringe se multipliquem e causem quadros pneumônicos podem estar relacionados ao manejo do animal, como por exemplo, o local onde ele é mantido. Fatores individuais, como a imunidade, também são importantes, principalmente aqueles que interfiram nos mecanismos de defesa específicos e inespecíficos, presentes no lume traqueal. Quando há a incapacidade de eqüinos responderem efetivamente frente a infecções bacterianas, a microbiota orofaríngea pode infectar o trato respiratório (CHRISTLEY et al., 1999). Um exemplo disso são as infecções pulmonares por *Streptococcus zooepidemicus*, comuns em animais submetidos ao estresse de transporte, em consequência da imunossupressão (OIKAWA, et al., 1995).

Outras situações, como as que permitam que os eqüinos permaneçam longo tempo com a cabeça erguida, podem levar à contaminação traqueal por aspiração de bactérias da orofaringe (RAIDAL, et al., 1997). Outro fator considerado importante é o exercício físico intenso, que pode exacerbar clinicamente processos infecciosos pulmonares previamente estabelecidos, o que já foi observado em infecções pelo vírus da influenza (GROSS, et al., 1998). O exercício afeta eqüinos com histórico de infecções pulmonares progressas, levando ao recrudescimento dos quadros infecciosos (FREEMAN, et al., 1993).

Para avaliar a microbiota bacteriana traqueal eqüina, a técnica de lavado traqueobrônquico transtraqueal é considerada eficiente (MANSMANN; KNIGHT, 1972). O lavado traqueobrônquico é considerado um teste sensível, mesmo na presença de lesões abscedantes piogranulomatosas pulmonares causadas por bactérias como o *Rhodococcus equi* (LAVOIE, et al., 1994). O lavado permite analisar a presença de bactérias no lume traqueal por exames bacteriológicos e características citológicas dos espécimes colhidos, sendo a utilização concomitante destes exames, uma técnica mais sensível que a avaliação clínica para diagnóstico das pneumonias eqüinas (FREEMAN, et al., 1993).

Entre as bactérias aeróbias isoladas do lume traqueal eqüino, alguns gêneros são citados com freqüência, como *Streptococcus* alfa e beta-hemolítico, *Pasteurella multocida*, *Mannheimia haemolítica*, *Actinobacillus sp*, *Bacillus sp*, actinomicetos, *Micrococcus sp*, *Staphylococcus sp*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter sp*, *Proteus sp*, *Bordetella sp*, *Pseudomonas sp* (DARIEN, et al., 1990; RAIDAL, et al., 1997) e *Rhodococcus equi* (LAVOIE, et al., 1994).

O *Streptococcus* beta-hemolítico, um dos gêneros mais freqüentes nas pneumonias (DARIEN, et al., 1990), é considerado importante na patogênese das infecções respiratórias de eqüinos.

3 Material e Métodos

3.1 População estudada

- O estudo foi realizado em Presidente Prudente – SP, no período de 25 de janeiro a 15 de fevereiro de 2006.

- Os animais avaliados foram eqüinos machos da raça Quarto-de-Milha, com média de idade de oito anos (variando de 5 a 15 anos).

- O perfil atlético dos animais era de competidores de prova de tambor, com treinamento diário em dois períodos, manhã (aquecimento e alongamento) e tarde (treinamento funcional)

- Grupo1 (G1) composto por 9 animais: mantidos em regime extensivo, permanecendo em piquete e saindo apenas para o treinamento;

- Grupo 2 (G2) composto por 9 animais: mantidos e em regime intensivo permanecendo em baia e saindo apenas para o treinamento.

Os animais foram alimentados durante o experimento com ração comercial, feno de “coast-cross” e suplemento mineral.

3.2 Exame Clínico Pré-Colheita

A avaliação clínica foi realizada de acordo com o protocolo estabelecido no Serviço de Clínica e Cirurgia de Grandes Animais da Universidade do Oeste Paulista, UNOESTE, conforme descrito por SPEIRS (1999).

- Inspeção da mucosa oral, ocular e nasal, avaliando coloração e tempo de preenchimento capilar;
 - Presença ou ausência de corrimento nasal;
 - Palpação dos linfonodos submandibulares e pré-escapulares;
 - Auscultação da traquéia e pulmões;
 - Percussão da área pulmonar e seios nasais;
 - Mensuração das freqüências respiratória e cardíaca;
 - Aferição da temperatura retal.
-

3.3 Exames Laboratoriais

3.3.1 Hemograma

Para confirmar o estado de higidez dos animais, amostras de sangue foram colhidas em três momentos:

- Momento zero: 7 dias antes das colheitas do lavado traqueobrônquico e biopsia pulmonar;
- Momento 1: no dia das colheitas;
- Momento 2: 7 dias após as colheitas.

As amostras sanguíneas foram obtidas por meio de venopunção jugular, utilizando agulhas para coleta múltipla, de calibre 25x8, acoplada a tubos de coleta Vacutainer (com ácido etilenodiaminotetraacético – E.D.T.A.) com capacidade para 4,5 ml. Estas amostras foram utilizadas para realização do hemograma, utilizando contador automático de células. As dosagens de proteína total e fibrinogênio foram realizadas pelo método indireto de precipitação pelo calor (56°C), e as leituras foram feitas por refratômetro de Abbe (KANEKO, et al., 1989; JAIN, 1993).

3.3.2 Lavado traqueobrônquico

A técnica utilizada para realização do lavado foi a transtraqueal conforme descrição de Orsini; Kreuder (2000). Uma área (10 cm²) da pele, localizada no terço médio da traquéia foi cirurgicamente preparada e realizada antissepsia com iodo povidine degermante, iodo povidine tópico e álcool etílico 70%. Uma seringa de 60 mL, contendo 40 mL de solução fisiológica (NaCl 0,9%), foi acoplada a um cateter

tipo Intracath de 14G x 30 cm, que foi introduzido na traquéia e dirigido no sentido da carina . Em seguida, inoculou-se todo conteúdo da seringa e rapidamente aspirou-se obtendo o lavado traqueobrônquico, que foi encaminhado para análise microbiológica no Laboratório do Hospital Veterinário da Unoeste.

3.3.3 Biopsia pulmonar

O procedimento foi realizado conforme a técnica de biopsia percutânea descrita por Speirs (1999) e Raphael; Gunson (1981), com algumas modificações.

Uma área (10 cm²) de pele, localizada no sétimo ou oitavo espaço intercostal e 8 cm acima de uma linha horizontal que passa pela articulação escapulo-umeral, foi preparada com antissepsia rigorosa com iodo povidine degermante, iodo povidine tópico e álcool etílico 70%, após prévio botão anestésico com 5 mL de cloridrato de lidocaína sem vasoconstrictor. Em seguida, uma agulha 30 x 22 mm, que funcionou como mandril, foi introduzida na pele e musculatura intercostal para que não houvesse fricção da agulha de biopsia com a pele e musculatura. Posteriormente, a agulha de biopsia tipo Tru-cut semi-automática, foi introduzida na cavidade torácica, penetrando o pulmão e sendo acionada em seguida, o que permitiu a colheita da biopsia. Realizou-se este procedimento em cada pulmão dos animais selecionados, sendo os fragmentos encaminhados para análise microbiológica no Laboratório do Hospital Veterinário da Unoeste.

3.3.4 Análise bacteriológica

- **Cultura do lavado traqueobrônquico**

Para avaliar a presença de bactérias viáveis no lume traqueal, as amostras de lavado foram semeadas por plaqueamento diferencial em três placas contendo ágar-sangue enriquecido com 10% de sangue ovino desfibrinado e três placas contendo ágar MacConkey. As placas semeadas foram divididas equitativamente para serem incubadas em aerobiose, anaerobiose e microaerofilia a 37°C por 72 horas. As colônias bacterianas isoladas classificadas segundo suas características morfo-tinturiais e bioquímicas (QUINN, et al., 1994).

- **Cultura de biopsia pulmonar**

As amostras de biopsia pulmonar foram semeadas em tubos contendo caldo cérebro-coração. Os tubos semeados foram incubados em aerobiose, anaerobiose e microaerofilia por dois a sete dias na temperatura de 37° C. Dos caldos que apresentaram turvação evidente, retirou-se uma pequena alíquota que foi semeada por esgotamento em uma placa de Petri contendo ágar-sangue e outra contendo ágar MacConkey. As colônias isoladas foram analisadas quanto a suas características morfo-tinturiais e bioquímicas, permitindo sua classificação (QUINN et al., 1994).

4 Resultados

Os resultados das culturas microbiológicas dos lavados traqueobrônquicos de equinos sadios mantidos em regime extensivo e intensivo estão presentes nas tabela 1 e figura 1.

Os resultados das culturas microbiológicas das biopsias de pulmão de equinos sadios mantidos em regime extensivo e intensivo estão presentes nas tabela 2 e figura 2.

Os resultados relacionados com as características tinturiais de microrganismos bacterianos isolados de amostras de lavado traqueobrônquico e biopsia pulmonar colhidas de equinos mantidos sob diferentes regimes de manejo estão presentes nas tabela 3 e figura 3.

Os resultados relacionados com as características metabólicas de microrganismos bacterianos de amostras de lavado traqueobrônquico e biopsia pulmonar colhidas em 18 equinos mantidos sob diferentes regimes de manejo estão nas tabela 4 e figura 4 e tabela 5 e figura 5.

Tabela 1 - Perfil microbiológico de amostras de lavado traqueobrônquico colhidas em 18 equinos (G1 e G2) mantidos sob regime extensivo e estabulado.

Microorganismo	Animais a Pasto (n=9)			Animais Estabulados (n=9)			Total (n=18)		
	n	%TM	%TA	n	%TM	%TA	n	%TM	%TA
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	0	0,00	0	1	4,35	11,11	1	2,38	5,56
<i>Echerichia coli</i>	2	10,53	22,22	3	13,04	33,33	5	11,90	27,78
<i>Enterobacter agglomerans</i>	4	21,05	44,44	1	4,35	11,11	5	11,90	27,78
<i>Enterobacter cloacae</i>	0	0,00	0	3	13,04	33,33	3	7,14	16,67
<i>Enterobacter spp</i>	0	0,00	0	1	4,35	11,11	1	2,38	5,56
<i>Enterococcus faecium</i>	0	0,00	0	1	4,35	11,11	1	2,38	5,56
<i>Hafnia alvei</i>	4	21,05	44,44	2	8,70	22,22	6	14,29	33,33
<i>Pasteurella spp</i>	1	5,26	11,11	3	13,04	33,33	4	9,52	22,22
<i>Shigella spp</i>	2	10,53	22,22	0	0,00	0	2	4,76	11,11
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	5,26	11,11	0	0,00	0	1	2,38	5,56
<i>Staphylococcus hominis</i>	0	0,00	0	1	4,35	11,11	1	2,38	5,56
<i>Staphylococcus spp</i>	1	5,26	11,11	0	0,00	0	1	2,38	5,56
<i>Streptococcus agalactiae</i>	2	10,53	22,22	0	0,00	0	2	4,76	11,11
<i>Micrococcus luteus</i>	2	10,53	22,22	1	4,35	11	3	7,14	16,67
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	0,00	0	2	8,70	22,22	2	4,76	11,11
<i>Staphylococcus alerttae</i>	0	0,00	0	4	17,39	44,44	4	9,52	22,22
Total	19			23			42		

% TM – porcentagem em relação ao número total de microrganismos isolados; %TA – porcentagem em relação ao número de isolamentos por animal.

Tabela 2 - Perfil microbiológico de amostras de biopsia pulmonar colhidas em 18 equinos (G1 e G2) mantidos sob regime extensivo e estabulado.

Microorganismo	Animais a Pasto (n=9)				Animais Estabulados (n=9)				Total (n=18)			
	n	%TM	%TA	n	%TM	%TA	n	%TM	%TA	n	%TM	%TA
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	0	0,00	0	1	5,56	11,11	1	2,86	11,11	1	2,86	5,56
<i>Echerichia coli</i>	0	0,00	0	1	5,56	11,11	1	2,86	11,11	1	2,86	5,56
<i>Enterobacter agglomerans</i>	3	17,65	33,33	0	0,00	0,00	3	8,57	0,00	3	8,57	16,67
<i>Enterobacter spp</i>	0	0,00	0	1	5,56	11,11	1	2,86	11,11	1	2,86	5,56
<i>Enterococcus avium</i>	0	0,00	0	1	5,56	11,11	1	2,86	11,11	1	2,86	5,56
<i>Enterococcus faecium</i>	0	0,00	0	1	5,56	11,11	1	2,86	11,11	1	2,86	5,56
<i>Lactococcus lactis</i>	0	0,00	0	1	5,56	11,11	1	2,86	11,11	1	2,86	5,56
<i>Pasteurella spp</i>	2	11,76	22,22	0	0,00	0,00	2	5,71	0,00	2	5,71	11,11
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	5,88	11,11	0	0,00	0,00	1	2,86	0,00	1	2,86	5,56
<i>Staphylococcus carnosus</i>	1	5,88	11,11	0	0,00	0,00	1	2,86	0,00	1	2,86	5,56
<i>Staphylococcus hominis</i>	3	17,65	33,33	0	0,00	0,00	3	8,57	0,00	3	8,57	16,67
<i>Staphylococcus hyicus</i>	0	0,00	0	1	5,56	11,11	1	2,86	11,11	1	2,86	5,56
<i>Staphylococcus spp</i>	0	0,00	0	2	11,11	22,22	2	5,71	22,22	2	5,71	11,11
<i>Streptococcus agalactiae</i>	0	0,00	0	1	5,56	11,11	1	2,86	11,11	1	2,86	5,56
<i>Streptococcus spp</i>	0	0,00	0	2	11,11	22,22	2	5,71	22,22	2	5,71	11,11
Complexo <i>Acinetobacter calcoaceticus-baumannii</i>	3	17,65	33	0	0,00	0	3	8,57	0	3	8,57	16,67
<i>Alcaligenes spp</i>	1	5,88	11	0	0,00	0	1	2,86	0	1	2,86	5,56
<i>Micrococcus luteus</i>	3	17,65	33	1	5,56	11	4	11,43	11	4	11,43	22,22
<i>Staphylococcus alerttae</i>	0	0,00	0,00	2	11,11	22	2	5,71	22	2	5,71	11,11
<i>Staphylococcus lentus</i>	0	0,00	0,00	1	5,56	11	1	2,86	11	1	2,86	5,56
Anaeróbio												
<i>Clostridium spp</i>	0	0,00	0	1	5,56	11,11	1	2,86	11,11	1	2,86	5,56
<i>Clostridium tetani</i>	0	0,00	0	1	5,56	11,11	1	2,86	11,11	1	2,86	5,56
TOTAL	17			18			35			35		

% TM – porcentagem em relação ao número total de microrganismos isolados; %TA – porcentagem em relação ao número de isolamentos por animal.

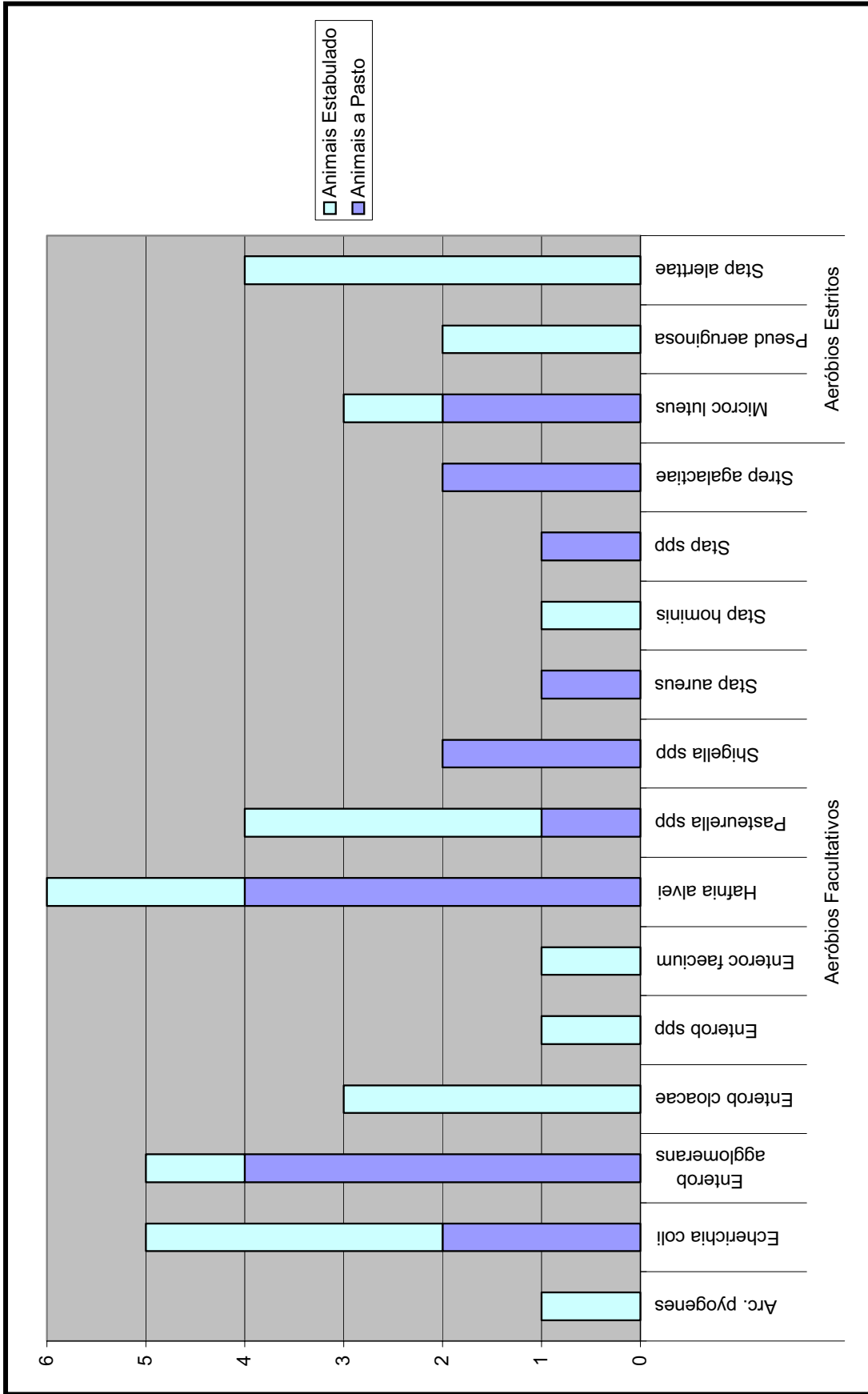


Figura 1 - Perfil microbiológico de amostras de lavado traqueobrônquico colhidas em 18 equinos (G1 e G2) mantidos sob regime extensivo e estabulado.

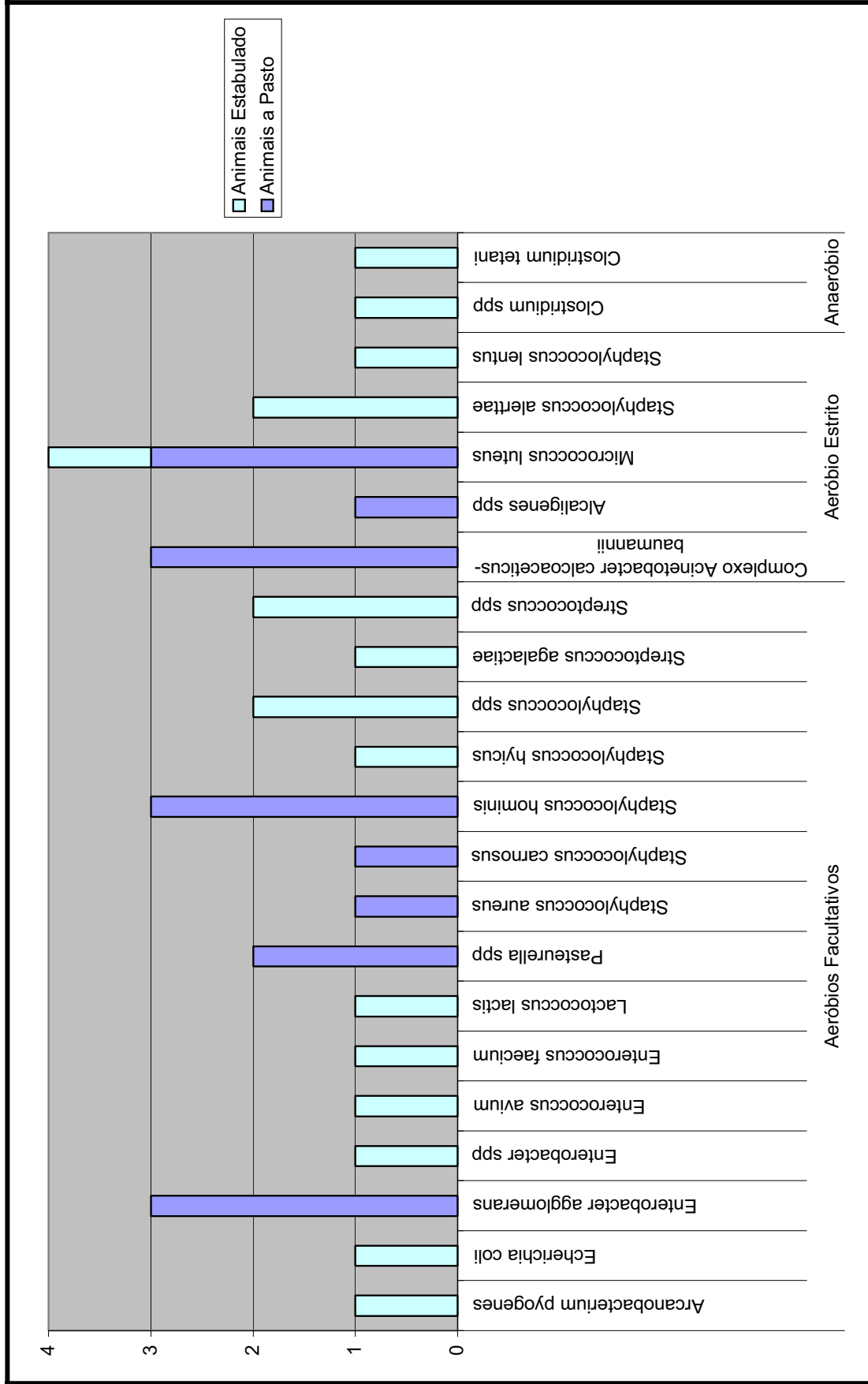


Figura 2 - Perfil microbiológico de amostras de biópsia pulmonar colhidas em 18 equinos (G1 e G2) mantidos sob regime extensivo e estabulado.

Tabela 3 – Características tintoriais de microrganismos bacterianos isolados de amostras de lavado traqueobrônquico(L) e biopsia pulmonar (B) colhidas em 18 equinos mantidos (G1 e G2) mantidos sob regime extensivo e estabulado.

	Isolamento Bacteriano				Total
	Animais a Pasto		Animais Estabulados		
	Biopsia	Lavado	Biopsia	Lavado	
<i>Gram +</i>	8	10	16	4	38
<i>Gram -</i>	9	13	2	15	39
Total	17	23	18	19	77

B – biopsia pulmonar; L – lavado traqueobrônquico

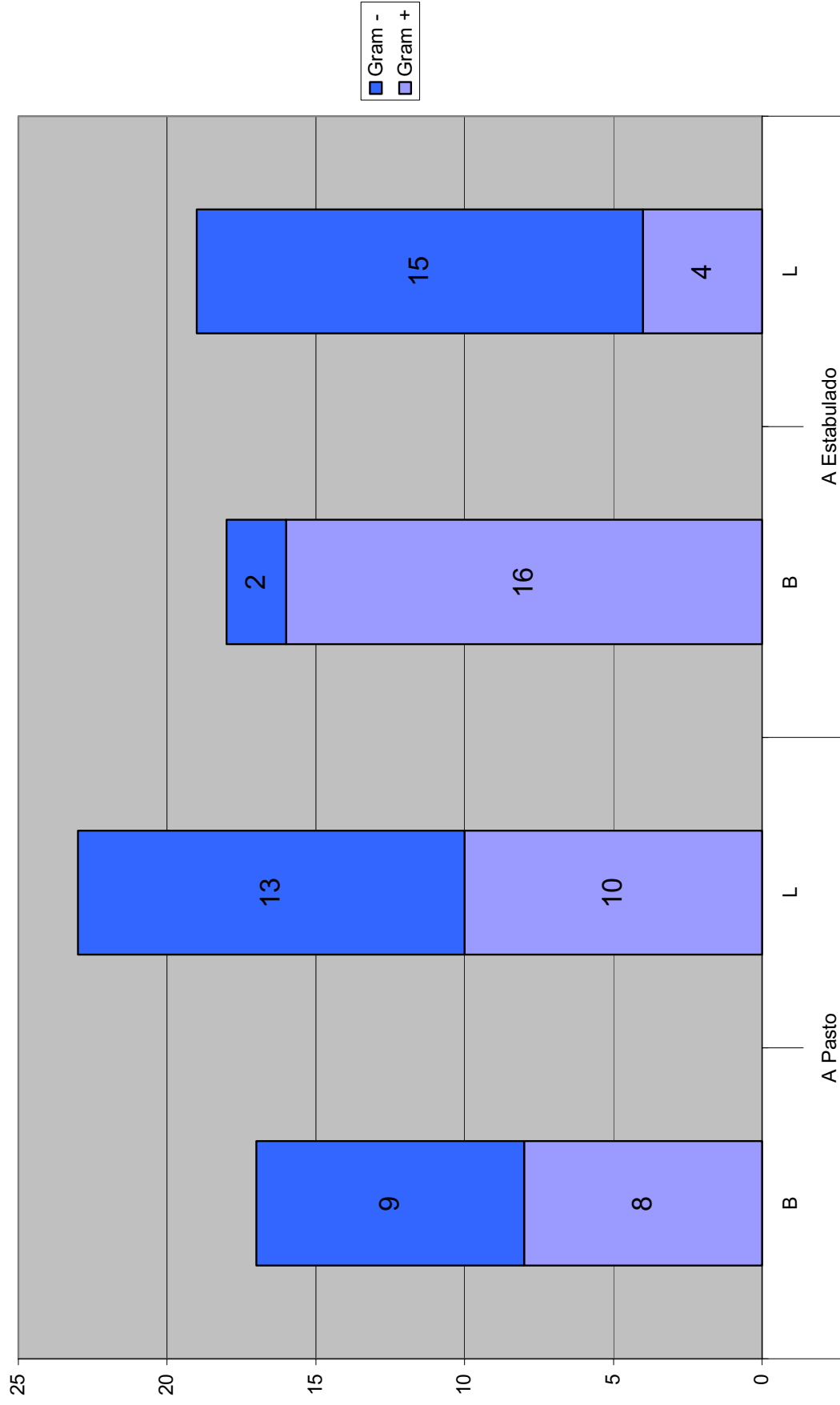


Figura 3 – Características tinturiais de microrganismos bacterianos isolados de amostras de lavado traqueobrônquico (L) e biopsia pulmonar (B) colhidas em 18 equinos (G1 e G2) mantidos sob regime extensivo e estabulado.

Tabela 4 – Características metabólicas de microrganismos bacterianos de amostras de lavado traqueobrônquico colhidas em 18 equinos (G1 e G2) mantidos sob regime extensivo e estabulado.

Microorganismo	Bactérias da Traquéia			Total (n=18)
	Animais a Pasto (n=9)	Animais Estabulados (n=9)	n	
Aeróbios Facultativos	17	16	n	33
Aeróbio Estrito	2	7	n	9
Anaeróbio	0	0	n	0
Total	19	23	n	42

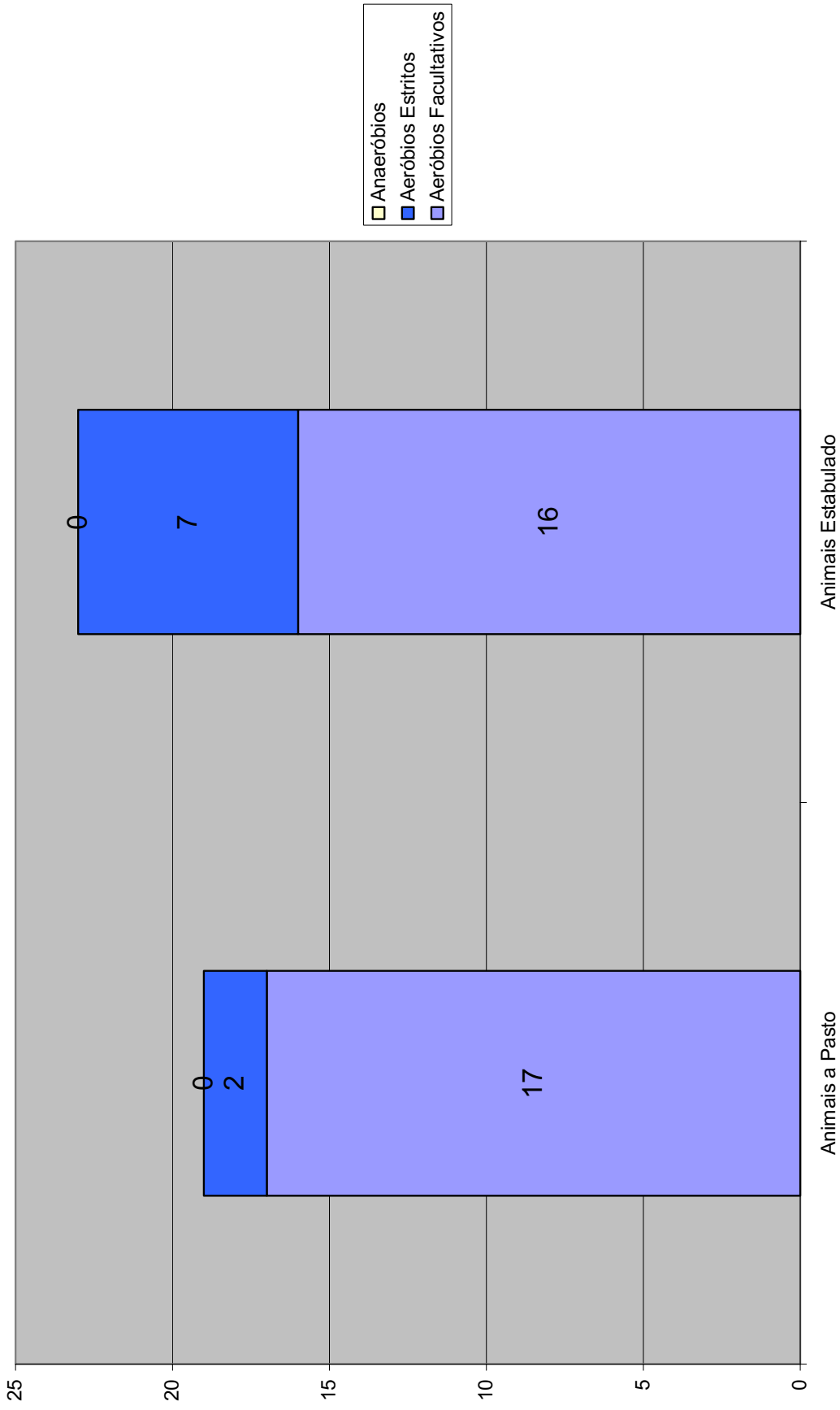


Figura 4 – Características metabólicas de microrganismos bacterianos de amostras de lavado traqueobrônquico colhidas em 18 equinos (G1 e G2) mantidos sob regime extensivo e estabelecido.

Tabela 5 – Características metabólicas de microrganismos bacterianos isolados de biopsia pulmonar colhidas em 18 equinos (G1 e G2) mantidos sob regime extensivo e estabulado.

Microorganismo	Bactérias do Pulmão		
	Animais a Pasto (n=9)	Animais Estabulados (n=9)	Total (n=18)
	n	n	n
<i>Aeróbios Facultativos</i>	10	12	22
<i>Aeróbio Estrito</i>	7	4	11
<i>Anaeróbio</i>	0	2	2
Total	17	18	35

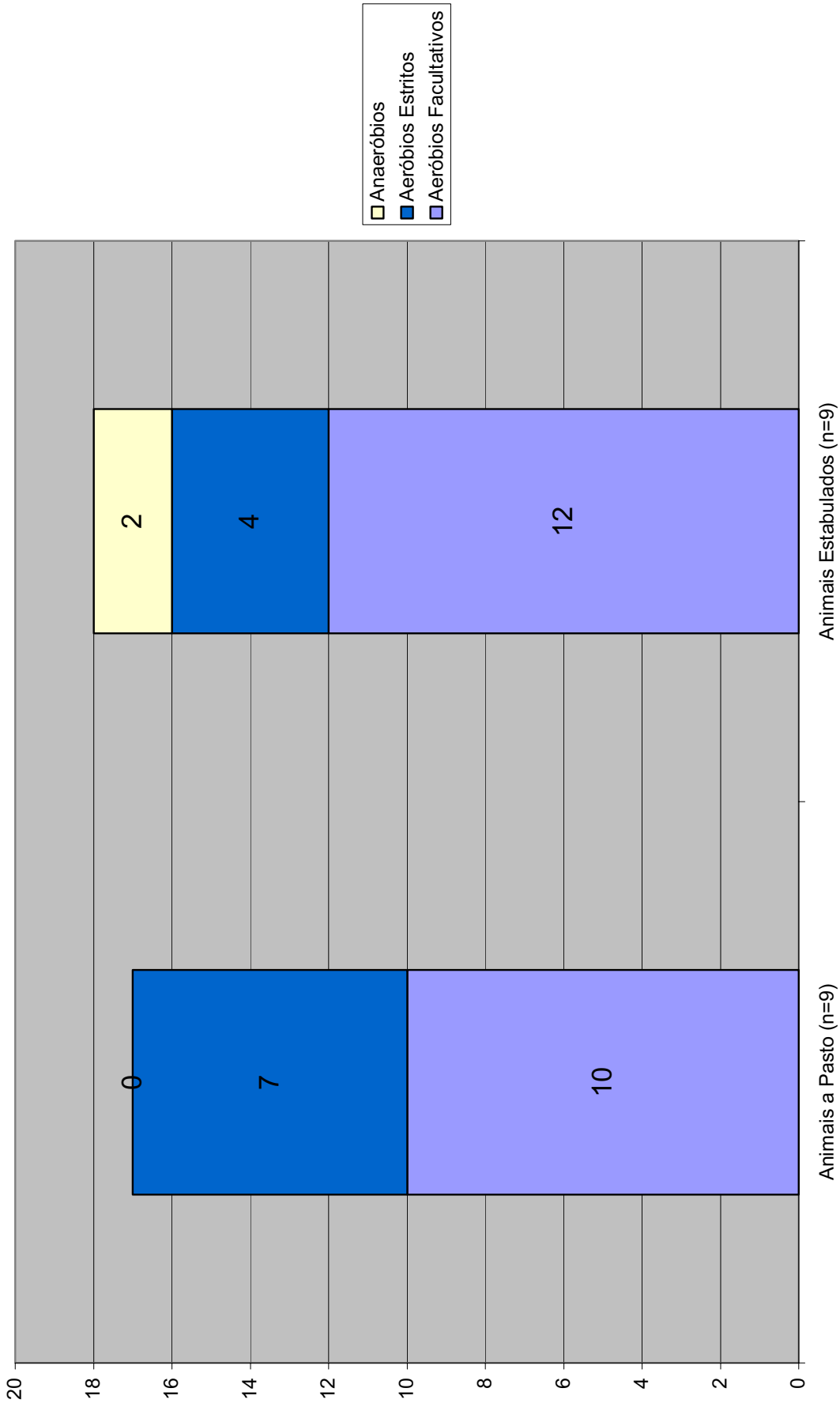


Figura 5 – Características metabólicas de bactérias isoladas de amostras de biópsia pulmonar colhidas em 18 equinos (G1 e G2) mantidos sob regime extensivo e estabelecido.

5 Discussão

5.1 Considerações sobre as técnicas de colheita empregadas

Os problemas pneumônicos de eqüinos estão entre as afecções mais freqüentes na clínica de eqüinos e os processos infecciosos são a segunda categoria mais freqüente de afecção pulmonar (DIXON et al., 1995).

Existem inúmeras espécies de microorganismos capazes de causar infecções pulmonares nos cavalos (RACKLYEFT; LOVE, 2000). Por estes motivos, considera-se que o conhecimento da biota do TR destes animais seja de suma importância para permitir uma análise mais acurada de resultados microbiológicos de amostras de lavados traqueobrônquicos e biopsias pulmonares colhidos para fim de diagnóstico.

O presente trabalho cumpriu os seus objetivos com relação ao isolamento e conhecimento de microrganismos do aparelho respiratório de eqüinos sadios por meio de técnicas de colheita de lavado traqueobrônquico e biopsia pulmonar e a comparação entre eles. Todos os cavalos utilizados neste experimento foram considerados hígidos com relação ao aparelho respiratório, pois não tinham sinais clínicos de afecções respiratórias, não apresentavam queda de desempenho e não apresentam alterações leucocitárias.

Não foram observadas complicações com as técnicas empregadas. A segurança das técnicas foi reforçada pela ausência de alterações hematológicas nos animais pesquisados, observadas nas leucometrias mensuradas sete dias depois da colheita, o que indica a ausência de complicações associadas as lesões produzidas durante a colheita. Isto condiz com trabalhos previamente descritos que referem apenas alterações autolimitantes após as colhietas de biopsias pulmonares (VIEL, 1980; RAFAEL; GUNSON, 1981).

As técnicas de colheitas de biopsias e lavados empregadas primaram por rigorosa antissepsia e obedeceram aos métodos tradicionalmente utilizados e com materiais estéreis, o que permitiu obter amostras as mais fidedignas possíveis. No entanto, devido as técnicas serem realizadas de forma percutânea, podem ocorrer contaminações (ROBERT, et al., 1992). As contaminações externas durante a colheita da biopsia pulmonar podem ocasionar resultados falso-positivos, caso técnicas de enriquecimento microbiológico sejam empregadas, como é o caso do presente trabalho. Estas técnicas permitem que os microrganismos possam se desenvolver em muitas fases logarítmicas quando os fragmentos de tecidos são inoculados em caldos de cultura, mesmo partindo-se de poucas células bacterianas (DAUR, et al, 2006). Apesar disto, os microrganismos isolados devem ser considerados na sua maioria como comensais do trato respiratório dos eqüinos, podendo compor parte de uma microbiota residente ou transitória.

Outra forma possível de contaminação nas amostras dos lavados traqueobrônquicos é a oriunda da orofaringe (CHRISTLEY, et al. 1999).

5.2 Análises dos resultados dos lavados traqueais

O lavado transtraqueal para exames bacteriológicos é considerado uma das técnicas mais acuradas para obter espécimes de secreção respiratória para exames microbiológicos (DIXON, 1997). Esta técnica permite avaliar qualitativamente a microbiota traqueal de animais domésticos, não sendo indicada para quantificar microrganismos nos lavados traqueobrônquicos, pois a injeção de líquidos no lume traqueal pode diluir o muco e mascarar a real concentração de bactérias existentes na traquéia (HEWSON; VIEL, 2002).

Todos os animais estudados apresentaram cultura positiva para pelo menos uma espécie bacteriana nos lavados traqueobrônquicos. Estes patamares são próximos aos níveis máximos observados por outros pesquisadores, que concluíram que 32% a 92% dos eqüinos apresentam o isolamento de pelo menos uma espécie bacteriana (NUYTEN, et al, 1983; CRANE, et al. 1989; HOFFMAN, 1993c; WHITWELL; GREET, 1982).

A proximidade do lume traqueal com sítios anatômicos que recebem um grande aporte de microrganismos de origem exógena ou endógena, como é o caso da nasofaringe e orofaringe dos eqüinos, é um dos fatores de maior contribuição para o isolamento de determinadas espécies bacterianas traqueobrônquicas. Soma-se a este fator a capacidade funcional dos mecanismos de depuração do trato respiratório anterior dos eqüinos de favorecer ou prejudicar a permanência das bactérias na traquéia.

As bactérias do gênero *Streptococcus* alfa-hemolítico, *Acinetobacter spp*, *Staphylococcus spp* e as enterobactérias são microrganismos típicos da nasofaringe do eqüino (DARIEN, et al., 1990). A observação destas espécies na traquéia dos cavalos do presente estudo reitera que a contigüidade anatômica com a nasofaringe é fator de importância para o isolamento destas bactérias na traquéia destes animais.

A microbiota traqueal observada no presente estudo (**tabela 1; figura 1**) é similar à encontrada por outros pesquisadores, que observaram a ocorrência de cocos gram-positivos e enterobactérias e algumas espécies de gram-negativos não-fermentadores da glicose. Em um estudo utilizando cateter endotraqueal revestido de proteção plástica para colher amostras de secreção traqueal, via endoscópio, em trinta pôneis, visando cultura microbiológica, foram observados como principais

microrganismos: *Actinobacilus equuli*, *Streptococcus zooepidemicus*, *Streptococcus equi*, *Pasteurella*, *Pseudomonas*, *Escherichia coli*, *Streptococcus* do grupo alfa-hemolítico, *Bacillus spp*, *Acinetobacter*, *Staphylococcus spp*, *Enterobacter spp* e *Moraxela spp*. Esse estudo sugere a predominância de bactérias gram-positivas na flora bacteriana traqueal de eqüinos normais, especialmente os do grupo *Streptococcus*. Entre os gram-negativos, o *Actinobacilus* e a *E. coli* predominam (DARIEN, et al., 1990).

Utilizando-se do lavado transtraqueal MANNSMAN(1976) isolou *Bacillus spp*, *Acinetobacter spp*, *Corynebacterium sp*, *Enterobacter spp*, *Flavobacterium spp*, *Klebsiella sp*, *Micrococcus sp*, *Pseudomonas sp*, *Serratia sp* *Staphylococcus sp*, *Streptococcus equi*, *Streptococcus spp* e *Nocardia sp*.

As diferenças ou similaridades observadas entre os isolamentos bacterianos traqueobrônquicos dos eqüinos da presente pesquisa e de outras são, em grande parte, devido a fatores externos que determinam suas composições, tais como ambiente em que o animal vive, manejo que é submetido, tipo de alimentação e fatores individuais.

Pela observação da **(tabela1; figura 1)**, nota-se que nos lavados, em quase 40% dos animais foram isolados grupos de cocos Gram-positivos, representados pelos gêneros *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus* e *Micrococcus*. Todos estes gêneros são relatados como causadores de pneumonia em eqüinos (RACKLYEFT; LOVE, 2000).

O gênero predominante entre os cocos Gram-positivos foi o *Staphylococcus*, representando 16% dos isolamentos. Este grupo de microrganismos já foi isolado em lavados traqueobrônquicos de eqüinos (DARIEN, et al., 1990). Dentre as espécies isoladas dos lavados, o *S. aureus* foi o único coagulase-positivo, em um

animal. Esta espécie de microrganismo já foi cultivada de processos pneumônicos de eqüinos com choque tóxico (HOLBROOK, et al., 2003), abscessos pulmonares (LAVOIE, et al., 1994) e botriomicoses pulmonares (MILLER, et al., 2001). O *S. aureus* pode ser um microrganismo importante do ponto de vista de saúde pública, uma vez que os eqüinos podem portar grupos altamente resistentes a antibióticos e transmiti-los a seres humanos (WEESE, et al., 2006).

As espécies de *Staphylococcus* coagulase-negativos já foram relatadas como causadoras de pneumonia de eqüinos (RACKLYEFT; LOVE, 2000). O significado de *S. alerttae* e *S. hominis* é incerto com relação ao seu potencial patogênico para o pulmão desta espécie.

O segundo grupo de cocos gram-positivos mais isolados foram os *Streptococcus*, presentes em 7% das amostras, do grupo A de Lancefield (*S. agalactiae*) e do grupo D (*Enterococcus faecium*), sendo isolados de dois e um animais respectivamente.

Os *Streptococcus* alfa-hemolítico podem ser isolados na região da nasofaringe dos eqüinos (DARIEN, et al., 1990), e provavelmente atingem a traquéia pela proximidade anatômica entre estes locais. São comuns no lúmen traqueal de eqüinos (CHRISTLEY, et al., 1999). A espécie alfa-hemolítica observada foi o *S. agalactiae*, um microrganismo comum nas superfícies corpóreas dos eqüinos (YILDIRIM, et al., 2002) e que apresenta algum potencial patogênico para pulmão (RACKLYEFT; LOVE, 2000).

Uma das espécies mais importantes de *Streptococcus* para eqüinos é o *S. zooepidemicus*, frequentemente isolada do lúmen traqueal de eqüinos sadios (DARIEN, et al., 1990). Apesar disto, ele não foi observado em nenhuma das amostras estudadas no presente trabalho e sua ausência pode significar que fatores

geográficos e ambientais influenciam na sua capacidade de infecção da população de eqüinos. O *S. zooepidemicus* é um dos agentes mais freqüentes no caso de pneumonia eqüina (DIXON, et al., 1995a) Ele tem sido reconhecido como um patógeno secundário a infecções virais do trato respiratório, (SARAZOLA, et al., 1992), mas também tem sido observado como agente primário de infecção pulmonar nesta espécie (VARMA, et al., 1984).

Os microrganismos da espécie *Micrococcus luteus* foram isolados em 7% das amostras de lavado traqueal. Este gênero de bactéria foi isolado da traquéia de eqüinos normais (MANSMANN, 1976) e raramente se comporta como agente de pneumonias.

Outro grupo de microrganismos observados foram os bastonetes Gram-negativos, especialmente os que pertencem à família *Enterobacteriaceae*, como é o caso de *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter ssp*, *Hafnia alvei*, *Escherichia coli* e *Shigella spp*. Eles provavelmente chegam ao terço final da traquéia através dos circuitos naturais de respiração do animal, levados pelo turbilhonamento do ar nas vias respiratórias, portanto, pode-se considerar comum o aparecimento de microrganismos do grupo dos coliformes fecais permanecendo de forma, ainda que transitória, no lume traqueal dos eqüinos.

Considerando-se este último grupo de microrganismos, destaca-se o gênero *Enterobacter*, sendo o agente predominante, pois foi isolado em 21% das amostras. Este gênero é comumente isolado na traquéia (DARIEN, et al., 1990) e nasofaringe eqüina (HOQUET, et al., 1985), porém pode ocasionar processos pneumônicos em cavalos (LAKRITZ, et al., 1993; FEY; SCHMID, 1995). O *Enterobacter* é possivelmente um agente oportunista nestas situações. Um dos fatores de patogenicidade importantes para esta espécie é a presença de cápsula de natureza

mucopolissacarídica e que em algumas situações permite à bactéria, resistir à fagocitose (PLATT, et al., 1976).

A espécie *Escherichia coli* pode estar comumente presente na traquéia de eqüinos sadios (MANNSMAN; STROUSS, 1976; DARIEN, et al., 1990). No presente trabalho foi isolada em 12% das análises. Como não foram testadas as suas características de patogenicidade, não é possível afirmar que sejam espécies patogênicas. Em geral os virotipos associados à capacidade de desencadear processos infecciosos extra-intestinais em animais são os necrotoxigênicos (POHL, et al., 1993). As pneumonias em eqüinos por esta espécie bacteriana podem ser severas (RAPHEL, et al., 1982) e assim como no caso do *Enterobacter*, a *Escherichia coli* pode atuar como oportunista (MAIR, 1996).

Hafnia alvei, isolada em 14% das amostras, raramente se comporta como patógeno para eqüinos e seu potencial como agente oportunista para pneumonias eqüinas é desconhecido.

Pode-se inferir que muitas das enterobactérias isoladas no presente trabalho devem ser originárias de porções mais altas do trato respiratório, como a nasofaringe e menos comumente da cavidade oral. Como predominam no intestino dos animais e no ambiente externo devem colonizar inicialmente estas porções mais altas, para posteriormente chegarem ao lume traqueal. Podem também ingressar diretamente na traquéia quando os animais fazem falsa-via com alimentos contendo estes microrganismos, pois alguns pesquisadores relatam que no lume traqueal é possível encontrar ingesta, especialmente durante o transporte dos animais em veículos (RACKLYEFT; LOVE, 1990).

Outra espécie Gram-negativa isolada de lavados traqueobrônquicos, em 9,5% das amostras, mas não pertencente a microbiota entérica dos animais é a

Pasteurella sp. Uma das espécies deste gênero, capaz de causar processos pneumônicos secundários em eqüinos submetidos a transporte prolongado, é a *P. caballi* (HAYAKAWA, et al., 1993) e possivelmente, representa um dos microrganismos com maior potencial para provocar infecções oportunistas (DARIEN, et al., 1990).

A observação de que cavalos que estão em constante treinamento, apresentam forte associação entre inflamação das vias respiratórias e a presença de microrganismos do grupo *Pasteurella*, reitera seu potencial oportunista (NEWTON, 1997). Isto ocorre por que a limpeza mucociliar pode ser prejudicada pela liberação de cortisol durante exercícios extenuantes realizados por cavalos. A inalação de partículas estranhas, ou hemorragia induzida por exercícios também podem prejudicar o mecanismo de depuração traqueal (THORNTON, 1985; NAYLOR; KENYON, 1981) e aumentar a probabilidade de multiplicação de *Pasteurella sp* no interior da traquéia.

Possivelmente os microrganismos observados no presente estudo, estão em condições de equilíbrio, ou seja, as populações se mantêm estáveis em reflexo aos mecanismos de depuração do trato respiratório dos eqüinos. As pneumonias dos animais devem se desenvolver, portanto, quando um microrganismo externo adentra no trato respiratório ou quando condições conseguem romper este mecanismo de equilíbrio (RACKLYEFT; LOVE, 2000).

O gênero de enterobactéria *Shigella sp*, isolada em 2% dos lavados traqueobrônquicos dos eqüinos deste trabalho, ressalta a hipótese de que parte dos microrganismos presentes na traquéia é oriunda de contaminação exógena. Não se deve fazer confusão com a espécie denominada anteriormente de *Shigella equuli*, agente comum em infecções de potros e, que foi renomeada para *Actinobacillus*

equulli (WOOD, et al., 2005). A *Shigella* sp isolada no presente trabalho é um componente da microbiota fecal. Sua significância e patogenicidade para o trato respiratório dos eqüinos são ainda desconhecidas.

Em 2% das amostras dos isolamentos dos lavados traqueobrônquicos foi observado o actinomiceto *Arcanobacterium pyogenes*. Esta espécie é responsável por diversas enfermidades de caráter supurativo em animais pecuários (JOST; BILLINGTON, 2005). Infecções respiratórias em eqüinos de caráter piogênico podem ser desencadeadas por esta bactéria (RACKLYEFT; LOVE, 2000).

O mais comum, é que quando o *Arcanobacterium pyogenes* provoca abscessos pulmonares, podem ser notadas elevações na contagem leucocitária dos animais, especificamente de neutrófilos, fato comum para infecções piogênicas (LAVOIE; et al., 1994). Como nenhum animal apresentava contagem leucocitária elevada, acredita-se que a presença desta espécie de bactéria, no animal do presente estudo seja apenas transitória neste sítio anatômico. Sua ocorrência na traquéia dos eqüinos estudados é indicativa de que os animais freqüentemente se expõem ao agente, mas não desenvolvem pneumonias, talvez pela necessidade da presença de fatores predisponentes.

O gênero *Pseudomonas* foi obtido em 5% das amostras. Esta bactéria está presente em diversas formas de infecções na espécie eqüina, sendo um agente comumente presente em matéria orgânica ambiental, inclusive água (PEROTTI, et al., 2005). Ela pode ser isolada da traquéia de eqüinos sadios (DARIEN, et al., 1990).

É possível que *Pseudomonas* sp tenha algum potencial patogênico, se conseguir infectar o pulmão quando fatores predisponentes estão presentes, sendo

especialmente perigosa por que é comumente resistente a muitos antimicrobianos (QUINN, et al., 2005).

Outro microrganismo comumente isolado de lavados traqueobrônquicos de eqüinos com ou sem processos infecciosos e que esteve ausente nos lavados traqueobrônquicos da presente pesquisa, é o *Actinobacillus equuli* e o *Streptococcus zooepidemicus* (WARD, et al., 1998). Sua presença no lume traqueal é associada a aumento do risco de infecções clínicas pulmonares em eqüinos (NEWTON, et al., 2003).

Observou-se nos lavados traqueobrônquicos predominância de microrganismos Gram-negativos sobre os Gram-positivos (**Tabela 3; Figura 3**). Este fato deve-se provavelmente aos microrganismos do ambiente externo, onde existem mais comumente Gram-negativos, devido às fezes dos animais.

A bacterioscopia de amostras de lavado traqueobrônquico permite observar a predominância de microrganismos gram-positivos ou gram-negativos, e assim fornecer informações essenciais para a escolha inicial de um antibiótico a ser empregado no tratamento (SELLON, 2001). Apesar de microrganismos Gram-positivos e Gram-negativos coexistirem em equilíbrio em diferentes sítios, não se recomenda a simples análise de colorações para determinar a etiologia de pneumonias bacterianas nos eqüinos, uma vez que ambos os grupos podem estar presentes. Somente com a observação na cultura de um único grupo de bactérias Gram-positivas ou Gram-negativas, é que se pode utilizar esse critério para instituição de antibioticoterapia (ORSINI; KREUDER, 2000; KR PAN, 1984).

Na presente pesquisa, os microrganismos aeróbios facultativos predominaram (**Tabela 4; Figura 4**) sobre os aeróbios estritos, o que condiz com outros pesquisadores (RACKLYEFT; LOVE, 1990; MANN SMAN; STROUSS, 1976).

Eles provavelmente possuem melhores condições de adaptação ao ambiente em que habitam saprofiticamente pela capacidade de modular seu metabolismo quando ocorrem tensões de oxigênio menores, o que possivelmente ocorre entre a mucosa traqueal e a camada de muco neste local. Podem ainda interagir com outros microrganismos de metabolismo diferente. Acredita-se, por exemplo, que quando aeróbios facultativos se multiplicam previamente no trato respiratório de eqüinos pode predispor a uma infecção pulmonar por microrganismos anaeróbios estritos (RACKLYEFT; LOVE, 1990), pois modificam o ambiente. São modificações ligadas ao potencial de óxido-redução local, entre outras, que podem providenciar um ambiente favorável à replicação e invasão por microrganismos anaeróbios (BROOK, 1986).

Os anaeróbios estritos não foram isolados da traquéia. Muitos destes microrganismos estão presentes como comensais nas criptas das tonsilas faríngeas (BAILEY, et al., 1991), possivelmente por que este ambiente favorece sua sobrevivência devido às baixas concentrações de oxigênio, sendo uma potencial fonte de contaminação do TR de equinos por microrganismos anaeróbios.

Como discutido anteriormente, os lavados transtraqueais são ferramentas importantes no diagnóstico das infecções pulmonares. Porém, é imperativo utilizar-se de bom senso na interpretação dos resultados das culturas microbiológicas, pois os resultados da presente pesquisa, permitem concluir que muitos agentes de potencial patogênico são isolados da traquéia de animais sadios. Em vista disso, apenas pode-se considerar o isolamento como referente a uma infecção pulmonar, quando os microrganismos são isolados em cultura pura ou em grandes quantidades (HEWSON; VIEL, 2002).

5.3 Resultados das análises de biópsia

Assim como observamos nos lavados traqueobrônquicos, nas biopsias analisadas não ocorreu crescimento bacteriano negativo. Os microrganismos do gênero *Staphylococcus* foram os mais isolados juntamente com os do grupo dos coliformes (**Tabela 2; Figura 2**).

No entanto, também não se deve assumir que o pulmão seja um órgão estéril. Ele deve, portanto, ser habitado de forma transitória por microrganismos de fontes endógenas e exógenas. Estudos baseados em culturas de fragmentos pulmonares de cavalos submetidos à necropsia, relatam à presença de *Staphylococcus* spp coagulase negativa, *E. coli*, *Bacillus* spp e *Pseudomonas* sp (BLUNDEN; MACKINTOSH, 1991).

Na presente pesquisa, colheu-se a biópsia das regiões pulmonares mais freqüentemente acometidas por processos pneumônicos, de origem aerógena, e portanto, pode-se supor que a técnica empregada seja válida para diagnosticar a maioria dos casos de pneumonia (HEWSON; VIEL, 2002).

Em ambas as situações, biópsia e lavado traqueal, observou-se um perfil similar de espécies isoladas (**Tabela 1; Tabela 2**), com ocorrência de cocos Gram-positivos, coliformes e gram-negativos não fermentadores da glicose em ambos. Não foi possível, pelo número de animais pesquisados, estabelecer comparações estatísticas fidedignas entre os grupos de animais.

A diferença principal entre o perfil microbiológico traqueal e pulmonar, nesta pesquisa, foi observada nas proporções de isolamentos de Gram-positivos e Gram-negativos. Na cultura de biópsia pulmonar dos animais testados houve predominância de Gram-positivos, e na dos lavados traqueobrônquicos, predominância de Gram-negativos (**Tabela 3; Figura 3**). Observou-se também nas

biopsias, o crescimento de alguns microrganismos anaeróbios estritos, como os pertencentes ao gênero *Clostridium* sp, ausentes nos lavados.

Não existem explicações plausíveis para estes dados e mais trabalhos devem ser feitos para determinar a localização dos microrganismos Gram-positivos e Gram-negativos no TR de eqüinos.

Em vista disso, a indicação das técnicas de biopsia para a avaliação microbiológica, ainda merece mais estudos para dimensionar sua real utilidade. No entanto, estas técnicas são de extrema importância no diagnóstico complementar à cultura de lavados traqueobrônquicos ou broncoalveolares, indicando alterações histopatológicas importantes que denotam processos pulmonares inflamatórios e/ou infecciosos, como também proporcionam comparação entre resultados microbiológicos da biopsia e do lavado traqueal.

A necropsia de animais com quadros pulmonares e a avaliação da localização das lesões nos pulmões, sugerem que muitos dos microrganismos penetram nos pulmões pelo simples efeito da gravidade, que consiste da aspiração de elementos para o interior dos bronquíolos terminais e alvéolos (DIXON, et al., 1995). Assim, na presente pesquisa, os microrganismos isolados das biopsias, excluindo-se contaminações de colheita, devem ter adentrado no pulmão desta forma.

Em relação aos cocos gram-positivos, observou-se a ocorrência do gênero *Staphylococcus* com bastante freqüência (31% das amostras), sendo obtidas duas espécies coagulase-positivas: *S. aureus* e *S. hycus*, ambos com potenciais patogênicos para desencadear processos pneumônicos (RACKLYEFT; LOVE, 2000). As outras espécies tidas como coagulase negativas, *S. carnosus*, *S. hominis*,

S. alerttae, conforme discutido anteriormente, têm menor potencial patogênico. O gênero *Micrococcus* também foi observado nos isolamentos.

Outros cocos Gram-positivos isolados foram os pertencentes a microbiota fecal (*Enterococcus*), obtidos em 6% das amostras pesquisadas. Isto indica que o pulmão pode se contaminar pelas via aérea anteriores, chegando esses microrganismos juntos até às vias aéreas de menor calibre podendo causar pneumonias e broncopneumonias. Este gênero não foi isolado dos lavados traqueobrônquicos, mas possui certo potencial patogênico para eqüinos, sendo relatado em infecções como pericardite (BOLIN, et al., 2005). Ele pode ser especialmente importante quando expressa múltipla resistência a agentes antimicrobianos (BOERLIN, et al., 2001).

O gênero *Lactococcus* é um coco Gram-positivo comumente presente em alimentos lácteos fermentados e que pode, em raríssimas vezes se comportar como microrganismmo oportunista em infecções em seres humanos (MOFREDJ; et al, 2007). Sua presença reitera a possibilidade de alimentos funcionarem como contaminantes do TR. No presente trabalho este gênero foi observado em 3% das amostras.

As espécies de Gram-negativos da microbiota fecal isoladas das amostras de biopsia foram *Escherichia coli* e *Enterobacter*, com 3% e 11% de isolamentos, respectivamente. Assim como nos lavados traqueobrônquicos, o gênero *Enterobacter* predominou sobre os outros.

Três espécies de não-fermentadoras da glicose foram obtidas: *Pasteurella* sp, *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* e *Alcaligenes* sp. *Pasteurella* sp foi o único agente isolado deste grupo, 6% dos isolamentos, assim como no lavado traqueal.

O gênero *Acinetobacter*, isolado em 8,5% das amostras desta pesquisa, pode ser isolado do lume traqueal de equinos sadios (RACKLYEFT; LOVE, 1990), e já foi isolado da cavidade nasal de animais com infecções do trato respiratório anterior (BOGUTA, et al, 2002). Sua importância, assim como no caso de *Alcaligenes* spp, também isolado do pulmão de um dos animais, reside no fato de serem agentes oportunistas que podem expressar múltipla resistência a agentes microbianos (MATHEWSON; SIMPSON, 1982; BOERLIN, et al., 2001).

A espécie *Arcanobacterium pyogenes* também foi isolada da biopsia pulmonar, em 3% das amostras. Conforme discutido anteriormente, ela possui potencial de provocar abscedações nos tecidos acometidos e sua capacidade de provocar pneumonias não deve ser desprezado.

Em 6% das culturas pulmonares avaliadas observou-se crescimento do microrganismo *Clostridium* sp, sendo que este gênero de anaeróbio estrito pode ser isolado do lúmen traqueal de equinos sadios (RACKLYEFT; LOVE, 1990). Como a maioria dos agentes causadores de pneumonias nos eqüinos são anaeróbios facultativos (RACKLYEFT; LOVE, 2000), os anaeróbios estritos não são comumente envolvidos em patologias pulmonares de potros (HOFFMAN, et al., 1993a).

O ingresso de microrganismos anaeróbios no TR de equinos pode ser favorecido pela proximidade anatômica com as tonsilas oro-faríngeas, que possuem em suas criptas ambiente propício para albergar microrganismos anaeróbios como *Fusobacterium* sp e *Clostridium* sp entre outros e de outros locais da boca, que recebe um grande aporte de microrganismos do ambiente (BAILEY, et al., 1991).

Destaca-se em especial o isolamento de *Clostridium tetani* de uma das amostras de biopsia pulmonar, agente identificado pela presença característica do

esporo terminal na célula, capaz de desencadear o tétano nas espécies de mamíferos (QUIN, et al., 2005). O *C. tetani* é comumente encontrado na microbiota fecal dos equinos, que o adquirem a partir do ambiente contaminado (WILKINS, et al., 1988), portanto, não é estranho que possam estar presentes no trato respiratório dos equinos, a exemplo de outros microrganismos entéricos. O potencial de provocar tétano caso se multiplique no pulmão dos animais é desconhecido, a despeito de teorias anedotárias sobre a ocorrência do chamado “tétano interno”, quando os microrganismos se multiplicariam no intestino e outros locais, sem que ocorressem lesões.

No presente estudo, a população mais prevalente nas biopsias pulmonares foram os anaeróbios facultativos (**Tabela 5; Figura 5**). Sua capacidade de adaptação, bem como seu potencial patogênico para o TR dos eqüinos já foi discutida no tópico anterior.

Os mecanismos de eliminação de microrganismos do pulmão e da traquéia diferem bastante. Enquanto na traquéia e brônquios há importante papel da presença do muco, onde as partículas estranhas aderem, e dos movimentos ciliares das células epiteliais, que retiram o material aderido para ser expelido, nas vias aéreas de menores calibres e nos alvéolos a forma mais importante de proteção é conferida pelos macrófagos alveolares, que eliminam partículas estranhas que ali possam adentrar (BASKERVILLE, 1981). Se estas diferenças de mecanismos de limpeza do aparelho respiratório influenciam na profundidade de penetração das bactérias, é assunto de novo estudo.

5.4 Comparação de resultados entre animais estabulados e a pasto

Tanto nas amostras de biopsia como nas de lavado traqueobrônquico dos animais pesquisados, observou-se maior número de espécies diferentes de bactérias nos estabulados, em relação aos que estavam a pasto, discordando de outras pesquisas que indicam que nos animais a pasto isola-se maior número de bactérias ambientais (SWEENEY; et al., 1985).

Isto pode significar que o local que o cavalo habita favorece mudanças nos padrões de infecção do trato respiratório. Estas mudanças podem ser norteadas por fatores tais como: exposição dos animais a diferentes concentrações de microrganismos ambientais, ambiente que gera estresse que é capaz de prejudicar mecanismos de depuração traqueal, poluição do ar e ventilação.

A exposição dos animais a diferentes concentrações de microrganismos presentes no ambiente pode gerar perfis microbiológicos diferentes na composição da microbiota traqueal. Apesar do gênero *Staphylococcus* predominar sobre os outros, observa-se que tanto nos animais estabulados quanto nos criados a pasto, ocorreu uma tendência à predominância de microrganismos Gram negativos nas amostras de biopsia e lavado traqueal, muitos destes comumente encontrados na microbiota fecal do animal. É possível que o micro-clima na baia influencie a quantidade de microrganismos fecais inalados pelo cavalo, uma vez que a ventilação é bem menor do que num ambiente aberto, como é o caso dos pastos. Além disto, nos pastos, o material fecal em geral, não se encontra concentrado, e sim disperso no ambiente e sofre ação de agravos ambientais, como por exemplo, radiação solar.

Um dos agentes que tem grande papel na ocorrência de aumento de microrganismos no trato respiratório é o estresse. Muitas das pneumonias dos eqüinos têm origem endógena, quando os agentes bacterianos isolados no TR sobrepõem os mecanismos de defesa modificados pela liberação endógena de corticóides pós-estresse e estabelecem infecções no local. Em alguns outros trabalhos demonstrou-se que o principal grupo de microrganismos que são identificados no pulmão de eqüinos após efeitos estressantes, como o transporte prolongado, são membros do grupo das enterobactérias (RAIDAL, et al., 1997b).

Sem dúvida fatores estressantes que reduzam os mecanismos de limpeza traqueobrônquicas, têm efeito exacerbador sobre o crescimento de microrganismos presentes na traquéia. Estudos demonstram que animais submetidos a condições estressantes têm em média, aumentos de quatro fases logarítmicas na quantidade de microrganismos no ambiente traqueal em um período de 24 horas (RAIDAL, et al., 1995).

O estresse por sua vez pode ser induzido por mudanças ambientais. Não é possível afirmarmos que os eqüinos estabulados no presente estudo estivessem em condições mais estressantes que os eqüinos que estavam a pasto, mas sem dúvida, os animais nas baias são expostos a um número maior de condições insalubres, tais como presença de material fecal e urina em um ambiente pequeno e proximidade com os tratadores que os manipulam com mais constância.

O acúmulo de gases poluentes como a amônia, hidrocarbonetos, dióxido de nitrogênio, monóxido de carbono, dióxido de enxofre e outros que podem estar em ambientes onde existam excesso de matéria orgânica, com é o caso das baias podem prejudicar a limpeza promovida pelo sistema muco-ciliar do trato respiratório (PICKRELL, 1991; ARTE, et al., 2002).

Deve-se levar em conta o ambiente em que o eqüino vive para interpretar de forma mais fidedigna resultados de análises microbiológicas (ARTE, et al., 2002). Ambientes estressantes, presença de matéria orgânica concentrada em ambientes e ventilação pobre podem modificar o perfil de microrganismos do TR de animais estabulados ou mesmo a pasto. Assim, o isolamento de microrganismos reconhecidamente saprofíticos com algum potencial patogênico pode representar infecções pulmonares subclínicas ou em processos iniciais.

5.5 Importância da microbiota do TR para o diagnóstico das pneumonias em eqüinos

A presença de inúmeras espécies de microrganismos, tanto no pulmão como na traquéia, indica que animais que sejam suspeitos de portarem afecções pulmonares devem ser examinados com relação ao lavado traqueobrônquico e biopsia pulmonar com muito cuidado. As culturas positivas devem ser analisadas conjuntamente com outros dados como histórico de fatores que possam predispor às pneumonias, exame clínico e avaliação hematológica e, se possível, radiografias pulmonares, identificar o problema e não só o isolamento de patógenos pulmonares.

Quando de posse dos resultados de uma avaliação microbiológica pulmonar, o clínico deve estar atento a informações sobre o crescimento do agente suspeito nos meios de cultura, tais como: ocorrência da bactéria em abundância ou escassez, utilização de técnicas de enriquecimento que podem promover super-crescimento bacteriano, a ocorrência de microrganismos em cultura pura ou mista e o potencial patogênico do agente isolado.

Existem diferenças geográficas com relação à expectativa de espécies bacterianas recuperadas de animais com pneumonias. Apesar disso, algumas

espécies como *Streptococcus zooepidemicus*, um Gram-positivo comumente causador de pneumonia em eqüinos, é um dos mais isolados nos quadros onde há patologias estabelecidas (HOFFMAN, et al., 1993a; LAVOIE, et al., 1991; LAVOIE et al, 1994; HOFFMAN, et al., 1993b; KOTERBA, 1990 ; LABONVILLE, et al., 2001 ; ANON, 1978). Também se deve dar destaque para o isolamento positivo de *Pasteurella* sp (WARD, et al., 1998; CHRISTLEY, et al., 2001).

Por outro lado os isolamentos de alguns microrganismos como *Staphylococcus* spp e *Acinetobacter* spp a partir de lavados traqueobrônquicos foram associados à diminuição do risco de aparecimento de sinais clínicos compatíveis com pneumonias em eqüinos (NEWTON et al., 2003). O papel protetor que as microbiotas de superfície exercem é bem conhecido no trato intestinal e na pele (CHILLER, et al., 2001; MAGALHAES, et al., 2007), sendo provável também que esteja presente no lumen traqueal. São necessárias, no entanto, mais pesquisas para comprovar sua real importância no TR.

Além de uma análise criteriosa do laudo microbiológico, o clínico deve estar atento para eventos que possam predispor às deficiências imunológicas ou estresse, culminando em pneumonias em cavalos, tais como: transporte, exercício extenuante, anestesia geral com decúbito prolongado, cirurgia do trato respiratório anterior, secreções respiratórias secundárias, trauma torácico penetrante, corpo estranho traqueobronquial, hemorragia pulmonar, tratamento com corticosteróides, condições impróprias de ventilação das baias, doenças debilitantes e septicemia (RACKLYEFT, et al., 2000).

Um dos fatores de destaque é o exercício extenuante, ou o exercício que o cavalo possa fazer de maneira a impulsionar por turbilhonamento do ar os microrganismos da orofaringe para as vias respiratórias posteriores (RACKLYEFT, et

al., 2000). Animais com este histórico devem ser avaliados com cuidado, pois podem ter aumento dos microrganismos presentes no lume traqueal, associado com pequenas hemorragias pulmonares, desencadeadas pelo esforço físico.

Eqüinos com doença crônica pulmonar, em particular, com doença obstrutiva, frequentemente têm grandes quantidades de bactérias gram-negativas no trato respiratório, normalmente acompanhado de secreção traqueal mucopurulenta (NUYTTEN, et al., 1983; DIXON, 1992; TRAUB-DARGATZ, et al., 1992). Entretanto, estas bactérias aparentemente são comensais sem grande significância e desaparecem quando a doença pulmonar é tratada (DIXON, 1992), embora às vezes seja necessário o uso de antibioticoterapia.

5 Conclusões

- As técnicas de lavado traqueobrônquico e biópsia pulmonar permitem avaliar qualitativamente a microbiota traqueal e pulmonar de equinos sadios;
 - O perfil microbiológico do trato respiratório posterior de equinos na presente pesquisa é composto por agentes gram-positivos, com destaque para o gênero *Staphylococcus* e por agentes gram-negativos, com destaque para o gênero *Enterococcus*;
 - Muitos dos agentes isolados do trato respiratório posterior de equinos sadios têm potencial patogênico para desencadear infecções, caso fatores prediponentes estejam presentes;
 - Animais estabulados possuem microbiota do trato respiratório posterior mais heterogênea do que animais a pasto;
 - Pelo fato de existir muitos agentes com potencial patogênico no trato respiratório posterior de equinos sadios, os resultados de exames microbiológicos, deste aparelho, com suspeita de infecção devem ser interpretados com cautela e consubstanciados com outros exames auxiliares.
-

Referências Bibliográficas

-
- ANON. Report of foal pneumonia panel (Part I). **J. Eq. Med. Surg.** 1978; 2:400-412.
- ARTE, T.; MCGORUM, B.C.; LEKEUX, P. Environmental Control of Respiratory Disease. In: **Equine Respiratory Diseases**, P. Lekeux (Ed.) Publisher: International Veterinary Information Service (www.ivis.org), Ithaca, New York, USA. (20-Mar-2002)
- BAILEY, G.D; LOVE, D.N. Oral associated bacterial infection in horses: studies on the normal anaerobic flora from the pharyngeal tonsillar surface and its association with lower respiratory tract and paraoral infections. **Vet. Microbiol.** 1991 Feb 15;26(4):367-79.
- BAIN, F.T. Cytology of the respiratory tract. **Veterinary clinics of North America: Equine practice.** v.13, n.3, p.477-86, 1997.
- BASKERVILLE, A. Mechanisms of infection in the respiratory tract. **N Z Vet J.** 1981 Dec;29(12):235-8.
- BLUNDEN, A.S.; MACKINTOSH, M. The microflora of the lower respiratory tract of the horse: an autopsy study. **E. Br Vet J.** 1991, v. 147, n. 3, p. 238-50.
- BOERLIN, P.; EUGSTER, S.; GASCHEN, F.; STRAUB, R.; SCHAWALDER, P. Transmission of opportunistic pathogens in a veterinary teaching hospital. **Vet Microbiol.** 2001 Oct 1;82(4):347-59.

* ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação Referências – Elaboração. Rio de Janeiro, 2002. 24p.
BIOSIS. Serial sources for the BIOSIS previw database. Philadelphia, 1996. 468p.

BOGUTA, L.; GRADZKI, Z.; BORGES, E.; MAURIN, F.; KODJO, A.; WINIARCZYK, S. Bacterial flora in foals with upper respiratory tract infections in Poland. **J. Vet. Med. B. Infect. Dis. Vet. Public. Health.**, 2002 Aug;49(6):294-7.

BOLIN, D.C.; DONAHUE, J.M.; VICKERS, M.L.; HARRISON, L.; SELLS, S.; GILES, R.C.; HONG, C.B.; POONACHA, K.B.; ROBERTS, J.; SEBASTIAN, M.M.; SWERCZEK, T.W.; TRAMONTIN, R.; WILLIAMS, N.M. Microbiologic and pathologic findings in an epidemic of equine pericarditis. **J. Vet. Diagn. Invest.** 2005, v. 17, n. 1, p. 38-44.

BROOK, I. Encapsulated anaerobic bacteria in synergistic infections. **Microbiol. Rev.** 1986 Dec;50(4):452-7.

CHEVILLE, N.F. Equine research roundup. **Mod. Vet. Pract.**, v. 61, n. 5, p. 413-9. May 1980.

CHILLER, K.; SELKIN, B.A.; MURAKAWA, G.J. Skin microflora and bacterial infections of the skin. **J. Investig. Dermatol. Symp. Proc.**, 2001 Dec;6(3):170-4.

CHRISTLEY, R. M.; HODGSON, D.R.; ROSE, R.J.; REID, S. W. J.; HODGSON, J. L. Comparison of bacteriology and cytology of tracheal fluid samples collected by percutaneous transtracheal aspiration or via an endoscope using a plugged guarded catheter. **Equine Veterinary Journal**: Londres, v. 31, n.3, p.197-202, mai. 1999.

CHRISTLEY, R.M.; HODGSON, D.R.; ROSE, R.J.; WOOD, J.L.; REIDS, S.W.; WHITEAR, K.G.; HODGSON, J, L. A case-control study of respiratory disease in Thoroughbred racehorses. Sydney: Australia: **Equine Veterinary Journal**. 2001 May;33(3):256-64.

COLLEGE, O.F.. **Veterinary medicina. Traqueal Wash.** Disponível em: <http://www.cvm.missouri.edu/cvm/rmr/traqueal%20wash.html>. Acesso em 02 setembro 2003.

CRANE, S.A.; ZIEMER, E.L.; SWEENEY, C.R. Cytologic and bacteriologic evaluation of tracheobronchial aspirates from clinically normal foals. **Am. J. Vet. Res.** 1989; 50:2042-2048.

DARIEN, B.J.; BROWN, C.M.; WALKER, R.D.; WILLIAMS, M.A; DERKSEN, F.J. A tracheoscopic technique for obtaining uncontaminated lower airway secretions for bacterial culture in the horse. **Equine Veterinary Journal:** Londres. v. 22, n.3, p.170-173, mai.1990.

DAUR, A.V.; KLIMAK, F. J. R. COGO, L.L.; BOTAO, G.D.; MONTEIRO, C.L.; DALLA COSTA, L. M. Enrichment methodology to increase the positivity of cultures from body fluids. **Braz. J. Infect. Dis.**, 2006 Dec;10(6):372-3.

DERKSEN, F.J., BROWN, C.M., SONEA, I., DARIEN, B.J., ROBINSON, N.E. Comparison of transtracheal aspirate and bronchoalveolar lavage cytology in 50 horses with chronic lung disease. Londres: **Equine Veterinary Journal**., v.21, n.1, p. 23-26, 1989.

DIXON, P.M. Ancillary diagnostic techniques for the investigation of equine pulmonary disease. **Equine Veterinary Education.** v.9, n.2, p.72-80, 1997.

DIXON, P.M. Respiratory mucociliary clearance in the horse in health and disease, and its pharmaceutical modification. **Vet. Rec.**, 1992 Sep 12;131(11):229-35.

DIXON, P.M.; RAILTON D.I; MCGORUM, B. C. Equine pulmonary disease: a case control study of 300 referred cases. Part 1: Examination techniques, diagnostic criteria and diagnoses. **Equine Vet. J.**, 1995 Nov;27(6):416-21. Comment in: Equine Vet J. 1995 Nov;27(6):402-3.

DIXON, P.M.; RAILTON, D.I.; MCGORUM, B.C.; Equine pulmonary disease: a case control study of 300 referred cases. Part 2: Details of animals and of historical and clinical findings. **Equine Vet. J.**, 1995 Nov;27(6):422-7.

DIXON, P.M.; RAILTON, D.I.; MCGORUM, B.C. Equine pulmonary disease: a case control study of 300 referred cases. Part 3: Ancillary diagnostic findings. **Equine Vet. J.**, 1995 Nov;27(6):428-35.

ETTINGER, S.J., FELDMAN, E.C. **Tratado de Medicina Veterinária**. 4 ed. Philadelphia: Manole Ltda, v.1, 1995.

FEY K; SCHMID P. Susceptibility of bacterial isolates from the equine respiratory tract to trimethoprim, sulfadoxine, sulfadimethoxine and combinations of these compounds. **Tierarztl Prax.** 1995 Apr;23(2):148-54.

FREEMAN, K. P.; ROSZEL, J. F.; MCCLURE, J.M.; MANNSMAN, R., PATTON, P.E.; NAILE, S. A review of cytological specimens from horses with and without clinical signs of respiratory disease. **Equine Veterinary Journal**: Londres, v. 25, n.6, p. 523-526, nov. 1993.

GROSS, D.K.; HINCHICLIFF, K.W.; FRENCH, P.S.; GOCLAN, S.A.; LAHMERS, K.K.; LAUDERALLE, M.; ELLIS, J.A.; HAINES, D.M.; SLEMONS, R.D.; MORLEY, P.S. Effect of moderate exercise on the severity of clinical signs associated with influenza virus infection in horses. **Equine Veterinary Journal**: Londres, v. 30, n.6, p.489-497, nov. 1998.

HAWKINS, E.C. Cytology analysis of bronchoalveolar lavage fluid in the diagnosis of spontaneous respiratory. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, n.6, p.386-92, 1995.

Hayakawa Y, Komae H, Ide H, Nakagawa H, Yoshida Y, Kamada M, Kataoka Y, Nakazawa M. An occurrence of equine transport pneumonia caused by mixed infection with *Pasteurella caballi*, *Streptococcus suis* and *Streptococcus zooepidemicus*. **J Vet Med Sci. Tokyo**, n. 55, v. 3, p. 455-6. jun.1993.

HEWSON, J.; VIEL, L. Sampling, Microbiology and Cytology of the Respiratory Tract. In: *Equine Respiratory Diseases*, P. Lekeux (Ed.) Publisher: **International Veterinary Information Service** (www.ivis.org), Ithaca, New York, USA. (24-Jun-2002)

HOFFMAN, A.M.; VIEL, L. PRESCOTT, J.F. et al. Association of microbiologic flora with clinical, endoscopic, and pulmonary cytologic findings in foals with distal respiratory tract infection. **Am. J. Vet. Res.**, 1993; 54:1615-22. (a)

HOFFMAN, A.M.; VIEL, L.; AND PRESCOTT J.F. Microbiologic changes during antimicrobial treatment and rate of relapse of distal respiratory tract infections in foals. **Am. J. Vet. Res.**, 1993; 54:1608-1614. (b)

HOFFMAN; A.M.; VIEL, L.; JUNIPER, E; et al. Clinical and endoscopic study to estimate the incidence of distal respiratory tract infection in Thoroughbred foals on Ontario breeding farms. **Am. J. Vet. Res.**, 1993; 54:1602-1607. (c)

HOLBROOK T.C; MUNDAY J.S; BROWN C.A, Glover B, Schlievert PM, Sanchez S. Toxic shock syndrome in a horse with *Staphylococcus aureus* pneumonia. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, 2003 Mar 1;222(5):620-3, 601-2.

HOQUET F; HIGGINS R; LESSARD P; VRINS A.; MARCOUX M. Comparison of the Bacterial and Fungal Flora in the Pharynx of Normal Horses and Horses Affected with Pharyngitis. **Can. Vet. J.**, 1985 Nov;26(11):342-346.

JAIN, N.C. **Essentials of veterinary hematology**. 1 ed. Philadelphia: Lea; Fabiger, 1993.

JONES, R. and GREET, T. Availability of equine medicines. **Vet. Rec.** v. 146, n. 1, p. 27-8, jan 2000.

JOST, B.H.; BILLINGTON, S.J. *Arcanobacterium pyogenes*: molecular pathogenesis of an animal opportunist. **Antonie Van Leeuwenhoek**. 2005. v. 88 n. 2 p. 87-102.

KANEKO, J.J., HARVEY, J.W., BRUSS, M.L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5 ed. San Diego: Academic Press, 1989.

KOTERBA, A. M. **Respiratory disease: Approach to diagnosis**. In: PC Kosch, ed. **Equine clinical neonatology**. Philadelphia: Lea; Febiger 1990; 153-172.

KRPAN, M.K. Transtracheal aspiration in the horse: a photo essay. **Mod. Vet. Pract.**, 1984 May;65(5):A19-22.

LABONVILLE, M.; HIGGINS, R.; AND LAVOIE J.P. Comparaison entre les frottis directs et les cultures bactériologiques effectués à partir de prélèvements trachéaux chez l'espèce équine. **Can. Vet. J.**, 2001; 42:623-6.

LAKRITZ J, WILSON W.D; BERRY C.R; SCHRENZEL M.D; CARLSON G.P; MADIGAN J.E. Bronchointerstitial pneumonia and respiratory distress in young horses: clinical, clinicopathologic, radiographic, and pathological findings in 23 cases (1984-1989). **J. Vet. Intern. Med.**, 1993 Sep-Oct;7(5):277-88.

LAMBOTTE, O.; TIMSIT, J.F.; GARROUSTE-ORGEAS M,; MISSET, B.; BENALI, A.; CARLET, J. The significance of distal bronchial samples with commensals in ventilator-associated pneumonia: colonizer or pathogen? **Chest.** 2002 Oct;122(4):1389-99.

LAURENT, F.; MONTAUDON, M.; LATRABE, V.; BEGUERET, H. Percutaneous biopsy in lung cancer. **European Journal of Radiology**, Bordeaux, v.45, p.60-68, 2003

LAVOIE, J.P. ; COUTURE, L. ; HIGGINS, R. et al. Aerobic bacterial isolates in horses in a university hospital, 1986-1988. **Can. Vet. J.**, 1991; 32:292-294.

LAVOIE, J.P.; FISET, L.; LAVERTY, S. Review of 40 cases of lung abscesses in foals and adult horses. **Equine Vet. J.**, 1994 Sep.26 (5):348-52.

LÓPEZ A. Sistema respiratório,. In: Carlton W.W. & McGavin M.D. (eds) **Patologia Veterinária Especial de Thomson**. Artmed, Porto Alegre, 1998. p. 132-193

MAGALHÃES, J.G.; TATTOLI, I.; GIRARDIN, S.E. The intestinal epithelial barrier: How to distinguish between the microbial flora and pathogens. **Semin. Immunol.**, 2007 Feb 24; [Epub ahead of print]

MAIR, T.S.; Bacterial pneumonia associated with corticosteroid therapy in three horses. **Vet. Rec.**, 1996 Mar 2;138(9):205-7.

MANNMAN, R.A., KNIGHT, H.D. Transtracheal aspiration in the horse. **Journal of American Veterinary Medical Association**. v. 160, n.11, p.1527-1529, jun. 1972.

MANNMAN, R.A.; STROUSS, A.A. Evaluation of transtracheal aspiration in the horse. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.169, n.6, p.631-633, set, 1976.

MATHEWSON, J.J.; SIMPSON, R. B. Glucose-nonfermenting Gram-negative bacilli associated with clinical veterinary specimens. **J. Clin. Microbiol.**, 1982 Jun;15(6):1016-8

MILLER M. A; FALES W.H; TYLER, J. W; SUEDEMEYER W. K. Pulmonary botryomycosis in a Scottish highland steer. **J. Vet. Diagn. Invest.**, 2001 Jan.13 (1):74-6.

MOFREDJ A.; BAHLOUL H; CHANUT C. Lactococcus lactis: an opportunistic bacterium? **Med. Mal. Infect.**, 2007 Apr;37(4):200-207.

NAYLOR, J.M.; KENYON, S.J. Effect of total calorific deprivation on host defence in the horse. **Res. Vet. Sci.**, 1981 Nov. 31(3):369-72.

NELSON, W.R.; COUTO, G.C. **Fundamentos da Medicina Interna de Pequenos Animais**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A, 1998.

Newton JR, Wood JL, Chanter N.A case control study of factors and infections associated with clinically apparent respiratory disease in UK Thoroughbred racehorses. **Prev Vet Med.** Amsterdam. v. 60, n. 1, p. 107-32. jul 2003.

NEWTON, J.R.; WOOD, J.L.; DUNN, K.A. et al. Naturally occurring persistent and asymptomatic infection of the guttural pouches of horses with *Streptococcus equi*. **Vet. Rec.** 1997; 140:84-90.

NIDEN, A.H.; SALEN, F. A safe high-yield technique for cutting needle biopsy of the lung in patients with diffuse lung disease. **CHEST.**, Londres, v.111, n.6, p.1615-21, jun, 1997.

NUYTEN, J.; MUYLLE, E.; OYAERT, W.; VAN DEN HENDE, C.; VLAMINCK, K.; DE KEERSMAECKER, F. Cytology, bacteriology and phagocytic capacity of tracheo-bronchial aspirates in healthy horses and horses with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). **Zentralbl Veterinarmed A.**, 1983. 30(2):114-20.

OIKAWA, M.; TAKAGI, S.; ANZAI, R.; YOSHIKAWA, H; YOSHIKAWA, T. Pathology of equine respiratory disease occurring in association with transport. **Journal Comparative Pathology**, Edinburgh, v.113, n.1, p.29-43, jul. 1995.

ORSINI, J.A.; KREUDER, C. Transtracheal aspiration and bronchoalveolar lavage. In: ORSINI, J.A., DIVERS, T.J. **Manual of equine emergencies, treatment and procedures.** Nova York: Saunders, p.37-41, 2000.

PEROTTI, E.B.; MENENDEZ, L.T.; GAIA, O.E.; PIDELLO, A. Pseudomonas fluorescens survival in soils with different contents of organic matter. **Rev. Argent. Microbiol.** 2005, v. 37, n. 2 p. 102-5

PICKRELL J. Hazards in confinement housing--gases and dusts in confined animal houses for swine, poultry, horses and humans. **Vet. Hum. Toxicol.**, 1991 Feb;33(1):32-9. Links

PLATT H; ATHERTON J.G; ORSKOV I. Klebsiella and Enterobacter organisms isolated from horses. **J. Hyg. (Lond)**. 1976 Dec;77(3):401-8.

POHL, P.; OSWALD E; VAN Muylem K; JACQUEMIN E.; LINTERMANS P; MAINIL J. Escherichia coli producing CNF1 and CNF2 cytotoxins in animals with different disorders. **Vet. Res.**, 1993;24(4):311-5.

QUINN, P.J.; CARTER, M.E.; MARKEY, B.K. et al. **Clinical Veterinary Microbiology**. 1 ed. London: ed. Wolfe.,1994.

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

RACKLYEFT, D.J.; LOVE, D.N. Influence of head posture on the respiratory tract of healthy horses. **Australian Veterinary Journal**, Brunswick, v. 67, n.11, nov, p. 402-5, 1990.

RACKLYEFT, D.J; LOVE, D.N. Bacterial infection of the lower respiratory tract in 34 horses. **Australian Veterinary Journal**, Brunswick, v. 78, n.8, p. 549-59, ago. 2000.

RAIDAL, S.L.; BAILEY, G.D.; LOVE, D.N. Effect of transportation on lower respiratory tract contamination and peripheral blood neutrophil function. **Aust. Vet. J.**, 1997 Jun;75(6):433-8. (B)

RAIDAL, S.L.; LOVE, D.N.; BAILEY, G.D. Inflammation and increased numbers of bacteria in the lower respiratory tract of horses within 6 to 12 hours of confinement with the head elevated. **Australian veterinary journal, Brunswick**, v. 72, n.2, p.45-50, fev. 1995.

RAIDAL, S.L.; TAPLIN, R.H.; BAILEY, G.D.; LOVE, D.N. Antibiotic prophylaxis of lower respiratory tract contamination in horses confined with head elevation for 24 or 48 hours. **Australian Veterinary Journal, Brunswick**, v. 75, p.126-131, fev.1997

RAPHAEL, C. F. & GUNSON, D. E. Percutaneous Lung Biopsy in the Horse. *Cornell Vet.* 71: 439, 1981. Apud AINSWORTH, D. M. & BILLER, D. S. Sistema respiratório. In: REED, S. M.; BAYLY, W. M. **Medicina Interna Equina**. Sistema Respiratório. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1.ed, p,222-242, 2002.

RAPHEL C.F; BEECH J. Pleuritis secondary to pneumonia or lung abscessation in 90 horses. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, 1982 Oct 15;181(8):808-10.

RAPHEL, C.F. ; GUNSON, D.E. Percutaneous lung biopsy in the horse. **Cornell. Vet.**, 1981; 71:439-448.

RILEY, C.B.; BOLTON, J.R.; MILLS, J.N.; THOMAS, J. B. Cryptococcosis in seven horses. **Australian Veterinary Journal**, Brunswick, v.69, n.6, p.135-9, jun. 1992.

ROBERTS, C. A.; ANDERSON, L. S.; HANNANT, D. and MUMFORD, J. A. Changes on pulmonary function of the Thoroughbred following influenza infection. In: Equine Infectious Diseases VI: Proceedings of the 6th International Conference on Equine Infectious Diseases. (Eds). PLOWRIGHT, W.; ROSSDALE, P.D. and WADE, J. F.. **R&W Publications**, Ltd., Newmarket, 1992. p. 332.

ROSE, R. J.; HODGSON, D. R. An overview of performance and sport medicine. In: HODGSON, D. R.; ROSE, R. J. **The Athletic Horse.**, Philadelphia: W. B. Saunders, 1994.

SARASOLA, P.; TAYLOR, D.J.; LOVE, S.; MCKELLAR, Q.A. Secondary bacterial infections following an outbreak of equine influenza. **Vet. Rec.**, 1992 Nov 7;131(19):441-2.

SELLON, C. D. Investigating outbreaks of respiratory disease in older foals. **AAEP Proceedings**, v. 47, p. 447-455, 2001.

SPEIRS, V.C. **Exame clínico de equinos**. Porto Alegre: Artmed. 1999

SWEENEY, C.R. Diseases of the Respiratory System In: **Large Animal Internal Medicine**. 2 ed. Philadelphia: Mosby, 1996.

SWEENEY, C.R.; BEECH, J.; ROBY, K, A. Bacterial isolates from tracheobronchial aspirates of healthy horses. **Am. J. Vet. Res.**, 1985 Dec;46(12):2562-5.

THORNTON, J.R. Hormonal responses to exercise and training. **Vet. Clin. North. Am. Equine Pract.**, 1985 Dec;1(3):477-96

TIZARD, I. **Veterinary immunology: an introduction**. 6.ed. Philadelphia: Saunders, 2000. 482p.

TRAUB-DARGATZ J.L.; MCKINNON, A.O.; THRALL, M.A.; JONES, R.L.; BRUYNINCKX, W.; BLANCQUAERT, A.M.; DARGATZ, D.A. Evaluation of clinical signs of disease, bronchoalveolar and tracheal wash analysis, and arterial blood gas tensions in 13 horses with chronic obstructive pulmonary disease treated with prednisone, methyl sulfonmethane, and clenbuterol hydrochloride. **Am. J. Vet. Res.**, 1992 Oct;53(10):1908-16.

VARMA, K.J.; POWERS, T.E.; POWERS, J.D.; SPURLOCK, S.L. Standardization of an experimental disease model of *Streptococcus zooepidemicus* in the equine. **J. Vet. Pharmacol. Ther.**, 1984 Sep;7(3):183-8.

VIEL, L. Structural-functional correlations of the lung in the normal light horse. **MSc Thesis**. University of Guelph, Ontario, Canada; 1980.

WARD, C.L.; WOOD, J.L.; HOUGHTON, S.B.; MUMFORD, J.A. CHANTER, N. *Actinobacillus* and *Pasteurella* species isolated from horses with lower airway disease. **Vet. Rec.**, 1998 Sep 5;143(10):277-9. Links

WEESE J.S; ROUSSEAU J.; WILLEY B.M.; ARCHAMBAULT M. McGeer A, Low de Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in horses at a veterinary teaching hospital: frequency, characterization, and association with clinical disease. **J. Vet. Intern. Med.**, 2006 Jan-Feb;20(1):182-6.

WILKINS, C.A.; RICHTER, M.B.; HOBBS, W.B.; WHITCOMB, M.; BERGH, N.; CARSTENS, J. Occurrence of *Clostridium tetani* in soil and horses. **S. Afr. Med. J.**, 1988 Jun 18;73(12):718-20.

WILKINS, P.A. Lower airway diseases of the adult horse. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, Philadelphia, v.19, n.1, p.101-21, 2003.

WOOD, J.L.; NEWTON, J.R.; CHANTER, N.; MUMFORD, J.A. Association between respiratory disease and bacterial and viral infections in British racehorses. **J. Clin. Microbiol.** 2005. v. 43, n. 1 p. 120-6.

YILDIRIM A.O; LAMMLER Ch, WEISS R. Identification and characterization of *Streptococcus agalactiae* isolated from horses. **Vet. Microbiol.**, 2002 Feb 26;85(1):31-5.

Artigo enviado para publicação na

Revista Ciência Rural

Perfil Bacteriológico de Biópsia Pulmonar e

Lavado Traqueobrônquico de Equinos Sadios

Mantidos em Sistema Extensivo e Estabulado

PERFIL BACTERIOLÓGICO DE BIÓPSIA PULMONAR E LAVADO TRAQUEOBRÔNQUICO DE EQUINOS SADIOS MANTIDOS EM SISTEMA EXTENSIVO E ESTABULADO

Rodrigo Rolim Duarte^I Roberto Calderon Gonçalves^{II} Rogério Giuffrida^{III}

I – Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária, Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade do Oeste Paulista (Unoeste). Rodovia Raposo Tavares, Km 572, Campus II, Bairro Limoeiro, 19067-175, Presidente Prudente, SP, Brasil. E-mail: rrolim@unoeste.br
Autor para correspondência

II - Departamento de Clínica Veterinária, Unesp, Campus de Botucatu, 18618-000, Rubião Junior, Botucatu, SP, Brasil. Email: calderon@fmvz.unesp.br

III - Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade do Oeste Paulista (Unoeste). Rodovia Raposo Tavares, Km 572, Campus II, Bairro Limoeiro, 19067-175, Presidente Prudente, SP, Brasil. E-mail: rgiuffrida@unoeste.br

Resumo

As diferentes condições de estabulação podem influenciar a microbiota do trato respiratório de equinos hígdos e conseqüentemente o desenvolvimento de afecções pulmonares nestes animais. O diagnóstico etiológico de afecções do sistema respiratório em equinos pode ser obtido mediante realização de lavado traqueobronquial e de biópsia pulmonar. O presente estudo objetivou avaliar qualitativamente a microbiota traqueobronquial e pulmonar de equinos hígdos submetidos a diferentes manejos de estabulação. Foram utilizados 18 equinos hígdos, adultos, da raça quarto-de-milha, machos, oriundos do rancho Quarto-de-milha de Presidente Prudente, distribuídos em dois grupos de nove animais: Grupo1 (mantidos integralmente em regime extensivo, permanecendo em piquete); Grupo2 (mantidos integralmente em regime intensivo permanecendo em baia e saindo apenas para a lida). Os lavados traqueobrônquicos foram colhidos instilando-se solução fisiológica no lume traqueobronquial por meio de catéteres intravenosos (14G x 30 cm). As biópsias pulmonares foram colhidas utilizando-se agulhas tru-cut semi-automáticas (16G x 20cm). Os materiais colhidos foram submetidos à cultura microbiológica. Não foram observadas complicações durante as técnicas empregadas. Todos os animais estudados apresentaram cultura positiva para pelo menos uma espécie bacteriana nos lavados traqueobrônquicos. Em quase 40% dos lavados foram isolados grupos de cocos gram-positivos, sendo o gênero predominante *Staphylococcus*. Dentre o grupo dos gram-negativos prevaleceram os que pertencem à família *Enterobacteriaceae*. Nas biopsias analisadas também não houve crescimento negativo. Dentre os gram-positivos o gênero predominante foi o *Staphylococcus*. As espécies de gram-negativos mais isoladas foram *Escherichia coli* e *Enterobacter*. Nas duas técnicas de colheita (biópsia e lavado) observou-se um maior número de espécies bacterianas nos isolamentos dos animais estabulados, em relação aos que estavam a pasto.

Palavras-chave: equinos, biópsia pulmonar, lavado traqueobrônquico.

Abstract

The differences in stabling conditions may influence the microbiota in airway of healthy horses, and consequently result changes in airway infections. Diagnosis of airway affections may be reach by using tracheobronchial (TB) wash and pulmonary biopsy as well. The aim of this study was to evaluate the pulmonary and TB microbiota in healthy horses submitted to different stabling. Eighteen healthy adult male quarterhorses were distributed in two groups: Group 1 (nine animals maintained in extensive regimen); and Group 2 (nine animals kept in stall conditions). The washes were carried out using physiologic solution in TB lumen through the intravenous catheter (14G x 30 cm). Pulmonary biopsies were collected using semi-automatic Tru-cut needles (16G x 20 cm). The material collected was submitted to microbiological culture. No trickiness was observed in the animals. At least one species of bacteria grown in wash tracheal culture in the horses studied. In 38.5% out of the washes were isolated Gram-positive coccus, predominantly *Staphylococcus*. *Escherichia coli* and *Enterobacter* were isolated in 3% and 11%, respectively. The culture of airway in stabling animals showed a higher number of isolates in both wash and biopsy techniques comparing to the horses kept in extensive regimen.

Key words: equine, lung biopsy, tracheobronchial washes

Introdução

A capacidade respiratória tem grande importância em cavalos atletas e sua redução promove um declínio significativo no desempenho do animal em provas. As principais causas desta redução são os processos inflamatórios e/ou infecciosos.

Apesar das técnicas de diagnóstico por imagem serem úteis na localização do processo clínico, nem sempre fornecem um diagnóstico etiológico (ETTINGER; FELDMAN, 1995). Análises de amostras colhidas do trato respiratório posterior (TRP) são importantes na pesquisa etiológica (NELSON; COUTO, 1998), principalmente a avaliação citológica e microbiológica (ETTINGER; FELDMAN, 1995). A compreensão do mecanismo da doença e determinação da existência ou não de processos infecciosos fornece direcionamento na terapia a ser instituída (HAWKINS, 1995).

O lavado traqueobrônquico é comumente utilizado na rotina clínica para obtenção de fluidos presentes no TRP de eqüinos com problemas respiratórios. Outra técnica importante, porém pouco utilizada, para avaliar pneumonias bacterianas em eqüinos é a análise microbiológica de fragmentos dos tecidos pulmonares colhidos por biópsia. Esta técnica é considerada útil nos casos de pneumonias difusas (MANSMANN; KNIGHT, 1972) e pneumonias focais (RILEY, et al., 1992).

Os processos infecciosos do trato respiratório dos eqüinos são enfermidades provocadas, principalmente, por vírus e bactérias (WILKINS, 2003). Nos casos em que o tratamento destas infecções não é estabelecido antes de 24 horas, o prognóstico da enfermidade é reservado (RAKLYEFT; LOVE, 2000).

Os microrganismos que afetam o trato respiratório dos eqüinos podem ser adquiridos de fontes exógenas, mediante o convívio com animais portadores, e a partir de fontes endógenas, como os microrganismos que habitam a orofaringe. As bactérias da orofaringe podem colonizar o lume traqueobronquial e subseqüentemente, os pulmões, estabelecendo um quadro de pneumonia ou pleuropneumonia (RAIDAL, et al., 1995). Outro fator considerado importante é o exercício físico intenso, que pode exacerbar clinicamente, processos infecciosos pulmonares previamente estabelecidos, o que já foi observado em infecções pelo influenza vírus (GROSS, et al., 1998). O exercício também afeta eqüinos com histórico de infecções pulmonares progressas, levando ao recrudescimento dos quadros infecciosos (FREEMAN, et al., 1993).

Entre as bactérias aeróbias isoladas do lume traqueobronquial eqüino, alguns gêneros são citados com frequência, como *Streptococcus* alfa e beta-hemolítico, *Pasteurella multocida*, *Mannheimia haemolítica*, *Actinobacillus* sp, *Bacillus* sp, *Actinomicetos*, *Micrococcus* sp, *Staphylococcus* sp, *Escherichia coli*, *Acinetobacter* sp, *Proteus* sp, *Bordetella* sp e *Pseudomonas* sp (DARIEN, et al., 1990; RAIDAL, et al., 1997a). Observam-se também os gêneros bacterianos relatados em lesões abscedantes pulmonares como *Rhodococcus equi* (LAVOIE, et al., 1994).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar qualitativamente a microbiota traqueal e pulmonar de eqüinos hígidos submetidos a dois regimes de criação.

Material e Métodos

Foram avaliados equinos machos da raça Quarto-de-milha, com idade média de oito anos (variando de 5 a 15 anos), cujo perfil atlético era de competidores de prova de tambor, com treinamento diário em dois períodos, manhã (aquecimento e alongamento) e tarde (treinamento funcional). Os animais foram divididos em dois grupos: Grupo 1; mantidos em regime extensivo, permanecendo em piquete e saindo apenas para o treinamento; Grupo 2; mantidos integralmente em regime intensivo permanecendo em baia e saindo apenas para o treinamento.

Todos os animais foram alimentados durante o experimento com ração comercial, feno de “coast-cross” e suplemento mineral.

A avaliação clínica foi realizada conforme descrito por SPEIRS (1999). Inspeção da mucosa oral, ocular e nasal, avaliando-se coloração e tempo de preenchimento capilar; presença ou ausência de corrimento nasal; palpação dos linfonodos submandibulares e pré-escapulares; auscultação da traquéia e pulmões; percussão da área pulmonar e seios nasais; mensuração das frequências respiratória e cardíaca; e aferição da temperatura retal.

Foram realizados exames laboratoriais, incluindo:

- **hemograma:** o sangue da veia jugular foi colhido em três momentos (M0: 7 dias antes das colheitas do lavado traqueobrônquico e biópsia pulmonar; M1: no dia das colheitas; M2: 7 dias após as colheitas);

- **lavado traqueobrônquico:** a técnica utilizada foi a transtraqueal conforme descrição de Orsini; Kreuder (2000). Uma área (10 cm²) da pele, localizada no terço médio da traquéia foi cirurgicamente preparada. Uma seringa de 60 ml foi acoplada ao cateter (I-Cath 14) e em seguida injetou-se 40 ml de solução fisiológica no lume traqueal. O fluido resultante foi imediatamente aspirado e encaminhado sob refrigeração para realização de análise microbiológica nos Laboratórios do Hospital Veterinário da Unoeste;

- **biópsia Pulmonar:** realizada conforme a técnica descrita por Speirs (1999) com algumas modificações. Uma área (10 cm²) de pele, localizada no sétimo ou oitavo espaço intercostal e 8 cm acima de uma linha horizontal que passa pela articulação escapulo-umeral, foi preparada com antissepsia rigorosa, após prévio botão anestésico com 5 mL de cloridrato de lidocaína sem vasoconstrictor. Em seguida, uma agulha 30 x 22 mm, que funcionou como mandril, foi introduzida na pele e musculatura intercostal para que não houvesse fricção da agulha de biópsia com a pele e musculatura. Posteriormente a agulha de biópsia, tipo Tru-cut semi-automática, foi introduzida na cavidade torácica, e após penetrar cuidadosamente no pulmão, a biópsia foi colhida. Repetiu-se este procedimento uma vez em cada pulmão dos animais selecionados, sendo os fragmentos encaminhados para análise microbiológica nos Laboratórios do Hospital Veterinário da Unoeste.

▪ **Análise bacteriológica:**

Cultura do lavado traqueobrônquico: as amostras de lavado foram semeadas por plaqueamento diferencial em três placas contendo ágar-sangue enriquecido com 10% de sangue ovino desfibrinado e três placas contendo ágar MacConkey. As placas semeadas foram divididas equitativamente para serem incubadas em aerobiose, anaerobiose e microaerofilia a 37°C por 72 horas. As colônias bacterianas isoladas classificadas segundo suas características morfo-tinturiais e bioquímicas (QUINN, et al., 1994).

Cultura da biópsia pulmonar: as amostras de biópsia pulmonar foram semeadas em tubos contendo caldo cérebro-coração. Os tubos semeados foram incubados em aerobiose, anaerobiose e microaerofilia por dois a sete dias na temperatura de 37° C. Dos caldos que apresentaram turvação evidente, retirou-se uma pequena alíquota que foi semeada por esgotamento em uma placa de Petri contendo ágar-sangue e outra contendo ágar MacConkey. As colônias isoladas foram analisadas quanto suas características morfotinturias e bioquímicas, permitindo sua classificação (QUINN et al., 1994).

Resultados e Discussão

Os resultados das culturas microbiológicas dos lavados traqueobrônquicos e das biopsias de pulmão estão descritos na tabela 1 e gráfico 1, e tabela 2 e gráfico 2, respectivamente.

Todos os animais estudados apresentaram cultura positiva para pelo menos uma espécie bacteriana nos lavados traqueobrônquicos. Estes patamares são próximos aos níveis máximos observados por outros pesquisadores, que concluíram que 32% a 92% dos eqüinos apresentam o isolamento de pelo menos uma espécie bacteriana (NUYTEN, et al, 1983; CRANE, et al. 1989; HOFFMAN, 1993c; WHITWELL; GREET, 1984).

A microbiota traqueobronquial observada no presente estudo (tabela 1; figura 1) é similar à encontrada por outros pesquisadores, que observaram a ocorrência de cocos gram-positivos e enterobactérias e algumas espécies de gram-negativos não-fermentadores da glicose. Em um estudo utilizando cateter endotraqueal revestido de proteção plástica para colher amostras de secreção traqueal, via endoscópio, em trinta pôneis, visando cultura microbiológica, foram isolados: *Actinobacillus equuli*, *Streptococcus zooepidemicus*, *Streptococcus equi*, *Pasteurella* sp, *Pseudomonas* sp, *Escherichia coli*, *Streptococcus* do grupo alfa-hemolítico, *Bacillus* spp, *Acinetobacter*, *Staphylococcus* spp, *Enterobacter* spp e *Moraxella* spp. Esse estudo sugere a predominância de bactérias gram-positivas na microbiota traqueobronquial de eqüinos normais, especialmente os do grupo *Streptococcus*. Entre os gram-negativos, o *Actinobacillus* e a *E. coli* predominam (DARIEN, et al., 1990).

Pela observação da (tabela 1; figura 1), nota-se que nos lavados, em quase 40% dos animais foram isolados grupos de cocos gram-positivos, representados pelos gêneros *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus* e *Micrococcus*. Todos estes gêneros são relatados como causadores de pneumonia em eqüinos (RACKLYEFT; LOVE, 2000).

O gênero predominante entre os cocos gram-positivos foi o *Staphylococcus*, representando 16% dos isolamentos. O *S. aureus* foi o único coagulase-positivo, e já foi isolado de processos pneumônicos de eqüinos com choque tóxico (HOLBROOK, et al., 2003), abscessos pulmonares (LAVOIE, et al., 1993) e botriomicoses pulmonares (MILLER, et al., 2001).

Outro grupo de microrganismos observados foram os bastonetes gram-negativos, especialmente os que pertencem à família *Enterobacteriaceae*, como é o caso de *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter* ssp, *Hafnia alvei*, *Escherichia coli* e *Shigella* spp. Eles provavelmente chegam ao terço final da traquéia através dos circuitos naturais de respiração do animal, levados pelo turbilhonamento do ar nas vias respiratórias, portanto, pode-se considerar comum o aparecimento de microrganismos do grupo dos coliformes fecais de forma, ainda que transitória, no lume traqueobronquial dos eqüinos.

Considerando-se este último grupo de microrganismos, destaca-se o gênero *Enterobacter* como predominante, pois foi isolado em 21% das amostras. Este gênero é

referido como comum na microbiota traqueobronquial (DARIEN, et al., 1990) e nasofaringe equina (HOQUET, et al., 1985), porém pode ocasionar processos pneumônicos em cavalos (LAKRITZ, et al., 1993; FEY E SCHMID, 1995). O *Enterobacter* sp é possivelmente um agente oportunista nestas situações. Um dos fatores de virulência importantes para esta espécie é a presença de cápsula de natureza mucopolissacarídica e que em algumas situações permite à bactéria resistir à fagocitose (PLATT, et al., 1976).

A *Escherichia coli* pode estar comumente presente na traquéia de equinos sadios (MANNMAN, 1976; DARIEN, et al., 1990). No presente trabalho foi isolada em 12% das análises. Como não foram testadas as suas características de patogenicidade, não é possível afirmar que sejam espécies patogênicas. Em geral os virotipos associados à capacidade de desencadear processos infecciosos extra-intestinais em animais são os necrotoxigênicos (POHL, et al., 1993). As pneumonias em equinos por esta espécie bacteriana podem ser severas (RAPHEL; BEECH, 1982) e assim como no caso do *Enterobacter* sp, a *Escherichia coli* pode atuar como oportunista (MAIR, 1996).

Outra bactéria gram-negativa isolada de lavados traqueobrônquicos, em 9,5% das amostras, mas não pertencente à microbiota entérica dos animais é a *Pasteurella* sp. Uma das espécies deste gênero, capaz de causar processos pneumônicos secundários em equinos submetidos a transporte prolongado é a *P. caballi* (HAYAKAWA, et al., 1993). O gênero é comum na microbiota traqueobronquial de equinos (DARIEN, et al., 1990), e possivelmente representa um dos microrganismos comensais deste sítio anatômico com maior potencial de provocar infecções oportunistas.

Possivelmente os microrganismos observados no presente estudo, estão em condições de equilíbrio, ou seja, as populações se mantêm estáveis em reflexo aos mecanismos de depuração do trato respiratório dos equinos. As pneumonias dos animais devem se desenvolver, portanto, quando condições conseguem romper este mecanismo de equilíbrio (RACKLYEFT; LOVE, 2000). Mais adiante, tais aspectos serão discutidos em maior detalhe.

Em 2% das amostras dos isolamento de lavados traqueobrônquicos foi observado o actinomiceto *Arcanobacterium pyogenes*, espécie responsável por diversas enfermidades de caráter supurativo em animais pecuários (JOST; BILLINGTON, 2005).

O gênero *Pseudomonas* foi obtido em 5% das amostras. Esta bactéria está presente em diversas formas de infecções na espécie equina, sendo um agente comumente presente em matéria orgânica ambiental, inclusive água (PEROTTI, et al., 2005).

Outro microrganismo é o *Actinobacillus equuli* (WARD, et al., 1998), e sua presença no lume traqueobronquial é associada a aumento do risco de infecções clínicas pulmonares em equinos (NEWTON, et al., 1997).

Assim como se observou nos lavados traqueobrônquicos, nas biopsias analisadas não houve crescimento negativo. Os microrganismos do gênero *Staphylococcus* foram os mais

isolados juntamente com os do grupo dos coliforme (Tabela 2; Figura 2). Apesar de todas as normas preconizadas de antisepsia e assepsia durante a técnica de colheita de biópsia terem sido rigorosamente obedecidas, não se pode afirmar que todos os microrganismos isolados são do pulmão, pois podem ser contaminantes de colheita que exacerbaram seu crescimento pelas técnicas de enriquecimento bacteriológico empregadas.

Como o presente trabalho não primou por colher amostras de biópsias de vários pontos do pulmão de eqüinos, não é possível afirmar que as bactérias se distribuíam de maneira similar em todas as porções anatômicas deste órgão. Porém, acredita-se que pelo fato da região estudada na presente pesquisa ser a mais frequentemente acometida por processos pneumônicos de origem aerógena pode-se supor que a técnica empregada seja válida para diagnosticar a maioria dos casos de pneumonia (HEWSON; VIEL, 2002).

Em vista disso, a indicação das técnicas de biópsia para a avaliação microbiológica, ainda merece mais estudos, no entanto, estas técnicas são de extrema importância no diagnóstico complementar à cultura de lavados traqueobrônquicos ou broncoalveolares, indicando alterações histopatológicas importantes que além de servir para diagnóstico de processos pulmonares inflamatórios e/ou infecciosos, proporcionam a comparação entre resultados microbiológicos da biópsia e do lavado traqueobrônquico.

A necropsia de animais com quadros pulmonares e a avaliação da localização das lesões nos pulmões, sugerem que muitos dos microrganismos penetram nos pulmões pelo simples efeito da gravidade, que consiste da aspiração de elementos para o interior dos bronquíolos terminais e alvéolos (DIXON, et al., 1995). Assim, na presente pesquisa, os microrganismos isolados das biópsias, excluindo-se contaminações de colheita, devem ter adentrado no pulmão desta forma.

Em relação aos cocos gram-positivos, observou-se a ocorrência do gênero *Staphylococcus* sp com bastante freqüência (31% das amostras), sendo obtidas duas espécies coagulase-positivas: *S. aureus* e *S. hycus*, ambos com potencial patogênico para desencadear processos pneumônicos (RACKLYEFT; LOVE, 2000). As outras espécies coagulase negativas, *S. carnosus*, *S. hominis*, *S. alerttae* têm menor potencial patogênico. O gênero *Micrococcus* também foi isolado.

Outros cocos gram-positivos isolados foram os pertencentes à microbiota fecal (*Enterococcus* sp), obtidos em 6% das amostras pesquisadas. Isto indica que o pulmão é exposto a microrganismos fecais, possivelmente de maneira similar a traquéia. Este gênero não foi isolado dos lavados traqueobrônquicos, mas possui certo potencial patogênico para eqüinos, sendo relatado em infecções como pericardite (BOLIN, et al., 2005). Ele pode ser especialmente importante quando expressa múltipla resistência a agentes antimicrobianos (BOERLIN, et al., 2001).

O gênero *Lactococcus* é um coco gram-positivo e sua presença reitera a possibilidade de alimentos influenciarem na composição da microbiota do TR. No presente trabalho este gênero foi observado em 3% das amostras.

As espécies de gram-negativos fecais isoladas das amostras de biopsia foram *Escherichia coli* e *Enterobacter*, com 3% e 11% de isolamentos, respectivamente. Assim como nos lavados traqueobrônquicos, a o gênero *Enterobacter* predominou sobre os outros.

Três espécies de não-fermentadoras da glicose foram obtidos: *Pasteurella* sp, *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* e *Alcaligenes* sp. A *Pasteurella* sp foi o único agente deste grupo isolado (6% dos isolamentos) assim como no lavado traqueobrônquico.

O gênero *Acinetobacter*, isolado em 8,5% das amostras desta pesquisa, pode ser isolado do lume traqueobronquial de equinos sadios (RACKLYEFT; LOVE, 1990), e já foi isolado da cavidade nasal de animais com infecções do trato respiratório anterior (BOGUTA, et al, 2002). Sua importância, assim como no caso de *Alcaligenes* spp, reside no fato de serem agentes oportunistas que podem expressar múltipla resistência a agentes microbianos (MATHEWSON; SIMPSON, 1982; BOERLIN, et al., 2001).

A espécie *Arcanobacterium pyogenes* também foi isolada da biopsia pulmonar, em 3% das amostras, e pode provocar abscedações nos tecidos acometidos. Como no animal onde este agente foi positivamente identificado não possuía alterações leucocitárias, é possível que estivesse transitoriamente no pulmão, porém seu potencial patogênico para provocar pneumonias não deve ser desprezado.

Em 6% das culturas pulmonares avaliadas observou-se crescimento do microrganismo *Clostridium* sp, sendo que este gênero de anaeróbio estrito pode ser isolado do lúmen traqueobronquial de equinos sadios (RACKLYEFT; LOVE, 1990). Como a maioria dos agentes causadores de pneumonias nos equinos são anaeróbios facultativos (RACKLYEFT; LOVE, 2000), os anaeróbios estritos não são comumente envolvidos em patologias pulmonares em potros (HOFFMAN, et al., 1993a).

O ingresso de microrganismos anaeróbios no TR de equinos pode ser favorecida pela proximidade anatômica com as tonsilas faríngeas, que possuem em suas criptas ambiente propício para albergar microrganismos anaeróbios como *Fusobacterium* sp e *Clostridium* sp pis a boca que recebe um grande aporte de microrganismos do ambiente (BAILEY, et al., 1991).

O *Clostridium tetani* é comumente encontrado nas fezes dos equinos, que o adquirem a partir do ambiente contaminado (WILKINS, et al., 1988), portanto, não é estranho que possam estar presentes no trato respiratório dos equinos, a exemplo de outros microrganismos entéricos. O potencial de provocar tétano caso se multiplique no pulmão dos animais é desconhecido, a despeito de teorias anedotárias sobre a ocorrência do chamado “tétano interno”, quando os microrganismos se multiplicariam no intestino e outros locais, sem que ocorressem fermentos.

Enquanto na traquéia há um importante papel da presença do muco, onde as partículas estranhas aderem, e dos movimentos ciliares das células epiteliais, que retiram o material aderido para ser expelido, na região mais profunda do pulmão, a forma mais importante de proteção é conferida pelos macrófagos alveolares, que eliminam partículas estranhas que ali possam adentrar (BASKERVILLE, 1981). Os fragmentos das biopsias amostraram somente as vias aéreas de menos calibre, alvéolos e seus tecidos de sustentação. As diferenças nestes mecanismos de depuração podem, eventualmente, resultar em diferenças no perfil microbiano encontrado nestes sítios anatômicos.

Tanto nas amostras de biópsia como nas de lavado traqueobrônquico dos animais pesquisados na presente pesquisa observou-se um maior número de espécies diferentes de bactérias nos estabulados, em relação aos que estavam a pasto, discordando de outras pesquisas (SWEENEY; et al., 1985). A exposição dos animais a diferentes concentrações de microrganismos ambientais, o ambiente que gera estresse que é capaz de prejudicar mecanismos de depuração traqueal, a poluição do ar e a ventilação, são mecanismos que podem aumentar a contaminação do aparelho respiratório dos animais por bactérias ambientais.

Apesar do gênero *Staphylococcus* predominar sobre os outros, observa-se que tanto nos animais estabulados quanto nos criados a pasto ocorreu uma tendência à predominância de microrganismos Gram negativos nas amostras de biópsia e lavado traqueal, muitos destes comumente encontrados nas fezes destes animais.

Um dos agentes que tem grande papel na ocorrência de aumento de microrganismos no trato respiratório é o estresse. Muitas das pneumonias dos eqüinos têm origem endógena, quando os agentes microbiológicos sobrepõem os mecanismos de defesa do TR, modificados pela liberação de corticóides pós-estresse predispondo infecções no local. Em alguns outros trabalhos demonstrou-se que o principal grupo de microrganismos isolados no pulmão de eqüinos após efeitos estressantes, como o transporte prolongado, são membros do grupo das enterobactérias (RAIDAL, et al., 1997b).

O acúmulo de gases poluentes como a amônia, hidrocarbonetos, dióxido de nitrogênio, monóxido de carbono, dióxido de enxofre e outros que podem estar em ambientes onde exista excesso de matéria orgânica, como é o caso das baías, podem prejudicar a limpeza promovida pelo sistema mucociliar do trato respiratório (PICKRELL, 1991; ARTE, et al., 2002).

Deve-se levar em conta o ambiente em que o eqüino vive para interpretar de forma mais fidedigna resultados de análise microbiológicas (ARTE, et al., 2002). Ambientes estressantes, presença de matéria orgânica concentrada em ambientes e ventilação pobre podem modificar o perfil de microrganismos do TR de animais estabulados ou mesmo a pasto.

A presença de inúmeras espécies de microrganismos, tanto no pulmão como na traquéia, indica que animais que sejam suspeitos de portarem afecções pulmonares devem ser examinados com relação a lavado traqueobrônquico e biópsia pulmonar com muito cuidado. As culturas positivas devem ser analisadas conjuntamente com outros dados como histórico de fatores que possam predispor às pneumonias, exame clínico e avaliação hematológica e, se possível, radiografias pulmonares. Além do potencial patogênico do microrganismo.

Existem diferenças geográficas com relação à expectativa de espécies bacterianas recuperadas de animais com pneumonias. Apesar disso, algumas espécies como *Streptococcus zooepidemicus*, um Gram positivo comumente causador de pneumonia em eqüinos, é um dos mais isolados nos quadros onde há patologias estabelecidas (HOFFMAN, et al., 1993a; LAVOIE et al, 1994; HOFFMAN, et al., 1993b; KOTERBA, 1990 ; LABONVILLE, et al., 2001 ; ANON, 1978). Também deve-se dar destaque para um isolamento positivo de *Pasteurella* sp (WARD, et al., 1998; CHRISTLEY, et al., 2001).

O isolamento de *Staphylococcus* spp e *Acinetobacter* spp a partir de lavados traqueobrônquicos foram associados à diminuição do risco de aparecimento de sinais clínicos compatíveis com pneumonias em eqüinos (NEWTON et al., 1997).

Além de uma análise criteriosa do laudo microbiológico, o clínico deve estar atento para eventos que possam predispor as deficiências imunológicas ou estresse, culminando em pneumonias em cavalos, tais como: transporte, exercício extenuante, anestesia geral com decúbito prolongado, cirurgia do trato respiratório anterior, trauma torácico penetrante, corpo estranho traqueobronquial, hemorragia pulmonar, tratamento com corticosteróides, condições impróprias de ventilação das baias, doenças debilitantes e septicemia (RACKLYEFT, et al., 2000).

Conclusões

Diante das condições experimentais deste estudo pode-se concluir que as técnicas de lavado traqueobrônquico e biópsia pulmonar permitem avaliar a microbiota traqueobronquial e pulmonar de eqüinos sadios. O perfil microbiológico do trato respiratório posterior de eqüinos estabulados é mais heterogêneo do que animais a pasto. De forma geral, o TRP é composto por agentes gram-positivos, com destaque para o gênero *Staphylococcus* e por agentes gram-negativos, com destaque para o gênero *Enterococcus*, sendo que muitos destes agentes têm potencial patogênico para desencadear infecções, caso fatores prediponentes estejam presentes. Dessa forma, os resultados de exames microbiológicos com suspeita de infecção devem ser interpretados com cautela e consubstanciados com outros exames auxiliares.

Referências Bibliográficas

ANON. Report of foal pneumonia panel (Part I). **J Equine Med Surg** 1978; 2:400-412.

ARTE, T.; MCGORUM, B.C.; LEKEUX, P. Environmental Control of Respiratory Disease. In: **Equine Respiratory Diseases**, P. Lekeux (Ed.) Publisher: International Veterinary Information Service (www.ivis.org), Ithaca, New York, USA. (20-Mar-2002)

BAILEY, G.D; LOVE, D.N. Oral associated bacterial infection in horses: studies on the normal anaerobic flora from the pharyngeal tonsillar surface and its association with lower respiratory tract and paraoral infections. **Vet Microbiol.** 1991 Feb 15;26(4):367-79.

BASKERVILLE, A. Mechanisms of infection in the respiratory tract. **N Z Vet J.** 1981 Dec;29(12):235-8.

BOERLIN, P.; EUGSTER, S.; GASCHEN, F.; STRAUB, R.; SCHAWALDER, P. Transmission of opportunistic pathogens in a veterinary teaching hospital. **Vet Microbiol.** 2001 Oct 1;82(4):347-59.

BOGUTA, L.; GRADZKI, Z.; BORGES, E.; MAURIN, F.; KODJO, A.; WINIARCZYK, S. Bacterial flora in foals with upper respiratory tract infections in Poland. **J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health.** 2002 Aug;49(6):294-7.

CHILLER, K.; SELKIN, B.A.; MURAKAWA, G.J. Skin microflora and bacterial infections of the skin. **J Investig Dermatol Symp Proc.** 2001 Dec;6(3):170-4.

CHRISTLEY, R.M.; HODGSON, D.R.; ROSE, R.J.; WOOD, J.L.; REIDS, S.W.; WHITEAR, K.G.; HODGSON, J, L. A case-control study of respiratory disease in Thoroughbred racehorses. Sydney: Australia: **Equine Veterinary Journal.** 2001 May;33(3):256-64.

CRANE, S.A.; ZIEMER, E.L.; SWEENEY, C.R. Cytologic and bacteriologic evaluation of tracheobronchial aspirates from clinically normal foals. **Am J Vet Res** 1989; 50:2042-2048.

DARIEN, B.J.; BROWN, C.M.; WALKER, R.D.; WILLIAMS, M.A; DERKSEN, F.J. A tracheoscopic technique for obtaining uncontaminated lower airway secretions for bacterial culture in the horse. **Equine Veterinary Journal:** Londres. v. 22, n.3, p.170-173, mai.1990.

DIXON, P.M.; RAILTON D.I; MCGORUM, B. C. Equine pulmonary disease: a case control study of 300 referred cases. Part 1: Examination techniques, diagnostic criteria and diagnoses. **Equine Vet J.** 1995 Nov;27(6):416-21. Comment in: **Equine Vet J.** 1995 Nov;27(6):402-3.

ETTINGER, S.J., FELDMAN, E.C. **Tratado de Medicina Veterinária**. 4 ed. Philadelphia: Manole Ltda, v.1, 1995.

FEY K; SCHMID P. Susceptibility of bacterial isolates from the equine respiratory tract to trimethoprim, sulfadoxine, sulfadimethoxine and combinations of these compounds. **Tierarztl Prax**. 1995 Apr;23(2):148-54.

FREEMAN, K. P.; ROSZEL, J. F.; MCCLURE, J.M.; MANNSMAN, R., PATTON, P.E.; NAILE, S. A review of cytological specimens from horses with and without clinical signs of respiratory disease. **Equine Veterinary Journal**: Londres, v. 25, n.6, p. 523-526, nov. 1993.

GROSS, D.K.; HINCHICLIFF, K.W.; FRENCH, P.S.; GOCLAN, S.A.; LAHMERS, K.K.; LAUDERALLE, M.; ELLIS, J.A.; HAINES, D.M.; SLEMONS, R.D.; MORLEY, P.S. Effect of moderate exercise on the severity of clinical signs associated with influenza virus infection in horses. **Equine Veterinary journal**: Londres, v. 30, n.6, p.489-497, nov. 1998.

HAWKINS, E.C. Cytology analysis of bronchoalveolar lavage fluid in the diagnosis of spontaneous respiratory. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, n.6, p.386-92, 1995.

HEWSON, J.; VIEL, L. Sampling, Microbiology and Cytology of the Respiratory Tract. In: *Equine Respiratory Diseases*, P. Lekeux (Ed.) Publisher: **International Veterinary Information Service** (www.ivis.org), Ithaca, New York, USA. (24-Jun-2002)

HOFFMAN, A.M.; VIEL, L.; PRESCOTT, J.F. Association of microbiologic flora with clinical, endoscopic, and pulmonary cytologic findings in foals with distal respiratory tract infection. **Am J Vet Res** 1993; 54:1615-22. (a)

HOFFMAN, A.M.; VIEL, L.; PRESCOTT, J.F. Microbiologic changes during antimicrobial treatment and rate of relapse of distal respiratory tract infections in foals. **Am J Vet Res** 1993; 54:1608-1614. (b)

HOFFMAN; A.M.; VIEL, L.; JUNIPER, E; et al. Clinical and endoscopic study to estimate the incidence of distal respiratory tract infection in Thoroughbred foals on Ontario breeding farms. **Am J Vet Res** 1993; 54:1602-1607. (c)

HOLBROOK T.C; MUNDAY J.S; BROWN C.A, Glover B, Schlievert PM, Sanchez S. Toxic shock syndrome in a horse with *Staphylococcus aureus* pneumonia. **J Am Vet Med Assoc**. 2003 Mar 1;222(5):620-3, 601-2.

HOQUET F; HIGGINS R; LESSARD P; VRINS A.; MARCOUX M. Comparison of the Bacterial and Fungal Flora in the Pharynx of Normal Horses and Horses Affected with Pharyngitis. **Can Vet J**. 1985 Nov;26(11):342-346.

-
- JAIN, N.C. **Essentials of veterinary hematology**. 1 ed. Philadelphia: Lea; Fabiger, 1993.
- KANEKO, J.J., HARVEY, J.W., BRUSS, M.L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5 ed. San Diego: Academic Press, 1989.
- KOTERBA, A. M. **Respiratory disease: Approach to diagnosis**. In: PC Kosch, ed. **Equine clinical neonatology**. Philadelphia: Lea; Febiger 1990; 153-172.
- LABONVILLE, M.; HIGGINS, R.; AND LAVOIE J.P. Comparaison entre les frottis directs et les cultures bactériologiques effectués à partir de prélèvements trachéaux chez l'espèce équine. **Can Vet J** 2001; 42:623-6.
- LAKRITZ J, WILSON W.D; BERRY C.R; SCHRENZEL M.D; CARLSON G.P; MADIGAN J.E. Bronchointerstitial pneumonia and respiratory distress in young horses: clinical, clinicopathologic, radiographic, and pathological findings in 23 cases (1984-1989). **J Vet Intern Med**. 1993 Sep-Oct;7(5):277-88.
- LAVOIE, J.P.; FISET, L.; LAVERTY, S. Review of 40 cases of lung abscesses in foals and adult horses. **Equine Vet J**. 1994 Sep.26 (5):348-52.
- MAIR, T.S.; Bacterial pneumonia associated with corticosteroid therapy in three horses. **Vet Rec**. 1996 Mar 2;138(9):205-7.
- MANSMANN, R.A.; STROUSS, A.A. Evaluation of transtracheal aspiration in the horse. **J Am Vet Med Assoc**, v.169, n.6, p.631-633, set, 1972.
- MATHEWSON, J.J.; SIMPSON, R. B. Glucose-nonfermenting Gram-negative bacilli associated with clinical veterinary specimens. **J Clin Microbiol**. 1982 Jun;15(6):1016-8
- MILLER M. A; FALES W.H; TYLER, J. W; SUEDEMEYER W. K. Pulmonary botryomycosis in a Scottish highland steer. **J Vet Diagn Invest**. 2001 Jan.13 (1):74-6.
- NELSON, W.R.; COUTO, G.C. **Fundamentos da Medicina Interna de Pequenos Animais**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A, 1998.
- NEWTON, J.R.; WOOD, J.L.; DUNN, K.A. et al. Naturally occurring persistent and asymptomatic infection of the guttural pouches of horses with *Streptococcus equi*. **Vet Rec** 1997; 140:84-90.
- ORSINI, J.A.; KREUDER, C. Transtracheal aspiration and bronchoalveolar lavage. In: ORSINI, J.A., DIVERS, T.J. **Manual of equine emergencies, treatment and procedures**. Nova York: Saunders, p.37-41, 2000.
-

PICKRELL J. Hazards in confinement housing--gases and dusts in confined animal houses for swine, poultry, horses and humans. **Vet Hum Toxicol**. 1991 Feb;33(1):32-9. Links

PLATT H; ATHERTON J.G; ORSKOV I. **Klebsiella and Enterobacter organisms isolated from horses**. J Hyg (Lond). 1976 Dec;77(3):401-8.

POHL, P.; OSWALD E; VAN Muylem K; JACQUEMIN E.; LINTERMANS P; MAINIL J. Escherichia coli producing CNF1 and CNF2 cytotoxins in animals with different disorders. **Vet Res**. 1993;24(4):311-5.

QUINN, P.J.; CARTER, M.E.; MARKEY, B.K. et al. **Clinical Veterinary Microbiology**. 1 ed. London: ed. Wolfe.,1994.

RACKLYEFT, D.J.; LOVE, D.N. Influence of head posture on the respiratory tract of healthy horses. **Australian Veterinary Journal**, Brunswick, v. 67, n.11, nov, p. 402-5, 1990.

RACKLYEFT, D.J.; RAIDAL, S.; LOVE, D.N. Towards an understanding of equine pleuropneumonia: factors relevant for control. **Aust Vet J**. 2000 May. 78(5):334-8.

RACKLYEFT, D.J; LOVE, D.N. Bacterial infection of the lower respiratory tract in 34 horses. **Australian Veterinary Journal**, Brunswick, v. 78, n.8, p. 549-59, ago. 2000.

RAIDAL, S.L.; LOVE, D.N.; BAILEY, G.D. Inflammation and increased numbers of bacteria in the lower respiratory tract of horses within 6 to 12 hours of confinement with the head elevated. **Australian veterinary journal, Brunswick**, v. 72, n.2, p.45-50, fev. 1995.

RAIDAL, S.L.; TAPLIN, R.H.; BAILEY, G.D.; LOVE, D.N. Antibiotic prophylaxis of lower respiratory tract contamination in horses confined with head elevation for 24 or 48 hours. **Australian Veterinary Journal, Brunswick**, v. 75, p.126-131, fev.1997. (A)

RAIDAL, S.L.; BAILEY, G.D.; LOVE, D.N. Effect of transportation on lower respiratory tract contamination and peripheral blood neutrophil function. **Aust. Vet. J**. 1997 Jun;75(6):433-8. (B)

RAPHEL C.F; BEECH J. **Pleuritis secondary to pneumonia or lung abscessation in 90 horses**. J Am Vet Med Assoc. 1982 Oct 15;181(8):808-10.

ROSE, R. J.; HODGSON, D. R. An overview of performance and sport medicine. In: HODGSON, D. R.; ROSE, R. J. **The athletic horse**. Philadelphia: W. B. Saunders,1994.

SPEIRS, V.C. **Exame clínico de eqüinos**. Porto Alegre: Artmed. 1999

SWEENEY, C.R.; BEECH, J.; ROBY, K, A. Bacterial isolates from tracheobronchial aspirates of healthy horses. **Am J Vet Res.** 1985 Dec;46(12):2562-5.

TRAUB-DARGATZ J.L.; MCKINNON, A.O.; THRALL, M.A.; JONES, R.L.; BRUYNINCKX, W.; BLANCQUAERT, A.M.; DARGATZ, D.A. Evaluation of clinical signs of disease, bronchoalveolar and tracheal wash analysis, and arterial blood gas tensions in 13 horses with chronic obstructive pulmonary disease treated with prednisone, methyl sulfonmethane, and clenbuterol hydrochloride. **Am J Vet Res.** 1992 Oct;53(10):1908-16.

VIEL, L. **Structural-functional correlations of the lung in the normal light horse.** MSc Thesis. University of Guelph, Ontario, Canada; 1980.

WARD, C.L.; WOOD, J.L.; HOUGHTON, S.B.; MUMFORD, J,A. CHANTER, N. Actinobacillus and Pasteurella species isolated from horses with lower airway disease. **Vet Rec.** 1998 Sep 5;143(10):277-9.

WHITWELL, K.E.; GREET, T.R.C. Collection and evaluation of tracheobronchial washes in the horse. **Equine Vet J** 1984; 16:499-508.

WILKINS, C.A.; RICHTER, M.B.; HOBBS, W.B.; WHITCOMB, M.; BERGH, N.; CARSTENS, J. Occurrence of Clostridium tetani in soil and horses. **S Afr Med J.** 1988 Jun 18;73(12):718-20.

WILKINS, P.A. Lower airway diseases of the adult horse. Veterinary Clinics of North America: **Equine Practice**, Philadelphia, v.19, n.1, p.101-21, 2003.

Tabela 1 - Perfil microbiológico de amostras de lavado traqueobrônquico colhidas em 18 eqüinos mantidos sob diferentes regimes de manejo.

Microorganismo	Animais a Pasto (n=9)				Animais Estabulados (n=9)				Total (n=18)	
	n	%TM	%TA	n	n	%TM	%TA	n	%TM	%TA
Microbiota Traqueal										
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	0	0,00	0	1	4,35	11,11	1	2,38	5,56	
<i>Echerichia coli</i>	2	10,53	22,22	3	13,04	33,33	5	11,90	27,78	
<i>Enterobacter agglomerans</i>	4	21,05	44,44	1	4,35	11,11	5	11,90	27,78	
<i>Enterobacter cloacae</i>	0	0,00	0	3	13,04	33,33	3	7,14	16,67	
<i>Enterobacter spp</i>	0	0,00	0	1	4,35	11,11	1	2,38	5,56	
<i>Enterococcus faecium</i>	0	0,00	0	1	4,35	11,11	1	2,38	5,56	
<i>Hafnia alvei</i>	4	21,05	44,44	2	8,70	22,22	6	14,29	33,33	
<i>Pasteurella spp</i>	1	5,26	11,11	3	13,04	33,33	4	9,52	22,22	
<i>Shigella spp</i>	2	10,53	22,22	0	0,00	0	2	4,76	11,11	
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	5,26	11,11	0	0,00	0	1	2,38	5,56	
<i>Staphylococcus hominis</i>	0	0,00	0	1	4,35	11,11	1	2,38	5,56	
<i>Staphylococcus spp</i>	1	5,26	11,11	0	0,00	0	1	2,38	5,56	
<i>Streptococcus agalactiae</i>	2	10,53	22,22	0	0,00	0	2	4,76	11,11	
<i>Micrococcus luteus</i>	2	10,53	22,22	1	4,35	11	3	7,14	16,67	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	0,00	0	2	8,70	22,22	2	4,76	11,11	
<i>Staphylococcus aleritiae</i>	0	0,00	0	4	17,39	44,44	4	9,52	22,22	
Total	19			23			42			

%TM – porcentagem em relação ao número total de microorganismos isolados, %TA – porcentagem em relação ao número de isolamentos por animal.

Tabela 2 - Perfil microbiológico de amostras de biópsia pulmonar colhidas em 18 eqüinos mantidos sob diferentes regimes de manejo.

Microorganismo	Bactérias Pulmonares						Total (n=18)					
	Animais a Pasto (n=9)			Animais Estabulados (n=9)			Animais a Pasto (n=9)			Animais Estabulados (n=9)		
	n	%TM	%TA	n	%TM	%TA	n	%TM	%TA	n	%TM	%TA
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	0	0,00	0	1	5,56	11,11	1	2,86	5,56	1	2,86	5,56
<i>Echerichia coli</i>	0	0,00	0	1	5,56	11,11	1	2,86	5,56	1	2,86	5,56
<i>Enterobacter agglomerans</i>	3	17,65	33,33	0	0,00	0,00	3	8,57	16,67	3	8,57	16,67
<i>Enterobacter spp</i>	0	0,00	0	1	5,56	11,11	1	2,86	5,56	1	2,86	5,56
<i>Enterococcus avium</i>	0	0,00	0	1	5,56	11,11	1	2,86	5,56	1	2,86	5,56
<i>Enterococcus faecium</i>	0	0,00	0	1	5,56	11,11	1	2,86	5,56	1	2,86	5,56
<i>Lactococcus lactis</i>	0	0,00	0	1	5,56	11,11	1	2,86	5,56	1	2,86	5,56
<i>Pasteurella spp</i>	2	11,76	22,22	0	0,00	0,00	2	5,71	11,11	2	5,71	11,11
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	5,88	11,11	0	0,00	0,00	1	2,86	5,56	1	2,86	5,56
<i>Staphylococcus carnosus</i>	1	5,88	11,11	0	0,00	0,00	1	2,86	5,56	1	2,86	5,56
<i>Staphylococcus hominis</i>	3	17,65	33,33	0	0,00	0,00	3	8,57	16,67	3	8,57	16,67
<i>Staphylococcus hyicus</i>	0	0,00	0	1	5,56	11,11	1	2,86	5,56	1	2,86	5,56
<i>Staphylococcus spp</i>	0	0,00	0	2	11,11	22,22	2	5,71	11,11	2	5,71	11,11
<i>Streptococcus agalactiae</i>	0	0,00	0	1	5,56	11,11	1	2,86	5,56	1	2,86	5,56
<i>Streptococcus spp</i>	0	0,00	0	2	11,11	22,22	2	5,71	11,11	2	5,71	11,11
<i>Complexo Acinetobacter calcoaceticus-baummannii</i>	3	17,65	33	0	0,00	0	3	8,57	16,67	3	8,57	16,67
<i>Alcaligenes spp</i>	1	5,88	11	0	0,00	0	1	2,86	5,56	1	2,86	5,56
<i>Micrococcus luteus</i>	3	17,65	33	1	5,56	11	4	11,43	22,22	4	11,43	22,22
<i>Staphylococcus alerttae</i>	0	0,00	0,00	2	11,11	22	2	5,71	11,11	2	5,71	11,11
<i>Staphylococcus lentus</i>	0	0,00	0,00	1	5,56	11	1	2,86	5,56	1	2,86	5,56
<i>Clostridium spp</i>	0	0,00	0	1	5,56	11,11	1	2,86	5,56	1	2,86	5,56
<i>Clostridium tetani</i>	0	0,00	0	1	5,56	11,11	1	2,86	5,56	1	2,86	5,56
TOTAL	17			18			35			35		

% TM – porcentagem em relação ao número total de microrganismos isolados; %TA – porcentagem em relação ao número de isolamentos por animal.

Figura 1 - Perfil microbiológico de amostras de lavado traqueobrônquico colhidas em 18 eqüinos mantidos sob diferentes regimes de manejo.

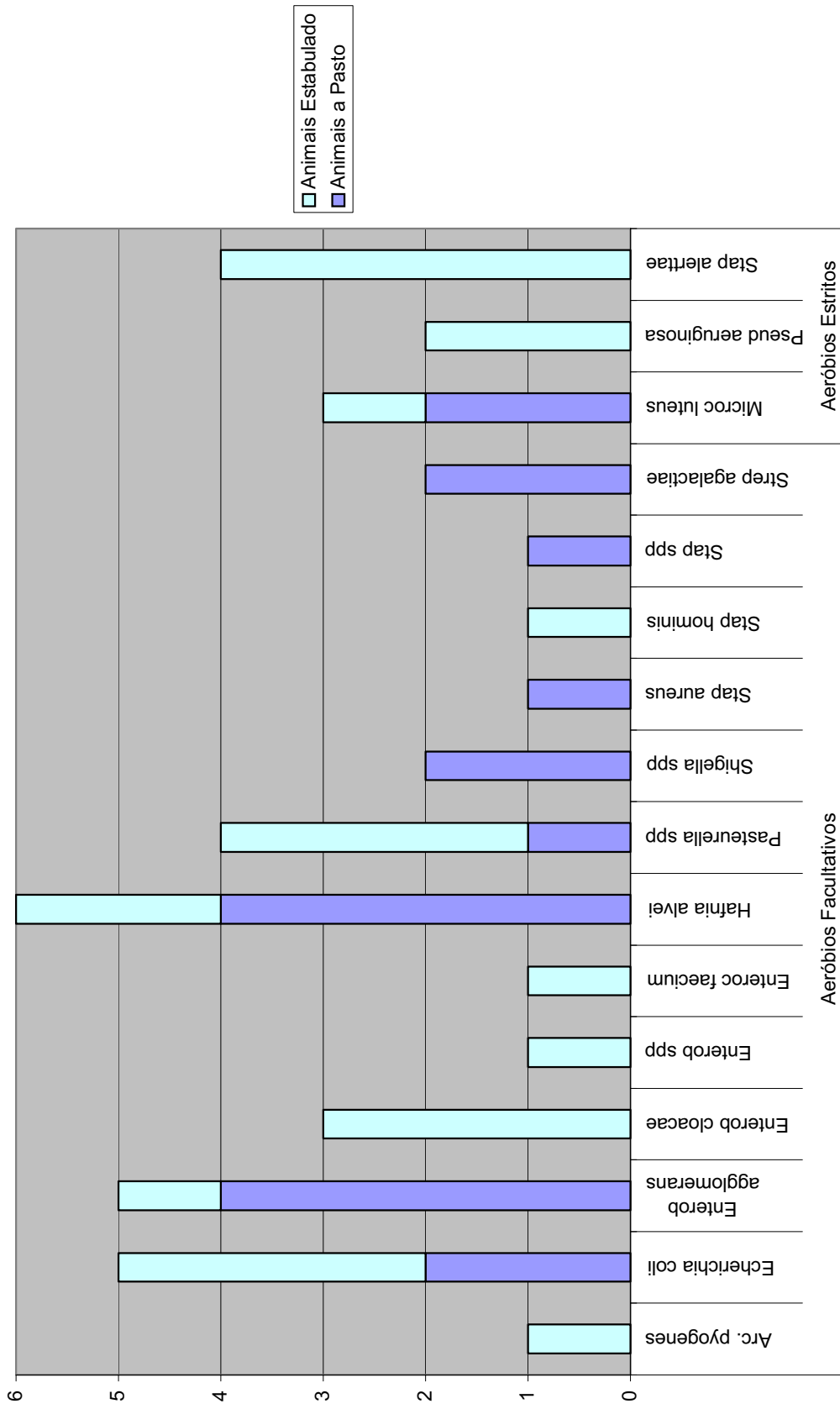


Figura 2 - Perfil microbiológico de amostras de biópsia pulmonar colhidas em 18 equinos mantidos sob diferentes regimes de manejo.

