

Microbiota da orofaringe e fezes de avestruzes (*Struthio camelus*) clinicamente sadios: estudos preliminares.

Microbiota of the oropharynx and feces of clinically normal ostriches (*Struthio camelus*): preliminary studies.

Rogéria Maria Alves de Almeida¹, Margarete Del Bianchi¹,
Manoel Carlos Gonçalves Neto², Rogério Rodrigues de Souza², Wendell Rodrigo Campos²

RESUMO

O estudo da microbiota de avestruzes (*Struthio camelus*) reveste-se de fundamental importância, pois através do mesmo pode-se obter parâmetros sobre epidemiologia e etiologia das principais doenças infecciosas que acometem essas aves. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a microbiota da orofaringe e das fezes de avestruzes clinicamente sadios. Foram avaliados 2 lotes de avestruzes, constituídos por 5 aves cada um. Do primeiro lote foram coletados 5 swabs da orofaringe (N=5) (2 fêmeas e 3 machos) e do segundo lote foram coletadas 5 amostras de fezes (N=5) (03 fêmeas e 2 machos), de um criadouro do município de Jacutinga-MG. Das amostras da orofaringe foram isoladas bactérias Gram negativas (*E.coli* e *Proteus* spp) e Gram positivas (*Bacillus* spp, *Corynebacterium* spp, *Actinomyces* spp e *Streptococcus* spp) e leveduras (*Candida albicans* e *Candida* spp) e das fezes bactérias Gram negativas (*Escherichia coli* e *Proteus* spp), Gram positivas (*Clostridium* spp, *Corynebacterium* spp e *Streptococcus* spp) e leveduras (*Candida albicans* e *Candida* spp). Observou-se semelhança entre os microrganismos isolados da microbiota da orofaringe e de fezes.

Palavras-chave: patologia aviária, avestruz, microbiota, fezes, orofaringe

¹ UNIPINHAL- Docentes das disciplinas de Microbiologia Geral e Especial
Centro Regional Universitário de Espírito Santo do Pinhal (UNIPINHAL)-
Av.Hélio Vergueiro Leite-s/n.Espírito Santo do Pinhal, SP-Cep-13990-000
e-mail –rogeriaalmeida@directnet.com.br

² UNIPINHAL- Curso de Medicina Veterinária- estagiários do laboratório de microbiologia

ABSTRACT

Study of the microbiota of ostriches (*Struthio camelus*) it is covered of fundamental importance, because through of that study it can be obtained parameters on to main infectious diseases that attack those birds. The objective of this study was to determine the species of microorganisms that form the normal microbiota of ostriches. Samples from oropharynx (N=5) and of feces (N=5) were collected from criadouro of the municipal district of Jacutinga-MG. Of the samples of the oropharynx they were microorganisms Gram negatives (*E.coli* and *Proteus* spp) and Gram positive (*Bacillus* spp, *Corynebacterium* spp, *Actinomyces* spp and *Streptococcus* spp) and yeasts (*Candida albicans* and *Candida* spp) and of the feces isolated microorganisms Gram negatives (*Escherichia coli* and *Proteus* spp) positive Gram (*Clostridium* spp, *Corynebacterium* spp and *Streptococcus* spp) and yeasts (*Candida albicans* and *Candida* spp). A similar frequency of occurrence between Gram negative and Gram positive bacteria in the microbiotas of oropharynx and feces.

Key words: avian pathology, ostrich, microbiota, feces, oropharynx

INTRODUÇÃO

Atualmente no mercado brasileiro a estrutiocultura, atividade de criação de avestruzes (*Struthio camelus*), ave pertencente ao grupo das ratitas (aves que não voam), tem se expandido e o Brasil é tido, entre a comunidade mundial, como um dos países de maior potencial de crescimento desta atividade (CARRER, 2003.)

Nas aves, a fonte primária de infecção, ocorre principalmente pela rota feco-oral, ou seja através de alimentos, água, ovos contaminados ou pelo hábito de coprofagia (HAGAN, BRUNER, 1988).

Bactérias e fungos que muitas vezes fazem parte da microbiota dos avestruzes, podem ser fonte de auto-contaminação, e dependendo das condições físicas e imunológicas do animal, podem ocasionar patologias graves. Portanto o conhecimento dessa microbiota pode auxiliar na etiologia de doenças, assim como servir de parâmetros para eventuais medidas de controle das infecções.

Estudos preliminares realizados por ALMEIDA *et al.* (2002) no Brasil, com avestruzes da variedade *African black*, evidenciaram o isolamento de *Streptococcus* spp, *Actinomyces* spp, *Bacillus* spp, *Clostridium* spp, *Escherichia coli*, *Proteus* spp e leveduras do gênero *Candida* spp, da orofaringe e das fezes. Melville *et al.* (2004) pesquisaram a microbiota de avestruzes e isolaram da cloaca *E. coli*, *Bacillus* spp, *Streptococcus* spp, *Staphylococcus* coagulase-negativa, *Pseudomonas aeruginosa* e *Rhodotorula* spp. Das amostras da orofaringe foram isolados *E.coli*, *Staphylococcus* coagulase-negativo, *Klebsiella pneumoniae*, *Rhodotorula* spp e *Cryptococcus* spp.

Apesar da importância da criação de avestruzes no Brasil, são escassas as pesquisas, envolvendo estudos da microbiota, assim como dados sobre a

epidemiologia e a etiologia de infecções dessas aves, no âmbito da literatura internacional e nacional. Levando-se em consideração esses aspectos, esta pesquisa teve como objetivo avaliar a microbiota bacteriana e fúngica isolada da orofaringe e fezes (entérica) de avestruzes clinicamente sadios.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliados 2 lotes de avestruzes, constituídos por 5 aves cada um. Do primeiro lote foram coletados 5 swabs da orofaringe (N=5) (2 fêmeas e 3 machos) e do segundo lote foram coletadas 5 amostras de fezes (N=5) (03 fêmeas e 2 machos), com faixa etária variando de 20 a 24 meses. Os avestruzes variedade *African black* apresentavam-se clinicamente sadios, procedentes do criadouro Camp Avestruzes, localizado em Jacutinga, MG.

As amostras da orofaringe foram coletadas com swabs estéreis, colocados imediatamente em caldo Brain and Heart Infusion (BHI), caldo Sabouraud e caldo Tetracionato. As amostras de fezes foram coletadas imediatamente após a defecação da superfície do bolo fecal, com auxílio de espátulas estéreis, e imediatamente colocadas em frascos estéreis, transportadas sob refrigeração para o laboratório de Microbiologia do UNIPINHAL. Os swabs da orofaringe foram inoculadas no caldo BHI, caldo Tetracionato e caldo Sabouraud, incubados à 37^oC por 24-48 horas. Das amostras de fezes foram retirados 10g, diluídas em 90mL de PBS (diluição 10⁻¹) e partir dessa foram feitas diluições sucessivas até 10⁻³. As amostras de fezes diluídas e dos swabs da orofaringe (após o período de incubação) foram semeadas em ágar sangue de carneiro (5%) (aeróbica e anaerobicamente), ágar Baird-Parker, Agar Mac Conkey, Agar *Salmonella-Shigella*. As culturas desenvolvidas no caldo Sabouraud, foram semeadas em agar Sabouraud, incubadas a 35^o C e 25^o C por 5 a 7 dias, para isolamento de leveduras e fungos filamentosos, respectivamente. Após o período de incubação as colônias foram submetidas a exames macroscópicos e microscópicos. A identificação de bactérias Gram negativas e Gram positivas foram realizadas através de provas bioquímicas usuais (EDWARDS; EWING, 1972; KRIEG, HOLT, 1994; MURRAY *et al.* 1999) e as leveduras foram identificadas e classificadas de acordo com KREEGER-VAN RIJ (1984).

RESULTADOS

As tabelas 1 e 2 expressam as bactérias e fungos isolados de 10 avestruzes clinicamente sadios, em relação a microbiota presente na orofaringe de um lote de 5 animais e fezes do outro lote composto por 5 animais, isolados e identificados através de exames microbiológicos.

**Tabela 1- Bactérias e fungos isolados da orofaringe de 5 avestruzes clinicamente saudáveis
(2 fêmeas e 3 machos)**

Animal	Sexo	Bactérias	Fungos
1	fêmea	<i>Escherichia coli</i> <i>Corynebacterium</i> spp <i>Streptococcus</i> spp	<i>Candida albicans</i>
2	fêmea	<i>Bacillus</i> spp <i>Corynebacterium</i> spp	<i>Candida albicans</i> <i>Candida</i> spp
3	macho	<i>Bacillus</i> spp <i>Clostridium</i> spp <i>Proteus</i> spp	<i>Candida albicans</i>
4	macho	<i>Actinomyces</i> spp <i>Bacillus</i> spp <i>Clostridium</i> spp <i>Proteus</i> spp	<i>Candida</i> spp
5	macho	<i>Clostridium</i> spp <i>Corynebacterium</i> spp <i>Streptococcus</i> spp	<i>Candida</i> spp

**Tabela 2. Bactérias e fungos isolados de fezes de 5 avestruzes clinicamente saudáveis
(3 fêmeas e 2 machos)**

Animal	Sexo	Bactérias	Fungos
1	fêmea	<i>Escherichia coli</i> <i>Corynebacterium</i> spp <i>Clostridium</i> spp	-
2	fêmea	<i>Escherichia coli</i> <i>Corynebacterium</i> spp <i>Clostridium</i> spp <i>Clostridium</i> spp	<i>Candida</i> spp
3	fêmea	<i>Streptococcus</i> spp <i>Proteus</i> spp	<i>Candida albicans</i>
4	macho	<i>Streptococcus</i> spp <i>Escherichia coli</i> <i>Proteus</i> spp	<i>Candida albicans</i>
5	macho	<i>Clostridium</i> spp <i>Proteus</i> spp	<i>Candida albicans</i>

DISCUSSÃO

As avestruzes são suscetíveis às infecções bacterianas e fúngicas, principalmente quando vivem em condições de confinamento, stresse. Dentre as infecções fúngicas, a mais comum é a micose pulmonar ocasionada por *Aspergillus fumigatus* (JENSEN; JOHNSON; WEINER,1992). Na presente pesquisa não foi detectada a presença de fungos filamentosos na orofaringe ou nas fezes, entretanto deve-se ficar atento para possíveis fontes de infecções, pois o trato respiratório inferior é o mais afetado, sendo a inalação a principal rota de invasão.

LUBBLIN *et al.* (1993) observaram em avestruzes de zoológicos infectadas por *Clostridium chauvoei*, uma síndrome caracterizada por hemorragias no intestino, fígado, pericárdio e pulmões. Na presente pesquisa *Clostridium* spp foi isolado tanto da

orofaringe como de fezes de avestruzes saudáveis, fator indicativo que esses microrganismos fazem parte da microbiota normal de avestruzes, e provavelmente dependendo das condições de estresse, podem provocar queda de resistência, e conseqüentemente ocasionar enfermidades.

De acordo com os resultados obtidos nessa pesquisa, a levedura *Candida albicans* foi isolada com elevada freqüência da orofaringe e das fezes. Esse achado deve ser considerado com mais atenção, pois a relação anatômica de proximidade da orofaringe com o restante do trato respiratório, pode facilitar a migração desses microrganismos para o sistema respiratório sob condições de debilidade, provocando infecções graves. Esses dados estão de acordo com JEFFREY *et al.* (1994) e LUBBLIN *et al.* (1993) que evidenciaram infecções pulmonares em avestruzes principalmente por *Candida albicans*. HUCHEZERMAYER (2000) relatou que *Candida* spp está freqüentemente relacionada a infecções respiratórias, da orofaringe e esôfago em avestruzes submetidas a antibioticoterapia.

Considerando-se que *Escherichia coli*, *Corynebacterium* spp, *Clostridium* spp, *Streptococcus* spp e *Candida albicans* foram isolados de amostras de fezes, colhidas de avestruzes hígidos, acredita-se que esses microrganismos fazem parte da microbiota normal entérica dessas aves, e sob determinadas condições podem ocasionar processos infecciosos.

A contaminação da casca do ovo por microrganismos, constitui a principal causa de mortalidade embrionária de avestruzes e infecção do saco da gema (HUCHZERMAYER, 2000). Tendo em vista que a cloaca é uma importante via de passagem de ovos durante a postura, e as fezes são a principal fonte de contaminação desse local, deve-se estar alerta para a microbiota presente nas fezes dos avestruzes. Deste modo constatou-se que a microbiota isolada das fezes de avestruzes fêmeas foi constituída por *E.coli*, *Proteus* spp, *Corynebacterium* spp, *Clostridium* spp, *Streptococcus* spp e *Candida albicans*, microrganismos responsáveis por infecções graves nas aves, e que poderiam ser fonte de contaminação dos ovos durante a postura.

Os microrganismos isolados da microbiota da orofaringe e entérica das avestruzes detectados nessa pesquisa, foram semelhantes aos isolados da microbiota da orofaringe e cloaca, relatados por MELVILLE *et al.* (2004).

CONCLUSÕES

Na presente pesquisa constatou-se que nos lotes de avestruzes hígdos, onde foi avaliada a microbiota da orofaringe ou das fezes, foram isoladas bactérias e leveduras, não tendo sido isolados fungos filamentosos.

A microbiota presente nas avestruzes hígdas, correspondente ao lote de estudo da orofaringe, foi constituída por bactérias Gram negativas (*E.coli* e *Proteus* spp), Gram positivas (*Bacillus* spp, *Corynebacterium* spp, *Actinomyces* spp e *Streptococcus* spp) e leveduras (*Candida albicans* e *Candida* spp). No lote de aves onde as fezes foram avaliadas, a microbiota foi composta por bactérias Gram negativas (*Escherichia coli* e *Proteus* spp), Gram positivas (*Clostridium* spp, *Corynebacterium* spp e *Streptococcus* spp) e leveduras (*Candida albicans* e *Candida* spp).

Apesar dos avestruzes avaliados nesse estudo não pertencerem ao mesmo lote, observou-se semelhança entre os microrganismos isolados da orofaringe de um lote e das fezes em relação ao outro lote de aves. Provavelmente esse fato, pode estar relacionado ao hábito de coprofagia das avestruzes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, R.M.A ; GONÇALVES NETO, M.; DEL BIANCHI. Avestruz (*Struthio camelus*): microbiota oral e intestinal. In: XXIX Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária (CONBRAVET), de 10 a 14 de outubro de 2002. Gramado, RS, 2002.
- CARRER,C.C. Os desafios do mercado de avestruzes no Brasil. **A lavoura**, dez, 2003. p.16-19.

- EDWARDS, P. R; EWING, W.H. **Identification of enterobacteriaceae**. 3 ed. Mineapolis : Burgess Publishing . 1972. 638p.
- FRISVAD, J.C; SAMSON, P.A. **Handbook of applied mycology: foods and feeds**. New York: Marcel Dekker. 1991. 254 p.
- HAGAN, W.A.; BRUNER, D.W. **Microbiology and infections diseases of domestic animals**. 8 ed. United States of America: Cornell University Press. 1988. 915p.
- HUCHZERMEYER, F.W. **Doenças de avestruzes e outras ratitas**. 2. ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 392P.
- JEFFREY, J. S. *et al.* Proventriculites and ventriculites associated with zygomycosis in Ostrich chicks. **Avian Diseases**, n.38, p.630-34. 1994.
- JENSEN ,J.M.; JOHNSON, J.H.; WEINER, S.T. Viral , chamydial and fungal diseases. In: **Husbandry and medical management of ostrich , emus and rheas**. College Station , Tex : Wildlife and exotic animal tele consultant. 1992.p.83-86.
- KREEGER VAN-RIJ,.N.J.W. **The yeast: a taxonomic study**. 3 ed. Amsterdan: Elsevier science Publishers. 1984. 1081p.
- KRIEG, N.R.; HOLT,J.C.(eds). **Bergey'smanual of systematic bacteriology**. 9 ed.Baltimore:Willians & Wilkins,1994. 1599p.
- LUBBLIN, A *et al* .A paralytic-like disease of the ostrich (*Struthio Camelus Masaicus*) associated with *Clostridium chauvoei* infection. **Veterinary Record**, v.132.p.273-275,1993.
- MELVILLE, A. P. *et al.* Determinação da microbiota presente na cloaca e orofaringe de avestruzes (*Struthio camelus*) clinicamente sadios. **Ciência Rural**, v.34, n.6. p.1871-1876. 2004.
- MURRAY,P.R. *et al.* **Manual of clinical microbiology**. 7. ed. Washington: American Society for Microbiology, 1999.1773p.
- SPENCER, E.L. Common infections diseasesof psittacine birds seen. In pratice.**Vet.Clin. North.Anim.Pract**. 1991. p.1213-30.