

Nº 163
284



DETERMINACION DE LA MICROFLORA NORMAL DE OJO EN EQUINOS DEL HIPODROMO DE LAS AMERICAS

Trabajo final escrito del III Seminario de Titulación
en el área de:

EQUINOS

Presentado ante la División de Estudios Profesionales
de la
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
de la
Universidad Nacional Autónoma de México
Para la obtención del título de
Médico Veterinario Zootecnista
Por

Horacio Mauricio Trujillo

Asesores:

- MVZ. MSc Gustavo Adolfo García Sánchez
- MVZ Alfonso Arzave Barrera
- MVZ Gustavo Adolfo García Delgado
- MVZ Ramiro Calderón Villa



Mexico, D. F.

Mayo 1992

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO

Página

TITULO.....	i
DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTOS.....	iii
RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	2
OBJETIVO.....	4
MATERIAL Y METODOS.....	5
RESULTADOS.....	9
DISCUSION.....	11
LITERATURA CITADA.....	17
CUADROS.....	19

RESUMEN

MAURICIO TRUJILLO HORACIO. Determinación de la microflora normal de ojo en equinos del Hipódromo de las Américas: III Seminario de Titulación en el área de Equinos (bajo la dirección de: MVZ, MSc Gustavo Adolfo García Sánchez, MVZ Alfonso Arzave Barrera, MVZ Gustavo Adolfo García Delgado y MVZ Ramiro Calderón Villa).

Se obtuvieron 100 muestras conjuntivales de 50 caballos del Hipódromo de las Américas de la Ciudad de México, para determinar la microflora normal de ojo en caballos que representan a una población de 1500 equinos aproximadamente. Se utilizaron técnicas convencionales para el aislamiento de bacterias aerobias y hongos. Se identificaron 14 géneros bacterianos y 4 géneros fungales. Los gérmenes de mayor prevalencia fueron organismos Gram positivos correspondientes a los géneros Staphylococcus, Corynebacterium y Actinomyces y con menor frecuencia se identificaron organismos Gram negativos de los géneros Serratia, Moraxella, Pasteurella y Pseudomonas y hongos ambientales como Aspergillus y Penicillium. El conocimiento de la microflora ocular normal en el equino sirve de apoyo médico y permite al clínico anticipar la presencia de ciertos organismos en la superficie ocular en el evento de trauma ocular, y de esta forma anticipar medidas preventivas y terapéuticas ante una lesión inicial. La flora de los ojos equinos normales es predominantemente de bacterias no patógenas Gram positivas y Gram negativas y algunas bacterias patógenas oportunistas además de hongos ambientales, por lo tanto se cree que estos hallazgos reflejan el espectro de microorganismos presentes en el ojo del caballo y puede variar con el área geográfica puesto que un número de patógenos oportunistas se han aislados de ojos equinos infectados.

INTRODUCCION

La incidencia de problemas oftalmológicos de origen traumático representan un número elevado de casos en la clínica de equinos. De estos aproximadamente un 80 a 90 % van a presentar procesos infecciosos asociados en un corto período de tiempo, la mayoría de estos causados por flora bacteriana normal o propia, lo cual puede llegar a repercutir en la pérdida permanente de la visión (14, 16).

Los daños oculares en los caballos son relativamente comunes debido a que el ojo en el equino es prominente y está propenso a la exposición de una multitud de irritantes ambientales y a microorganismos oportunistas (9, 16). Pueden resultar heridas cuando cae material extraño al ojo, como lodo, piedras o traumatismos durante el entrenamiento y en el momento de la carrera, o por cualquier objeto durante su estancia en el establo (16). Seguido del trauma ocular, sin importar que tan leve sea este, el ojo es altamente susceptible a la invasión de microorganismos patógenos oportunistas que pueden causar una infección superficial o una infección profunda localizada (12, 14, 15, 16). Parte de la microflora normal es potencialmente patógena y puede causar enfermedades serias al multiplicarse y complicar la lesión hacia un proceso infeccioso (12, 14, 16).

La microflora ha sido estudiada en varias partes del mundo y casi todos los estudios están de acuerdo en que predominan organismos Gram positivos pertenecientes a los géneros Corynebacterium, Bacillus, Staphylococcus y Streptococcus principalmente y organismos Gram negativos de los géneros Neiseria, Pseudomonas, Moraxella, y hongos de los géneros Aspergillus spp., Alternaria spp., Penicillium spp., Fusarium spp. y Absidia spp. (1, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 16).

Los rangos de prevalencia para varios organismos varían entre los diferentes estudios. Esta variación puede reflejar cambios estacionales, localización geográfica, disparidad en la colección de especímenes, medios de cultivo utilizados, influencia del medio ambiente inmediato, microflora cutánea y la predisposición de los animales muestreados (5, 12, 15, 16).

Se ha determinado que la microflora ocular normal en el caballo es diferente a la flora ocular normal de bovinos, perros y gatos (1, 14).

En México no se ha determinado cuál es la flora normal del ojo en el equino, por lo tanto el conocimiento de la microflora normal de esta especie permitirá al clínico anticipar la presencia de ciertos organismos en infecciones oculares y de esta forma iniciar medidas racionales preventivas y terapéuticas (10, 12, 15, 16).

En el Hipódromo de las Américas de la Ciudad de México, se han encontrado con cierta frecuencia afecciones oculares de origen traumático que posteriormente se complican por la invasión de gérmenes oportunistas que al multiplicarse producen serias infecciones que pueden llegar a ocasionar la pérdida de la visión. Por esto es necesario efectuar estudios al respecto y de esta forma anticipar una terapia sobre los gérmenes patógenos oportunistas que colonizan el ojo equino para evitar la exacerbación de las lesiones iniciales.

OBJETIVO

Determinar la microflora aerobia normal del ojo en caballos del Hipódromo de las Américas, y compararla con estudios realizados en otros países, esperando que esta información sirva de apoyo clínico para la elección de una terapia ante una lesión ocular.

MATERIAL Y METODOS

Se obtuvieron muestras conjuntivales de ambos ojos de 50 caballos Pura Sangre Inglés de Carreras, que se encuentran en el Hipódromo de las Américas de la Ciudad de México, donde existe una población de 1,500 caballos aproximadamente; el rango de edades es de 2 a 8 años sin considerar el sexo.

Las caballerizas de estos animales son de concreto, puerta de madera y marco de metal, piso de cemento o tierra cubierto con cama de viruta, los techos son de lámina de asbesto, además cada cuadra cuenta con un pasillo o paseadero con piso de tierra o arena. El Hipódromo cuenta con una pista cubierta con arena de río donde los caballos están en entrenamiento continuo por las mañanas y por la tarde en el momento de la carrera y de ahí pasan el resto del día en la cuadra, por lo tanto, los caballos se encuentran en condiciones medioambientales similares. Sólo se tomaron especímenes de caballos que a la inspección clínica estaban aparentemente sanos y sin estar bajo terapia medicamentosa por alguna otra causa.

COLECCION DE ESPECIMENES.

Los caballos fueron llevados a la clínica No. 1 del Dr. Arzave y posteriormente se pasaron al área de inspección clínica para tomar la muestra, dicha área consta de tres paredes forradas con duela de madera barnizada, el techo es de concreto y el piso de cemento cubierto por hule antiderrapante. Antes de tomar la muestra, los caballos se sujetaron por el método de contención física como almartigón, cadena y arcial en el belfo superior para evitar movimientos bruscos y poder tomar la muestra sin que se contaminara. De cada caballo se tomó una muestra de ojo derecho e izquierdo con hisopo estéril.

Las muestras oculares se obtuvieron por simultánea elevación del párpado superior y retropunción del globo ocular con ligera presión digital del párpado superior e inferior, exponiendo la superficie anterior del tercer párpado (5, 12, 15, 16). Se utilizó un hisopo de algodón estéril y se hizo un raspado en el borde posterior medial y la base del tercer párpado teniendo cuidado de evitar el contacto con los márgenes del párpado y carúncula lacrimal (5, 12, 15, 16).

Los hisopos con la muestra se introdujeron rápidamente en un tubo con medio de transporte de Stuart modificado, los especímenes se llevaron a la Sección de Diagnóstico del

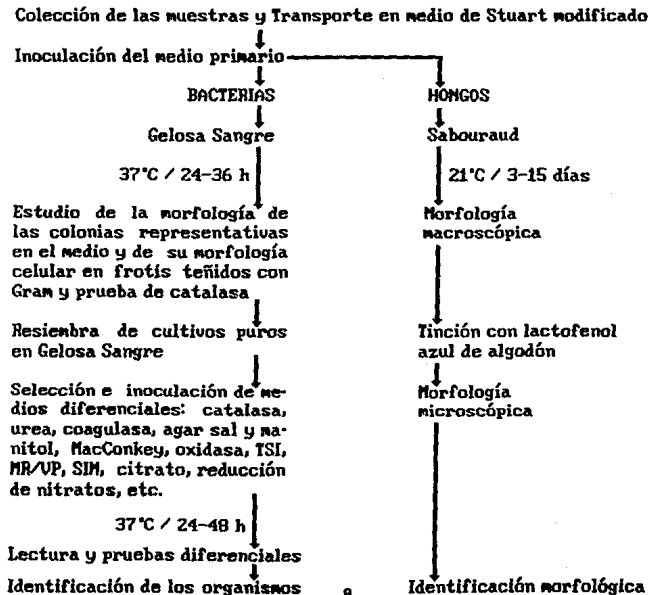
Departamento de Bacteriología de la Fac. Med. Vet. y Zoot. de la U.N.A.M., e inmediatamente se sembraron en medios de cultivos para bacterias aerobias y hongos: Agar Sangre y Agar Dextrosa Saboureaud (2, 3, 12, 15, 16).

Basándose en los resultados de otros autores que mencionan que estudios piloto no mostraron crecimiento anaerobio, no se realizó el aislamiento de bacterias anaerobias (12, 15, 16).

Cada caja de petri se marcó en dos secciones iguales para la siembra del espécimen tanto de ojo derecho como izquierdo (2, 3, 7).

Las técnicas de aislamiento se efectuaron con ayuda de libros especializados en diagnóstico bacteriano y fungal bajo la siguiente metodología (2, 3, 4).

METODOLOGÍA EMPLEADA PARA EL AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE BACTERIAS AEROBIAS Y HONGOS DE ESTE ESTUDIO (2,3,4,6,7)



RESULTADOS

En el presente estudio, los 50 caballos muestreados de ambos ojos fueron positivos en mayor o menor grado al aislamiento de bacterias aerobias y hongos. Se identificaron 14 géneros bacterianos y 4 géneros fungales.

Los géneros bacterianos que se aislaron con mayor frecuencia fueron organismos Gram positivos correspondientes a Staphylococcus aureus (76%), Staphylococcus epidermidis (20%), Actinomyces viscosus (19%), Corynebacterium equi (19%), Corynebacterium pseudotuberculosis (16%) y organismos Gram negativos como Acinetobacter calcoaceticus (18%).

Con menor frecuencia se encontraron bacterias Gram positivas tales como Corynebacterium spp. (12%), Streptococcus sp. (3%), Corynebacterium sp. (2%), Listeria monocytogenes (2%), Corynebacterium kutscheri (1%) y bacterias Gram negativas como Serratia spp. (7%), Moraxella sp. (6%), Actinobacillus sp. (5%), Klebsiella pneumoniae (5%), Pseudomonas aeruginosa (5%), Serratia sp. (4%), Klebsiella sp. (3%), Pasteurella aerogenes (3%), Moraxella bovis (2%), Pasteurella sp. (2%), Klebsiella oxytoca (1%), Escherichia coli (1%) y Yersinia kristensenii (1%) (cuadro 1).

De los hongos aislados de las muestras conjuntivales se identificaron los géneros Aspergillus sp., Penicillium sp., Mucor sp. y Paecilomyces sp. (cuadro 2).

DISCUSION

Los géneros bacterianos identificados en este estudio fueron similares a los géneros aislados de ojos equinos normales de otros estudios (cuadro 1 y 3), sin embargo la frecuencia de los especímenes bacterianos varía en los diferentes estudios (1, 9, 12, 14, 15).

Casi sin excepción se obtuvieron crecimientos bacterianos y micóticos de los hisopos oculares de los caballos muestreados en este trabajo, asegurándose que no se trató de contaminantes cutáneos; es importante detectar los microorganismos directamente del material clínico y realizar el aislamiento de los cultivos puros para establecer un diagnóstico certero (10, 12). Ordinariamente se aislaron bacterias apatógenas y hongos ambientales y otro grupo que puede ser clasificado como patógenos oportunistas. Dentro de estos últimos se encontraron con mayor frecuencia bacterias de los géneros Staphylococcus, Corynebacterium, y con menor frecuencia Moraxella y Pseudomonas y hongos ambientales, como Aspergillus y Penicillium (2, 3, 12, 15, 16).

En este estudio los hallazgos indican que la prevalencia de hongos está directamente relacionada al medio ambiente inmediato del caballo. No así la flora bacteriana la cual está

influenciada por otros factores tales como edad, raza, factores humorales, dieta, estación del año, flora cutánea, contacto con otros animales o procedimientos de limpieza (12, 15). Las bacterias parecen ser residentes permanentes de las superficies internas y externas localizadas en el cuerpo y mucosas (9, 12, 15). Algunas bacterias de la superficie son adquiridas al nacimiento pero la mayoría son adquiridas durante la vida del animal, por contacto directo con otros caballos o con objetos inanimados y por ingestión o inhalación de microorganismos (12, 15, 16).

La flora bacteriana y fungal de ojo comunmente no es patógena y no es invasiva pero puede ocasionar daños en enfermedades de la córnea, traumatismos o cuando se aplica una terapia prolongada con antibióticos y corticosteroides (10, 11, 13). Usualmente los microorganismos no penetran la córnea intacta sin embargo seguido del trauma ocular y la ulceración, las bacterias oportunistas y hongos pueden causar un proceso infeccioso de queratitis infecciosa ulcerativa (10, 11, 13). Los microorganismos son capaces de promover la degradación enzimática de la córnea, ya que las enzimas microbianas como colagenasas y proteasas estimulan la disolución de la substancia intercelular y la colágena corneal. Los neutrófilos, atraídos por factores quimiotácticos pueden invadir el estroma corneal ocasionando degranulación y liberación adicional de la

degradación enzimática. Esto resulta en edema, daño o pérdida de la arquitectura del estroma y necrosis de la córnea. El proceso es extenso, puede ocurrir queratomalasia y acumulación de tejido o sangre degradada antes de la reparación fibrovascular en los tejidos de la córnea, resultando en la ruptura del globo con prolapso del iris, endoftalmitis o phthisis bulbi (9, 10, 11).

Las enfermedades corneales más severas en donde se han utilizado combinaciones de esteroides y antibióticos por períodos prolongados suelen ocasionar infecciones mixtas por Pseudomonas y Aspergillus sp. (10, 11, 16).

En el humano el uso prolongado de antibióticos tiende a convertir la flora normal, predominantemente ocupada por organismos Gram positivos, a flora que comprende bacterias Gram negativas y hongos (15). Esto sugiere que el uso tópico prolongado de antibióticos de amplio espectro contribuye a incrementar la incidencia de queratomicosis en el hombre al eliminar la flora normal incluyendo a los hongos (11, 15).

En 37 casos de queratitis ulcerativa en equinos, muchos de los cuales fueron tratados tópicamente con antibióticos, se reportó una gran prevalencia de bacterias Gram negativas y hongos. Esto apoya la idea de que el uso tópico de antibióticos en el ojo del equino también resulta en el cambio de la flora

bacteriana ocular de Gram positivos a Gram negativos (15). La susceptibilidad antibiótica se puede ver afectada por terapia antimicrobiana previa o concurrente y los antibióticos pueden crear resistencia en la flora presente (15, 16).

En el presente estudio no se realizaron pruebas de susceptibilidad antibacteriana pero se reporta en la literatura que la mayoría de los gérmenes que se aislaron en este estudio son sensibles a la gentamicina, amikacina, tobramácina, kanamicina, cefalotina y polimixina B y los gérmenes fungales son sensibles a ketaconazole y a desinfectantes orgánicos como el yodo (5, 14).

ALTERNATIVAS DE TRATAMIENTO.

Un tratamiento inicial debe basarse en hallazgos de la historia clínica y en el conocimiento de la prevalencia de los microorganismos oculares en caballos de un área geográfica determinada.

A. Gentamicina. Es un potente bactericida contra organismos Gram negativos incluyendo a Proteus y algunas especies de Pseudomonas y también es efectivo contra especies resistentes de Staphylococcus. Gentamicina oftálmica se aplica cada 2 a 4 hrs (8).

B. Amikacina. Es un aminoglicósido de amplia actividad antimicrobiana, se emplea especialmente en infecciones por Pseudomonas resistentes; comercialmente no se dispone de una presentación tópica pero puede prepararse a partir de una solución de 100 mg/ml diluyendo al 10 ‰, aplicar de 0.25 a 0.5 ml cada 2 a 4 horas (8).

C. Tobramacina. Aminoglicósido relacionado a Neomicina, Kanamicina y Gentamicina, es de amplio espectro y es la droga de elección para Pseudomonas. Aplicar cada 2 a 4 horas (8).

D. Polimixina B. Antibiótico efectivo contra la mayoría de cocos Gram positivos y Gram negativos, incluyendo algunas cepas de Pseudomonas. Frecuentemente se utiliza en combinación con Neomicina y Bacitracina (8).

E. Suero del caballo afectado. Favorece la respuesta inmune ya que contiene inmunoglobulinas sobre todo las de tipo IgA aplicar de 4 a 8 veces al día en forma tópica.

F. Ketoconazole. Droga antifungal (Nizoral, 200 mg tabletas). Esta presentación puede disolverse en agua para ser usada tópicamente. La administración sistémica es efectiva contra infecciones fungales, se recomienda diluirlo al 10% para aplicarlo en forma tópica (8).

G. Lavado mecánico. con S.S.F. y Iodo povidona, diluirlo del 1.5 al 2% (color té claro). Aplicar de 10 a 20 ml por 2 a 3 veces, después irrigar con S.S.F.

H. Hisopo impregnado con yodo povidona. se usa a la concentración comercial del 15%, limpiar tópicamente y enjuagar con S.S.F.

I. Corticosteroides. Contraindicados, penetran el epitelio corneal y bajan la capacidad inmunológica.

LITERATURA CITADA.

1. Barber, D.M.L., Jones, G.E. and Wood, A.: Microbial flora of the eyes of cattle. Vet. Rec., 118: 204-206 (1986).
2. Carter, G.R.: Diagnostic Procedures in Veterinary Bacteriology and mycology. Charles, C. Thomas, Springfield, Illinois. 1984.
3. Cottral, G.E. (ed): Manual of Standardized Methods for Veterinary Microbiology. Cornell University Press, Ithaca, New York, 1978.
4. Dvorak, J. and Otcenasek, M.: Mycological Diagnosis of animal dermatophytoses. Publishing house of the Czechoslovak Academy of Sciences, Prague, 1969.
5. Gelatt, K.N.: Veterinary Ophthalmology. Lea and Febiger, Philadelphia, 1982.
6. Gillespie, J.H. y Timoney J.F.: Enfermedades infecciosas de los animales domésticos de Hagan y Bruner. La Prensa Médica Mexicana, S.A., México, D.F., 1983.
7. Jang, S.S., Biberstein, E.L. and Hirsh, D.C.: A Diagnostic Manual of Veterinary Clinical Bacteriology and Mycology. University of California, Davis California, 1982.
8. Lavach, J.D.: Large Animal Ophthalmology. C. V. Mosby, St. Louis, Missouri, 1990.
9. Lundvall, R.L.: The bacterial and mycotic flora of the normal conjunctival sac in the horses. Proc. of the thirteenth Annu. Conv. of the Amer. Assoc. of Equ. Pract. New Orleans Louisiana.: 101-103 (1987).
10. McLaughling, S.A., Brightman, A.H., Helper, L.C., Manning, T.P. and Tomes, J.E.: Pathogenic bacteria and fungi associated with extraocular disease in the horse. J. Am. vet. med. Ass., 182: 241-242 (1983).

11. Moore C.P., Feles, W.H., Whittington, P. and Bauer, L.: Bacterial and fungi isolates from equidae with ulcerative keratitis. J. Am. vet. med. Ass., 182: 600-603 (1983).
12. Moore, C.P., Heller, N., Majors, L.J., Whitley, R.D., Burgess, E.C. and Weber, J.: Prevalence of ocular microorganisms in hospitalized and stabled horses. Am. J. vet. Res., 49: 773-777 (1988).
13. Pal, M. and Mehrotra, A.S.: Studies on the association of Aspergillus fumigatus with ocular infection in animals. Vet. Rec., 118: 42-44 (1986).
14. Samuelson, D.A., Andresen, T.L. and Gwin, R.M.: Conjunctival fungal flora in horses, cattle, dogs and cats. J. Am. vet. med. Ass., 184: 1240-1242 (1984).
15. Whitley, R.D., Burgess, E.C. and More, C.P.: Microbial isolates of the normal equine eye. Equine vet. J. Suppl., 2: 138-140 (1983).
16. Whitley, R.D. and Moore, C.P.: Microbiology of the equine eye in health and disease. Vet. clin. North Am.: Large Anim. Pract., 6: 451-466 (1984).

CUADRO 1. AISLAMIENOS BACTERIANOS DE OJOS NORMALES DE
50 CABALLOS (100 OJOS).

MICROORGANISMOS	PORCENTAJE
<u>Staphylococcus aureus</u>	76 %
<u>Staphylococcus epidermidis</u>	20 %
<u>Actinomyces viscosus</u>	19 %
<u>Corynebacterium equi</u>	19 %
<u>Acinetobacter calcoaceticus</u>	18 %
<u>Corynebacterium pseudotuberculosis</u>	16 %
<u>Corynebacterium spp.</u>	12 %
<u>Serratia spp.</u>	7 %
<u>Moraxella sp.</u>	6 %
<u>Actinobacillus sp.</u>	5 %
<u>Klebsiella pneumoniae</u>	5 %
<u>Pseudomonas aeruginosa</u>	5 %
<u>Serratia sp.</u>	4 %
<u>Klebsiella sp.</u>	3 %
<u>Pasteurella aerogenes</u>	3 %
<u>Streptococcus sp.</u>	3 %
<u>Corynebacterium sp.</u>	2 %
<u>Listeria monocytogenes</u>	2 %
<u>Moraxella bovis</u>	2 %
<u>Pasteurella sp.</u>	2 %
<u>Corynebacterium kutscheri</u>	1 %
<u>Klebsiella oxytoca</u>	1 %
<u>Escherichia coli</u>	1 %
<u>Yersinia kristensenii</u>	1 %

Cuadro 2. AISLAMIENTO FUNGAL DE AMBOS OJOS DE 50 CABALLOS NORMALES (Expresado en porcentaje de ojos muestreados)

MICROORGANISMOS	PORCENTAJE
<u>Aspergillus</u> sp.	61 %
<u>Penicillium</u> sp.	45 %
<u>Mucor</u> sp.	8 %
<u>Paecilomyces</u> sp.	1 %

Cuadro 3. AISLAMIENTO MICROBIANO DE OJOS DE CABALLOS NORMALES
(Expresado en porcentaje de ojos muestreados)

MICROORGANISMO	A U T O R E S *					
	A	B	C	D	E	F
<u>Corynebacterium</u> spp.	77	0	14	3.3	2.6	50
<u>Staphylococcus</u> spp.	64	4	18	13.8	13.2	96
<u>Streptococcus</u> spp.	77	11	2	43.9	7.9	3
<u>Moraxella</u> spp.	86	0	2	2.4	2.6	8
<u>Pseudomonas</u> spp.	0	0.4	0	13.8	26.3	5
<u>Acinetobacter</u> spp	0	0	0	0	15.8	18
<u>Bacillus</u> spp.	86	97	12	10.6	0	0
<u>Klebsiella</u> spp.	0	0	0	2.4	10.5	9
<u>Pasteurella</u> spp.	0	0	0	2.4	2.6	5
<u>Neisseria</u> spp.	47	0	2	0.8	0	0
<u>Escherichia</u> spp.	0	0.8	0	4.1	0	1
<u>Aspergillus</u> spp.	0	0	0	2.4	18.4	61
<u>Penicillium</u> spp.	0	0	0	0.8	7.9	45
<u>Fusarium</u> spp.	0	0	0	0.8	0	0

* AUTORES:

- A) Catabiani y col., 1976.
- B) Lundvall, 1967.
- C) Whitley y col., 1983.
- D) McLaughlin y col., 1983.
- E) Moore y col., 1984.
- F) Presente estudio, 1992.