PUBVET, Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia.

Otite externa canina em Campo Grande, Mato Grosso do Sul

Débora Mieko Yamamoto[1], Valéria Couto Maior Colino[2], Cássia Rejane Brito Leal[3], Veronica Jorge Babo-Terra[3]

[1] Mestranda em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste, UFMS.

[2] Médica Veterinária autônoma

[3] Departamento de Medicina Veterinária/UFMS

Resumo

Foi realizada avaliação microbiológica da secreção de conduto auditivo de cães atendidos em clínicas particulares e ambulatório da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, em Campo Grande. Para o isolamento de bactérias foram coletadas amostras do conduto auditivo de 40 cães que apresentavam sinais clínicos de otite externa e de 20 cães sem sinais clínicos de otite; para a identificação de *Malassezia pachydermatis,* a pesquisa foi realizada em 40 cães com otite e 40 cães sadios. Na identificação do gênero *Malassezia* os resultados obtidos em cães sadios demonstraram que 12,5% das amostras foram positivas e quanto aos cães com otite externa, 22,5% foram positivas. No isolamento bacteriano, os resultados obtidos revelaram que 100% das amostras de cães com otite resultaram em cultivos positivos enquanto que das amostras de cães sadios, 90% foram positivas. O microrganismo mais freqüente em amostras de cães portadores de otite foi *Staphylococcus* sp. e em cães sadios foram *Staphylococcus* sp. e bacilos Gram negativos não

fermentadores. O índice de resistência a antibacterianos foi maior para penicilina G enquanto os antimicrobianos mais eficazes foram enrofloxacina, gentamicina e polimixina B.

Palavras-chave: cães, ouvido, inflamação, *Malassezia pachydermatis*, diagnóstico, tratamento.

Canine external otitis in Campo Grande, Mato Grosso do Sul State, Brazil

Abstract

A microbiological study was performed with secretions from the auditory canal of canines treated in private clinics and the out-patients section of the Federal State University of Mato Grosso do Sul, in Campo Grande. Samples were collected from the auditory canal of 40 animals with clinical signs of external otitis and 20 animals without signs; in order to identify *Malassezia pachydermatis,* samples were collected from 40 canines with otitis and 40 without disease. The identification of the genus *Malassezia sp.* showed that 12.5% of the samples were positive in healthy canines, while 22.5% of animals with otitis were positive. Bacterial isolation showed that 100% of canines with otitis were positive, while healthy animals showed a positivity of 90%. The most frequent microorganism in samples from animals with otitis was *Staphylococcus* sp. and Gram negative bacilli. The index of antibacterial resistance was greater for penicillin G, while the most effective antibacterials were enroxoflacine, gentamicine and polymixine B.

Keywords: canines, auditory canal, inflammation, *Malassezia pachydermatis,* diagnosis, treatment.

INTRODUÇÃO

Conforme as estruturas afetadas, a otite canina pode ser classificada em externa, média e interna. Segundo Ettinger & Feldman (2004), estima-se que a otite externa acometa cerca de 5% a 20% dos cães.

A otite externa é uma inflamação do epitélio do meato auditivo externo, que às vezes atinge o pavilhão auricular, e pode ser aguda ou crônica. Não há um consenso entre os autores sobre as definições das otites aguda e crônica. Os sinais clínicos da otite externa são eritema, dor, presença de exsudato purulento e fétido, prurido e agitação da cabeça (AIELLO, 2001).

A evolução da otite externa pode causar otite média, que, por sua vez, pode evoluir para otite interna, resultando na perda de equilíbrio e surdez (AIELLO, 2001) ou ainda levar ao desenvolvimento de otohematoma e a conseqüente necessidade da realização de procedimento cirúrgico (TULESKI et al., 2007).

A otite externa possui etiologia multifatorial. Os canais auditivos externos da maioria dos cães abrigam um número pequeno de bactérias comensais e potencialmente patogênicas, tais como *Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus intermedius,* espécies de *Micrococcus* e coliformes ocasionais. As bactérias mais comuns associadas à otite externa incluem *Staphylococcus intermedius, Pseudomonas aeruginosa, Proteus* spp., *Streptococcus* spp., *Escherichia coli* e *Corynebacterium* spp. (ETTINGER & FELDMAN, 2004). Os produtos metabólicos produzidos pelas bactérias podem potencializar a inflamação (KISS et al., 1997).

A levedura *Malassezia pachydermatis* faz parte da microbiota tegumentar, auricular e da cavidade oral dos animais domésticos, entretanto é importante patógeno secundário, que na presença de qualquer desequilíbrio orgânico se multiplica causando lesões cutâneas alopécicas, eritematosas e hiperpigmentadas (ROSA et al., 2006).

O comportamento da espécie *M. pachydermatis* nos quadros de otites em cães já foi objeto de vários estudos. Contudo, sua etiopatogenia nestes quadros clínicos ainda não se encontra completamente elucidada. Por conseguinte, o envolvimento de *M. pachydermatis* como fator perpetuante ou desencadeante de otite externa, em cães, vem sendo bastante discutido (MACHADO et al., 2003).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar, na cidade de Campo Grande, os microrganismos presentes no ouvido de cães saudáveis e de cães com

sinais clínicos de otite externa e a susceptibilidade, "*in vitro*", dos isolados frente a antimicrobianos.

MATERIAL E MÉTODOS

Para o isolamento de bactérias foram coletadas amostras do conduto auditivo de 40 cães que apresentavam sinais clínicos de otite externa e de 20 cães sem sinais clínicos de otite; para a identificação de *M. pachydermatis* o estudo foi realizado em 40 cães com otite e 40 cães sadios atendidos em clínicas veterinárias particulares ou no ambulatório do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

As coletas foram realizadas utilizando *swabs* estéreis acondicionados em meio de transporte. As amostras foram semeadas inicialmente em meio não seletivo (Agar infuso de cérebro e coração - BHI) e posteriormente em meios seletivos para isolamento e identificação de bactérias Gram negativas e Gram positivas, em condições de aerobiose. Os gêneros ou espécies foram identificados com base na morfologia de colônia, produção de pigmentos, coloração pelo método de Gram e provas bioquímicas específicas.

A identificação de leveduras do gênero *Malassezia* foi realizada por exame direto de lâminas coradas com lactofenol blue. Foram consideradas positivas as amostras que apresentaram a presença de uma única célula, e negativo para aquelas que apresentaram ausência de células leveduriformes. A *Malassezia* foi identificada com base nas características morfológicas em microscópio óptico com aumento de 400x.

Para realização dos testes de susceptibilidade a antimicrobianos, utilizou-se o método de Bauer et al. (1966). Os antibióticos testados foram: Cefalexina (CFE), Cefazolina (CFZ), Enrofloxacina (ENO), Estreptomicina (EST), Gentamicina (GEN), Neomicina (NEO), Penicilina G (PEN), Polimixina B (POL), Sulfonamida (SUL), Sulfazotrim (SUT) e Tobramicina (TOB).

RESULTADOS

No isolamento de bactérias, nossos resultados demonstram que as 40 amostras obtidas de cães portadores de otite externa resultaram em cultivos positivos. E das 20 amostras de cães sadios, 18 (90%) apresentaram crescimento microbiano.

Do total de 58 cultivos positivos, 35 (60,4%) apresentaram apenas um único agente envolvido (levedura ou bactéria) e 23 (39,6%) apresentaram infecção mista (associação de leveduras e bactérias ou de bactérias distintas).

Quanto ao tipo de orelha, 27 animais portadores de otite apresentaram orelhas do tipo pendente, enquanto nove animais sadios apresentaram esse tipo de orelha. As principais raças de cães envolvidas neste estudo foram: Poodle (18), SRD (10), Pinscher (4), Fox Paulistinha (3), Lhasa Apso (3), Boxer (2), Bulldog (2), Cocker Spaniel (2), Teckel (2), Labrador (2), Maltês (2), Pastor Alemão (2), Yorkshire (2) e outras raças de menor incidência (6).

O principal microrganismo isolado do ouvido de cães sadios foi *Staphylococcus epidermidis* (11). Em menor proporção, também foi verificada a presença de bacilos Gram negativos não fermentadores (2), *Streptococcus* sp. (2), *Alcaligenes faecalis* (1) e *Serratia rubidaea* (1).

Os microrganismos encontrados no conduto auditivo dos cães portadores de otite externa foram: *Staphylococcus epidermidis* (14), *Staphylococcus saprophyticus* (6), *Alcaligenes faecalis* (4), *Pseudomonas* sp. (2) e outros bacilos Gram negativos não fermentadores (4), *Serratia rubidaea* (4), *Enterobacter* sp. (3), *Staphylococcus intermedius* (3), *Streptococcus* sp. (3) e *Salmonella* sp. (2).

As TABELAS 1 e 2 mostram o perfil de resistência aos antibióticos das bactérias isoladas em conduto auditivo dos cães envolvidos no estudo.

TABELA 1 - Perfil de resistência a antibióticos das bactérias isoladas em conduto auditivo de cães sadios, na cidade de Campo Grande, MS.

	Percentual de resistência a antibióticos (%)										
Bactérias (n)	CFE	CFZ	ENO	EST	GEN	NEO	PEN	POL	SUL	SUT	TOB
Staphylococcus epidermidis (11)	9,0	9,0	9,0	27,2	0	18	72,7	0	45,4	45,4	0
Bacilos Gram neg. não fermentadores (2)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Streptococcus sp. (2)	0	0	0	0	0	50	50	0	0	50	0
Alcaligenes faecalis (1)	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Serratia rubidaea (1)	0	100	0	0	0	0	100	0	0	0	0
Média	21,8	21,8	1,8	5,4	0	13,6	44,5	0	9,0	19,0	0

LEGENDA: Cefalexina (CFE), Cefazolina (CFZ), Enrofloxacina (ENO), Estreptomicina (EST), Gentamicina (GEN), Neomicina (NEO), Penicilina G (PEN), Polimixina B (POL), Sulfonamidas (SUL), Sulfazotrim (SUT) e Tobramicina (TOB).

TABELA 2 - Perfil de resistência a antibióticos das bactérias isoladas em conduto auditivo de cães portadores de otite externa, na cidade de Campo Grande, MS.

	Percentual de resistência a antibióticos (%)										
Bactérias (n)	CFE	CFZ	ENO	EST	GEN	NEO	PEN	POL	SUL	SUT	TOB
Staphylococcus epidermidis (14)	14,2	7,1	28,5	50	7,1	35,7	78,5	0	50	64,2	14,2
Staphylococcus saprophyticus (6)	50	50	0	33,3	0	16,6	100	16,6	83,3	100	0
Bacilos Gram neg. não fermentadores (4)	25	25	0	25	0	0	25	0	0	25	50
Alcaligenes faecalis (4)	75	75	0	25	0	0	75	25	0	0	0
Serratia rubidaea (4)	75	50	0	25	0	0	100	50	25	0	50
Streptococcus sp. (3)	0	0	0	66,6	0	33,3	33,3	0	33,3	66,6	0
Enterobacter sp. (3)	33,3	33,3	33,3	33,3	33,3	33,3	100	0	66,6	33,3	33,3
Staphylococcus Intermedius (3)	0	0	33,3	16,6	33,3	33,3	33,3	0	66,6	66,6	33,3
Pseudomonas sp. (2)	50	50	0	50	50	50	50	50	50	50	50
Salmonella sp. (2)	50	50	0	0	50	0	50	50	50	0	100
Média	37,2	34,0	9,5	32,4	17,3	20,2	64,5	19,1	42,4	40,5	33,0

LEGENDA: Cefalexina (CFE), Cefazolina (CFZ), Enrofloxacina (ENO), Estreptomicina (EST), Gentamicina (GEN), Neomicina (NEO), Penicilina G (PEN), Polimixina B (POL), Sulfonamidas (SUL), Sulfazotrim (SUT) e Tobramicina (TOB).

Na identificação do gênero *Malassezia* os resultados obtidos demonstraram que das 40 amostras de cães sadios, 05 (12,5%) foram positivos e 35 (87,5%)

foram negativos. Quanto às 40 amostras de cães com otite externa, apenas nove (22,5%) foram positivos e 31 (77,5%) negativos.

Com relação ao tipo de orelha, 27 animais portadores de otite apresentavam orelhas do tipo pendentes, enquanto que 22 animais sadios apresentavam esse tipo de orelha. Assim sendo, houve uma associação significativa ($p>0,05$) entre o tipo de orelha e a ocorrência da otite externa nos animais envolvidos no estudo.

As raças analisadas neste estudo foram: Poodle (26), SRD (16), Pincher (5), Fox Paulistinha (3), Lhasa Apso (3), Boxer (6), Bulldog (2), Cocker Spaniel (2), Teckel (2), Labrador (2), Maltês (2), Pastor Alemão (3), Yorkshire (2), Pitbul (1), Dálmata (1), Chow-Cchow (1), Mastin (2) e Rotweiler (1).

DISCUSSÃO

O presente trabalho identificou bactérias presentes em cães portadores de otite e sadios. Os animais envolvidos no estudo foram de diversas raças, apresentando tipo de orelhas pendentes ou não. A conformação anatômica do órgão foi avaliada em estudo realizado por Nobre et al. (2001) e Nascente & Mello (2006). Os autores verificaram que a maior freqüência de otite estava relacionada com orelhas do tipo pendente. Os resultados obtidos em nosso trabalho concordam com tal afirmativa, sendo o Poodle a raça mais prevalente em nossa pesquisa.

A maior parte das amostras apresentou apenas um único agente envolvido. Este fato diverge do que foi encontrado por Oliveira & Carvalho (2004), quando 95% das amostras apresentaram crescimento polimicrobiano.

Os cães portadores de otite demonstraram maior diversidade microbiana quando comparados aos animais do grupo controle. Este fato também foi relatado em trabalho realizado por Nobre et al. (2001), Oliveira & Carvalho (2004) e Fernández et al. (2006).

Em cães sadios, os gêneros aqui identificados foram semelhantes aos encontrados em trabalho realizado por Oliveira & Carvalho (2004), que encontraram *Staphylococcus* sp. e *Streptococcus* sp., e por Fernández et al.

(2006), que identificaram *Staphylococcus epidermidis.* Entretanto, nenhum autor relatou a presença de *Alcaligenes faecalis* e *Serratia rubidaea* em orelha de cães sadios, espécies estas encontradas em nosso estudo.

Em relação aos portadores de otite, os gêneros que encontramos também foram relatados por Lilenbaum et al. (2000), que identificaram *Staphylococcus intermedius, Staphylococcus epidermidis e Staphylococcus saprophyticus* e por Oliveira & Carvalho (2004), que encontraram *Staphylococcus intermedius, Enterobacter* sp., *Pseudomonas aeruginosa* e *Streptococcus* sp. Porém, esses achados divergem do que foi relatado em trabalhos realizados por Kiss et al. (1997) que identificaram *Bacillus* sp., *Escherichia coli, Klebsiella* sp., *Proteus* sp. e *Staphylococcus aureus.* Nenhum autor destacou *Staphylococcus epidermidis* como mais freqüente em cães com otite como foi visto em nosso trabalho, porém, autores como Lilenbaum et al. (2000) e Silva (2001) citaram o gênero *Staphylococcus* sp. como mais freqüente. As amostras de *Alcaligenes faecalis, Serratia rubidaea* e *Salmonella* sp. identificadas em nosso estudo não foram relatadas por nenhum autor.

O índice de resistência das bactérias aos antimicrobianos testados foi considerado moderado. Neste estudo, verificamos que três antimicrobianos (Enrofloxacina, Gentamicina e Polimixina B) tiveram desempenho satisfatório frente aos diversos gêneros isolados em cães portadores de otite. Esses antibióticos também foram eficazes em estudos realizados por Kiss et al. (1997) e Oliveira et al. (2006). Por outro lado, a penicilina G demonstrou menor eficácia, de forma que os microrganismos isolados de cães portadores ou sadios foram resistentes a esta substância. Rycroft & Saben (1977), Silva (2001) e Cunha et al. (2003) também concluíram que esse antimicrobiano apresentou menor eficácia frente aos microrganismos originários de otite.

O presente trabalho identificou *Malassezia pachydermatis* em cães portadores de otite e em cães clinicamente sadios. Os animais evolvidos no estudo foram de diversas raças, apresentando tipo de orelha pendente ou ereta. A otite ocorreu com maior frequência em orelhas pendulares, e a análise estatística mostra uma maior correlação desse tipo de orelha com a infecção.

Nos animais portadores de otite externa, a presença de *M. pachydermatis* foi significativa, sendo isolada em 22.5% dos animais, resultado que difere de Cunha et al. (2003), os quais detectaram a presença da levedura em 63% das amostras estudadas. Uma maior frequência de *M. pachydermatis* em cães portadores de otite também foi relatada por Leite et al. (2003) que isolaram a levedura em 78% dos cães com otite.

Nossos dados nos sugerem que, devido à condição climática de Campo Grande ser diferente das condições dos outros lugares relatados, não há o favorecimento da proliferação de fungos e leveduras. Deve-se considerar o caráter oportunista deste microrganismo que pode proliferar intensamente em condições de associação com outros microrganismos causadores de otite externa.

A prevalência de *M. pachydermatis* em cães saudáveis foi inferior (12.5%) ao encontrado por Nobre et al. (2001), na cidade de Pelotas-RS, os quais verificaram em seus estudos uma prevalência de 25%. Embora a fisiopatologia desta levedura não seja perfeitamente conhecida, considera-se normal o encontro da mesma em pequenas quantidades no conduto auditivo externo de cães livres de moléstia ótica (NOBRE et al*.,* 1998). Diversos autores consideram que a presença de células compatíveis morfologicamente com *M. pachydermatis* em exame direto, não é indicativo de doença, mas a presença de numerosas células por campo é considerada patogênica (GRIFFIN, 1996; MACHADO et al., 2003).

CONCLUSÃO

Malassezia pachydermatis é uma levedura que faz parte da microbiota de conduto auditivo de cães. Entretanto, este microorganismo também é importante na perpetuação de otites externas, uma vez que na presença de qualquer desequilíbrio ela se multiplica e causa lesões óticas.

Os resultados desse trabalho são relevantes na escolha dos antimicrobianos para o tratamento da otite externa canina. Porém, o sucesso da terapia depende também do controle ou eliminação dos fatores causadores da

inflamação que podem levar à cronicidade da doença. Por isso, é importante associar o exame clínico completo e os antibióticos adequados para a obtenção de resultados mais eficazes no tratamento dessa afecção.

BIBLIOGRAFIA

AIELLO, S. E. (Ed.). **Manual Merck de Veterinária.** 8ª ed. São Paulo: Roca, 2001. p.308-311.

BAUER, A. W.; KIRBY, W. M.; SHERRIS, J. C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **American Journal of Clinical Pathology.** v.45, p.493-496, 1966.

CUNHA, F. M.; COUTINHO, S. D.; MATERA, A.; FIORIO, W. A. B.; RAMOS, M. C. C.; SILVEIRA, L. M. G. Avaliação clínica e citológica do conduto auditivo externo de cães com otite**. Revista da Educação Continuada do CRMV-SP**, v. 6, p. 7-15, 2003.

ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Tratado de medicina interna veterinária.** 5ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. v.1, p.1048-1050.

FERNÁNDEZ, G.; BARBOSA, G.; VILLALOBOS, A.; PARRA, O.; FINOL, G.; RAMÍREZ, R. A. Isolation and identification of microorganisms present in 53 dogs suffering otitis externa. **Revista Científica.** v.16, n.1, p.23-30, 2006.

GRIFFIN, C. Limpeza e terapia tópica das otites. **A Hora Veterinária.** v.94, p.17-25, 1996.

KISS, G.; RADVANYI, S.; SZIGETI, G. New combination for the therapy of canine otitis externa I. Microbiology of otitis externa. **Journal of Small Animal Practice.** v.38, n.2, p.51-56, 1997.

LEITE; C. A. L.; ABREU, V. L. V.; COSTA, G. M. Frequência de *Malassezia pachydermatis* em otite externa em cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.** v. 55, n.1, p.101-104, 2003.

LILENBAUM, W.; VERAS, M.; BLUM, E.; SOUZA, G. N. Antimicrobial susceptibility of staphylococci isolated from otitis externa in dogs. **Letters of Applied Microbiology.** v.31, p.42-45, 2000.

MACHADO, M. L. S.; APPELT, C. E.; FERREIRO, L.; GUILLOT, J. Otites e dermatites por *Malassezia* spp. em cães e gatos. **Clínica Veterinária.** n.44, p.27-34, 2003.

NASCENTE, P. S.; MELLO, J. R. B. Estudo da população de *Malassezia pachydermatis* em otite externa canina e avaliação da sensibilidade *in vitro* e *in vivo* frente a antifúngicos. 2006. 135p. **Tese** (Doutorado em Ciências Veterinárias). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006. Disponível em: <http://www.dominiopublico.gov.br/download/texto/cp005494.pdf>. Acesso em: 28 set. 2009.

NOBRE, M.; MEIRELES, M.; GASPAR, L. F.; PEREIRA, D.; SCHRAMM, R.; SOUZA, L.; SOUZA, L. *Malassezia pachydermatis* e outros agentes infecciosos nas otites externas e dermatites em cães. **Ciência Rural**. v.28, n.3, p.447-452, 1998.

NOBRE, M. O.; CASTRO, A. P.; NASCENTE, P. S.; FERREIRO, L.; MEIRELES, M. C. A. Occurrency of *Malassezia pachydermatis* and other infectious agents as cause of external otitis in dogs from Rio Grande do Sul State, Brazil (1996/1997). **Brazilian Journal of Microbiology.** v.32, n.3, p.245-249, 2001.

YAMAMOTO, D.M. et al. Otite externa canina em Campo Grande, Mato Grosso do Sul. **PUBVET**, Londrina, V. 4, N. 27, Ed. 132, Art. 898, 2010.

OLIVEIRA, L. C.; BRILHANTE, R. S. N.; CUNHA, A. M. S.; CARVALHO, C. B. M. Perfil de isolamento microbiano em cães com otite média e externa associadas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.** v.58, n.6, p.1009-1017, 2006.

OLIVEIRA, L. C.; CARVALHO, C. B. M. Otite média e externa bilateral em cães. Estudo comparativo do perfil microbiológico e susceptibilidade a antimicrobianos das espécies prevalentes. 2004. 114p. **Dissertação** (Mestrado em Microbiologia Médica). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2004. Disponível em: <http://www.teses.ufc.br/tde_busca/arquivo.php?codArquivo=215>. Acesso em: 28 set. 2009.

ROSA, C. S.; MARTINS, A. A.; SANTIN, R.; FARIA, R. O.; NOBRE, M. O.; MEIRELES, M. C. A.; MADRID, I. M.; NASCENTE, P. S. *Malassezia pachydermatis* no tegumento cutâneo e meato acústico externo de felinos hígidos, otopatas e dermatopatas, no município de Pelotas, RS, Brasil. **Acta Scientiae Veterinariae**. v.34, p.143-147, 2006.

RYCROFT, A. K.; SABEN, H. S. A clinical study of otitis externa in the dog. **Canadian Veterinary Journal.** v.18, n.3, p.64-70, 1977.

SILVA, N. Identification and antimicrobial susceptibility patterns of *Staphylococcus* spp. isolated from canine chronic otitis externa. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.** v.53, n.2, p.1-5, 2001.

TULESKI, G. L. R.; FERREIRA, F. M.; WARTH, F. G. Avaliação da prevalência infecciosa e da sensibilidade *in vitro* aos antimicrobianos em otites de cães. 2007. 167p. **Dissertação** (Mestrado em Patologia Veterinária). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007. Disponível em: <http://dspace.c3sl.ufpr.br/dspace/bitstream/1884/8073/1/tese%20Giovana%20corrig%20Fab.pdf >. Acesso em: 28 set. 2009.