

GIOVANA LAÍS RUVIARO TULESKI

**AVALIAÇÃO DA PREVALÊNCIA INFECCIOSA E DA SENSIBILIDADE *IN*
VITRO AOS ANTIMICROBIANOS EM OTITES DE CÃES**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção de grau de Mestre em Patologia Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Fabiano Montiani-Ferreira.

Co-orientador: Prof. Dr. José Francisco Ghignatti Warth.

**CURITIBA
2007**

GIOVANA LAÍS RUVIARO TULESKI

**AVALIAÇÃO DA PREVALÊNCIA INFECCIOSA E DA SENSIBILIDADE *IN VITRO*
AOS ANTIMICROBIANOS EM OTITES DE CÃES**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção de grau de Mestre em Patologia Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Fabiano Montiani-Ferreira.

Co-orientador: Prof. Dr. José Francisco Ghignatti Warth.

**CURITIBA
2007**

PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS



PARECER

A Comissão Examinadora da Defesa da Dissertação intitulada "AVALIAÇÃO DA PREVALÊNCIA INFECCIOSA E DA SENSIBILIDADE *in vitro* AOS ANTIMICROBIANOS EM OTITES EM CAES" apresentada pela Mestranda GIOVANA LAIS RUVIARO TULESKI declara ante os méritos demonstrados pela Candidata e de acordo com o Art. 78 da Resolução nº 62/03 - CEPE/UFPR, que considerou a candidata ACONDICIONADA para receber o Título de Mestre em Ciências Veterinárias, na Área de Concentração em Patologia Veterinária.

Curitiba, 28 de fevereiro de 2007.

Prof. Dr.  Habiano Montiani Ferreira
Presidente/Orientador

Prof. Dr. José Francisco G. Warth
Membro

Prof. Dra. Cristina Leites Monteiro
Membro

PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS



PARECER

A Comissão Examinadora da Defesa da Dissertação intitulada "AVALIAÇÃO DA PREVALÊNCIA INFECCIOSA E DA SENSIBILIDADE *in vitro* AOS ANTIMICROBIANOS EM OTITES EM CAES" apresentada pela Mestranda GIOVANA LAIS RUVIARO TULESKI declara ante os méritos demonstrados pela Candidata e de acordo com o Art. 78 da Resolução nº 62/03 - CEPE/UFPR, que considerou a candidata ACONDICIONADA para receber o Título de Mestre em Ciências Veterinárias, na Área de Concentração em Patologia Veterinária.

Curitiba, 28 de fevereiro de 2007.

Prof. Dr.  Habiano Montiani Ferreira
Presidente/Orientador

Prof. Dr. José Francisco G. Warth
Membro

Prof. Dra. Cristina Leites Monteiro
Membro

PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS



PARECER

A Comissão Examinadora da Defesa da Dissertação intitulada "AVALIAÇÃO DA PREVALÊNCIA INFECCIOSA E DA SENSIBILIDADE *in vitro* AOS ANTIMICROBIANOS EM OTITES EM CAES" apresentada pela Mestranda GIOVANA LAIS RUVIARO TULESKI declara ante os méritos demonstrados pela Candidata e de acordo com o Art. 78 da Resolução nº 62/03 - CEPE/UFPR, que considerou a candidata ACONDICIONADA para receber o Título de Mestre em Ciências Veterinárias, na Área de Concentração em Patologia Veterinária.

Curitiba, 28 de fevereiro de 2007.

Prof. Dr.  Habiano Montiani Ferreira
Presidente/Orientador

Prof. Dr. José Francisco G. Warth
Membro

Prof. Dra. Cristina Leites Monteiro
Membro


PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS



PARECER

A Comissão Examinadora da Defesa da Dissertação intitulada "AVALIAÇÃO DA PREVALÊNCIA INFECCIOSA E DA SENSIBILIDADE *in vitro* AOS ANTIMICROBIANOS EM OTITES EM CAES" apresentada pela Mestranda GIOVANA LAIS RUVIARO TULESKI declara ante os méritos demonstrados pela Candidata e de acordo com o Art. 78 da Resolução nº 62/03 - CEPE/UFPR, que considerou a candidata ACONDICIONADA para receber o Título de Mestre em Ciências Veterinárias, na Área de Concentração em Patologia Veterinária.

Curitiba, 28 de fevereiro de 2007.

Prof. Dr.  Habiano Montiani Ferreira
Presidente/Orientador

Prof. Dr. José Francisco G. Warth
Membro

Prof. Dra. Cristina Leites Monteiro
Membro

Dedico esse trabalho à minha mãe, brilhante e sábia como Atena, que me ensinou a valorizar o estudo e a disciplina.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à UFPR e a toda a comunidade, pelo ensino gratuito e de qualidade do Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

À Deus e à minha família: minha mãe, Clementina Angelina Ruviaro Tuleski (incentivadora, apaixonada pela UFPR), Vanessa (ombro amigo) e Valéria (os conselhos sensatos).

Ao meu Orientador, Professor Dr. Fabiano Montiani-Ferreira, grande talento, que contribuiu de forma extremamente positiva na análise dos resultados e na dissertação da tese.

Ao meu Co-orientador, Professor Dr. José Francisco Warth, exemplo de vocação ao ensino e à pesquisa, que esteve diariamente envolvido nesse projeto.

À atual equipe do Laboratório de Microbiologia e Patologia Aviária, pelo auxílio nas atividades e incentivo: Maristela, Prof.^a Cybelle e Louise.

Ao Laboratório Veterinária Preventiva pela colaboração na obtenção de amostras.

Aos Professores Ivan de Barros e Pedro Michelotto, que me deram o crédito inicial ao escreverem as cartas de recomendação para minha inscrição no Mestrado.

Aos meus Professores da graduação em Veterinária, pela conduta científica e profissional, especialmente à Prof.^a Suely Rodaski.

A todos os professores da Pós-Graduação, pela qualidade do ensino e incentivo à pesquisa, em especial Prof. Dr. Felipe Wouk, Prof.^a Dra. Itaira Susko e Prof. Dr. Valdo Cavallet.

Ao amigo e colega Rogério Robes, primeiro veterinário a me oferecer amizade dentro Hospital Veterinário, e aos amigos que conheci durante o mestrado, especialmente Christine, Mariana e Priscilla.

Ao professor Rogério Lange, maestro no exercício do diálogo e atual Diretor do Hospital Veterinário da UFPR.

Aos residentes 2006 do Hospital Veterinário, que abrilhantaram e revolucionaram o ambiente: Anabella, Bruno, Janaína, Jessé, Juliano, Lia, Luiz Rodolfo (Lôlo), Palloma, Solange e Thalita.

Aos amigos e colegas de trabalho do Hospital Veterinário, que me ajudaram durante o mestrado a tornar meu ambiente de trabalho mais agradável: Ana, Áurea, Aurora, Carlão, Cida, Dito, Dorly, Fernando, Luiza, Maria Floripes, Olair, Paulo, Regina, Rosa, Sebastião, Simone, Tânia, Vanderlina.

In memoriam, agradeço ao meu pai, Nilson Tuleski, que dividiu comigo o amor aos animais, e ao Dr. José Kazumassa Tahira, pesquisador brilhante e amigo insubstituível.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	ix
LISTA DE GRÁFICOS.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	xii
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	xiii
RESUMO.....	xiv
ABSTRACT.....	xv
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Justificativa	2
1.2. Objetivo Geral	3
1.2. Objetivos Específicos	3
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1. TIPOS DE OTITE CANINA	4
2.2. FATORES PREDISPOONENTES	6
2.2.1. Características Anatômicas.....	7
2.2.2. Variações Climáticas.....	9
2.2.3. Excessiva Limpeza das Orelhas.....	9
2.2.4. Doenças Sistêmicas.....	9
2.3. FATORES PRIMÁRIOS.....	10
2.3.1. Parasitas.....	10
2.3.2. Corpos Estranhos.....	11
2.3.3. Tumores e Pólipos	11
2.3.3. Hipersensibilidade.....	12
2.3.4. Alterações de Queratinização.....	12
2.3.5. Doenças Auto-imunes.....	12
2.3.6. Celulite Juvenil.....	13
2.4. FATORES PERPETUADORES.....	13

2.4.1. Infecção Bacteriana Secundária.....	14
2.4.2. Infecção por Leveduras.....	14
2.4.3. Alterações Patológicas Crônicas.....	14
2.4.4. Otite Média.....	15
2.4.5. Causas Iatrogênicas.....	15
2.5. DIAGNÓSTICO DA OTITE CANINA EXTERNA.....	16
2.5.1. Anamnese.....	16
2.5.2. Exame Físico e Otoscópico.....	17
2.5.3. Exame Citológico.....	19
2.5.4. Cultura Bacteriana, Micológica e Testes de Sensibilidade.....	23
2.5.5. Audiometria e Diagnóstico por Imagem.....	26
2.5.6. Biópsia.....	28
2.6. MICROBIOTA PREVALENTE NAS OTITES EXTERNAS DOS CÃES.....	29
2.6.1. Bactérias Gram-positivas Envolvidas nas Otites de Cães.....	29
2.6.2. Bactérias Gram-negativas Envolvidas nas Otites de Cães.....	31
2.6.3. Leveduras Envolvidas nas Otites em Cães	32
2.6.4. Envolvimento de Biofilmes em Otites Crônicas.....	34
2.7. TRATAMENTO DA OTITE EXTERNA EM CÃES.....	35
2.7.1. Princípios do Tratamento da Otite Em Cães.....	35
2.7.2. Limpeza das Orelhas.....	37
2.7.3. Produtos de Limpeza Otológica.....	40
2.7.4. Tratamento da Infecção Bacteriana.....	44
2.7.5. Tratamento da Infecção por <i>Malassezia pachydermatis</i>	47
2.7.6. Tratamento da Inflamação Auricular.....	49
2.7.7. Tratamento de Fatores Predisponentes, Primários, e Perpetuadores.....	52
2.7.8. Produtos Otológicos Disponíveis no Mercado.....	52
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	54

3.1. BASE FÍSICA DA INVESTIGAÇÃO CLÍNICO-LABORATORIAL.....	54
3.2. CRITÉRIOS TÉCNICOS PARA INCLUSÃO DAS AMOSTRAS	54
3.2. COLHEITA DAS AMOSTRAS.....	55
3.3. CITOLOGIA, CULTURA BACTERIANA E MICOLÓGICA	55
3.4. IDENTIFICAÇÃO BACTERIANA E LEVEDURIFORME	59
3.5. TESTE DE SENSIBILIDADE BACTERIANA	62
3.6. EPIDEMIOLOGIA DA OTITE EM CÃES	63
3.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA DA EFICÁCIA <i>IN VITRO</i> DAS DROGAS ANTIMICROBIANAS	63
4. RESULTADOS.....	65
4.1. TOTAIS DE AMOSTRAS DE SECREÇÃO AURICULAR ANALISADAS SEGUNDO SOLICITAÇÃO TÉCNICA DE ENCAMINHAMENTO.....	65
4.2. RESULTADO MICROBIOLÓGICO DAS AMOSTRAS DE SECREÇÃO AURICULAR SUBMETIDAS SIMULTANEAMENTE À CULTURA BACTERIANA E MICOLÓGICA.....	65
4.3. OBTENÇÃO DE CULTIVOS ÚNICOS OU MISTOS ENTRE AS AMOSTRAS POSITIVAS SUBMETIDAS À CULTURA BACTERIANA E MICOLÓGICA	66
4.4. MICRORGANISMOS ISOLADOS ENTRE AS AMOSTRAS POSITIVAS SUBMETIDAS À CULTURA BACTERIANA E MICOLÓGICA.....	67
4.5. RESULTADO MICROBIOLÓGICO DO TOTAL DE AMOSTRAS DE SECREÇÃO AURICULAR SUBMETIDAS À CULTURA BACTERIANA.....	67
4.6. RESULTADO MICROBIOLÓGICO DO TOTAL DE AMOSTRAS DE SECREÇÃO AURICULAR SUBMETIDAS À CULTURA MICOLÓGICA.....	68
4.7. PREVALÊNCIA DE INFECÇÕES BACTERIANAS ÚNICAS E MÚLTIPLAS NAS AMOSTRAS DE SECREÇÃO AURICULAR SUBMETIDAS À CULTURA BACTERIANA.....	68

4.8. PREVALÊNCIA BACTERIANA GRAM-POSITIVA E GRAM-NEGATIVA NAS AMOSTRAS DE SECREÇÃO AURICULAR SUBMETIDAS À CULTURA BACTERIOLÓGICA.....	69
4.9. PREVALÊNCIA BACTERIANA ESPECÍFICA NAS AMOSTRAS DE SECREÇÃO AURICULAR SUBMETIDAS À CULTURA BACTERIANA.....	69
4.10. PREVALÊNCIA LEVEDURIFORME ESPECÍFICA NAS AMOSTRAS DE SECREÇÃO AURICULAR SUBMETIDAS À CULTURA MICOLÓGICA.....	71
4.11. PREVALÊNCIA BACTERIANA ESPECÍFICA NAS AMOSTRAS DE SECREÇÃO AURICULAR QUE RESULTARAM EM CULTIVO BACTERIANO MISTO.....	71
4.12. ASSOCIAÇÕES BACTERIANAS ESPECÍFICAS VERIFICADAS NAS INFECÇÕES BACTERIANAS MÚLTIPLAS.....	72
4.13. ASSOCIAÇÕES ENTRE BACTÉRIAS E LEVEDURAS VERIFICADAS NAS INFECÇÕES MISTAS	73
4.14. PADRÕES DE SENSIBILIDADE BACTERIANA <i>IN VITRO</i>	74
4.15. COMPARAÇÃO ENTRE OS PADRÕES DE SENSIBILIDADE DAS BACTÉRIAS GRAM-POSITIVAS E GRAM-NEGATIVAS.....	82
4.16. RELAÇÃO DOS ANTIMICROBIANOS COM MAIS DE 70% DE EFICÁCIA.....	85
4.17. DISTRIBUIÇÃO DAS AMOSTRAS QUANTO AO SEXO.....	88
4.18. DISTRIBUIÇÃO DAS AMOSTRAS QUANTO À FAIXA ETÁRIA.....	88
4.19. DISTRIBUIÇÃO DAS AMOSTRAS QUANTO À RAÇA.....	89
5. DISCUSSÃO.....	91
5.1. ENVOLVIMENTO MICROBIANO NAS OTITES EM CÃES.....	91
5.2. PREVALÊNCIA BACTERIANA NAS OTITES EM CÃES.....	93
5.2.1. Amostras Bacterianas Positivas	93
5.2.2. Classificação das Amostras Bacterianas Quanto à Estrutura da Parede Celular.....	93

5.2.3. Prevalência Bacteriana Específica	93
5.2.4. Infecções Bacterianas Múltiplas	97
5.3. SENSIBILIDADE <i>IN VITRO</i> DAS CEPAS DE <i>Staphylococcus intermedius</i>	98
5.3.1. Porcentagem de Resistência Entre as Cepas de <i>Staphylococcus</i> sp.	98
5.3.2. Sensibilidade <i>in vitro</i> aos Antimicrobianos	98
5.4. SENSIBILIDADE <i>IN VITRO</i> DAS CEPAS DE <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	102
5.4.1. Porcentagem de Resistência Entre as Cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	102
5.4.2. Sensibilidade <i>in vitro</i> aos Antimicrobianos	102
5.5. PREVALÊNCIA DA LEVEDURA <i>Malassezia pachydermatis</i>	105
5.6. INFECÇÕES MISTAS	108
5.7. DISTRIBUIÇÃO DE CASOS DE OTITE CANINA QUANTO AO SEXO.....	109
5.8. DISTRIBUIÇÃO DE CASOS DE OTITE CANINA QUANTO À FAIXA ETÁRIA.....	109
5.9. DISTRIBUIÇÃO DE CASOS DE OTITE CANINA QUANTO À RAÇA	110
5.10. POTENCIAL DE EFICÁCIA DOS PRODUTOS ANTIBACTERIANOS COMERCIAIS DE USO OTOLÓGICO.....	112
6. CONCLUSÕES	116
REFERÊNCIAS	119
APÊNDICES	132

LISTA DE TABELAS

TABELA	1–	PRODUTOS VETERINÁRIOS PARA LIMPEZA OTOLÓGICA,FABRICANTE E FORMULAÇÃO.....	41
TABELA	2–	PRODUTOS OTOLÓGICOS VETERINÁRIOS À BASE DE GENTAMICINA.....	52
TABELA	3–	PRODUTOS OTOLÓGICOS VETERINÁRIOS À BASE DE NEOMICINA.....	53
TABELA	4–	PRODUTOS OTOLÓGICOS VETERINÁRIOS À BASE DE ANTIMICROBIANOS DIVERSOS.....	53
TABELA	5 –	RESULTADOS TOTAIS DAS CULTURAS BACTERIANAS SEGUNDO O ISOLAMENTO DE UMA OU MAIS BACTÉRIAS A PARTIR DE CADA AMOSTRA DE SWAB OTOLÓGICO.....	68
TABELA	6 –	PREVALÊNCIA BACTERIANA ESPECÍFICA NAS AMOSTRAS DE SECREÇÃO AURICULAR SUBMETIDAS À CULTURA BACTERIANA.....	70
TABELA	7 –	BACTÉRIAS ISOLADAS NOS CULTIVOS BACTERIANOS MÚLTIPLOS E NOS CULTIVOS ÚNICOS	71
TABELA	8 –	ASSOCIAÇÕES BACTERIANAS ESPECÍFICAS VERIFICADAS NAS INFECÇÕES BACTERIANAS MÚLTIPLAS.....	72
TABELA	9 –	ASSOCIAÇÕES ENTRE LEVEDURAS E BACTÉRIAS OBTIDAS A PARTIR DE AMOSTRA DE OTITE CANINA.....	73
TABELA	10 –	RELAÇÃO DA SENSIBILIDADE <i>IN VITRO</i> ÀS 23 DROGAS TESTADA DAS BACTÉRIAS <i>Staphylococcus intermedius</i> E <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ISOLADAS A PARTIR DE AMOSTRAS DE OTITE CANINA.....	75
TABELA	11 –	CLASSIFICAÇÃO DOS ANTIBIÓTICOS EM ORDEM DECRESCENTE DE EFICÁCIA <i>IN VITRO</i> COM RELAÇÃO AO GRUPO TOTAL DE CULTURAS BACTERIANAS OBTIDAS.....	76
TABELA	12 –	ANTIMICROBIANOS CLASSIFICADOS QUANTO À SENSIBILIDADE <i>IN VITRO</i> DAS BACTÉRIAS GRAM-NEGATIVAS.....	78
TABELA	13 –	ANTIMICROBIANOS CLASSIFICADOS QUANTO À SENSIBILIDADE DAS BACTÉRIAS GRAM-POSITIVAS.....	80
TABELA	14 –	DISTRIBUIÇÃO DAS AMOSTRAS DE OTITE CANINA QUANTO À FAIXA ETÁRIA.....	89
TABELA	15 –	RAÇAS COM MAIOR FREQUÊNCIA DE AMOSTRAS ENVIADAS...	90
TABELA	16 -	DROGAS CUJA SENSIBILIDADE <i>IN VITRO</i> DAS CEPAS DE <i>Staphylococcus intermedius</i> ISOLADAS A PARTIR DE AMOSTRAS DE OTITE CANINA FORAM SUPERIORES A 70%.....	99
TABELA	17 -	DROGAS CUJA SENSIBILIDADE <i>IN VITRO</i> DAS CEPAS DE <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ISOLADAS A PARTIR DE AMOSTRAS DE OTITE CANINA FORAM SUPERIORES A 60%.....	103
TABELA	18-	PORCENTAGEM DE ISOLAMENTO DA LEVEDURA <i>Malassezia pachydermatis</i> A PARTIR DE AMOSTRAS E OTITE CANINA.....	106

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 – ENCAMINHAMENTO DOS SWABS CONTENDO AMOSTRAS DA SECREÇÃO AURICULAR DE CÃES COM OTITE EXTERNA.....	65
GRÁFICO 2 – CRESCIMENTO MICROBIANO DAS AMOSTRAS SUBMETIDAS SIMULTANEAMENTE À CULTURA BACTERIANA E MICOLÓGICA.....	66
GRÁFICO 3 – OBTENÇÃO DE CULTIVOS ÚNICOS OU MISTOS ENTRE AS AMOSTRAS POSITIVAS SUBMETIDAS À CULTURA BACTERIANA E MICOLÓGICA.....	66
GRÁFICO 4 – MICRORGANISMOS ISOLADOS A PARTIR DAS AMOSTRAS DE OTITE CANINA SUBMETIDAS SIMULTANEAMENTE À CULTURA BACTERIANA E MICOLÓGICA.....	67
GRÁFICO 5 – RESULTADOS QUANTITATIVOS DAS AMOSTRAS DE OTITE CANINA SUBMETIDAS À CULTURA BACTERIANA.....	67
GRÁFICO 6 – RESULTADOS QUANTITATIVOS DAS AMOSTRAS DE OTITE CANINA SUBMETIDAS À CULTURA MICOLÓGICA.....	68
GRÁFICO 7 – RESULTADOS TOTAIS DAS CULTURAS BACTERIANAS SEGUNDO O ISOLAMENTO DE UMA OU MAIS BACTÉRIAS A PARTIR DE CADA AMOSTRA DE SWAB OTOLÓGICO.....	69
GRÁFICO 8 – PREVALÊNCIA BACTERIANA QUANTO AO TIPO DE PAREDE CELULAR	69
GRÁFICO 9 - PREVALÊNCIA BACTERIANA ESPECÍFICA NAS AMOSTRAS DE SECREÇÃO AURICULAR SUBMETIDAS À CULTURA BACTERIANA.....	70
GRÁFICO 10 – PREVALÊNCIA LEVEDURIFORME ESPECÍFICA NAS AMOSTRAS DE SECREÇÃO AURICULAR SUBMETIDAS À CULTURA MICOLÓGICA.....	71
GRÁFICO 11 – ASSOCIAÇÕES BACTERIANAS ESPECÍFICAS VERIFICADAS NAS INFECÇÕES BACTERIANAS MÚLTIPLAS.....	72
GRÁFICO 12 – ASSOCIAÇÕES ENTRE LEVEDURAS E BACTÉRIAS OBTIDAS A PARTIR DE AMOSTRA DE OTITE CANINA.....	73
GRÁFICO 13 – PORCENTAGENS DE SENSIBILIDADE <i>IN VITRO</i> DE DROGAS ANTIMICROBIANAS SOBRE CULTIVOS DE BACTÉRIAS GRAM-POSITIVAS E GRAM-NEGATIVAS OBTIDAS A PARTIR DE AMOSTRAS DE OTITE CANINA.....	77
GRÁFICO 14 – PORCENTAGENS DE SENSIBILIDADE <i>IN VITRO</i> DE DROGAS ANTIMICROBIANAS SOBRE CULTIVOS DE BACTÉRIAS GRAM-NEGATIVAS OBTIDAS A PARTIR DE AMOSTRAS DE OTITE CANINA.....	79
GRÁFICO 15 – PORCENTAGENS DE SENSIBILIDADE <i>IN VITRO</i> DE DROGAS ANTIMICROBIANAS SOBRE CULTIVOS DE BACTÉRIAS GRAM-POSITIVAS OBTIDAS A PARTIR DE AMOSTRAS DE OTITE CANINA.....	81
GRÁFICO 16 – PORCENTAGENS DE SENSIBILIDADE <i>IN VITRO</i> AOS BETA-LACTÂMICOS DAS BACTÉRIAS GRAM-NEGATIVAS E GRAM-	

	POSITIVAS OBTIDAS A PARTIR DE AMOSTRAS DE OTITE CANINA.....	82
GRÁFICO 17	– PORCENTAGENS DE SENSIBILIDADE <i>IN VITRO</i> AOS AMINOGLICOSÍDEOS DAS BACTÉRIAS GRAM-NEGATIVAS E GRAM-POSITIVAS OBTIDAS A PARTIR DE AMOSTRAS DE OTITE CANINA.....	83
GRÁFICO 18	– PORCENTAGENS DE SENSIBILIDADE <i>IN VITRO</i> AOS MACROLÍDEOS DAS BACTÉRIAS GRAM-NEGATIVAS E GRAM-POSITIVAS OBTIDAS A PARTIR DE AMOSTRAS DE OTITE CANINA.....	83
GRÁFICO 19	– PORCENTAGENS DE SENSIBILIDADE <i>IN VITRO</i> ÀS QUINOLONAS DAS BACTÉRIAS GRAM-NEGATIVAS E GRAM-POSITIVAS OBTIDAS A PARTIR DE AMOSTRAS DE OTITE CANINA.....	84
GRÁFICO 20	– PORCENTAGENS DE SENSIBILIDADE <i>IN VITRO</i> A OUTRAS CLASSES DE ANTIMICROBIANOS DAS BACTÉRIAS GRAM-NEGATIVAS E GRAM-POSITIVAS OBTIDAS A PARTIR DE AMOSTRAS DE OTITE CANINA.....	85
GRÁFICO 21	– PORCENTAGENS DE SENSIBILIDADE ' <i>IN VITRO</i> ' DOS SETE ANTIMICROBIANOS COM MAIS 70% DE EFICÁCIA GERAL E COM DESEMPENHO IGUALMENTE EFICAZ PARA BACTÉRIAS GRAM-NEGATIVAS E GRAM-POSITIVAS OBTIDAS A PARTIR DE AMOSTRAS DE OTITE CANINA	86
GRÁFICO 22	– ÍNDICES DE RESPOSTA INTERMEDIÁRIA E SENSIBILIDADE <i>IN VITRO</i> DOS SETE ANTIMICROBIANOS COM MAIS 70% DE EFICÁCIA GERAL E COM DESEMPENHO IGUALMENTE EFICAZ PARA BACTÉRIAS GRAM-NEGATIVAS E GRAM-POSITIVAS OBTIDAS A PARTIR DE AMOSTRAS DE OTITE CANINA	87
GRÁFICO 23	- DISTRIBUIÇÃO DAS AMOSTRAS DE OTITE CANINA QUANTO AO SEXO	88
GRÁFICO 24	– DISTRIBUIÇÃO DAS AMOSTRAS DE OTITE CANINA QUANTO À FAIXA ETÁRIA.....	89
GRÁFICO 25	– RAÇAS COM MAIOR FREQUÊNCIA DE AMOSTRAS ENVIADAS.....	90

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1- ALGORÍTIMO DA CITOLOGIA.....	57
FIGURA 2- ALGORÍTIMO DO CULTIVO MICROBIOLÓGICO.....	58
FIGURA 3- ALGORÍTIMO PARA IDENTIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS GRAM +	60
FIGURA 4- ALGORÍTIMO PARA IDENTIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS GRAM -	61
FIGURA 5- ALGORÍTIMO PARA IDENTIFICAÇÃO DE LEVEDURAS	62

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%	= Porcentagem
µg	= Micrograma.
ACTH	= Hormônio Adenocorticotrófico.
BHI	= <i>Brain Heart Infusion</i> ; infusão de coração e cérebro.
BID	= <i>bis in die</i> ; duas vezes ao dia.
DAPP	= Dermatite Alergia à Picada de Pulgas
DMSO	= Dimetilsulfóxido.
EDTA	= Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético.
et al.	= Abreviação de <i>et alii</i> (masculino plural), <i>et aliae</i> (feminino plural), ou <i>et alia</i> (plural neutro).
ETEST [®]	= Fita comercial para determinação da Concentração Inibitória Mínima.
g	= Grama.
<i>in vitro</i> .	= Expressão latina que designa todos os fenômenos biológicos que têm lugar fora dos sistemas vivos, no ambiente controlado de um laboratório.
Kg	= Quilograma.
MAPA	= Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
mg	= Miligrama.
ml	= Mililitro.
NaCl	= Cloreto de Sódio.
°C	= Graus Celsius.
pg.	= página
pH	= Potencial de hidrogênio iônico (do latim <i>pondus hydrogenii</i>); índice que indica a acidez, neutralidade ou alcalinidade de um meio.
SID =	<i>semel in die</i> ; uma vez ao dia.
SINDAN	= Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para a Saúde Animal.
Tris	= Trometamina.
U.I.	= Unidade Internacional.
UFPR	= Universidade Federal do Paraná
VO	= Via oral.
x ²	= Qui-quadrado.

RESUMO

As otites são bastante freqüentes em cães e requerem persistência e dedicação do proprietário para tratamento eficaz. O objetivo dessa investigação clínico-laboratorial foi identificar a microbiota bacteriana e leveduriforme infecciosa presente nas otites caninas, bem como verificar o padrão de sensibilidade bacteriana *in vitro* aos principais antimicrobianos. Do total de 277 amostras colhidas por clínicos de Curitiba enviadas para cultura bacteriana e micológica, 260 (94%) resultaram em crescimento microbiano, enquanto que 17 (6%) mostraram-se estéreis. Dos cultivos positivos, 115 (45%) apresentaram associação de levedura e bactéria, enquanto 110 resultaram exclusivamente em cultivo bacteriano (42%) e 35 em cultivo leveduriforme único (13%). As duas espécies bacterianas isoladas com maior freqüência foram *Staphylococcus intermedius* (71,3%) e *Pseudomonas aeruginosa* (14,2%), tendo sido observada predominância de bactérias Gram-positivas (75%). *Malassezia pachydermatis* foi isolada a partir 54% do total de amostras analisadas. A associação mais comum nas otites bacterianas múltiplas foi a de *Staphylococcus intermedius* e *Proteus* sp. Observou-se predominância de associações de *Staphylococcus intermedius* e *Malassezia pachydermatis* em 89,6% das infecções mistas. Sete antimicrobianos demonstraram eficácia *in vitro* superior a 70%, sendo igualmente efetivos tanto para bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, sendo eles: imipenem, ciprofloxacina, levofloxacina, norfloxacina, enrofloxacina, amicacina e gentamicina. Além dessas drogas citadas, amoxicilina com ácido clavulânico, ceftiofur e cefalexina, figuram entre os antimicrobianos mais efetivos *in vitro* contra bactérias Gram-positivas e entre as bactérias Gram-negativas, a tobramicina também mostrou-se efetiva. Baseando-se nos resultados obtidos, indicam-se para o tratamento de otites bacterianas infecciosas, independentemente da classificação bacteriana, os produtos comerciais otológicos que contêm em sua fórmula gentamicina ou enrofloxacina. Quanto aos dados epidemiológicos, nessa investigação, apesar de haver porcentagem maior de fêmeas acometidas do que machos, 54% e 46 %, respectivamente, essa diferença não foi estatisticamente significativa. As amostras de otite canina em sua maioria foram de cães acima de um ano até dez anos (77%). As raças caninas que apresentaram maior número de casos de otite foram: Poodle (19%), Cocker Spaniel (17%), SRD (12%), Lhasa Apso (8%), Pastor Alemão (7%), Labrador Retriever(6%), Dachshund (4%) e Golden Retriever (3%), todas raças consideradas predisponentes devido às características anatômicas das orelhas.

PALAVRAS-CHAVE: otite, antibiótico, bactéria, levedura, cão, teste de sensibilidade *in vitro*

ABSTRACT

Ear infections are very common in dogs. The disease requires persistence and dedication of the owner in order to achieve a successful treatment. The goal of the present investigation was twofold: 1) to identify infectious agents (bacteria and yeast) causing the ear infection and 2) investigate *in vitro* susceptibility patterns to the main antibacterial agents available in the market. From a total of 277 samples sent for bacterial and mycological culture, collected by veterinary clinicians of the city of Curitiba-PR, 260 (94%) resulted in microbiological growth, whereas 17 (6%) were sterile samples. Regarding the positive cultures, 115 (45%) presented an association of yeasts and bacteria, while 110 were exclusively pure bacterial cultures (42%) and 35 pure yeast cultures (13%). Additionally, there was a prevalence of Gram-positive bacteria (75%). The two bacteria more often isolated from ear infection samples were *Staphylococcus intermedius* (71.3%) and *Pseudomonas aeruginosa* (14.2%). *Malassezia pachydermatis* was isolated from 54% of the samples. The most common bacterial association was between *Staphylococcus intermedius* and *Proteus* sp. Associations between *Malassezia pachydermatis* and *Staphylococcus intermedius* occurred in 89.6% of the mixed infections. Seven antibacterial agents demonstrated to achieve susceptibility levels of up to 70%, being equally effective to both Gram-positive and Gram-negative bacteria isolated: imipenem, ciprofloxacin, levofloxacin, norfloxacin, enrofloxacin, amikacin and gentamicin. Besides these drugs, amoxicillin with clavulanic acid, ceftiofur and cefalexin were also considered very effective antimicrobial drugs against Gram-positive bacteria, being tobramycin another efficient option *in vitro* against Gram-negative bacteria. Based on our *in vitro* results, it would be safe to say that independently of the bacteria involved, the commercial products with gentamicin or enrofloxacin are potentially the most successful for bacterial ear infection treatment in dogs. The epidemiologic study verify more female dogs suffering of ear infection than male dogs, 54% against 46%, although this difference was not significant. In the present investigation, the ear infection samples were from dogs above one year until 10 years (77%) of age. The canine breeds that presented the highest numbers of ear infections were: Poodle (19%), Cocker Spaniel (17%), SRD (12%), Lhasa Apso (8%), German Shepherd (7%), Labrador Retriever (6%), Dachshund (4%) and Golden Retriever (3%), all breeds considered to have predisposing anatomical characteristics to develop ear infection.

KEY WORDS: ear infection, antibiotic, bacteria, yeast, dog, *in vitro* susceptibility test

1. INTRODUÇÃO

As otites caninas constituem um dos principais motivos de consultas a médicos veterinários. Além de ser uma afecção bastante comum nesta espécie, ela produz efeitos de grande desconforto tanto para o paciente quanto para o proprietário, tais como vocalização, nervosismo, agitação, dor, prurido, secreção e odor. Tal situação impele o proprietário à busca de uma cura rápida para seu animal de estimação.

A princípio, a terapia das otites caninas pode parecer simples, principalmente quando se considera o grande número de produtos tópicos destinados a cumprir essa função. Em embalagens bonitas e bisnagas com aplicadores, os produtos otológicos normalmente combinam mais de um princípio ativo, buscando muitas vezes atingir fungos e bactérias simultaneamente. Infelizmente, muitos clínicos utilizam esses produtos à revelia, sem a realização prévia de cultura microbiana e do devido antibiograma, com o risco do microrganismo envolvido na infecção mostrar-se resistente ao antimicrobiano contido no produto. Nesse caso, o ‘tiro no escuro’ feito pelo veterinário (ou pelo proprietário, numa tentativa de evitar o custo da consulta), além de não ‘acertar o alvo’, poderá ainda induzir ao desenvolvimento da cronicidade infecciosa, aumentando ainda a possibilidade de resistência bacteriana devido às sub-dosagens.

Essa investigação clínico-laboratorial teve como propósito verificar a microbiota bacteriana e leveduriforme presente nas otites infecciosas caninas, bem como identificar os antimicrobianos com maior eficácia *in vitro*. Possibilitou, ainda, a obtenção de dados epidemiológicos sobre essa afecção, tais como raça, sexo e faixa etária predominante.

A extensa revisão da literatura sobre o tema deu ênfase ao exame otológico minucioso e completo, incluindo, se possível, a detecção da causa primária. É notório que o sucesso da terapia otológica dependerá do controle ou da eliminação

dos fatores envolvidos no processo (predisponentes, primários e perpetuadores), sendo que a não detecção destes comprometerá o resultado do tratamento, podendo levar à cronicidade da doença.

1.1. Justificativas

As principais justificativas para abordar o sempre atual tema da otite canina externa foram:

- 1) A alta frequência de cães levados para consultas ao médico veterinário devido a sinais de otite externa com ou sem recidivas;
- 2) A alta incidência de otite externa sub-clínica, quando o paciente é levado ao médico veterinário por outro motivo;
- 3) Os notórios efeitos de desconforto revelados através da vocalização, incômodo, dor intensa e odor desagradável;
- 4) Alto custo da terapia;
- 5) O intenso uso de antimicrobianos de modo empírico, aumentando os riscos do surgimento de resistência bacteriana;
- 6) Desconhecimento atual do padrão de resistência bacteriana às drogas de uso rotineiro.

1.2. Objetivo Geral

Avaliação da prevalência infecciosa bacteriana e leveduriforme e da sensibilidade *in vitro* a antimicrobianos em otites de cães atendidos em Curitiba (25°25' S e 49°16' W).

1.3. Objetivos Específicos

Foram objetivos específicos deste trabalho:

- 1) Isolar e identificar as espécies bacterianas e leveduriformes prevalentes nas otites em cães;
- 2) Avaliar o padrão de eficácia *in vitro* de 23 drogas antimicrobianas frente às bactérias patogênicas isoladas, Gram-positivas e Gram-negativas;
- 3) Eleger os antimicrobianos que apresentem eficácia *in vitro* maior ou igual a 70% frente às bactérias, sendo igualmente eficaz contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas;
- 4) Recomendar para o tratamento de otites bacterianas infecciosas os produtos comerciais otológicos que apresentem maior eficácia baseando-se nos resultados de sensibilidade bacteriana *in vitro*.
- 5) Verificar a distribuição de casos de otites classificando-os quanto à raça, sexo e faixa etária.

2. REVISÃO DE LITERATURA

O termo otite externa não se refere a uma doença específica, mas literalmente a uma inflamação do canal auditivo externo. A otite externa não é mais vista como uma doença isolada do canal auditivo, mas sim uma síndrome que freqüentemente reflete uma doença dermatológica sistêmica (ROSYCHUK, 1994; JACOBSON, 2002). É considerada a doença de orelha mais comum em cães e gatos. Estima-se que em torno de 5 a 20% dos cães apresentam otite externa (AUGUST, 1988), sendo sua prevalência ainda maior em regiões que apresentam clima tropical, provavelmente próxima a 30 ou 40% (LOGAS, 1994). Segundo LEITE (2000), dados referentes aos principais Estados brasileiros demonstram que cerca de 8 a 15% dos atendimentos de cães estão relacionados com quadros de otite externa clínica. Para este autor, quase 40% dos cães com dermatopatias demonstram algum comprometimento do aparelho vestibulo-coclear.

2.1. TIPOS DE OTITE CANINA

A otite canina pode ser classificada em externa, média ou interna, de acordo com as estruturas anatômicas afetadas. A orelha externa compreende o pavilhão auricular e o meato canal acústico externo, que é dividido em canal auditivo vertical (mais externo) e horizontal.

A orelha média é protegida pela membrana timpânica e pode ser definida como uma câmara onde se situam três ossículos (martelo, bigorna e estribo) interligados entre si, servindo como meio de ligação com a orelha interna. Na orelha média também existe um canal de ligação com a faringe, denominado tuba auditiva.

Na orelha interna, a região mais especializada e delicada de todo o aparelho auditivo, estão presentes os canais semicirculares, a cóclea, o vestíbulo e o nervo acústico. As duas funções primordiais da orelha interna são transformar impulsos mecânicos em ondas nervosas (para posterior condução ao sistema nervoso central)

e controlar o posicionamento do animal em relação à superfície do solo (HARVEY et al., 2004).

O canal auditivo externo possui epiderme semelhante à da pele, isto é, um epitélio cornificado estratificado, com órgãos anexos como os folículos pilosos, as glândulas apócrinas (ceruminosas) e as glândulas sebáceas (HARVEY et al., 2004).

A temperatura dentro do canal auditivo externo canino situa-se entre 38,2 a 38,4° C, portanto cerca de 0,6° C menor do que a temperatura retal (GRONO et al., 1970a; HARVEY et al., 2004). A umidade relativa no canal auditivo é de 88,5% em média, enquanto o pH normal é 6 (GRONO, 1970b; GRONO, 1970c).

Otite externa compreende a inflamação do pavilhão auricular externo, podendo haver comprometimento dos canais auditivos vertical e horizontal, sem, no entanto, ocorrer rompimento da membrana timpânica (AUGUST, 1988).

Na otite média há envolvimento da membrana timpânica. Esta pode se apresentar espessada ou rompida parcial ou totalmente, o que possibilita a infecção da cavidade timpânica, situada mais internamente. Muitas vezes pode ocorrer a otite média mesmo com a membrana timpânica intacta, já que ela pode se recompor após sua ruptura inicial (COLE et al., 1998).

A otite interna compreende a inflamação dos canais semicirculares, determinando transtornos de equilíbrio. Caso atinja a cóclea, a doença denominar-se-á labirintite. Acredita-se que a maioria dos casos de otite interna ocorra como uma expansão da otite média, que por sua vez seria uma expansão da otite externa (HARVEY et al., 2004).

Quanto à apresentação clínica, a otite canina externa pode ser classificada como aguda, subaguda ou crônica. As duas primeiras são assim consideradas quando a doença tem menos de 30 dias de duração. Alguns autores, ainda, definem como otites crônicas recorrentes como aquelas cujos cães apresentam inflamação e curas periódicas. Segundo LITTLE et al. (1991), a otite externa crônica pode ser definida como aquela que persiste por mais de seis semanas, sendo geralmente

bilateral. Já COLE et al. (1998) definem como otite crônica todas as infecções recorrentes ou contínuas com duração mínima de seis meses. Segundo esses autores, cães com otites externas crônicas freqüentemente apresentam otite média, mesmo quando suas membranas timpânicas mostrem-se intactas, embora raramente o microrganismo isolada na orelha externa seja o mesmo da orelha média.

Ao avaliar quarenta e um cães com otite externa atendidos em Niterói (RJ), DIECKMANN et al. (1996) verificaram que as otites crônicas recorrentes são muito mais constantes do que as agudas, compreendendo 76,6% dos casos atendidos. ROSSER Jr (2004) destaca que cães com otite crônica recorrente freqüentemente são os pacientes que causam maior frustração ao clínico na prática veterinária, pois uma grande variedade de processos patológicos podem causar a otite, incluindo diversas combinações de fatores primários, predisponentes e perpetuadores.

A otite pode, ainda, ser dividida em dois grupos: 1) eritematosa e ceruminolítica, e 2) supurativa. A primeira é definida pela presença de eritema e cerúmen, sendo observada a presença de bactéria e/ou levedura no exame citológico. A otite supurativa é determinada pela presença de pus, sendo observadas bactérias e polimorfonucleados no exame citológico (HARVEY et al., 2004).

A otite externa canina pode ser determinada por uma combinação de fatores predisponentes, primários e perpetuadores (AUGUST, 1988; LOGAS, 1994). Mais recentemente, JACOBSON (2002) propôs a divisão desses fatores em: 1) Predisponentes, ou seja, aqueles que aumentam o risco de otite; 2) Primários, aqueles que causam otite diretamente; 3) Secundários, aqueles que contribuem para a ocorrência de otites apenas em orelhas anormais ou em conjunção com fatores predisponentes; e 4) Perpetuadores, que resultam da inflamação provocando mudanças patológicas da orelha que impedem a resolução da otite.

2.2. FATORES PREDISPOONENTES

Os fatores predisponentes são todos aqueles que aumentam a possibilidade de ocorrência de otite, embora eles por si só não desencadeiem a infecção. Incluem-se nestes as características anatômicas, as variações climáticas, a limpeza excessiva das orelhas e as doenças sistêmicas (LOGAS, 1994).

2.2.1. Características Anatômicas

São fatores predisponentes todas as características anatômicas que mantenham a umidade local alta e dificultem a ventilação do canal auditivo, como a conformação da orelha (orelha pendular), o excesso de pêlos dentro do canal auditivo, bem como os canais auditivos estenosados (cães da raça Shar-pei) (LOGAS, 1994).

YOSHIDA et al. (2002), mensuraram temperatura e umidade do canal auditivo externo de cães sadios e cães com otite, não observando diferenças significativas entre estes dois grupos de cães. Os cães da raça Pastor Alemão apresentaram diferenças significativas quando comparados a cães de outras raças, demonstrando menor temperatura do canal auditivo externo e maior umidade. Os autores sugeriram que a umidade relativa do canal auditivo não predispõe algumas raças a desenvolver otite externa. Concluíram, também, que o tipo da orelha (pendular ou ereta) não afeta a retenção de calor e umidade dentro do canal auditivo com havia sido reportado anteriormente (GRONO, 1970ac; SHARMA e RHOADES, 1975).

STOUT-GRAHAM et al. (1990) concluíram que cães com predisposição a ter otite, como labradores e cocker spaniels, mesmo quando saudáveis possuem maior quantidade de glândulas apócrinas do que cães de outras raças. Esses mesmos autores observaram que a quantidade de glândulas apócrinas é maior em cães com otite, sugerindo uma relação entre a infecção e predomínio dessas glândulas.

Um estudo retrospectivo que avaliou 8.975 cães atendidos em 15 hospitais veterinários americanos, entre 1975 a 1978, demonstrou que cães com orelhas pendulares e pêlos no canal auditivo apresentaram maior incidência de otite que os outros cães. Cães com orelhas eretas, independentemente da quantidade de pêlo nos canais auditivos, tiveram menor incidência de otite (HAYES et al, 1987).

Quando se considera a predisposição racial, há uma prevalência muito maior de otite em cães da raça Cocker Spaniel, bem como alterações proliferativas mais significativas no canal auditivo (WHITE e POMEROY, 1990). A partir dessa informação, ANGUS et al. (2002) deduziram que deveria haver nessa raça mais do que um fator predisponente que justificasse o maior número de casos de otite que em outras raças com orelhas pendulares, como Setters Irlandeses ou Beagles. Através de exames histológicos de tecidos do canal auditivo, foi verificado que cães Cocker Spaniel têm uma resposta tecidual mais exacerbada ao estímulo inflamatório que as outras raças, o que determinaria maior tendência ao desenvolvimento de otites crônicas. Adicionalmente, SEOL et al. (2002), ao estudarem a sensibilidade *in vitro* de *Pseudomonas aeruginosa*, constataram que entre os 183 cultivos desta bactéria, mais da metade foram isolados a partir do canal auditivo de Cocker Spaniels. Os autores sugeriram haver predisposições genéticas nessa raça para ocorrência de um índice tão elevado de infecção por esta bactéria.

HUANG e HUANG (1999), ao observarem a temperatura do canal auditivo de cães normais, verificaram que canais auditivos com pêlos apresentaram temperaturas menores que aqueles sem pêlos, sugerindo que a temperatura do canal auditivo pode ter menos importância para o desenvolvimento de otite externa que acreditado anteriormente. Os autores verificaram que a temperatura externa do canal auditivo de cães com orelhas eretas foi menor que a mensurada em cães com orelhas pendulares. Além da conformação anatômica, a temperatura do canal auditivo de cães sem otite foi afetada pela idade (quanto mais novo o animal, maior

a temperatura) e pelo peso (quanto maior o peso do cão, maior a temperatura do canal auditivo externo).

2.2.2. Variações Climáticas

Elevações na temperatura e na umidade do ambiente estão correlacionadas com o aumento destes parâmetros dentro do micro-ambiente auricular, aumentando a susceptibilidade a infecções dermatológicas por bactérias e leveduras (GRONO, 1970a; GRONO, 1970b; HAYES et al., 1987; HARVEY et al., 2004). Segundo LEITE (2000) as otites em que estes fatores estão envolvidos normalmente se manifestam clinicamente dois a três meses após a variação climática correspondente.

Entretanto, HUANG e HUANG (1999), ao investigaram o efeito das condições ambientais na temperatura do canal auditivo externo de 650 cães sem sinais clínicos de otite, observaram que a umidade relativa não interferiu neste parâmetro. Já a temperatura do canal auditivo externo mostrou-se menor quando a temperatura ambiente foi mais baixa que 25° C.

2.2.3. Excessiva Limpeza das Orelhas

A limpeza excessiva das orelhas pelos proprietários pode causar traumas mecânicos ao canal auditivo, principalmente quando realizada com material impróprio (LOGAS, 1994; GRIFFIN, 1996).

2.2.4. Doenças Sistêmicas

Qualquer doença que afete a imunidade celular pode predispor a infecções oportunistas do canal auditivo. Portanto, doenças virais como cinomose e parvovirose comumente causam otite em cães (LOGAS, 1994).

2.3. FATORES PRIMÁRIOS

Os fatores primários são capazes de iniciar a inflamação das orelhas, tais como parasitas, microrganismos, alergias, corpos estranhos, entre outros. Ao discutir causas primárias de otite é importante ressaltar que o epitélio do canal auditivo externo é simplesmente a extensão da pele do animal. Portanto, ao verificar lesões nas orelhas deve-se avaliar o contexto de todo o animal (LOGAS, 1994; HARVEY et al, 2004). Lesões primárias no pavilhão auricular sem o envolvimento do canal auditivo externo podem ser uma extensão de um problema dermatológico generalizado (ROTH, 1988). Em contrapartida, alguns fatores primários comuns podem estar confinados apenas na orelha, como os corpos estranhos, papilomas e algumas espécies de ácaros.

2.3.1. Parasitas

LOGAS (1994) estima que o ácaro *Otodectes cynotis* está envolvido em cerca de 5 a 10% dos casos de otite canina externa. Esse valor pode ser ainda maior no Brasil, visto que LARSSON (1987) verificou que 24,3% das otopatias em cães e gatos deve-se a otites parasitárias.

Otodectes cynotis é considerado um parasita obrigatório que se alimenta de linfa e sangue do pavilhão auricular externo (AUGUST, 1988; HARVEY et al, 2004), causando irritação das glândulas apócrinas. Há ainda a suspeita que a saliva dos ácaros pode sensibilizar o hospedeiro provocando reações de hipersensibilidade (CURTIS, 2004).

Filhotes de cães são mais susceptíveis ao ácaro, uma vez que os adultos aparentam possuir imunidade. Infecções zoonóticas já foram reportadas, as quais produziram lesões papulares pruriginosas em áreas do corpo humano que ficaram em contato com o animal de estimação infectado (CURTIS, 2004).

Outros ácaros podem ser fatores primários de otite externa, como *Sarcoptes scabiei* e *Demodex canis*. KNOTTENBELT (1994) relatou um caso de otite crônica

severa em cão cujo *swab* otológico da secreção demonstrou a existência de mais de quinze ácaros da espécie *Demodex canis*, sendo a demodicose a causa primária de otite bacteriana secundária.

Segundo LEITE (2000) no Brasil o carrapato *Rhipicephalus sanguineus* é o ixodídeo mais encontrado na orelha externa de cães. As infestações ocorrem no período de maior temperatura e umidade relativa do ar, o que corresponde ao final do ano.

2.3.2. Corpos Estranhos

Qualquer objeto pode causar irritação e obstrução do canal auditivo externo, geralmente causando otite externa unilateral. São exemplos de corpos estranhos a poeira, pequenas pedras, pêlos soltos, plantas, sementes, algodão. Geralmente eles causam mais desconforto quanto mais próximos à membrana timpânica estiverem, podendo chegar a rompê-la. Muitas vezes os corpos estranhos não podem ser visualizados e são removidos juntamente com o cerúmen. Dessa forma, corpos estranhos podem estar sendo subestimados como causas primárias de otites caninas (LOGAS, 1994).

2.3.3. Tumores e Pólipos

Os tumores em orelhas ocorrem geralmente em cães idosos. Papilomas e adenomas das glândulas apócrinas (ceruminosas) são os tumores benignos mais comuns em cães, enquanto os adenocarcinomas das glândulas apócrinas e os carcinomas são os tumores malignos mais freqüentes (HARVEY et al., 2005).

Pólipos são estruturas benignas pedunculares que provocam inflamação crônica, podendo mimetizar sinais de otite externa, média ou interna (HAAR, 2005). PRATSCHKE (2003) relata a ocorrência de pólipos nas orelhas médias caninas em associação com sinais de otite média e/ou externa.

2.3.4. Hipersensibilidade

Doenças alérgicas são as causas primárias mais comuns de otite externa bilateral em cães (LOGAS, 1994). Destacam-se entre elas a atopia, a hipersensibilidade alimentar, a dermatite alérgica a picada de pulga (DAPP) e a alergia a medicamentos.

Cerca de 50% dos cães com atopia apresentam otite externa bilateral, sendo que freqüentemente a otite externa é o primeiro sinal clínico da doença. Nos casos iniciais apenas o pavilhão externo e o canal auditivo vertical estão afetados, sendo que o canal auditivo horizontal só é comprometido quando a doença progride e permite a infecção bacteriana secundária (LOGAS, 1994).

A hipersensibilidade alimentar apresenta a otite externa como sinal em mais de 88% dos cães (ROSSER Jr, 1993). Clinicamente, a otite externa secundária a hipersensibilidade é muito similar à otite atópica. Ela é bastante comum em cães com menos de um ano de idade apresentando quadro de otite externa crônica, ou em cães mais velhos com início agudo de otite sem histórico prévio de problemas auditivos (LOGAS, 1994).

2.3.5. Alterações de Queratinização

Doenças que causam distúrbios de queratinização, como seborréia idiopática primária e hipotireoidismo, são capazes de induzir otite ceruminolítica (LOGAS, 1994; HARVEY et al., 2004). Provocam aumento da quantidade de cerúmen e dos ácidos graxos presentes no mesmo (LOBELL et al., 1995).

2.3.6. Doenças Auto-imunes

Pênfigo Foliáceo e Lúpus Eritematoso Sistêmico são freqüentemente associados a doenças nas orelhas que se estendem ao canal auditivo. As doenças

auto-ímmunes sempre devem ser consideradas na investigação da causa primária de otite externa em cães (LOGAS, 1994).

HENDRICKS et al. (2002) diagnosticaram dois casos de otites externas ulcerativas imunomediadas em cães, sendo que o diagnóstico só foi possível através da exclusão de causa primária microbiológica, pela realização de exame histopatológico e pelas respostas positivas ao tratamento imunomodulador.

2.3.7. Celulite Juvenil

Celulite juvenil é uma doença vesiculopustular que afeta filhotes entre 3 a 16 semanas de idade. Sua etiologia é incerta, estando relacionada à reação de hipersensibilidade e/ou doença viral. Geralmente os filhotes apresentam lesões na cabeça e face, incluindo otite, blefarite e linfadenopatia regional. As raças predisponentes são Golden Retriever, Dachshund e Pointer (CARLOTTI, 2003).

HUTCHINGS (2003) relatou um caso de otite externa em um filhote de labrador com celulite juvenil. A terapia com corticóide propiciou a cura completa de todos os sinais, inclusive a otite purulenta, reforçando a necessidade de diagnosticar a causa primária para efetivo tratamento da doença.

2.4. FATORES PERPETUADORES

Os fatores perpetuadores são aqueles que impedem a cura da otite ou até mesmo contribuem para a progressão da doença mesmo quando a causa primária já foi eliminada. Destacam-se entre eles a infecção bacteriana secundária, a infecção leveduriforme, as alterações patológicas crônicas, a ruptura da membrana timpânica, a otite média, e os erros no tratamento (LOGAS, 1994; LEITE, 2000).

2.4.1. Infecção Bacteriana Secundária

Segundo ROSYCHUK (1994) é necessário enfatizar que bactérias e leveduras da espécie *Malassezia pachydermatis* são freqüentemente creditados como fatores primários de otite, sendo que na maioria das vezes eles apenas participam como oportunistas e complicadores das mudanças iniciadas pelos reais fatores primários.

Uma variedade de bactérias comensais pode ser potencialmente patogênica, sendo *Staphylococcus intermedius* a espécie mais freqüente. Uma vez que os fatores primários e predisponentes causam alterações no micro-clima da orelha, bactérias são capazes de se multiplicar, perpetuando as reações inflamatórias dentro do canal (LOGAS, 1994).

2.4.2. Infecção por Leveduras

Malassezia pachydermatis é a levedura comensal da orelha do cão. Tem sido isolada em mais de 80% dos casos de otite externa, sendo um dos principais fatores complicadores das otites alérgicas (KOWALSKI, 1988).

2.4.3. Alterações Patológicas Crônicas

No estágio agudo, o canal auditivo inicialmente apresenta-se edematoso e eritematoso. Pelo fato do canal auditivo ser circundado por cartilagem, o edema causa constrição do lúmen interno do canal, provocando compressão e dor. Histologicamente observa-se hiperqueratose leve a moderada, vasodilatação da derme e edema. As glândulas sebáceas sofrem hiperplasia já nos estágios iniciais da otite aguda, resultando em excessiva produção de cerúmen (STOUT-GRAHAM et al., 1990)

À medida que a inflamação progride, há infiltração intradérmica mista de linfócitos, mastócitos e células polimorfonucleares. Os epitélios do canal auditivo e da membrana timpânica continuam a aumentar de espessura, devido acantose e

hiperqueratose. Assim que a otite se torna crônica, as glândulas apócrinas (ceruminosas) começam a se dilatar significativamente, tornando-se hiperprodutivas. Portanto, um fator perpetuador importante em otites crônicas é a proliferação progressiva da epiderme e da derme do canal auditivo (ANGUS et al., 2002). Nesse caso, quando uma inflamação anterior não for tratada com sucesso, ocorrerá proliferação do revestimento epitelial, das glândulas sebáceas e das glândulas ceruminosas do canal auditivo, seguido posteriormente por fibrose e calcificação da cartilagem (LOGAS, 1994; HAAGEN e VAN DER GAAG, 1999).

2.4.4. Otite Média

A ocorrência de otite média ou interna interfere na perpetuação da otite externa (LOGAS, 1999; HARVEY et al., 2004). A otite média no cão predominantemente é uma extensão da otite externa. Portanto, a possibilidade de haver otite média deve sempre ser considerada, especialmente quando se tratar de uma otite externa crônica (LITTLE et al., 1991; MURPHY, 2001).

2.4.5. Causas Iatrogênicas

É comum a ocorrência de alergia de contato devido à sensibilidade a certos elementos presentes nas soluções auriculares, como, por exemplo, a neomicina (AUGUST, 1988). Muitos casos de irritações são provocados por veículos encontrados em produtos para limpeza e terapia otológica, como, por exemplo, o propilenoglicol. Frequentemente essas substâncias só provocam irritação em orelhas já inflamadas, não causando problemas em orelhas sadias. Essa possibilidade deve ser considerada sempre que o tratamento para otite não obtiver resposta rápida ou até piorar os sinais (LOGAS, 1994).

LOGAS (1994) divide os erros no tratamento em: 1) terapia excessiva, 2) terapia insuficiente ou 3) uso inadequado de antimicrobiano.

A terapia excessiva refere-se tanto à limpeza exagerada das orelhas como ao tratamento tópico por um período muito prolongado. Nesse caso, há uma secreção branca, cremosa, inodora, formada pelo descamamento de células epiteliais. Na citologia serão encontrados leucócitos em quantidades insignificantes ou ausentes (LOBELL et al., 1995).

A terapia insuficiente geralmente se deve à incapacidade do proprietário de realizar as medicações tópicas, por inabilidade ou até por descaso. Adicionalmente, a agressividade excessiva do paciente pode intimidar o proprietário, sendo aconselhável a hospitalização do cão (LOGAS, 1994).

Por fim, o uso inapropriado ou desnecessário de antimicrobianos pode propiciar a colonização do canal por bactérias oportunistas Gram-negativas, como a *Pseudomonas aeruginosa* (LOGAS, 1994).

2.5. DIAGNÓSTICO DA OTITE EM CÃES

Quando há uma doença na orelha é indicado um exame sistemático e completo de todo animal, o qual deve sempre incluir anamnese, exame físico, otoscopia e citologia da secreção auricular, realizando-se sempre que possível cultura microbiana e antibiograma (ROSSER Jr, 1988; JACOBSON, 2002; MATOUSEK, 2004;).

2.5.1. Anamnese

Freqüentemente o proprietário vai ao consultório já tendo observado no seu cão os sinais típicos de otite externa, como prurido, eritema, presença de exsudato, odor desagradável, o ato de coçar as orelhas ou balançar a cabeça. Entretanto, não é raro que os sinais de otite passem despercebidos pelo proprietário, sendo a inflamação descoberta no ambulatório durante o exame clínico rotineiro, quando o animal é trazido para vacinação ou tratamento de outras doenças.

Segundo YOSHIDA et al. (2002), a otite externa é mais comumente diagnosticada baseada nos achados clínicos, sendo que posteriormente são feitos outros métodos diagnósticos como citologia e cultura microbiana. DICKSON e LOVE (1983) observaram que mesmo cães sem sinais clínicos podem apresentar canais auditivos inflamados ou eritematosos.

Durante a consulta é importante investigar a possibilidade da otite ter progredido e o animal apresentar otite média ou interna. Os sinais neurológicos da otite média devem-se a danos em ramos do nervo facial situados dentro da orelha média. Há uma grande correlação entre otite média ou interna com neuropatia facial, especialmente em cães Cocker Spaniel. São sinais neurológicos relacionados a otite média em cães: inclinação da cabeça e ataxia vestibular; ausência do reflexo palpebral, ceratoconjuntivite seca, dificuldade de engolir a saliva; miose, enoftalmia. (KERN e ERB, 1987).

No entanto, o clínico deve ter conhecimento que a otite externa e a otite média podem apresentar sinais clínicos parecidos, ou seja, o paciente com otite média pode não demonstrar sinais neurológicos evidentes (LITTLE et al., 1991). REMEDIOS et al. (1991) observaram que entre dezesseis animais com otite média confirmada cirurgicamente, apenas cinco apresentavam sinais neurológicos sugestivos de doença de orelha média. Ressaltando a evidência de que a doença da orelha média nem sempre apresenta sinais neurológicos, ZIEMER et al. (2003) descobriram otolitíase em três cães com otite média, dos quais apenas um apresentava sinais de otite externa.

2.5.2. Exame Físico e Otoscópico

A realização de exame físico completo do animal é essencial para pesquisar evidências de doença sistêmica e investigar as causas primárias. O exame otoscópico do canal auditivo externo e da membrana timpânica é o primeiro procedimento que deve ser realizado no cão com otite. É importante estar

familiarizado com as estruturas normais da orelha para posterior identificação de anormalidades (HARVEY et al, 2004).

O objetivo do exame otoscópico é observar a condição da orelha, buscando por massas tumorais ou corpo estranhos; avaliando a presença, consistência e coloração de qualquer exsudato; e notando a presença e aspecto da membrana timpânica. Apenas após essa avaliação otológica pode ser estabelecido o tratamento, bem como determinada a necessidade de exames diagnósticos adicionais (ROSYCHUK, 1994).

Com bastante frequência o exame otoscópico completo não é possível na primeira visita ao veterinário, por excessiva inflamação e/ou acúmulo de exsudato. Nesses casos o animal deve receber medicação antiinflamatória ou ser submetido a lavagem otológica sob anestesia (COLE, 2004).

A ruptura da membrana timpânica pode ser um diferencial para otite média, não sendo, entretanto, observada em todos os casos. Ainda assim, o conhecimento da integridade da membrana timpânica é importante para a decisão de terapia apropriada, uma vez que a otite média necessita obrigatoriamente de tratamento sistêmico e, às vezes, de intervenção cirúrgica (COLOMBINI et al., 2000; HARVEY et al, 2004).

O exame otoscópico é subjetivo e depende muito do equipamento utilizado, sendo que a avaliação da membrana timpânica nem sempre é possível mesmo quando o paciente está sedado (TROWER et al.,1998).

Em um estudo sobre otite média em cães e gatos, REMEDIOS et al. (1991) não puderam visualizar a membrana timpânica de treze entre dezenove animais sedados, devido hiperplasia epitelial e estenose do canal auditivo. Dos seis animais cuja membrana timpânica foi visualizada, todos com otite média comprovada após cirurgia exploratória, a mesma estava rompida em dois pacientes e intacta em quatro. Portanto, se o critério para determinação da otite média fosse a visualização

de membrana timpânica intacta, quatro casos de otite média não teriam sido diagnosticados.

A vídeo-otoscopia aumentou significativamente a visualização dessas estruturas, bem como facilitou a retirada de corpos estranhos e a realização de procedimentos como biópsia, meringotomia e lavagem otológica (ANGUS e CAMPBELL, 2001; COLE, 2004; AQUINO et al., 2004). ANGUS e CAMPBELL (2001) observaram que a vídeo-otoscopia possibilita o arquivamento de imagens bem iluminadas e amplificadas, sendo essa informação muito superior à memória do clínico ou às anotações descritivas, reforçando a importância dessa técnica no acompanhamento e reavaliação do paciente.

Ao completar o exame otoscópico, é extremamente importante realizar adequada desinfecção dos cones otoscópicos, tendo em vista o risco de disseminação da infecção entre os pacientes. NEWTON et al. (2006) avaliaram a eficácia dos métodos de limpeza e desinfecção dos cones otoscópicos comumente usados em clínicas veterinárias, verificando que bactérias *Pseudomonas aeruginosa* podem sobreviver em cones otoscópicos após os métodos mais comuns, revelando a necessidade de se estabelecer um método adequado para limpeza e desinfecção desses cones.

2.5.3. Exame Citológico

Citologia é um exame diagnóstico rápido, simples e prático que deve ser realizado rotineiramente em todos os pacientes que apresentarem sinais de otite externa. O diagnóstico de otite externa através da citologia requer conhecimento prévio da citologia normal do canal auditivo. Colhe-se material introduzindo-se um *swab* estéril no canal auditivo vertical, uma vez que a colheita da secreção do canal auditivo horizontal requer sedação e passagem do *swab* dentro do cone otoscópico para evitar o contato com o canal auditivo vertical (TATER et al., 2003). Pode-se

corar o esfregaço da secreção auditiva pelo método de Gram ou usando-se de coloração rápida, como o panótico, por exemplo (CONCEIÇÃO e FABRIS, 1999).

Em combinação com os sinais clínicos, avaliação otoscópica e testes diagnósticos para detecção da causa primária, as citologias realizadas durante a terapia aumentam a habilidade do médico veterinário em diagnosticar infecções secundárias, monitorar a progressão da doença, avaliar a resposta à terapia e tomar decisões durante o tratamento (ANGUS, 2004).

Evidências de hiperplasia da epiderme e de excessiva atividade secretória glandular sugere uma causa não infecciosa. Já uma grande quantidade de microrganismos e leucócitos infiltrados na secreção confirma a presença de infecção. A presença de ácaros, particularmente *Otodectes cynotis*, define a causa primária. Células epiteliais anormais, isoladas ou agrupadas, sugerem o diagnóstico de neoplasia, sendo que a malignidade é proporcional ao grau de diferenciação celular. Células inflamatórias e queratinócitos acantolíticos a partir de lesões otológicas vesiculares sugerem doenças de pele auto-imunes (CHICKERING, 1988).

A presença de células escamosas nucleadas no esfregaço da secreção auditiva já foi considerada indicativa de processo patológico (hiperqueratose). No entanto, TATER et al. (2003) observaram a presença dessas células em 30% dos esfregaços provenientes de cães saudáveis. Os autores acreditam que o ato de atritar o *swab* contra o canal auditivo externo remove as células escamosas nucleadas adjacentes ao extrato córneo.

Para ANGUS (2004), a lâmina deve ser avaliada pela presença, número e característica desses três elementos-chaves: fungos, bactérias e leucócitos. Segundo o autor, acima de cinco leveduras ou de 25 bactérias por campo (aumento de 1000 X, em óleo de imersão) é sugestivo de atividade microbiana suficiente para o início de intervenção terapêutica. A presença de leucócitos, particularmente leucócitos fagocitando bactérias, indica uma “infecção verdadeira”, muito mais do

que crescimento aumentado de microrganismos. Se há descarga purulenta, terapia sistêmica é necessária.

Muitas vezes apenas um microrganismo é isolado na cultura bacteriana, embora freqüentemente obtém-se mais de um organismo patogênico, caracterizando-se uma infecção mista. Nesses casos é importante combinar o exame citológico da secreção otológica com a cultura, pois isso permite que o clínico determine qual bactéria está predominando (LOGAS, 1994).

A citologia combinada com a cultura microbiana é a melhor forma para identificação de bactérias patogênicas e confirmação da infecção. No entanto, se apenas um teste puder ser realizado, escolhe-se a citologia. O resultado da cultura permite a seleção de antibiótico apropriado, mas a citologia determina quais microrganismos são mais significantes e em que momento a terapia pode ser descontinuada (LOGAS, 1994; LEITE, 2000; ANGUS, 2004).

RIBEIRO et al. (2000) ressaltam que a demonstração da presença de bactérias ou fungos no conduto auditivo não significa necessariamente que estes microrganismos sejam patógenos primários totalmente responsáveis pelo desenvolvimento da otite. BLANCO et al. (2000) enfatizam que o exame microscópico direto é útil principalmente em caso de otites por leveduras ou bactérias Gram-positivas, uma vez que a detecção de bacilos Gram-negativos pode ser de difícil observação, sendo que principalmente a *Pseudomonas aeruginosa* pode deixar de ser notada camuflada em meio aos debris celulares.

GINEL et al. (2002) pesquisaram o exame citológico na avaliação da otite externa em cães e gatos, objetivando estabelecer valores de referências e correlacioná-los aos sinais clínicos dos cães e gatos. Para tanto, o total de células epiteliais descamadas, de células de leveduras e de bactérias foi contado a partir de amostras coletadas do canal auditivo externo de 37 cães e de 16 gatos normais, e de 24 cães e de 22 gatos com otite externa. O número de leveduras e bactérias foi significativamente maior em cães e gatos com otite externa, sendo que na maioria

dos casos altas contagens estavam correlacionadas com sinais clínicos. Foram consideradas anormais médias de 5 ou mais leveduras por campo em cães, e 12 ou mais leveduras em gatos (aumento de 1000 X, em óleo de imersão). Também foram consideradas anormais médias de bactérias por campo maiores ou iguais a 25 em cães, e maiores ou iguais a 15 em gatos (aumento de 1000 X, em óleo de imersão). Os autores concluíram que a citologia, quando usada para diferenciar canais auditivos normais de canais auditivos inflamados, é um teste de baixa sensibilidade, mas de especificidade maior ou igual a 95%.

Embora a *Malassezia pachydermatis* possa ser isolada através da cultura, a forma mais acurada para diagnóstico de presença excessiva de células de *Malassezia pachydermatis* é através da combinação do exame físico da secreção e sua citologia. A grande incidência de dermatite e otite devido ao crescimento exagerado de *Malassezia pachydermatis* justifica que a citologia das lesões de pele seja considerada uma prática de rotina durante o exame dermatológico (MORRIS, 1999). Geralmente a secreção é espessa, marrom escura, com odor adocicado. No exame citológico há várias leveduras por campo e poucos leucócitos, a menos que haja infecção bacteriana associada (LOGAS, 1994).

Segundo ROSYCHUK (1994), três ou quatro leveduras de *Malassezia pachydermatis* por campo (aumento de 1000 X, em óleo de imersão) é considerado microbiota normal, devendo-se levar em consideração os fatores ambientais, ou seja, animais que vivem em ambientes mais úmidos podem apresentar maior quantidade de leveduras na secreção auricular normal.

MACHADO et al.(2003) salientam que ainda não foi estabelecida uma norma precisa que defina se o número de leveduras sobre a pele é normal ou anormal. NASCENTE et al. (2005) estabeleceram um critério diagnóstico para o exame direto do esfregaço obtido a partir do *swab* otológico (aumento de 1000 X, em óleo de imersão): a) negativo, quando há ausência de *Malassezia pachydermatis*; b) positivo com uma cruz (+), presença de até cinco células de levedura por campo; positivo

com duas cruces (++) , presença de seis a dez células/campo; e positivo com três cruces (+++) , presença de mais de dez células/campo. Para tanto, a lâmina deve ser observada em microscopia óptica, sendo necessário observar ao total 6 campos para obtenção da média de células/campo. Segundo os autores, orelhas de cães normais, sem otite, podem ser negativas ou positivas com uma cruz (+), ou seja, até cinco células leveduriformes por campo.

Segundo LEITE (2000), suspeita-se que *Malassezia pachydermatis* é o agente patogênico quando são visualizadas mais de quinze células leveduriformes por campo, sendo que a maioria dos cães com malasseziose auricular apresenta de trinta a noventa células de levedura por campo. No entanto, o autor ressaltou que há exceções, ou seja, animais com orelhas sadias apresentando alta contagem de células por campo, sendo necessária interpretação do médico veterinário.

Já COLE et al. (1998) consideram a *Malassezia pachydermatis* como patógeno quando se obtém uma média maior ou igual a quatro células leveduriformes por campo (aumento de 1000 X, em óleo de imersão).

2.5.4. Cultura Bacteriana, Micológica e Testes de Sensibilidade

Há algumas controvérsias entre os pesquisadores e clínicos sobre a necessidade de realização de cultura microbiana e testes de sensibilidade para infecções otológicas em cães. Para MORRIS (2004) muitos clínicos poderiam tratar os casos de otite externa baseados apenas na experiência clínica e no exame citológico. Se a amostra apresentar apenas cocos Gram-positivos, deve-se optar por uma droga que seja efetiva contra estafilococos, estreptococos e enterococos. Se a amostra apresentar bacilos Gram-negativos em grande quantidade, deve-se considerar a possibilidade de presença de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* apresentando múltipla resistência a drogas antimicrobianas.

KOWALSKI, 1988 também acredita que cultura microbiológica e testes de sensibilidade não precisam ser rotineiramente realizados, principalmente quando o

clínico dominar a técnica de exame citológico e o fizer regularmente. Para o autor, a cultura microbiológica é indicada em casos refratários aos tratamentos, em pacientes com otites recorrentes, ou quando houver envolvimento de bactérias Gram-negativas visualizadas através da citologia pela coloração de Gram.

Já COLE et al. (1998) ressaltam que a emergência de grande proporção de cepas bacterianas resistentes aos antimicrobianos comumente utilizados aumenta a necessidade de realização de cultura bacteriana e antibiograma. A cultura do exsudato otológico do canal vertical de cães com último grau de otite externa crônica providencia uma relação acurada das espécies bacterianas presentes e do padrão de susceptibilidade dessas espécies (COLE et al., 2005).

BLANCO et al.(2000) salientam que os resultados das culturas micológicas e bacterianas devem sempre ser interpretados com cuidado, em conjunto com os achados citológicos e clínicos. Esses autores ressaltam a necessidade de cultivo em ágar MacConkey principalmente em casos de otite purulenta, quando a microbiota Gram-negativa está mais freqüentemente envolvida.

ROSYCHUCK (1994) indica os testes de sensibilidade principalmente quando: (1) a bactéria persiste mesmo com apropriada antibioticoterapia tópica; (2) há histórico de medicação antibiótica tópica anterior e a visualização de bacilos no exame citológico, sugerindo a presença de organismos Gram-negativos mais resistentes; (3) há otite média concomitante (nesse caso as amostras devem ser obtidas a partir do canal e também da orelha média).

Segundo COLE et al. (1998) a falha na terapia pode ser resultante na escolha de um agente antimicrobiano baseada somente nos patógenos isolados do canal auditivo horizontal, desconsiderando um foco infeccioso na orelha média. Portanto, caso a membrana timpânica esteja intacta, mas exista suspeita de otite média, deve ser realizada meringotomia (ruptura cirúrgica da membrana timpânica) para obtenção de amostra para cultura microbiológica e antibiograma, além da limpeza da orelha média (ROSE, 1977; NUTTALL e COLE, 2004). Após a

meringotomia, se as orelhas forem mantidas livres de infecção, a membrana timpânica levará entre 21 e 35 dias para se refazer (STEISS et al., 1992).

COLE et al. (1998), ao avaliarem cães com otite externa crônica, constataram que 71,1% dos animais com otite média associada à otite externa crônica apresentavam membranas timpânicas intactas. Portanto, sem o procedimento cirúrgico e a realização de cultura bacteriana a partir de amostra da orelha média, esses casos de otite média não teriam sido detectados.

DICKSON e LOVE (1983) destacam que o método usual de colheita de amostra auricular, que consiste em passar um *swab* estéril no canal auditivo do cão consciente, não é recomendado porque freqüentemente o *swab* sofre contaminação bacteriana ao encostar no pêlo ou alcançar apenas o canal vertical. Segundo os autores, como a infecção otológica se origina principalmente a partir do canal horizontal, deve ser obtida amostra da secreção desse local, sendo muitas vezes necessária a sedação do animal para melhor exame e amostragem.

Segundo GRAHAM-MIZE e ROSSER Jr (2004), os resultados da citologia e da cultura microbiana devem ser avaliados em conjunto, não podendo ser considerados tão definitivos como assumido previamente, devido à aparente variabilidade da microbiota no interior do canal auditivo. Esses autores chegaram a essa conclusão ao encaminhar simultaneamente para exame citológico e cultura o exsudato auricular de 33 cães com otite externa, sendo que o exame citológico concordou com os resultados da cultura em apenas 68% das vezes.

Vale ressaltar que a terapia tópica no canal auditivo atinge concentração de antibiótico maior que a concentração convencional *in vitro* usada nos testes de sensibilidade, pois a última leva em conta a concentração plasmática do antimicrobiano em questão. De qualquer maneira, os resultados obtidos pelo método de difusão em disco de KIRBY e BAUER (BAUER et al., 1966) podem dar uma indicação sobre quais drogas serão mais efetivas contra a (s) bactérias (s) em questão (MORRIS, 2004).

2.5.5. Audiometria e Diagnóstico por Imagem

Quando o paciente apresentar otite crônica é aconselhada a realização de exames complementares para investigar se há comprometimento da orelha média e/ou calcificação das cartilagens auriculares (ROSYCHUCK, 1994). Segundo AUGUST (1988), 50% dos cães com otite crônica externa possuem a membrana timpânica rompida.

LITTLE e LANE (1989) pesquisaram três técnicas para averiguar a integridade da membrana timpânica dos cães: timpanometria, exame otoscópico e percussão da membrana timpânica. A primeira técnica, timpanometria, que consiste em uma forma de audiometria, mostrou-se muito acurada, embora sua realização nem sempre tenha sido possível devido inflamação, estenose ou oclusão do canal auditivo. O exame otoscópico realizado por um profissional experiente mostrou ter acurácia apenas moderada em orelhas sem inflamação. No entanto, quando houve otite externa, a visualização da membrana timpânica raramente foi possível, mesmo após a lavagem otológica. A percussão da membrana timpânica mostrou-se uma técnica pouco confiável, provocando eventualmente a ruptura da mesma.

O acúmulo de fluido dentro da cavidade timpânica é um importante indicador diagnóstico de casos clínicos de otite média, embora a sua identificação possa ser difícil usando-se as técnicas de imagem tradicionais. Ainda assim, SMEAK et al. (1996) consideram a radiografia simples uma técnica excelente na detecção de um foco infeccioso na orelha média em casos de otites externas crônicas recorrentes. No entanto, diversos autores não a consideram uma técnica sensível para a detecção de otite média (REMÉDIOS et al., 1991; BISCHOFF e KNELLER, 2004). A avaliação radiográfica da cavidade timpânica é limitada, uma vez que o posicionamento inadequado da cabeça ao submeter-se o animal ao Raio-X pode comprometer a sua visualização, sendo que a superimposição das múltiplas

estruturas ósseas pode resultar em um resultado falso negativo ou até mesmo na subestimação da doença presente (BISCHOFF e KNELLER, 2004).

REMEDIOS et al. (1991) compararam retrospectivamente os exames radiográficos de cães e gatos com otite externa crônica com os achados após procedimento cirúrgico exploratório para o diagnóstico de otite média. Os autores não encontraram resultados falso-positivos, ou seja, todos os casos mostrando alterações radiográficas compatíveis com otite média foram confirmados na cirurgia. Entretanto, quatro pacientes com resultados negativos na radiografia foram positivos após cirurgia exploratória, demonstrando que a radiografia não é um teste muito sensível no diagnóstico de otite média.

Segundo LEITE (2000) a ausência de sinais radiográficos compatíveis com otite média não a exclui do diagnóstico diferencial, enquanto que a detecção dos mesmos confirma a suspeita clínica de otite.

O uso de contraste positivo no canal auditivo mostrou-se uma técnica radiográfica mais acurada que o exame com otoscópio rotineiro para avaliação da integridade da membrana timpânica de cães (TROWER et al, 1998). No exame otoscópico, foi possível visualizar a membrana timpânica em apenas 40 das 61 orelhas examinadas (66%), verificando-se que 12 estavam rompidas. Sinais radiográficos de otite média (aumento da opacidade e/ou estreitamento da cavidade timpânica) foram observados em apenas sete orelhas, enquanto que o contraste positivo demonstrou haver ruptura em 13 membranas. Os autores não observaram exacerbação da doença otológica após o uso do contraste.

Segundo BISCHOFF e KNELLER (2004), a tomografia computadorizada é a modalidade preferencial para avaliação da cavidade timpânica, principalmente para casos de otite crônica recorrente. A imagem do canal auditivo propiciada pela tomografia computadorizada pode proporcionar informações importantes como o grau de comprometimento da orelha média e interna, a cronicidade do processo

infeccioso, o envolvimento de estruturas adjacentes, bem como as complicações pós-cirúrgicas.

ROHLEDER et al. (2006) compararam a tomografia computadorizada e a radiografia no diagnóstico de casos de otite média em cães com otite externa crônica. Sendo tanto os achados cirúrgicos e os histopatológicos consideradas técnicas padrões (*'gold standard'*), a tomografia computadorizada mostrou-se mais acurada que a radiografia no diagnóstico de otite média moderada ou severa. Esses autores observaram que tanto a radiografia como a tomografia computadorizada foram técnicas mais acuradas para predizer a severidade da doença do que para detectar sua presença.

DICKIE et al. (2003) fizeram um estudo comparativo entre a radiografia, a ultra-sonografia e a tomografia computadorizada para a identificação de fluido dentro da cavidade timpânica de cadáveres caninos. Embora a tomografia computadorizada tenha permanecido como o método mais eficiente, resultados bem próximos foram obtidos pela ultra-sonografia, que se mostrou superior à radiografia.

Em casos de otite crônica, quando a integridade da membrana timpânica não puder ser determinada, é mais seguro assumir que há doença na orelha média e realizar terapia para otite média, ou seja, tratamento sistêmico e tópico (GOTTHELF, 2004). É prudente, também, tomar precauções para evitar a ototoxicidade de produtos para limpeza otológica e de medicações tópicas quando há suspeita de otite média (HARVEY et. al, 2004).

2.5.6. Biópsia

Biópsia é indicada principalmente em casos de otites crônicas. Pode ser realizada biópsia da pele próxima do canal vertical ou do pavilhão auricular. ROSYCHUK (1994) indica a técnica para diferenciar otite por demodicose (quando o raspado for negativo), por alergias ou por neoplasias.

2.6. MICROBIOTA PREVALENTE NAS OTITES EXTERNAS DOS CÃES

O isolamento de microrganismos de orelhas caninas infectadas não indica necessariamente que os mesmos sejam os agentes causais, pois o canal auditivo normal dos cães é composto por uma variedade de microrganismos comensais e potencialmente patogênicos (MANSFIELD et al., 1990). Além disso, freqüentemente a otite em cães tem mais de um agente microbiano envolvido na infecção.

2.6.1. Bactérias Gram-positivas Envolvidas nas Otites de Cães

A microbiota normal da orelha externa dos cães é composta por bactérias do gênero *Staphylococcus* sp. e *Streptococcus* sp., e por leveduras da espécie *Malassezia pachydermatis* (BAXTER, 1976; DICKSON e LOVE, 1983). MATSUDA et al. (1984) realizaram cultivos com amostras da secreção da orelha média e da orelha externa canina, obtendo cultivo bacteriano em 48% das orelhas médias (predominando *Staphylococcus* sp. e *Escherichia coli*) e em 46% das orelhas externas (predominando *Staphylococcus* sp. e leveduras).

Os sacos anais dos cães podem ser a fonte de bactérias *Staphylococcus* sp. (ALLAKER et al., 1992), que se caracterizam por serem comensais da pele, gengiva e pêlos dos cães saudáveis, sendo considerada um patógeno oportunista. Ela é o agente microbiano mais freqüente em otites externas e piodermites em cães (COLE et al, 1998), isolado em 30 a 50 % das otites caninas externas (DICKSON, 1983; KOWALSKI, 1988; MORRIS, 2004). Outras bactérias envolvidas em casos de otite canina externa são os cocos Gram-positivos *Streptococcus* sp., e os bacilos Gram-negativos *Pseudomonas* sp., *Proteus* sp. e *Escherichia coli* (BLUE e WOLLEY, 1977; KOWALSKI, 1988; MORRIS, 2004; HARIHARAN et al., 2006).

Até o início dos anos 80, o principal patógeno cutâneo isolado a partir de lesões piogênicas das espécies caninas era o *Staphylococcus aureus*. Entretanto, com base em estudos taxonômicos, uma nova espécie de estafilococos coagulase positivos foi isolada: *Staphylococcus intermedius*, sendo que vários estudos

posteriores confirmaram essa espécie como a mais prevalente em otites e piodermites em cães (CONCEIÇÃO e FABRIS, 1999). É por esse motivo que alguns autores, como BLUE e WOLLEY (1977) citam a espécie *Staphylococcus aureus* como a mais freqüentemente isoladas de cães com otite externa, visto que na época de seus estudos não havia ocorrido a mudança na taxonomia bacteriana.

SASAKI et al. (2005), ao compararem características de cepas de estafilococos comensais com as cepas patogências, verificaram que o índice de produção de enterotoxinas pelas cepas isoladas a partir de cães doentes era maior, determinando, dessa forma, uma importante diferença entre a microbiota *Staphylococcus intermedius* normal e a patogênica.

Ao estudar a prevalência de bactérias *Staphylococcus intermedius* a partir de amostras de orelhas caninas infeccionadas em Michigan, Estados Unidos, em um período de cinco anos, PETERSEN et al. (2002) verificaram que 49,4% das amostras resultaram em cultivo desta bactéria. YAMASHITA et al. (2004), no Japão, isolaram estafilococos em 48,3% das amostras da secreção auricular de cães com otite externa, e em 68,3% das amostras de cães sem otite, reiterando a constatação de que este o gênero é o mais prevalente em orelhas caninas. Esses autores observaram que *Staphylococcus schleiferi* subsp. *coagulans* está sendo apresentado como um recente agente etiológico da otite externa em cães, tendo sido isolado a partir de dois cães com otite externa e de um cão aparentemente normal.

Existe um potencial zoonótico apresentado por cepas de *Staphylococcus intermedius*, mais comumente relacionado a injúrias invasivas, como mordidas por cães ou cateteres contaminados. Entretanto, é possível a infecção não invasiva de *Staphylococcus intermedius* de um cão contaminado para um ser humano, sendo que TANNER et al. (2000), nos Estados Unidos, fizeram um dos primeiros relatos dessa possibilidade. No caso relatado por esses autores, o paciente humano apresentava otite externa infecciosa, sendo detectado (pelo método da PCR) que o

agente causador era *Staphylococcus intermedius*, o mesmo patógeno presente na otite externa do seu cão. Os autores destacam que, pelo fato de bactérias do gênero *Staphylococcus* sp. não serem rotineiramente identificadas em sua espécie em muitos laboratórios humanos, infere-se que a prevalência de infecções por *Staphylococcus intermedius* em humanos pode estar sendo subestimada. Dessa forma, uma maior importância do tratamento eficiente e rápido dos cães com otite externa, principalmente daqueles em próximo contato com pessoas com imunodepressão, muito jovens ou idosos.

2.6.2. Bactérias Gram-negativas Envolvidas nas Otites de Cães

YOSHIDA et al. (2002) realizaram culturas microbiológicas do exsudato otológico de 187 cães, 77 sadios e 110 com otite externa. *Staphylococcus* sp. e *Malassezia pachydermatis* foram mais frequentemente isolados de orelhas de cães, com ou sem otite externa, enquanto que as bactérias *Proteus* sp. e *Pseudomonas* sp. foram isoladas apenas de cães com otite externa. Essa observação já havia sido feita por DICKSON e LOVE (1983), na Austrália, que destacaram a presença de *Proteus* sp. e *Pseudomonas* sp. principalmente nas otites crônicas. Adicionalmente, TATER et al. (2003) verificaram que na citologia da secreção da orelha externa de cães sadios nunca foi observada a presença de bacilos.

A incidência de bactérias Gram-negativas no conduto auditivo de cães sadios é baixa (DICKSON e LOVE, 1983; WHITE e POMEROY, 1990). O fato desses microrganismos somente serem encontrados em orelhas com infecção indica que a detecção de uma dessas bactérias em qualquer orelha é indicativa de otite (YOSHIDA et al., 2002).

Dentre os bacilos gram-negativos destaca-se a *Pseudomonas aeruginosa* (PETERSEN et al., 2002; NOBRE et al., 2001; GINEL et al. 2002). Trata-se de um bacilo Gram-negativo aeróbio que está envolvido em diversas infecções caninas,

sendo resistente a vários antibióticos. A otite externa crônica em cães é comumente associada a infecção por *Pseudomonas aeruginosa* (KISS et al., 1997).

SEOL et al. (2002), ao estudarem a sensibilidade *in vitro* de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas a partir de cães doentes (com infecção de pele, orelha e outros órgãos), observaram que a maioria das cepas foi obtida a partir do canal auditivo infectado (105 do total de 183 cepas), dentre as quais mais da metade eram provenientes de cães Cocker Spaniel.

Bactérias da espécie *Pseudomonas aeruginosa* secretam várias toxinas e enzimas que aumentam sua virulência. Entre as enzimas que degradam o tecido conjuntivo há três proteases bem caracterizadas: duas elastases (LasA e LasB), que degradam elastina, e uma protease alcalina (AprA), que degrada o colágeno (PETERMANN, 2001; TRON et al., 2004). No entanto, segundo PETERMANN (2001) cepas de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas de amostras de otite canina possuem deficiência de elastase, o que é provavelmente uma resposta adaptativa.

2.6.3. Leveduras Envolvidas nas Otites em Cães

Dentre os muitos organismos que podem ser isolados a partir de orelhas infectadas, a *Malassezia pachydermatis* é o agente leveduriforme mais freqüentemente isolado nas otites externas (SHARMA e RHOADES, 1975; GEDEK et al., 1979; NOBRE et al., 2001; LEITE et al., 2003). NARDONI et al. (2004) isolaram levedura do gênero *Malassezia* em 67.6% dos cães com dermatopatias (pele e/ou orelha) e em 51.6% dos cães normais.

Leveduras do gênero *Malassezia* são microrganismos comensais da pele de humanos e animais que ocasionalmente agem como patógenos oportunistas (MIDGLEY, 1989; MANSFIELD et al., 1990). Existem sete espécies nesse gênero: *Malassezia furfur*, *Malassezia globosa*, *Malassezia obtusa*, *Malassezia restricta*, *Malassezia sloofiae*, *Malassezia sympodialis* e *Malassezia pachydermatis*. Com exceção da *Malassezia pachydermatis*, as outras seis espécies necessitam da

suplementação do meio de cultura com ácidos graxos de cadeias longas para serem cultivadas *in vitro*.

As espécies lipídio-dependentes são associadas às alterações dermatológicas em humanos (CAFARCHIA et al, 2005). A *Malassezia pachydermatis* está associada à otite canina externa, sendo que recentemente estudos mostraram que as espécies lipídio-dependentes também podem contribuir na etiologia da otite externa em cães e gatos (CRESPO et al. 2000; CRESPO et al, 2002). CAFARCHIA et al. (2005), na Itália, identificaram que dentre 413 isolamentos de *Malassezia* sp. obtidos de animais com ou sem otite, 403 (97.6%) correspondiam à espécie *Malassezia pachydermatis*, enquanto 10 (2.4%) eram da espécie *Malassezia globosa*.

BOND et al. (1995) observaram que a *Malassezia pachydermatis* freqüentemente coloniza o ânus, a pele interdigital, a orelha externa e lábios de cães saudáveis. A maior concentração de leveduras nos sacos anais sugere que os mesmos agem como fonte de *Malassezia pachydermatis* para os demais locais do corpo.

A característica mais marcante da *Malassezia pachydermatis* é sua natureza lipofílica, usando para seu crescimento os lipídeos encontrados no cerúmen canino (MASUDA et al., 2000). As mudanças no micro-clima do canal auditivo decorrentes da infecção, como maior acúmulo excessivo de cerúmen, são responsáveis pela transformação da *Malassezia pachydermatis* de comensal para patogênica (MASON e EVANS, 1991). MASUDA et al. (2001) observaram que as leveduras de *Malassezia pachydermatis* não estão aderidas diretamente às células epiteliais cornificadas, havendo uma camada lipídica entre elas e o epitélio. HUANG e LITTLE (1993) sugeriram que alterações na composição dos lipídios no cerúmen podem participar na promoção ou inibição do crescimento dessa levedura *in vivo*.

A umidade do canal auditivo, portanto, é fator chave para a otite por *Malassezia pachydermatis*, fato confirmado por MANSFIELD et al. (1990) nos Estados Unidos, que obtiveram culturas positivas de *Malassezia pachydermatis* após

a inoculação diária de solução salina estéril dentro do canal auditivo de cães, durante três semanas.

NASCENTE et al. (2005), no Rio Grande do Sul, realizaram a reprodução da malasseziose ótica através da inoculação experimental da levedura no meato acústico externo de 14 cães, sendo confirmada a otite 11 dias após o término da inoculação. Todos os animais apresentaram sinais de otite externa, sendo encontradas no esfregaço da secreção auditiva mais de cinco leveduras/campo (considerado patogênico para os autores). A levedura foi isolada em ágar Sabouraud a partir de amostras de todos os cães.

CAFARCHIA e OTRANTO (2004) observaram que cepas de *Malassezia pachydermatis* obtidas a partir de cães com infecção por essa levedura (otite ou dermatite) produzem maior quantidade de fosfolipase que as cepas isoladas a partir de cães saudáveis, indicando que essa enzima pode contribuir na virulência da *Malassezia pachydermatis*.

É importante destacar, ainda, o potencial zoonótico da *Malassezia pachydermatis*, pois já foi relatado um surto de malasseziose em bebês em cuidados intensivos (CHANG et al.,1989). Neste relato, a levedura foi introduzida no ambiente hospitalar por um profissional de saúde proprietário de um filhote de cão com otite por *Malassezia pachydermatis*.

Candida sp. tem sido reportada em uma percentagem baixa nas otites caninas externas, em alguns casos associada a tratamento prévio com antibióticos. McKELLAR et al. (1990) relataram casos de otite canina externa por *Candida albicans*, sendo essa infecção de natureza contagiosa, o que geralmente não ocorre com os outros fungos isolados nas otites.

2.6.4. Envolvimento de Biofilmes em Otites Crônicas

Atualmente a medicina moderna está se deparando com o crescimento de infecções relacionadas aos biofilmes, comunidades microbianas duráveis embebidas

em uma matriz polissacarídea (COSTERTON et al, 1995). As bactérias se aderem em materiais médicos implantados ou em tecidos lesionados e se protegem através do biofilme (STEWART e COSTERTON, 2001), que confere resistência antimicrobiana e proteção contra as defesas do hospedeiro (POST et al, 2004). As bactérias não estão sozinhas na formação de biofilme, pois os fungos também o formam ou dele participam, sendo altamente resistente a antifúngicos (RAMAGE et al., 2005).

Em humanos, são doenças sabidamente causadas por biofilme a otite média, endocardite, infecção urinária, prostatite, osteomielite e todas as infecções relacionadas a materiais médicos. Na odontologia, a placa bacteriana tem sido considerada um biofilme (OVERMAN, 2000). O estudo aprofundado dos mecanismos presentes na formação do biofilme pode ser uma opção para o desenvolvimento de terapias que controlem as doenças crônicas (STEPHENS, 2002).

A formação de biofilme pode ser um fator importante na etiologia da otite média e suas complicações (POST, 2001; EHRLICH et al., 2002; FERGIE et al., 2004). A estreita relação entre otite externa crônica e otite média nos remete a pensar na probabilidade de biofilmes estarem envolvidos nas otites caninas, principalmente naquelas recorrentes e de resolução apenas cirúrgica.

2.7. TRATAMENTO DA OTITE EXTERNA DE CÃES

2.7.1. Princípios do Tratamento da Otite em Cães

O tratamento da otite consiste na identificação dos fatores predisponentes, primários e perpetuadores, além da limpeza do canal auditivo, terapia tópica adequada, terapia sistêmica quando necessária, educação do proprietário, acompanhamento do paciente, terapia de manutenção e terapia preventiva. (ROSYCHUK, 1994; JACOBSON, 2002).

A terapia da otite externa não pode desconsiderar o diagnóstico e tratamento da causa primária específica, pois somente dessa forma é possível minimizar sua deletéria estimulação contínua (ANGUS et al. 2002). No entanto nem sempre é possível detectar o fator primário que iniciou o processo, principalmente nos casos de otite aguda. (ROSYCHUK, 1994). Segundo MURPHY (2001), a falha em identificar os fatores predisponentes e primários é a causa mais comum de otite externa crônica recorrente. LEITE (2000) destaca que animais com fatores primários de difícil controle e/ou diagnóstico serão pacientes constantes, sendo importante esclarecer ao proprietário a necessidade de consultas periódicas e os riscos de recidivas, apesar dos cuidados profiláticos.

A terapia para otite canina externa pode ser iniciada após o exame citológico da secreção auricular, uma vez que o mesmo fornece muitas informações sobre os microrganismos envolvidos na otite. A presença de quantidades excessivas de células leveduriformes de *Malassezia pachydermatis* no exame citológico prediz a infecção por essa levedura muito antes da cultura micológica, que só pode ser obtida 24 horas a quatro dias após a semeadura (ROSYCHUK, 1994).

Um dos principais desafios do tratamento das otites caninas consiste em evitar sua cronicidade, que comumente se desenvolve devido ao uso empírico de antibiótico (DICKSON e LOVE, 1983; DIECKMANN et al., 1996). A inflamação crônica do canal auditivo leva ao desenvolvimento de fatores perpetuadores, os quais podem causar o fracasso da terapia, a despeito da eliminação da causa primária da otite (MURPHY, 2001).

Ao se planejar um protocolo terapêutico para um cão com otite externa, deve-se levar em consideração um possível efeito ototóxico das substâncias envolvidas. Um agente ototóxico é definido como qualquer substância que possa induzir à perda da audição ou à ocorrência de distúrbios do equilíbrio, devido lesões às estruturas das orelhas médias e/ou internas (MERCHANT, 1994). Os

medicamentos tópicos podem causar efeitos sistêmicos, principalmente quando houver perfuração timpânica e/ou ulcerações na parede do conduto auditivo. As drogas ototóxicas mais comumente usadas na rotina veterinária são: antibióticos aminoglicosídeos (estreptomicina, gentamicina, neomicina), outros antibióticos (cloranfenicol, eritromicina, polimixina B), antissépticos (álcoois, clorexidine, iodo), diuréticos, antineoplásicos, entre outros. Além disso, drogas de caráter lipofílico em veículos aquosos possuem maior poder de absorção que drogas de caráter hidrossolúvel em veículos oleosos, sendo as últimas recomendadas, portanto, para tratamentos a longo prazo (NUTTALL e COLE, 2004; LEITE, 2000).

A medicação sistêmica em pacientes com otite externa geralmente está reservada para os casos crônicos ou recidivantes, devendo sempre estar associada à medicação tópica. Há várias controvérsias a respeito da droga administrada de forma sistêmica chegar efetivamente no epitélio auricular, principalmente quando a mesma tem caráter hidrofílico. No entanto, quando a droga sistêmica é usada com critério, vários efeitos benéficos são observados, como diminuição da dor e do edema (corticoterapia) e melhor combate ao microrganismo patógeno (produto antimicrobiano), evitando a sua disseminação (LEITE, 2000).

Os casos refratários devem ser avaliados por dermatologistas, a fim de se determinar a causa primária, sendo que a intervenção cirúrgica também pode ser necessária para os casos mais difíceis (McCARTHY e McCARTHY, 1994).

2.7.2. Limpeza das Orelhas

O cerúmen da orelha normal é composto por descamação de células epidérmicas e secreções das glândulas presentes na orelha. A composição lipídica do cerúmen canino varia bastante entre os indivíduos, embora as propriedades hidrofóbicas e de viscosidade sejam mantidas pela combinação dos diferentes lipídeos, não dependendo unicamente de um único constituinte. Os lipídios

presentes no cerúmen, como o colesterol, ácido graxo livre, triglicerídeos, lecitina, entre outros, funcionam como uma barreira biológica contra os organismos externos (HUANG et al. 1994).

Além disso, o cerúmen, por sua característica adesiva, atua também como barreira física de proteção. Corpos estranhos que por ventura entrem no canal auditivo aderem à parede ou aos pêlos, sendo impedidos, dessa forma, de alcançarem áreas mais sensíveis, como a membrana timpânica (LOGAS, 1994).

Observa-se que o cerúmen de orelhas sadias tende a ter maior proporção de lipídios que o cerúmen de orelhas com inflamação, o que pode ser explicado pela hiperplasia das glândulas apócrinas em orelhas com otite crônica (HUANG et al.,1994).

Embora o acúmulo de cerúmen predisponha à otite (AUGUST, 1988), não é usualmente necessária a limpeza de orelhas sadias, uma vez que o excesso de limpeza pode predispor à infecção através do aumento da umidade e remoção da barreira defensiva (NUTTALL e COLE, 2004). No entanto, a limpeza é indicada em casos de seborréia com produção excessiva de cerúmen, quando há presença de com pêlos no canal auditivo ou em orelhas com estenose.

A limpeza das orelhas é fundamental para o tratamento da otite, uma vez que o excesso de debris e exsudato é por si só irritante, podendo ainda ocultar corpos estranhos que estejam produzindo a infecção (ROSYCHUK, 1994; NUTTALL e COLE, 2004). Isso pode ocorrer principalmente quando os corpos estranhos se encontram no canal auditivo horizontal, de difícil visualização. O excesso de debris pode, ainda, inativar algumas drogas, como por exemplo, a polimicina B (NEU, 1984) e a gentamicina (NUTTAL e COLE, 2004), ambos antimicrobianos comuns em apresentações otológicas comerciais (TABELAS 2 e 3).

O excesso de pêlos pode ser periodicamente removido do canal auditivo, embora alguns autores (NUTTALL e COLE, 2004) não recomendem este

procedimento por predispor à otite. Além disso, por ser extremamente dolorosa, a remoção dos pêlos pode indispor o paciente a qualquer tratamento posterior nas orelhas (HAMMOND et al, 1990). Quanto ao uso de cremes depilatórios, ele é contra-indicado segundo a maioria dos autores (De ARGILA et al, 1996; NUTTALL e COLE, 2004), embora HAMMOND et al. (1990) recomendem seu uso em animais sedados com otites moderadas a severas, desde que não tenha ocorrido rompimento da membrana timpânica.

Em geral, a limpeza manual não remove materiais muito aderidos ou que estejam depositados muito profundamente. Além disso, não é recomendado que o proprietário realize a limpeza das orelhas em intervalos menores que 48 horas (NUTTALL e COLE, 2004).

A lavagem das orelhas com sonda auditiva é apropriada quando todo o canal auditivo necessitar de limpeza, ou, ainda, quando houver otite média concomitante (NUTTALL e COLE, 2004). Para GORTEL (2004) a lavagem otológica deveria ser sempre considerada em casos pouco responsivos ou crônicos, pois os benefícios no diagnóstico e na terapêutica superam os riscos.

Caso as orelhas se apresentarem ulceradas ou hiperplásicas, pode ser aconselhável o uso prévio de corticóide (prednisona 1-2 mg/kg, BID, VO) duas a três semanas antes do procedimento de lavagem otológica, que deve ser feita com o paciente anestesiado. Se a membrana timpânica estiver rompida, o fluido usado para limpeza pode escorrer para a boca ou nariz, sendo recomendada a colocação do traqueotubo para evitar aspiração. A lavagem pode ser feita com solução de salina isotônica estéril (NaCl a 0,9%) ou produtos ceruminolíticos. Quando a membrana timpânica estiver rompida ainda é possível usar ceruminolíticos, desde que sejam removidos com cuidado, uma vez os mesmos podem ser ototóxicos (NUTTALL e COLE, 2004).

O video-otoscópio pode ser instrumento de grande auxílio ao se proceder a lavagem das orelhas, principalmente em cães com otite externa crônica, quando sempre há suspeita de envolvimento da orelha média (PALMEIRO et al, 2004).

2.7.3. Produtos de Limpeza Otológica

A escolha do produto usado na limpeza otológica é fundamental no sucesso do tratamento. A maioria dos autores prefere nada além de água (GRIFFIN, 1996) ou solução salina (NUTTALL e COLE, 2004), principalmente nos casos em que há suspeita de ruptura da membrana timpânica. Isso porque a presença de ceruminolíticos na orelha média em cobaias demonstrou produzir efeitos variados de inflamação e perda auditiva (MANSFIELD et al., 1997).

A tabela a seguir apresenta os principais produtos comerciais para limpeza de orelhas presentes atualmente no Brasil, bem como sua formulação básica.

TABELA 1 – PRODUTOS VETERINÁRIOS PARA LIMPEZA OTOLÓGICA, FABRICANTE E FORMULAÇÃO.

NOME COMERCIAL	FABRICANTE	FORMULAÇÃO (EM 100 ml)
Eti-Mag Oto Septic	Leivas Leite S/A	Clorexidina (digluconato): 0,10 g Extrato de Aloe Vera: 1,00 g
Loção para limpeza dos ouvidos Amicci	Minerthal Saúde Animal	Glicerina 7,0 g Lanolina: 1,5 g Propilenoglicol: 8,0 g
Epiotic Espherulites	Virbac	Ácido Salicílico: 0,11g Ácido Láctico: 2,88g Microcápsulas: 1,00g
Limp e Trat	Ouro Fino	Ácido Láctico: 2,500 g; Ácido Salicílico: 0,100 g
Limpador Phisio Anti - Odor	Virbac	Polissorbato: 30,5g Trietanolamina: 0,07 mL Cloreto de Sódio: 0,6g
Otodem auriclean	Vetbrands	Ácido salicílico: 0,11 g Ácido láctico: 2,98 g Ácido bórico: 2,00 g Aloe Vera: 1,00 g Calêndula: 2,00 g
Higinat	Eurofarma	Ácido salicílico: 2,0 g Propilenoglicol: 31,0 g Timol: 0,1 g Alantoína: 0,2 g Sensicalmine: 3,0 g
Vetridem ceruminolítico	Bayer	Propilenoglicol: 30,90 g Mentol: 0,52 g Alantoína: 0,26 g Clorotimol: 0,10 g

FONTE: SINDAN, 2006.

Os produtos para limpeza otológica podem ser ceruminolíticos, surfactantes, espumantes, adstringentes ou anti-sépticos, podendo agentes antiinflamatórios incorporados (ROSYCHUK, 1994).

São considerados produtos ceruminolíticos os óleos orgânicos e solventes (propilenoglicol, lanolina, glicerina, óleo mineral, por exemplo), comumente incluídos em produtos de limpeza otológica com a função de amolecer e dissolver o cerúmen.

São indicados para orelhas com média quantidade de cerúmen e com membranas timpânicas intactas, sendo fáceis de aplicar em casa pelos proprietários (GRIFFIN, 1996).

Produtos surfactantes auxiliam na emulsificação do cerúmen, sendo indicados tanto para otites ceruminosas como purulentas. Já os produtos detergentes são mais irritantes, sendo contra-indicados quando há ruptura da membrana timpânica. Os agentes espumantes, como água oxigenada e peróxido de carbamida, reagem com exsudatos purulentos, formando bolhas de oxigênio (GRIFFIN, 1996).

Agentes adstringentes secam o canal auditivo, prevenindo a maceração. Podem ser combinados com agentes surfactantes e ceruminolíticos nos produtos comerciais. Também podem ser usados isoladamente quando as orelhas estão com pouca sujeira, com odores, ou preventivamente após o animal ter tido contato com água, através de natação ou banho (GRIFFIN, 1996; NUTTAL e COLE, 2004).

São exemplos de produtos adstringentes o álcool isopropílico, o ácido bórico, o ácido acético, o enxofre, o dióxido de silicone e o ácido salicílico. Este último é também queratoplástico em baixa concentração e queratolítico em alta (mais de 2%), sendo também bacteriostático. Uma solução eficaz com efeitos adstringentes e antimicrobianos pode ser obtida diluindo-se vinagre branco em água destilada ou solução salina, na proporção de 1:1 (NUTTAL e COLE, 2004).

Quanto aos agentes anti-sépticos que podem ser adicionados aos produtos de limpeza, destacam-se o paraclorometaxilenol e o clorexidine. O primeiro tem efeito *in vivo* contra *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus intermedius* e *Malassezia pachydermatis* (COLE et al., 2003). O segundo, na concentração de 1 a 3%, é ativo contra *Staphylococcus intermedius* e *Malassezia pachydermatis*, devendo-se tomar cuidado com sua ototoxicidade (MANSFIELD, 1997). Produtos com pH baixo também podem ter efeito antimicrobiano (NUTTAL e COLE, 2004).

COLE et al. (2006) verificaram que a presença de álcool benzil no produto para limpeza otológica diminuiu de forma significativa o crescimento bacteriano de *Streptococcus* sp. e *Proteus* sp.

Segundo NUTTAL e COLE (2004), agentes antiinflamatórios podem ser incorporados ao produto de limpeza em casos de otites recorrentes associadas a doenças inflamatórias. Seu uso tópico é indicado a fim de minimizar os efeitos adversos dos antiinflamatórios quando administrados em terapia sistêmica.

COLE et al. (2003) utilizaram trinta e uma orelhas caninas com otite externa bacteriana ou fúngica para avaliar a eficácia *in vivo* de produto para limpeza otológica contendo 2,5% de ácido láctico e 0,1% de ácido salicílico (Epiotic Spherulites[®], TABELA 1). O produto foi usado duas vezes ao dia durante duas semanas, sendo efetivo na resolução da infecção em 67,7% das orelhas, com redução nos sinais clínicos em duas semanas.

Posteriormente, REME et al. (2006) compararam a resposta clínica de cães com otites eritematosas ou purulentas tratadas durante duas semanas apenas com aplicações diárias de produtos comerciais para limpeza auricular, sendo eles: 1) produto de referência, com fórmula acidificante (Epiotic[®], Virbac); e 2) produto com pH balanceado, livre de propilenoglicol, com carboidratos bloqueadores de adesina microbiana (Epiotic Advanced[®], Virbac, produto não disponível no Brasil). Segundo os autores, na segunda semana os sinais clínicos diminuíram significativamente e nenhum crescimento microbiano exagerado pode ser detectado em 25 (64.1%) e 32 (68.1%) orelhas tratadas com Epiotic[®] e Epiotic Advanced[®], respectivamente.

NUTTAL e COLE (2004) destacam o potencial irritante de vários princípios ativos presentes nas fórmulas de produtos otológicos (propilenoglicol, por exemplo), tendo sido observados vários casos de otites caninas crônicas causadas pelo contato com produtos para limpeza de orelhas. Os autores consideram difícil determinar exatamente qual substância é irritante. Além disso, não fica claro se a limpeza otológica estava atuando, nesses casos, como fator perpetuador, ou se a

quebra da barreira normal da epiderme, conseqüente à otite, aumenta os riscos de sensibilização e/ou irritação. Portanto, em todos os casos em que haja essa suspeita, deve-se trocar o produto de limpeza por solução salina ou solução salina com vinagre.

2.7.4. Tratamento da Infecção Bacteriana

A medicação tópica sempre será requerida nos casos de otite externa (LEITE, 2000), sendo, portanto, o método de escolha para tratamento porque a concentração antimicrobiana das drogas fica em contato direto com os patógenos (ROUGIER et al., 2005). GRIFFIN (1996) recomenda o tratamento antibacteriano tópico apenas quando há infecção primária ou secundária, sendo, nesse caso, apenas parte da terapia a ser empregada.

Segundo MORRIS (2004), a terapia médica para um tratamento bem sucedido da otite infecciosa pode variar amplamente dependendo do grau de alterações patológicas no canal auditivo externo, da condição da membrana timpânica e do microrganismo específico envolvido. Quando houver otite crônica externa associada à otite média a problemática é maior, porque o envolvimento da cavidade timpânica pode ser de difícil solução, sendo que nesses casos geralmente estão envolvidas bactérias com grande resistência a antibióticos. Na verdade, a emergência contínua de cepas resistentes de *Pseudomonas* sp. e *Staphylococcus* sp. fará com que a terapia médica de otite permaneça uma arte dinâmica.

O uso indiscriminado de antimicrobiano sem um teste prévio de sensibilidade é contra-indicado por LILENBAUM et al. (2000), que alertam para o risco de seleção de cepas com múltipla resistência a drogas. Isso já foi observado há cerca três décadas atrás, quando BLUE e WOLLEY (1977) notaram a emergência de grande proporção de cepas bacterianas resistentes aos agentes antibacterianos usados comumente no tratamento de otite canina externa.

Segundo PRESCOTT et al. (2002), a resistência antimicrobiana ainda não é uma crise na medicina canina, embora existam sinais de alarme. Para esses autores, mais informações são necessárias sobre a resistência antimicrobiana e suas bases moleculares na medicina veterinária, bem como no uso dos agentes antimicrobianos na medicina dos animais de companhia. AUTHIER et al (2006) salientam que levantamentos da resistência bacteriana aos antimicrobianos são necessários com certa regularidade, uma vez que os padrões de resistência podem aumentar ou até mesmo diminuir com o passar dos anos.

A literatura aponta os seguintes antimicrobianos como os mais eficientes contra *S. intermedius* isoladas a partir de cães com otite: amoxicilina com ácido clavulânico, enrofloxaxina, cefalexina e gentamicina (KISS et al., 1997a). Gentamicina e tobramicina são os antimicrobianos mais eficientes contra bactérias *Pseudomonas aeruginosa* isoladas a partir de otites caninas (KISS et al., 1997a; HARIHARAN et al., 2006).

Tendo em vista os padrões de sensibilidade micológica e bacteriana encontrados em seu levantamento, KISS et al. (1997b) sugeriram uma combinação de cetoconazol e sulfato de gentamicina para a terapia das otites caninas externa. Dos 210 cães tratados com essa combinação, 94,2% tornaram-se assintomáticos e microbiologicamente negativos em 8,5 dias de tratamento.

DOWLING (1996) observaram que os aminoglicosídeos (neomicina, gentamicina, ampicacina) são freqüentemente escolhidos para o tratamento de otite devido a sua eficácia contra estafilococos e bactérias Gram-negativas. O autor salienta que a atividade antimicrobiana dos aminoglicosídeos é reduzida pela ação do ácido nucléico liberado pelos leucócitos. Portanto, sua eficácia é menor em microambientes ácidos, hiperosmolares e anaeróbios. Quanto aos efeitos ototóxicos e vestibulares da terapia tópica com gentamicina, STRAIN et al. (1995) concluíram que o sulfato de gentamicina colocado em orelhas de cães clinicamente normais

com ou sem miringotomia não produz alterações detectáveis na função vestibular ou coclear.

ROUGIER et al. (2005) salientaram que o uso de produtos contendo fluoroquinolonas deve ser reservado aos casos de otite que tenham respondido pobremente a terapias anteriormente realizadas, desde que após a realização de teste de sensibilidade. Os autores ressaltaram como mais um fator favorável o fato das fluoroquinolonas terem baixa ototoxicidade, sendo mais seguras em casos de otite externa em que a ruptura da membrana timpânica possa ter ocorrido. Entretanto, TEJEDOR et al (2003) observaram os mecanismos de resistência a fluoroquinolonas em nove de dez cepas *P. aeruginosa* isoladas a partir de otites caninas externas crônicas. Para esses autores as fluoroquinolonas devem ser evitadas na terapia sistêmica de otite causada por *Pseudomonas aeruginosa*.

O combate à infecção bacteriana feito com antimicrobiano pode ser amplificado através do uso de anti-sépticos. A superfície das células bacterianas Gram-negativas, por exemplo, é danificada quando exposta ao EDTA (ácido etilendiamino tetra-acético), sendo que sua combinação com trometamina (Tris) aumenta a permeabilidade da célula bacteriana às soluções extracelulares. TANAKA et al. (2002) observaram que a ação *in vitro* dos aminoglicosídeos, quinolonas e cefalosporinas apresentou maior efetividade contra bactérias *P. aeruginosa* quando associados à combinação Tris-EDTA.

FARCA et al. (1997) também observaram o efeito sinérgico do EDTA-Tris em combinação com três agentes antimicrobianos (cefaloridina, Kanamicina e enrofloxacina) contra cepas resistentes de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, previamente expostas a um dos três antibióticos sem sucesso. Os animais com otite externa crônica submetidos ao tratamento com EDTA-Tris combinado com um dos antibióticos citados demonstraram completa recuperação dentro de dez dias, sendo a irrigação local com EDTA-Tris bem tolerada e sem

efeitos adversos. WOOLEY e ENGEN (1988) também recomendaram o tratamento de otites externas crônicas com soluções contendo EDTA-Tris.

2.7.5. Tratamento da Infecção por *Malassezia pachydermatis*

Embora as infecções por *Malassezia* sp. raramente tenham esse microrganismo com causa primária, a terapia antifúngica deve ser instituída para remover a infecção micótica, a fim de facilitar a investigação do fator que está estimulando diretamente a ocorrência da otite (MORRIS, 1999).

As otites causadas por *Malassezia pachydermatis* são muito difíceis de controlar, com recorrências repetidas, requerendo tratamento antimicótico a longo termo (NAKANO et al., 2005). UCHIDA et al. (1994) salientaram que a terapia de otites por *Malassezia pachydermatis* pode ser extremamente frustrante, mesmo quando utilizada medicação tópica agressiva, pois essa levedura possui a característica peculiar de não responder ao tratamento com antimicóticos de uso corrente. GARCIA e BLANCO (2000) verificaram que em 86% das otites crônicas existe envolvimento leveduriforme, de forma isolada ou em associação com bactérias.

UCHIDA et al. (1994) observaram que o uso de unguentos otológicos com veículo de característica lipídica pode exacerbar ainda mais a infecção ao fornecer substrato lipídico para o crescimento da *Malassezia pachydermatis*. Esses autores obtiveram resultados satisfatórios no tratamento de otites por *Malassezia pachydermatis* (33 curas em 40 orelhas tratadas) utilizando solução não lipídica com piramicina a 1%, administrada duas vezes ao dia, durante duas semanas. Portanto, os autores sugeriram o uso de suspensão não lipídica sempre que a *Malassezia pachydermatis* esteja envolvida.

Há grande variação na literatura quanto ao melhor antifúngico para tratamento da malassezioze ótica. ROUGIER et al. (2005), na França, verificaram

que a sensibilidade *in vitro* da levedura *Malassezia pachydermatis* isolada de otites caninas é maior para a nistatina (84%), seguida pelo miconazol (77,4%) e clotrimazol (75,5%). No estudo de KISS et al. (1997a), a levedura *Malassezia pachydermatis* mostrou-se sensível aos seguintes antifúngicos, em ordem crescente de eficácia: nistatina, miconazol, clotrimazol, econazol e cetoconazol. NAKANO et al. (2005), no Japão, verificaram que as sensibilidades *in vitro* da *Malassezia pachydermatis* ao cetoconazol, à terbinafina e à nistatina foram semelhantes. EICHENBERG et al. (2003), no Rio Grande do Sul, obtiveram 100% de sensibilidade *in vitro* ao itraconazol, 97,6% ao fluconazol, e 96,3% ao cetoconazol.

NASCENTE et al. (2003) verificaram que a sensibilidade *in vitro* da *Malassezia pachydermatis* também pode variar conforme o método realizado no laboratório. Os autores avaliaram a sensibilidade desta levedura ao cetoconazol, fluconazol e itraconazol, através dos métodos Etest® e microdiluição em caldo. No primeiro método, Etest®, a levedura *Malassezia pachydermatis* foi mais sensível ao itraconazol, cetoconazol e fluconazol, em ordem decrescente. A microdiluição em caldo indicou o cetoconazol como o melhor antifúngico, seguido do fluconazol e do itraconazol. Para os autores, a discrepância entre os resultados mostrou a necessidade urgente de escolher um método padrão para avaliar a eficiência das drogas antifúngicas, o que também foi salientado por EICHENBERG et al. (2003).

NASCENTE et al. (2005) compararam a eficácia de dois produtos contra *Malassezia pachydermatis*, o primeiro com antifúngico cetoconazol na sua fórmula (**Aurivet®**), e o segundo com tiabendazol (**Otodem plus®**), sendo que ambos foram igualmente satisfatórios. LOBELL et al. (1995) verificaram que o tratamento tópico com clotrimazol a 1% provoca a eliminação da *Malassezia pachydermatis* em 10 dias.

GRIFFIN (1996) considera que a nistatina e o tiabendazol nem sempre apresentam respostas clínicas satisfatórias, embora ambos tenham boa eficácia *in*

vitro. Segundo o autor, clotrimazol ou miconazol a 1% geralmente mostram bons resultados, em especial em casos onde os outros antimicóticos falharam.

Muitas vezes o tratamento de otites por *Malassezia pachydermatis* pode requerer terapia sistêmica em combinação com a tópica, principalmente quando há suspeita de otite média (MORRIS, 1999), embora esta não seja comum (COLOMBINI et al. 2000). Para GRIFFIN (1996), os casos de otite média micótica devem receber terapia antifúngica sistêmica, escolhendo-se primeiramente o cetoconazol (10 mg/kg/24 horas). O uso do cetoconazol é contra-indicado em pacientes hepatopatas, porque requer extenso metabolismo pelo fígado, devendo ser substituído pelo itraconazol oral, apesar do custo alto (MORRIS, 1999).

PINCHBECK et al. (2002) compararam a eficácia da administração espaçada de itraconazol (5 mg/kg, VO, SID, por dois dias consecutivos na semana, durante três semanas) com a administração diária desse princípio ativo (5 mg/kg, VO, SID, durante 21 dias) para o tratamento da malasseziose cutânea e/ou ótica. A severidade da doença cutânea ou auricular diminuiu significativamente no dia 21, para ambos os tratamentos.

2.7.6. Tratamento da Inflamação Auricular

Em muitas otites externas a aplicação de glicocorticóides é benéfica, pelo seu efeito antipruriginoso e antiinflamatório, diminuindo a exsudação, o edema, a secreção glandular e, inclusive, as alterações proliferativas crônicas (ROSYCHUK, 1994). ROUGIER et al. (2005) enfatizam que os glicocorticóides tópicos quebram o ciclo vicioso composto pelo prurido inicial, que estimula o ato de coçar, resultando em aumento do prurido e da inflamação.

Inicialmente preconiza-se o uso tópico de um glicocorticóide potente, como a fluocinolona, a dexametasona ou a betametasona (GRIFFIN, 1996), substituído

posteriormente por droga menos potentes, como a prednisona ou a hidrocortisona para manutenção (NUTTAL e COLE, 2004).

Há a possibilidade de tratar otites alérgicas ou ceruminosas apenas com glicocorticóides (GRIFFIN, 1996). EMGARD e HELLSTROM (2001), compararam diferentes tratamentos tópicos para otite: betametasona, hidrocortisona, hidrocortisona associada à oxitetraciclina, e oxitetraciclina associada à polimicina. Segundo os autores, a resposta clínica melhor e mais rápida foi observada nos animais tratados com betametasona, sugerindo que o tratamento esteróide tópico sem antibiótico pode curar otite externa de forma eficiente.

Até o momento, muito pouco se sabe sobre o efeito dos glicocorticóides tópicos usados na terapia otológica sobre o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e sobre a função hepática. Produtos tópicos contendo acetato de triancinolona ou dexametasona têm absorção sistêmica, podendo causar supressão adrenocortical (ZENOBLEE e KEMPPAINEN, 1987; MORIELLO et al., 1988; GHUBASH et al., 2004). Por esse motivo, GRIFFIN (1996) recomenda que, caso esses medicamentos sejam usados por longos períodos, deve-se realizar intervalos de 48 horas ou mais entre as aplicações.

ZENOBLEE e KEMPPAINEN (1987) testaram três produtos contendo corticóide (triancinolona, betametasona e fluocinolona) aplicando-os topicamente em cães sadios, sendo observado que todos eles causaram supressão adrenocortical pronta e sustentada. A normalização de todos os índices relacionados à função adrenocortical só ocorreu após quatro semanas do término do tratamento.

MORIELLO et al. (1988) testaram quatro produtos otológicos comerciais contendo dexametasona ou triancinolona e observaram marcada supressão adrenocortical em todos os cães, refletida como baixa concentração de cortisol no soro, que se manteve por mais de vinte dias após o término do tratamento.

GHUBASH et al. (2004) verificaram que cães com orelhas sadias recebendo medicação tópica com dexametasona podem apresentar supressão na função adrenal por até duas semanas do término do tratamento, sendo que o mesmo não ocorre quando o glicocorticóide utilizado é a betametasona. Os autores supõem que essa supressão provocada pela dexametasona pode ser ainda maior em cães com otite externa.

ABRAHAM (2005) realizou um experimento com dez cães da raça Beagle, que receberam duas vezes ao dia doses terapêuticas de dexametasona no canal auditivo externo (0.6 mg/orelha), durante vinte e um dias. O autor verificou que a dexametasona foi suficientemente absorvida a partir do canal auditivo a ponto de provocar supressão no eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, bem como alterar os sistemas de metabolismo e hematopoiese. Portanto, esses efeitos adversos devem ser considerados no tratamento a longo termo da otite. Além disso, as alterações nas enzimas hepáticas não devem ser interpretadas como hepatopatia quando se estiver realizando terapia otológica com produto à base de dexametasona.

2.7.7. Tratamento de Fatores Predisponentes, Primários e Perpetuadores

Alguns clínicos adotam a medida de manter as orelhas erguidas artificialmente com o propósito de estabelecer um microambiente local menos úmido (ROUGIER et al., 2005).

O tratamento da dor pode prevenir o desenvolvimento de otohematoma, que consiste no acúmulo de sangue entre a cartilagem da orelha e a pele, muitas vezes causado pelo fato do animal balançar excessivamente a cabeça devido à otite. Muitos produtos comerciais contêm pequena concentração de anestésico local, como procaína ou lidocaína, para amenizar a dor.

DMSO tópico tem efeito antiinflamatório e analgésico, além de facilitar a secagem da orelha. Tem moderada atividade antibacteriana e antifúngica, embora facilite a absorção de antibióticos e corticóides. A combinação de DMSO com

fluocinolona é considerada um potente antiinflamatório, sendo indicada principalmente para casos severos de otite alérgica e proliferativa (ROSYCHUK, 1994).

O uso de acaricida é essencial para o combate do ácaro *Otodectes cynotis*, sendo mais comumente utilizado o tiabendazol (**Otodem Plus[®]**) e o diazinon (**Natalene[®]**), ambas drogas com efeito residual limitado, requerendo aplicação regular por no mínimo 10 dias até se completar o ciclo, uma vez que o produto não atinge os ovos, atuando apenas nas larvas e ácaros adultos (CURTIS, 2004).

A administração diária de solução de ivermectina a 1% pode ser uma opção de tratamento (HUANG e LIEN, 2000), bem como a administração única de duas gotas de fipronil 10% (CURTIS, 2004).

2.7.8. Produtos Otológicos Disponíveis no Mercado

A formulação completa dos produtos otológicos para cães registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) consta nos Apêndices (APÊNDICE). A seguir, as TABELA 2 e 3 listam os produtos otológicos veterinários à base de gentamicina e neomicina, respectivamente. A TABELA 4 lista os produtos otológicos à base de outros antibacterianos.

TABELA 2: PRODUTOS OTOLÓGICOS VETERINÁRIOS À BASE DE GENTAMICINA

NOME COMERCIAL	FABRICANTE	ANTIFÚNGICO	ANTINFLAMATÓRIO
Aurivet	Vetnil	Clotrimazol	Betametasona
Oto Sana	Mundo Animal	Cetoconazol	Betametasona
Otocanis Max	Provet	Clotrimazol	Betametasona
Otogen	Ouro Fino	Miconazol	Betametasona
Otomax	Schering-plough	Clotrimazol	Betametasona

FONTE: o autor

TABELA 3: PRODUTOS OTOLÓGICOS VETERINÁRIOS À BASE DE NEOMICINA

NOME COMERCIAL	FABRICANTE	ANTIFÚNGICO	ANTINFLAMATÓRIO	OUTROS PRINCÍPIOS
Natalene	Virbac	Pimaricina	Dexametasona	Diazinon
Otodem Plus	Vetbrands	Tiabendazol	Dexametasona	Lidocaína
Otospan	Duprat	Ausente	Hidrocortisona	Polimixina B
Ototron	Jofadel	Ausente	Dexametasona	Ausente
Panolog Pomada	Novartis	Nistatina	Ausente	Tiostrepton
Previn Solução Otológica	Coveli	Nistatina	Dexametasona	Polimixina B e Benzocaína

FONTE: o autor

TABELA 4: PRODUTOS OTOLÓGICOS VETERINÁRIOS À BASE DE ANTIMICROBIANOS DIVERSOS

NOME COMERCIAL	FABRICANTE	ANTIMICROBIANO	ANTI-FÚNGICO	ANTINFLAMATÓRIO	OUTROS PRINCÍPIOS
Otocanis	Provet	Sulfonamida	Ausente	Ausente	Ausente
Otolin	Uzinas	Sulfonamida	Ausente	Ausente	Procaína
Otoguard	Cepav	Tobramicina	Cetoconazol	Dexametasona	Lidocaína
Otoneodex	Uzinas	Enrofloxacina	Clotrimazol	Dexametasona	Ausente
DM-gel	Vetnil	Dimetilsulfóxido	Ausente	Prednisolona	Lidocaína

FONTE: o autor

3. MATERIAL E MÉTODOS

Durante o período de 20 meses (entre setembro de 2004 e maio de 2006) foram enviadas 86 amostras de otite externa para o Laboratório de Microbiologia da UFPR, provenientes de cães atendidos no Hospital Veterinário da UFPR. Entre janeiro e dezembro de 2005, foram enviadas 255 amostras de otite canina externa para o Laboratório Veterinária Preventiva. Portanto, os dados obtidos são referentes ao total de 341 amostras de otite canina externa.

3.1. BASE FÍSICA DA INVESTIGAÇÃO CLÍNICO-LABORATORIAL

A investigação clínico-laboratorial teve como base os cultivos microbianos obtidos e os testes de sensibilidade realizados a partir de amostras da secreção auricular de cães com sinais clínicos de otite, sendo os procedimentos microbiológicos realizados de forma padronizada por dois laboratórios distintos, ambos sob supervisão do Professor Co-orientador, especializado em Microbiologia Veterinária, sendo eles:

1) Laboratório de Microbiologia do Curso de Medicina Veterinária da UFPR, onde foram cultivadas as amostras provenientes do Hospital Veterinário da Universidade Federal do Paraná;

2) Laboratório Veterinária Preventiva, onde foram cultivadas as amostras de secreção auricular provenientes de clínicas veterinárias particulares.

3.2. CRITÉRIOS TÉCNICOS PARA INCLUSÃO DAS AMOSTRAS

Os critérios para inclusão da amostra otológica na investigação clínico-laboratorial foram:

- amostras de secreção otológica de paciente canino, acompanhadas de dados referentes à idade, sexo e raça do cão, encaminhadas para cultura bacteriana e/ou micológica, provenientes do Hospital Veterinário da UFPR e de estabelecimentos veterinários enviadas ao Laboratório Veterinária Preventiva.

Foram desconsiderados fatores como: cronicidade da doença, medicações prévias ou em andamento, doenças dermatológicas ou sistêmicas concomitantes, otite média, bem como número de amostras por animal.

3.3. COLHEITA DAS AMOSTRAS

As amostras de secreção auricular foram colhidas com auxílio de *swab* estéril, o qual foi enviado ao laboratório logo após a colheita, ou imerso em meio de transporte de *Stuart*, mantido em temperatura ambiente ou refrigeração, e enviado ao laboratório em até 24 horas a partir do momento da colheita.

As colheitas realizadas pelos clínicos veterinários do Hospital Veterinário da UFPR foram procedidas no ambulatório, sem sedação, introduzindo-se um *swab* estéril dentro do canal auditivo vertical, com o cuidado de não contaminá-lo através do contato com o pavilhão externo (MONTIANI-FERREIRA, 1997).

Não foi possível estabelecer com detalhes os métodos de colheita dos médicos veterinários nas clínicas particulares, mas pressupõe-se que foram seguidos os critérios microbiológicos assimilados durante a formação profissional, como colheita sem contaminação e envio do material o mais rapidamente possível (MONTIANI-FERREIRA, 1997).

3.4. CITOLOGIA, CULTURA BACTERIANA E MICOLÓGICA

Os esfregaços das amostras de secreção auricular foram realizados em lâminas limpas e desengorduradas, sendo fixados pelo calor e coradas pelo método de Gram (BIER, 1978).

A seguir, os *swabs* contendo as secreções otológicas foram semeados em meio de Ágar Sangue de carneiro a 5%, Ágar Sabouraud com Mycosel[®] e Caldo BHI. As placas de Ágar Sangue e Caldo BHI foram incubadas em aerobiose a 37°C durante 24-72 horas. As placas de Ágar Sabouraud foram incubadas em aerobiose a 28 °C durante sete dias (APÊNDICE).

Colônias obtidas na superfície dos meios de Ágar Sangue e Ágar Sabouraud foram submetidas à coloração de Gram. As colônias bacterianas isoladas com significado patogênico foram repicadas em Ágar Sangue para obtenção de cultura pura e realização de antibiograma contendo os principais antibióticos preconizados para a terapêutica das otites caninas.

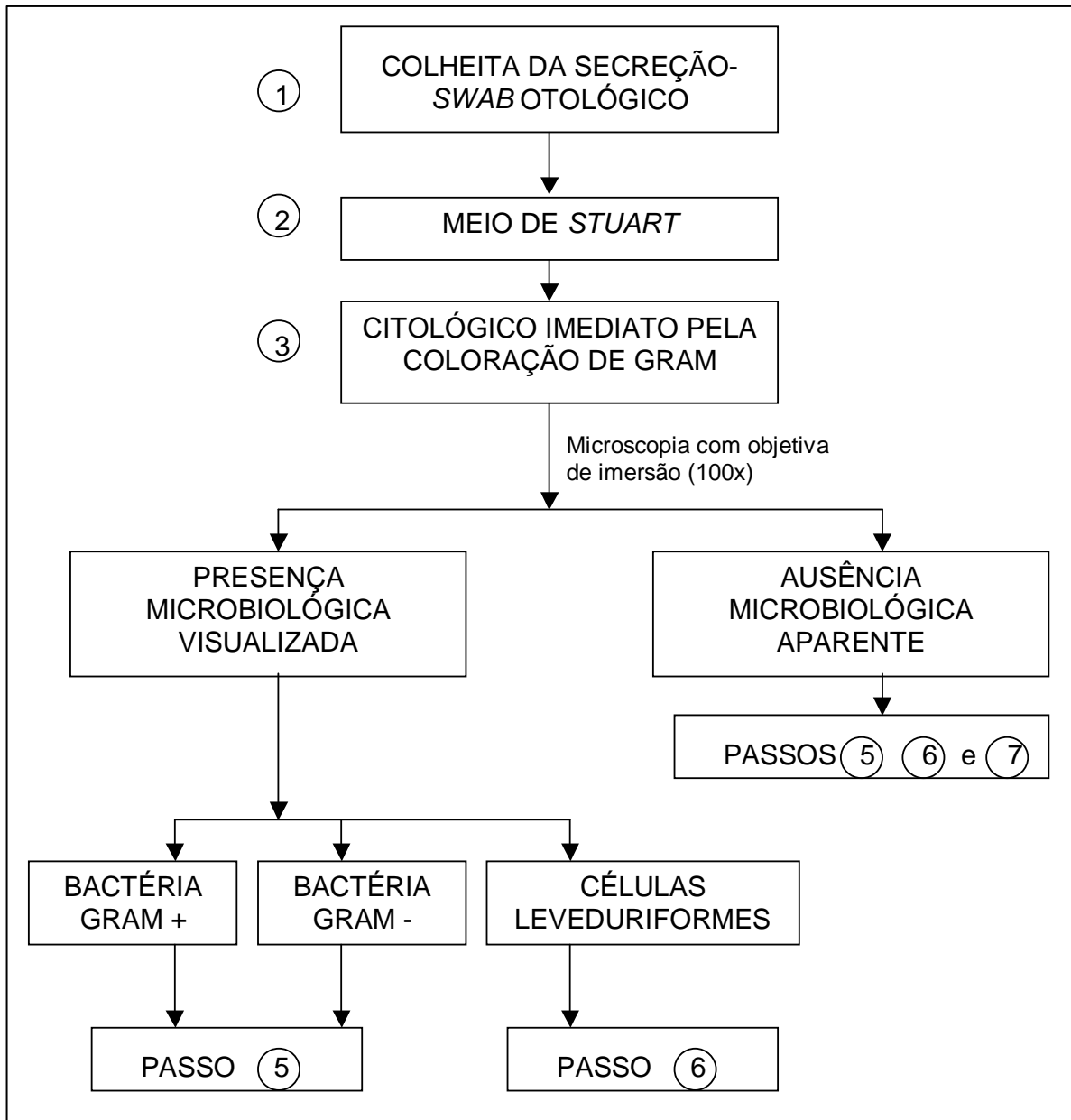
Em caso de ausência de crescimento bacteriano no plaqueamento direto, uma segunda tentativa de isolamento bacteriano foi feita a partir do Caldo BHI.

As cepas bacterianas consideradas patogênicas foram isoladas e estocadas em Ágar Lignières a temperatura ambiente para posteriores estudos se necessários (BIER, 1978).

As placas de Ágar Sabouraud foram examinadas diariamente até sete dias após a semeadura, com objetivo de obter colônias de *Malassezia pachydermatis* ou de outra levedura presente.

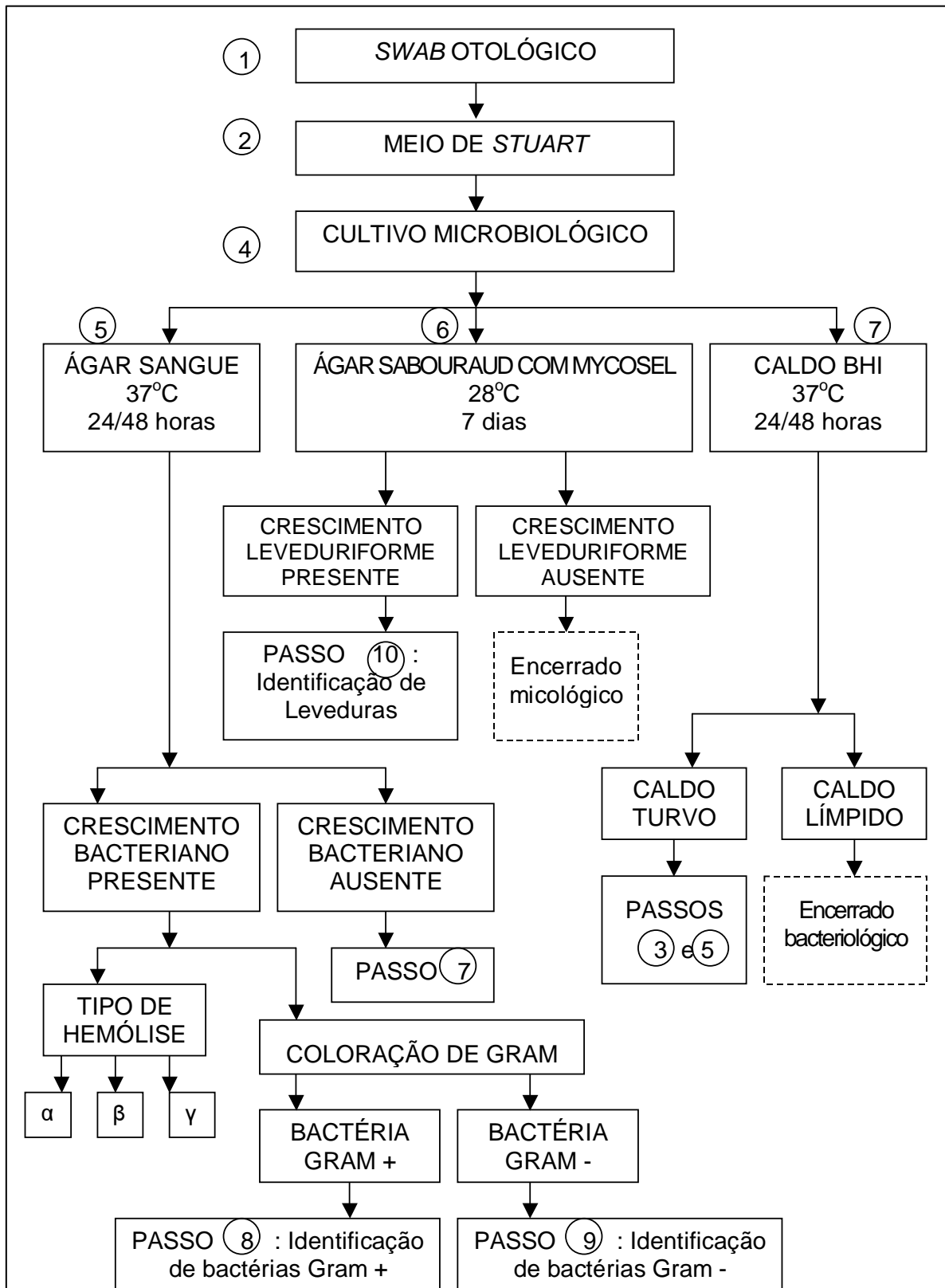
Os procedimentos de citologia e cultura microbiológica seguiram os algoritmos apresentados nas FIGURAS 1 e 2, respectivamente, a seguir apresentados.

FIGURA 1 - ALGORÍTIMO DA CITOLOGIA



FONTE: QUINN et al., 2005 (adaptado).

FIGURA 2 - ALGORÍTIMO DO CULTIVO MICROBIOLÓGICO



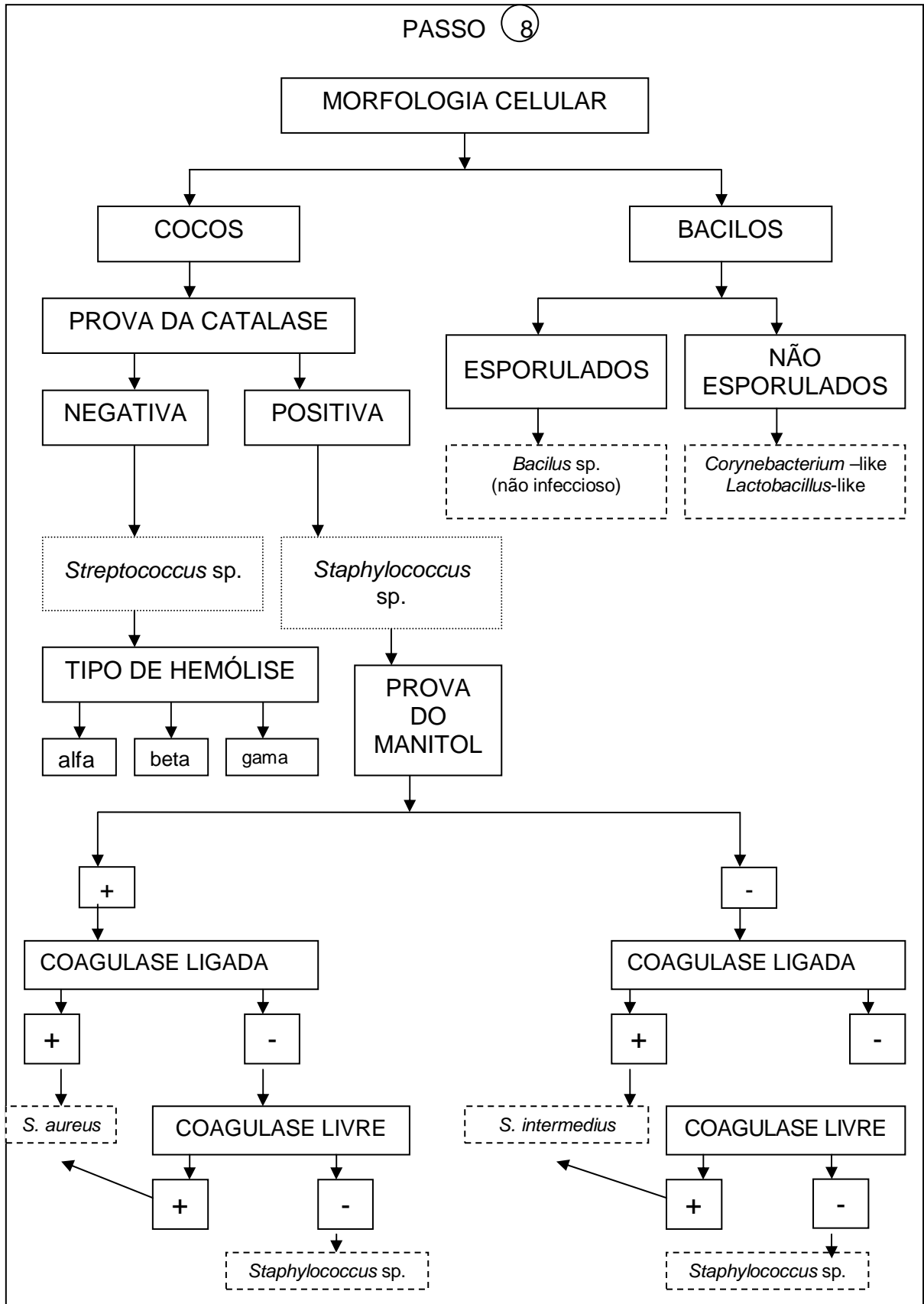
FONTE: QUINN et al., 2005 (adaptado).

3.4. IDENTIFICAÇÃO BACTERIANA E LEVEDURIFORME

A identificação microbiológica do gênero e/ou da espécie bacteriana Gram positiva ou Gram negativa seguiu o passos descritos nas FIGURAS 3 e 4, respectivamente.

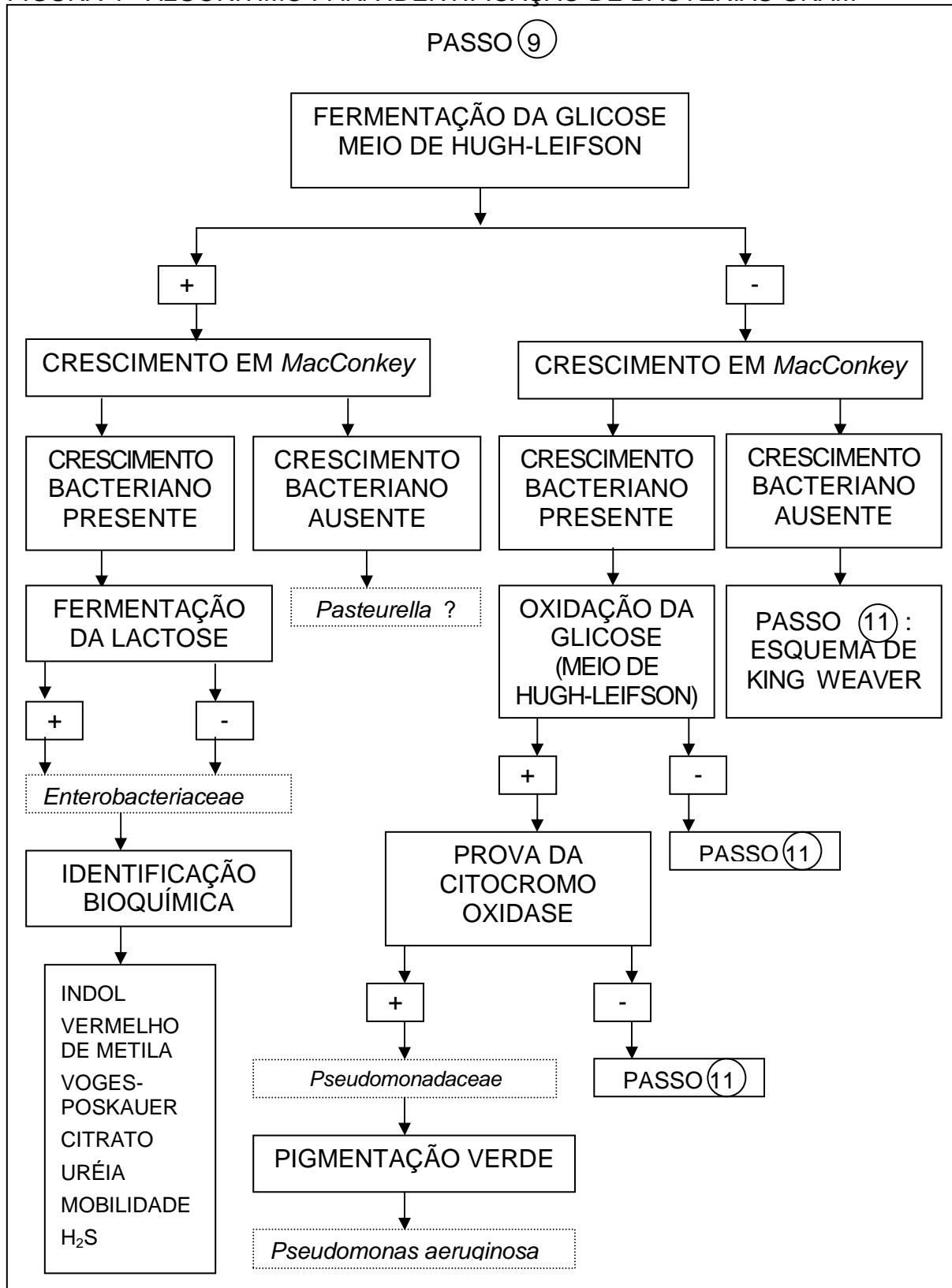
A identificação microbiológica do gênero e/ou da espécie de levedura seguiu o passos descritos na FIGURA 5.

FIGURA 3 - ALGORÍTIMO PARA IDENTIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS GRAM +



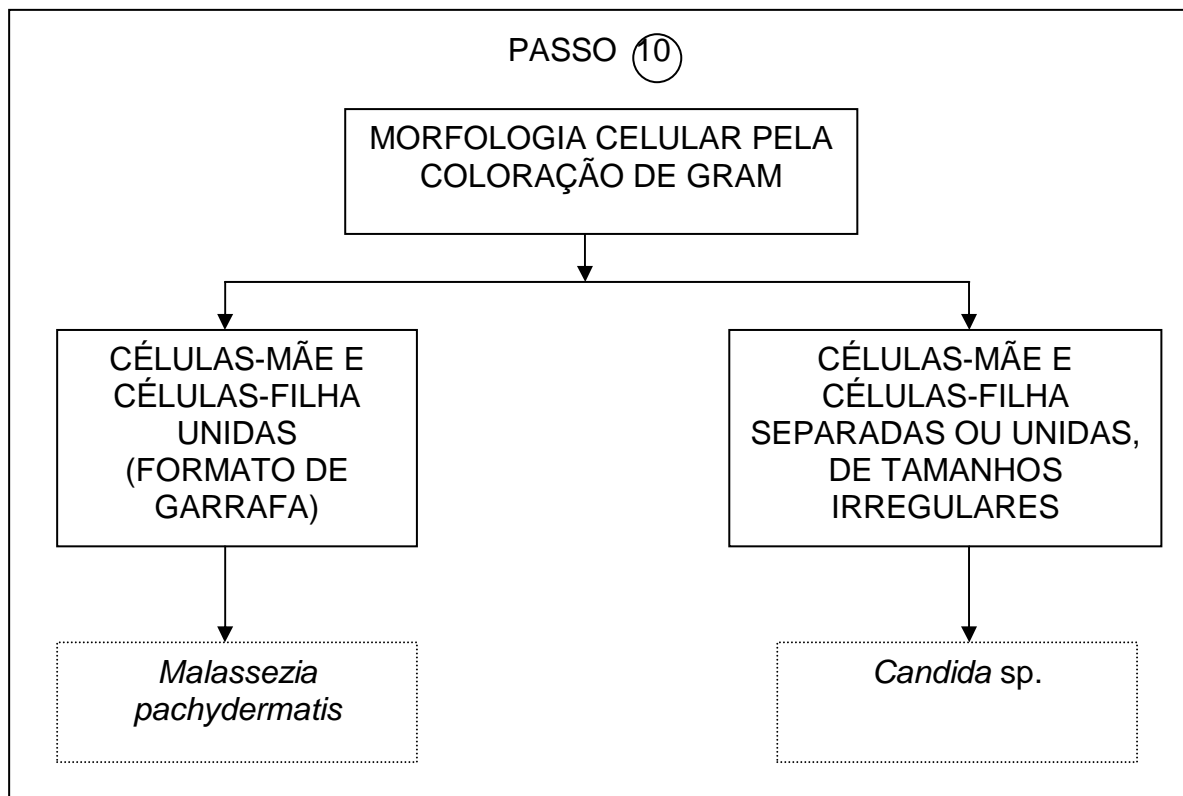
FONTE: QUINN et al., 2005 (adaptado).

FIGURA 4 - ALGORÍTIMO PARA IDENTIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS GRAM -



FONTE: QUINN et al., 2005 (adaptado).

FIGURA 5 - ALGORÍTIMO PARA IDENTIFICAÇÃO DE LEVEDURAS



FONTE: QUINN et al., 2005 (adaptado).

3.5. TESTE DE SENSIBILIDADE BACTERIANA

Para realização dos testes de sensibilidade *in vitro*, utilizou-se o método de difusão em disco único (BAUER et al., 1966), testando-se vinte e três antimicrobianos:

- Beta-lactâmicos: penicilina (10 u.i.), ampicilina (10 µg), amoxicilina (10 µg), amoxicilina com ácido clavulânico (20/10 µg), cefalexina (30 µg), ceftiofur (10 µg) e imipenem (10 µg);
- Aminoglicosídeos: neomicina (30µg), amicacina (30 µg), gentamicina (10 µg), tobramicina (10 µg) e estreptomicina (15 µg);
- Macrolídeos: eritromicina (15 mg) e azitromicina (10 µg);
- Quinolonas: enrofloxacina (10 µg), ciprofloxacina (5 µg), norfloxacina (10 µg) e levofloxacina (10 µg);

- Outras classes: tetraciclina (30 µg), cloranfenicol, sulfa com trimetoprim (25 µg), nitrofurantoína (10 µg) e lincomicina (2 µg).

3.6. EPIDEMIOLOGIA DA OTITE EM CÃES

Os dados epidemiológicos observados nesta investigação referentes a sexo, faixa etária e raça do cão foram avaliados conforme:

1) Sexo: verificou-se a proporção de casos de otite em cães machos ou fêmeas, submetendo-se esses valores à análise estatística.

2) Faixa etária: os animais foram classificados em quatro faixas etárias:

- grupo 'A': até um ano de idade;
- grupo 'B': acima de um ano até cinco anos;
- grupo 'C': acima de cinco até dez anos;
- grupo 'D': acima de 10 anos.

3) Raça: os animais foram classificados com relação à raça, submetendo os valores obtidos à análise estatística.

3.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA DA EFICÁCIA *IN VITRO* DAS DROGAS ANTIMICROBIANAS

Os resultados obtidos de sensibilidade *in vitro* aos antimicrobianos foram comparados pelo teste do χ^2 (qui-quadrado), indicado para avaliar a associação existente entre variáveis qualitativas. O princípio básico deste método não paramétrico é comparar as divergências entre as frequências observadas e as esperadas (ALTMAN, 1991). Portanto o objetivo da realização desse teste foi verificar se os resultados obtidos diferem estatisticamente entre si.

O χ^2 é calculado pela fórmula:

$$\chi^2 = \sum \frac{(O - E)^2}{E}$$

onde:

O = frequência observada

E = frequência esperada

Observa-se que $(O - E)$ é a diferença entre a frequência observada e a esperada, que deverá ser calculada para cada célula da tabela. Quando as frequências observadas são muito próximas às esperadas, o valor $(O - E)$ é pequeno; no entanto, quando as discrepâncias são grandes, $(O - E)$ passa a ser grande e, conseqüentemente, o χ^2 assume valores altos.

Adotaram-se duas hipóteses:

- Hipótese nula: as frequências observadas são iguais às frequências esperadas. Não há associação entre os grupos, ou seja, antibiótico "1" é estatisticamente igual ao antibiótico "2".
- Hipótese alternativa: as frequências observadas são diferentes das frequências esperadas. Há associação entre os grupos: antibiótico "1" difere estatisticamente do antibiótico "2".

Considerou-se como diferença estatística significativa quando o valor de P foi abaixo de 0,05 ($P \leq 0,05$).

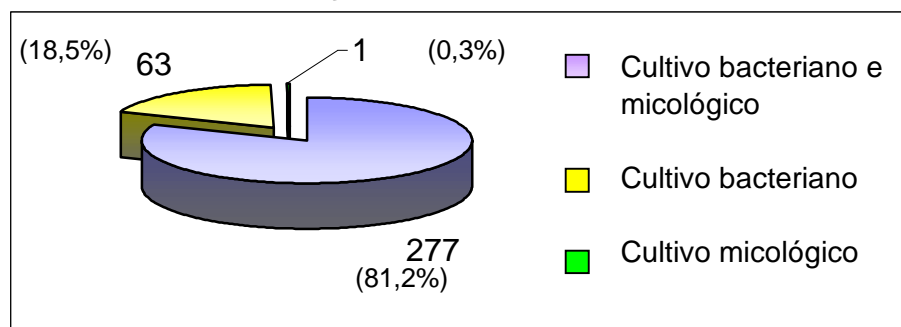
A análise estatística auxiliou na determinação dos antimicrobianos com eficácia semelhante para o grupo total de bactérias, bem como separando-as em Gram-negativas e Gram-positivas.

4. RESULTADOS

4.1. TOTAIS DE AMOSTRAS DE SECREÇÃO AURICULAR ANALISADAS SEGUNDO SOLICITAÇÃO TÉCNICA DE ENCAMINHAMENTO

Foram analisadas 341 amostras de *swabs* contendo secreções auriculares colhidas de animais com sinais clínicos de otite. Destas, 277 (81,2%) foram submetidas ao cultivo bacteriológico e micológico, 63 (18,5%) somente ao cultivo bacteriano e uma amostra (0,3%) apenas ao cultivo leveduriforme.

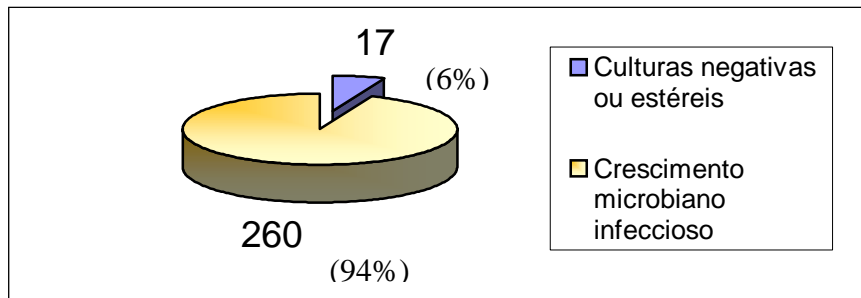
GRÁFICO 1 – ENCAMINHAMENTO DOS SWABS CONTENDO AMOSTRAS DA SECREÇÃO AURICULAR DE CÃES COM OTITE EXTERNA



4.2. RESULTADO MICROBIOLÓGICO DAS AMOSTRAS DE SECREÇÃO AURICULAR SUBMETIDAS SIMULTANEAMENTE À CULTURA BACTERIANA E MICOLÓGICA

Das 277 amostras encaminhadas para ambos os cultivos (bacteriano e leveduriforme), 260 (94%) resultaram em crescimento microbiano, enquanto 17 (6%) resultaram negativas, isto é, não apresentaram crescimento de leveduras ou de bactérias, mostrando-se estéreis ao cultivo empregado.

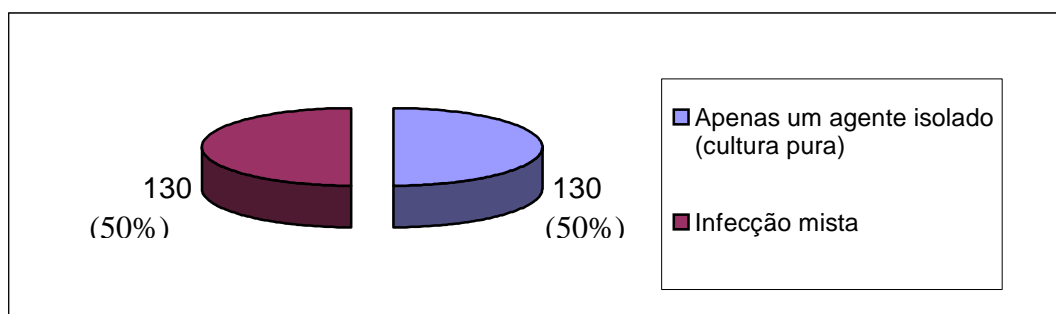
GRÁFICO 2 – CRESCIMENTO MICROBIANO DAS AMOSTRAS SUBMETIDAS SIMULTANEAMENTE À CULTURA BACTERIANA E MICOLÓGICA



4.3. OBTENÇÃO DE CULTIVOS ÚNICOS OU MISTOS ENTRE AS AMOSTRAS POSITIVAS SUBMETIDAS À CULTURA BACTERIANA E MICOLÓGICA

Das 260 amostras de secreção otológica enviadas simultaneamente para cultura bacteriana e micológica e que resultaram em cultivos positivos, 130 (50%) apresentaram apenas um agente infeccioso envolvido (levedura ou bactéria), enquanto as 130 amostras restantes (50%) resultaram em mais de um agente infeccioso (associação de leveduras com bactérias, ou de bactérias distintas), sendo classificadas como infecções polimicrobianas.

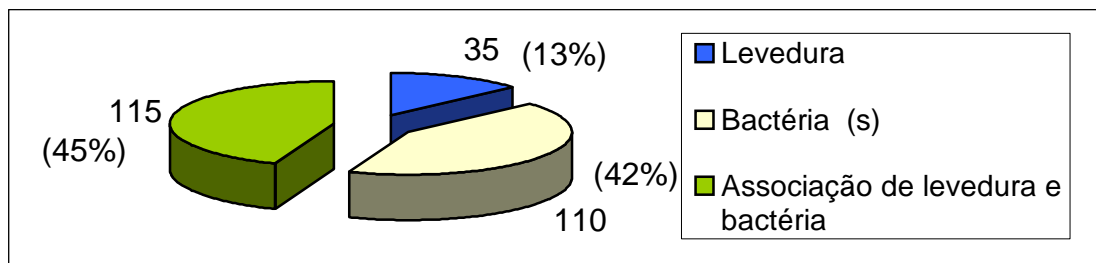
GRÁFICO 3 – OBTENÇÃO DE CULTIVOS ÚNICOS OU MISTOS ENTRE AS AMOSTRAS POSITIVAS SUBMETIDAS À CULTURA BACTERIANA E MICOLÓGICA



4.4. MICRORGANISMOS ISOLADOS ENTRE AS AMOSTRAS POSITIVAS SUBMETIDAS À CULTURA BACTERIANA E MICOLÓGICA

Do total de 260 cultivos positivos obtidos a partir das amostras submetidas ao cultivo bacteriano e micológico simultaneamente, 115 (45%) apresentaram associação de levedura e bactéria, enquanto 110 (42%) resultaram apenas em cultivo bacteriano (sem envolvimento de levedura) e 35 (13%) em cultivo leveduriforme único (sem envolvimento de bactéria), como mostra o GRÁFICO 4.

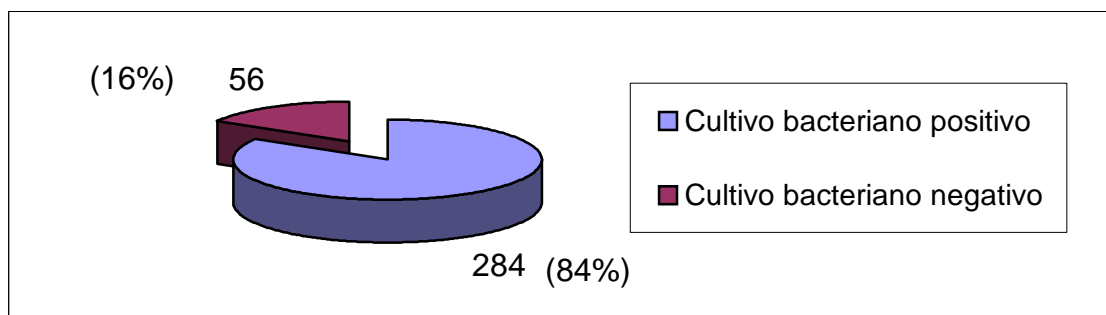
GRÁFICO 4 – MICRORGANISMOS ISOLADOS A PARTIR DAS AMOSTRAS DE OTITE CANINA SUBMETIDAS SIMULTANEAMENTE À CULTURA BACTERIANA E MICOLÓGICA



4.5. RESULTADO MICROBIOLÓGICO DO TOTAL DE AMOSTRAS DE SECREÇÃO AURICULAR SUBMETIDAS À CULTURA BACTERIANA

Do total de 340 amostras submetidas à cultura bacteriana, 284 (84%) apresentaram crescimento bacteriano, enquanto que 56 (16%) resultaram em cultivos bacterianos negativos (GRÁFICO 5).

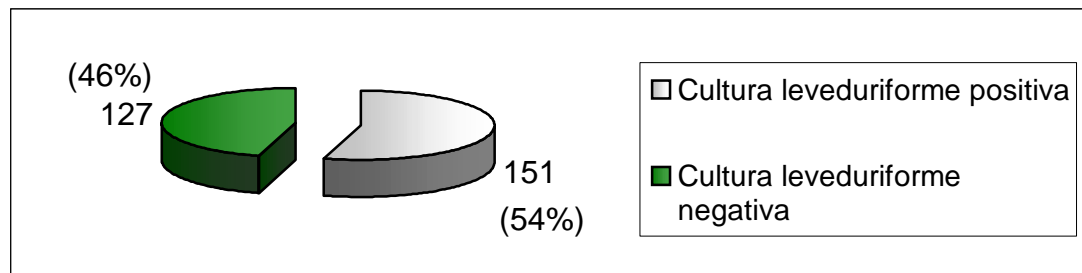
GRÁFICO 5 – RESULTADOS QUANTITATIVOS DAS AMOSTRAS DE OTITE CANINA SUBMETIDAS À CULTURA BACTERIANA



4.6. RESULTADO MICROBIOLÓGICO DO TOTAL DE AMOSTRAS DE SECREÇÃO AURICULAR SUBMETIDAS À CULTURA MICOLÓGICA

Do total de 278 amostras submetidas ao cultivo micológico 151 (54%) apresentaram crescimento leveduriforme, enquanto que 127 (46%) resultaram em cultivos negativos (GRÁFICO 6).

GRÁFICO 6 – RESULTADOS QUANTITATIVOS DAS AMOSTRAS DE OTITE CANINA SUBMETIDAS À CULTURA MICOLÓGICA



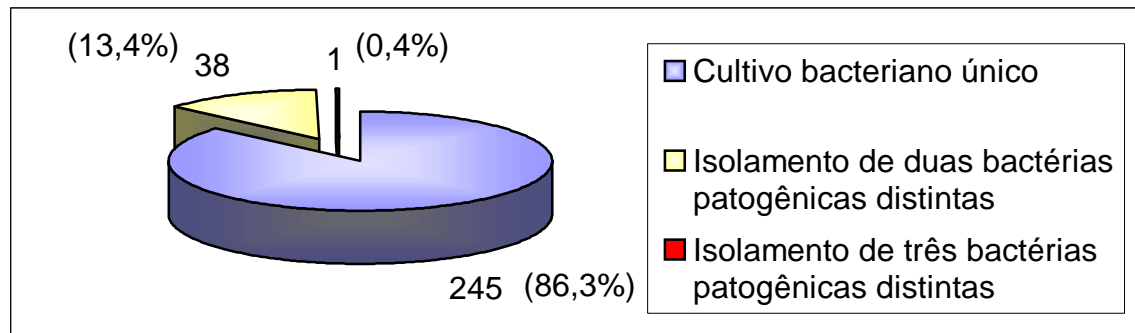
4.7. PREVALÊNCIA DE INFECÇÕES BACTERIANAS ÚNICAS E MÚLTIPLAS NAS AMOSTRAS DE SECREÇÃO AURICULAR SUBMETIDAS À CULTURA BACTERIANA

De um total de 284 amostras auriculares que resultaram em cultivos bacterianos positivos foram obtidas 324 cepas. A maioria destas amostras (245, ou 86%) resultou em cultivo bacteriano único (uma espécie somente), obtendo-se 245 cepas. O isolamento de duas espécies bacterianas a partir de uma amostra ocorreu em 38 cultivos, obtendo-se 76 cepas. Uma amostra resultou no isolamento de três espécies distintas. A TABELA 5 e o GRÁFICO 7, a seguir, explicitam esses valores.

TABELA 5 – RESULTADOS TOTAIS DAS CULTURAS BACTERIANAS SEGUNDO O ISOLAMENTO DE UMA OU MAIS BACTÉRIAS A PARTIR DE CADA AMOSTRA DE SWAB OTOLÓGICO

ISOLAMENTO	TOTAL DE AMOSTRAS	%	TOTAL DE CEPAS BACTERIANAS
Uma bactéria patogênica	245	86,2%	245
Duas bactérias patogênicas distintas	38	13,4%	76
Três bactérias patogênicas distintas	1	0,4%	3
TOTAL	284	100	324

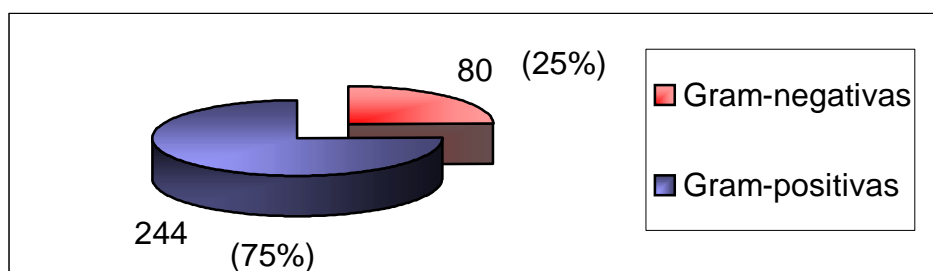
GRÁFICO 7 – RESULTADOS TOTAIS DAS CULTURAS BACTERIANAS SEGUNDO O ISOLAMENTO DE UMA OU MAIS BACTÉRIAS A PARTIR DE CADA AMOSTRA DE SWAB OTOLÓGICO



4.8. PREVALÊNCIA BACTERIANA GRAM-POSITIVA E GRAM-NEGATIVA NAS AMOSTRAS DE SECREÇÃO AURICULAR SUBMETIDAS À CULTURA BACTERIOLÓGICA

Dentre as 324 cepas bacterianas obtidas observou-se predominância de bactérias Gram-positivas (244 cultivos ou 75%) em relação às Gram-negativas (80 cultivos ou 25%), como mostra o GRÁFICO 8.

GRÁFICO 8 – PREVALÊNCIA BACTERIANA QUANTO AO TIPO DE PAREDE CELULAR



4.9. PREVALÊNCIA BACTERIANA ESPECÍFICA NAS AMOSTRAS DE SECREÇÃO AURICULAR SUBMETIDAS À CULTURA BACTERIANA

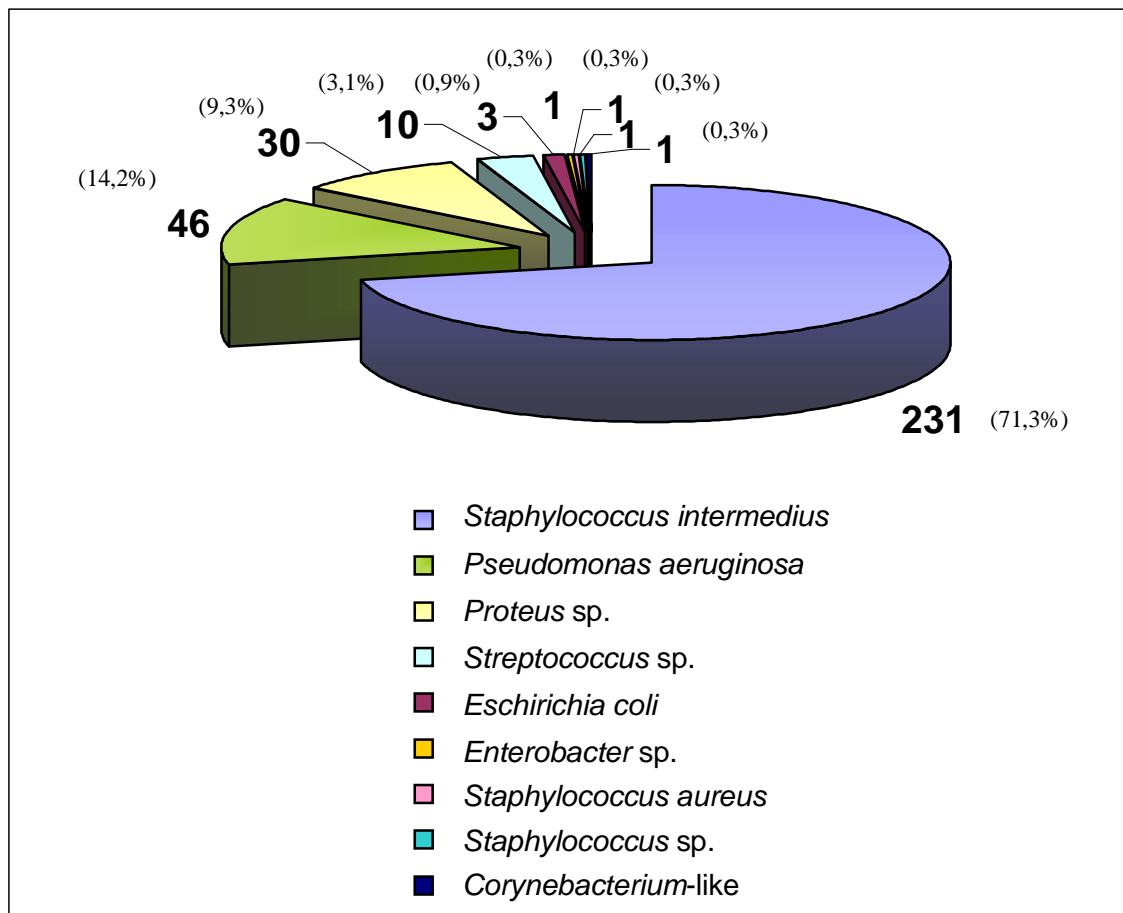
Dentre as 324 cepas isoladas, a espécie bacteriana mais prevalente foi *Staphylococcus intermedius* (71,3%), seguida por *Pseudomonas aeruginosa*

(14,2%), *Proteus* sp. (9,3%), *Streptococcus* sp. (3,1%), *Corynebacterium*-like (0,3%), *Enterobacter* sp. (0,3%), *Staphylococcus* sp. (0,3%) e *Staphylococcus aureus* (0,3%), como mostram a TABELA 6 e o GRÁFICO 9.

TABELA 6 - PREVALÊNCIA BACTERIANA ESPECÍFICA NAS AMOSTRAS DE SECREÇÃO AURICULAR SUBMETIDAS À CULTURA BACTERIANA

TOTAL DE CULTURAS BACTERIANAS	324	100%
<i>Staphylococcus intermedius</i>	231	71,3%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	46	14,2%
<i>Proteus</i> sp.	30	9,3%
<i>Streptococcus</i> sp.	10	3,1%
<i>Escherichia coli</i>	3	0,9%
<i>Corynebacterium</i> -like	1	0,3%
<i>Enterobacter</i> sp.	1	0,3%
<i>Staphylococcus</i> sp.	1	0,3%
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	0,3%

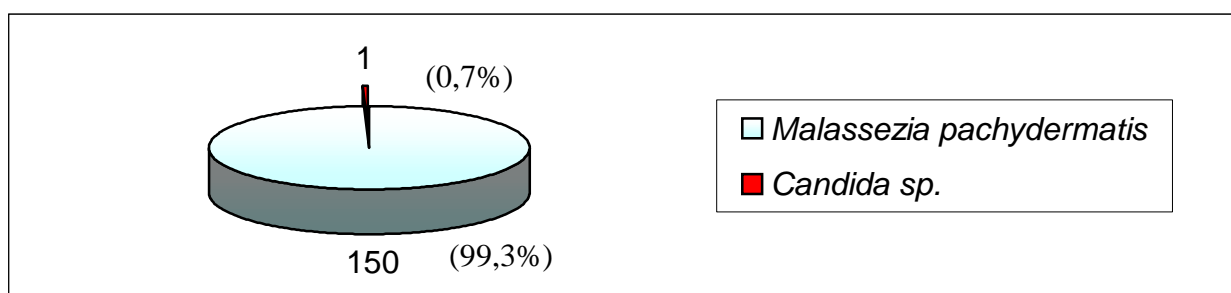
GRÁFICO 9 - PREVALÊNCIA BACTERIANA ESPECÍFICA NAS AMOSTRAS DE SECREÇÃO AURICULAR SUBMETIDAS À CULTURA BACTERIANA



4.10. PREVALÊNCIA LEVEDURIFORME ESPECÍFICA NAS AMOSTRAS DE SECREÇÃO AURICULAR SUBMETIDAS À CULTURA MICOLÓGICA

A espécie leveduriforme mais isolada foi *Malassezia pachydermatis*, perfazendo 150 dos 151 cultivos micológicos positivos (99,3%). *Candida* sp. foi segunda levedura (0,7%), isolada a partir de uma amostra auricular canina (GRÁFICO 10).

GRÁFICO 10 – PREVALÊNCIA LEVEDURIFORME ESPECÍFICA NAS AMOSTRAS DE SECREÇÃO AURICULAR SUBMETIDAS À CULTURA MICOLÓGICA



4.11. PREVALÊNCIA BACTERIANA ESPECÍFICA NAS AMOSTRAS DE SECREÇÃO AURICULAR QUE RESULTARAM EM CULTIVO BACTERIANO MISTO

A partir das amostras otológicas que resultaram no crescimento de duas ou mais bactérias distintas é possível verificar variação na prevalência bacteriana, como mostra a TABELA 7.

TABELA 7 - BACTÉRIAS ISOLADAS NOS CULTIVOS BACTERIANOS MÚLTIPLOS E NOS CULTIVOS ÚNICOS

GÊNERO OU ESPÉCIE	CULTIVO ÚNICO		CULTIVO MISTO	
	TOTAL	%	TOTAL	%
<i>Staphylococcus intermedius</i>	192 ^a	78,3	39 ^b	49
<i>Proteus</i> sp.	4 ^a	1,6	26 ^b	33
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	38	15,6	8	10
<i>Streptococcus</i> sp.	7	2,9	3	4
<i>Escherichia coli</i>	0 ^a	0	3 ^b	4
<i>Staphylococcus</i> sp.	2	0,8	0	0
<i>Enterobacter</i> sp.	1	0,4	0	0
<i>Corynebacterium</i> -like	1	0,4	0	0
TOTAL	244	100	79	100

NOTA: letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística significativa ($P \leq 0,05$)

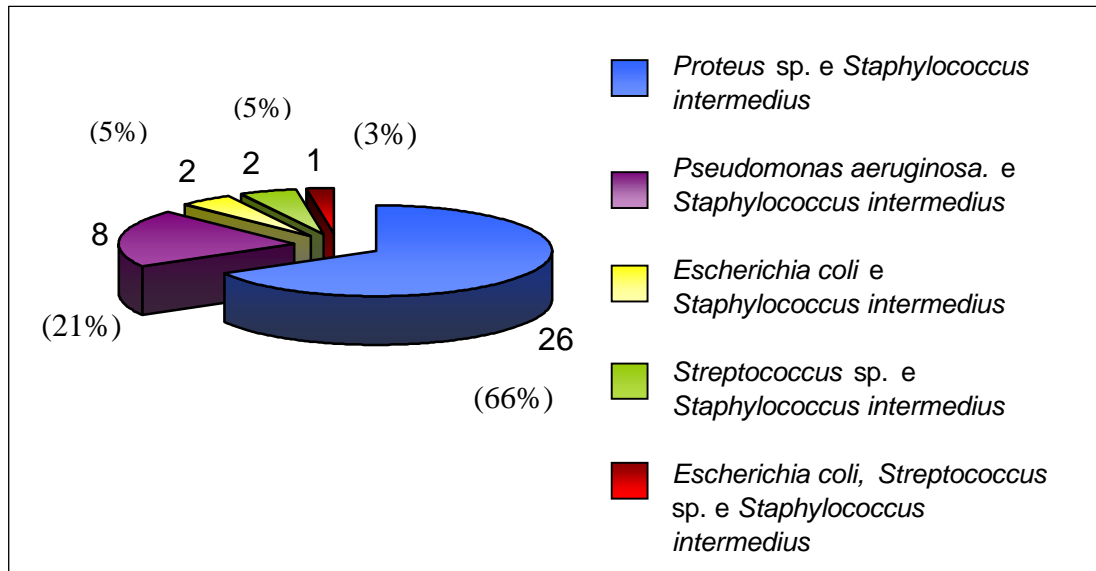
4.12. ASSOCIAÇÕES BACTERIANAS ESPECÍFICAS VERIFICADAS NAS INFECÇÕES BACTERIANAS MÚLTIPLAS

A seguir, o GRÁFICO 11 e a TABELA 8 apresentam as associações bacterianas que ocorreram quando houve isolamento de mais de uma bactéria a partir de uma amostra de *swab* otológico.

TABELA 8 – ASSOCIAÇÕES BACTERIANAS ESPECÍFICAS VERIFICADAS NAS INFECÇÕES BACTERIANAS MÚLTIPLAS

ASSOCIAÇÃO BACTERIANA	TOTAL	%
<i>Proteus</i> sp. e <i>Staphylococcus intermedius</i>	26	66
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Staphylococcus intermedius</i>	8	21
<i>Escherichia coli</i> e <i>Staphylococcus intermedius</i>	2	5
<i>Streptococcus</i> sp. e <i>Staphylococcus intermedius</i>	2	5
<i>Escherichia coli</i> , <i>Streptococcus</i> sp. e <i>Staphylococcus intermedius</i>	1	3
Total de culturas com mais de uma bactéria	39	100

GRÁFICO 11 – ASSOCIAÇÕES BACTERIANAS ESPECÍFICAS VERIFICADAS NAS INFECÇÕES BACTERIANAS MÚLTIPLAS



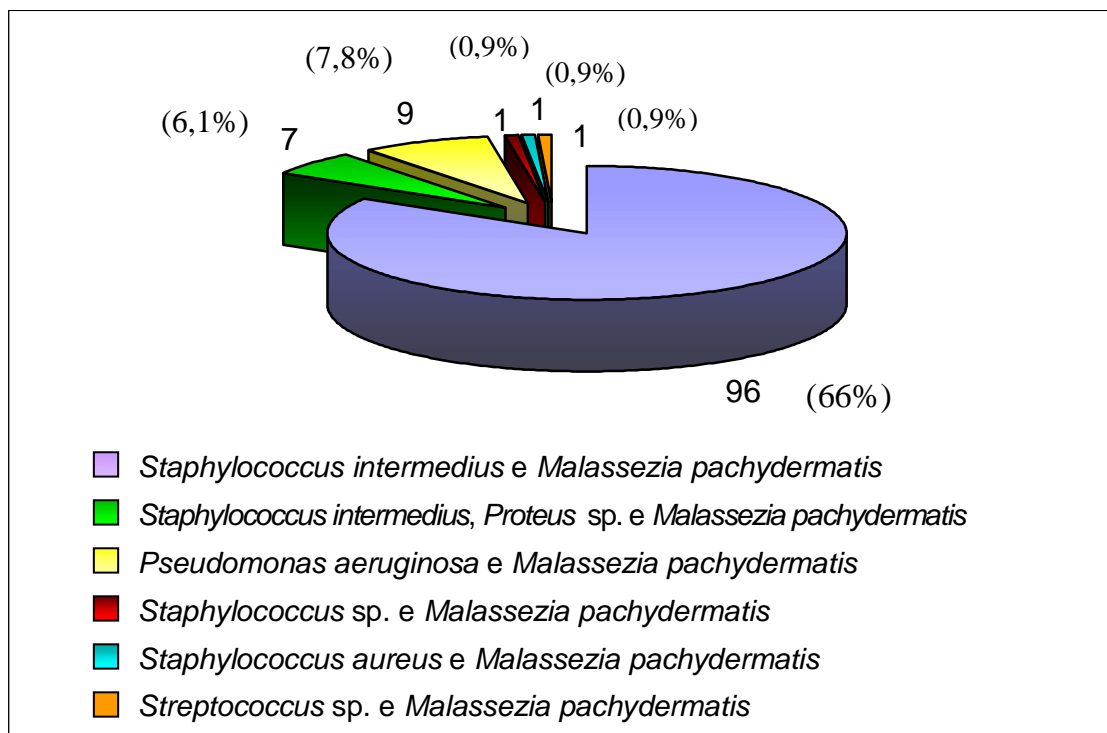
4.13. ASSOCIAÇÕES ENTRE BACTÉRIAS E LEVEDURAS VERIFICADAS NAS INFECÇÕES MISTAS

A TABELA 9 e o GRÁFICO 12 apresentam as associações entre leveduras e bactérias. A prevalência da bactéria *Pseudomonas aeruginosa* nos cultivos mistos (crescimento de levedura e bactéria) mostrou-se estatisticamente menor quando comparada com sua prevalência nos cultivos exclusivamente bacterianos.

TABELA 9 – ASSOCIAÇÕES ENTRE LEVEDURAS E BACTÉRIAS OBTIDAS A PARTIR DE AMOSTRA DE OTITE CANINA

ASSOCIAÇÃO ENTRE BACTÉRIA E LEVEDURA	TOTAL (115)	%
<i>Staphylococcus intermedius</i> e <i>Malassezia pachydermatis</i>	96	83,5
<i>S. intermedius</i> , <i>Proteus</i> sp.e <i>Malassezia pachydermatis</i>	7	6,1
<i>Pseudomonas</i> sp. e <i>Malassezia pachydermatis</i>	9	7,8
<i>Staphylococcus</i> sp. e <i>Malassezia pachydermatis</i>	1	0,9
<i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Malassezia pachydermatis</i>	1	0,9
<i>Streptococcus</i> sp. e <i>Malassezia pachydermatis</i>	1	0,9

GRÁFICO 12 – ASSOCIAÇÕES ENTRE LEVEDURAS E BACTÉRIAS OBTIDAS A PARTIR DE AMOSTRA DE OTITE CANINA



4.14. PADRÕES DE SENSIBILIDADE BACTERIANA *IN VITRO*

Neste levantamento 90,9% das cepas de *Staphylococcus* sp. isoladas foram resistentes *in vitro* a pelo menos um antimicrobiano, sendo que porcentagem igual foi obtida para bactérias do gênero *Streptococcus* sp. Do total de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas, 100% apresentaram resistência a pelo menos uma droga, mesma proporção observada nas demais espécies bacterianas isoladas.

A presente investigação pretendeu apresentar os resultados classificando as bactérias apenas de acordo com a estrutura da parede celular, ou seja, dividindo-as em Gram-positivas ou Gram-negativas, procedimento este que pode ser realizado no ambulatório rapidamente. Entretanto, a fim de permitir a comparação dos resultados encontrados nesta investigação com aqueles obtidos por outros autores, a serem discutidos na discussão, a TABELA 10, a seguir, apresenta os valores de sensibilidade *in vitro* das espécies *Staphylococcus intermedius* e *Pseudomonas aeruginosa*.

TABELA 10 - RELAÇÃO DA SENSIBILIDADE *IN VITRO* ÀS 23 DROGAS TESTADAS DAS BACTÉRIAS *Staphylococcus intermedius* E *Pseudomonas aeruginosa* ISOLADAS A PARTIR DE AMOSTRAS DE OTITE CANINA

Classe da Droga	Droga Testada	% de sensibilidade <i>Staphylococcus intermedius</i>	%de sensibilidade <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Beta-lactâmicos	Penicilina	28	2
	Ampicilina	40	2
	Amoxicilina	41	2
	Amoxicilina Clav.	89	0
	Cefalexina	76	2
	Ceftiofur	83	24
	Imipenem	93	65
Aminoglicosídeos	Neomicina	100	26
	Amicacina	76	69
	Gentamicina	74	65
	Tobramicina	66	70
	Estreptomina	40	22
Macrolídeos	Eritromicina	46	2
	Azitromicina	44	24
Quinolonas	Enrofloxacina	94	44
	Ciprofloxacina	82	87
	Norfloxacina	76	83
	Levofloxacina	83	76
Outras classes	Tetraciclina	37	6
	Cloranfenicol	70	13
	Sulfa Trimetoprim	37	5
	Nitrofurantoína	66	7
	Lincomicina	83	0

A TABELA 11 a seguir dispõe os antimicrobianos classificados quanto à sensibilidade bacteriana *in vitro*, para o grupo total de bactérias, mostrando quando a superioridade foi significativa ($P \leq 0,05$).

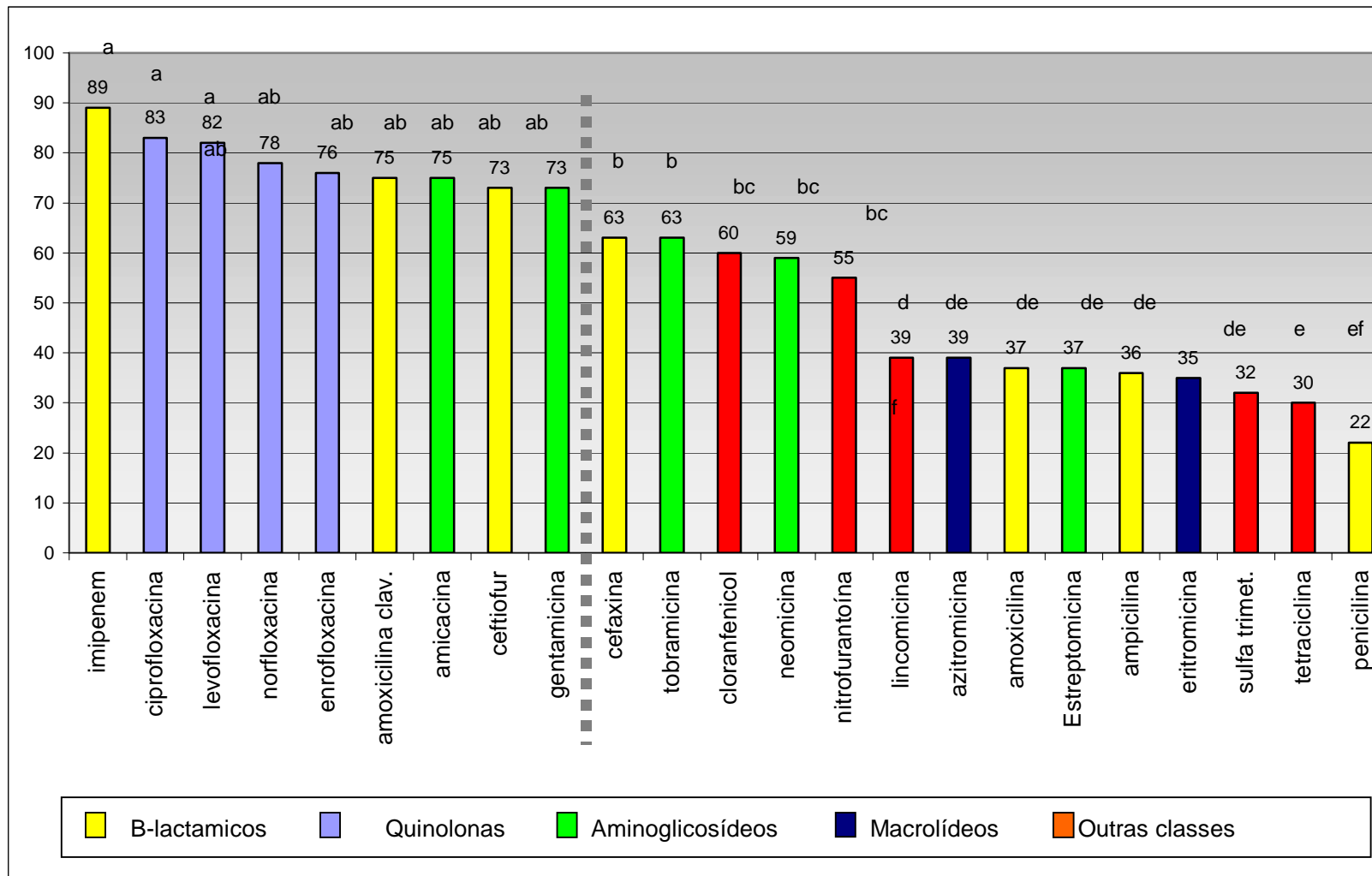
TABELA 11 - CLASSIFICAÇÃO DOS ANTIBIÓTICOS EM ORDEM DECRESCENTE DE EFICÁCIA *IN VITRO* COM RELAÇÃO AO GRUPO TOTAL DE CULTURAS BACTERIANAS OBTIDAS

DROGA	TOTAL	SENSÍVEIS	%	SIGNIFICÂNCIA
Imipenem	293	259	89	a
Ciprofloxacina	317	265	83	a
Levofloxacina	316	258	82	a
Norfloxacina	320	250	78	ab
Enrofloxacina	321	244	76	ab
Amoxicilina Clav.	319	214	75	ab
Amicacina	319	240	75	ab
Ceftiofur	244	178	73	ab
Gentamicina	323	236	73	ab
Cefaxina	323	204	63	b
Tobramicina	320	204	63	b
Cloranfenicol	320	193	60	bc
Neomicina	323	190	59	bc
Nitrofurantoína	321	175	55	bc
Lincomicina	310	122	39	d
Azitromicina	246	96	39	de
Amoxicilina	319	118	37	de
Estreptomicina	318	117	37	de
Ampicilina	324	118	36	de
Eritromicina	320	113	35	de
Sulfa Trimet.	321	175	32	e
Tetraciclina	322	98	30	ef
Penicilina	324	72	22	f

NOTA: letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística significativa ($P \leq 0,05$).

No GRÁFICO 13 são apresentadas as porcentagens de eficácia da ação '*in vitro*' de drogas antimicrobianas sobre cultivos de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas obtidas dos casos de otite canina externa. As nove primeiras drogas deste gráfico não apresentaram diferença estatística com relação à eficiência ($P \geq 0,05$).

GRÁFICO 13 – PORCENTAGENS DE SENSIBILIDADE 'IN VITRO' DE DROGAS ANTIMICROBIANAS SOBRE CULTIVOS DE BACTÉRIAS GRAM-POSITIVAS E GRAM-NEGATIVAS OBTIDAS A PARTIR DE AMOSTRAS DE OTITE CANINA



NOTA: letras diferentes indicam diferença estatística significativa ($P \leq 0,05$); o traçado em cinza separa as nove drogas que apresentaram mesma eficácia ($P \geq 0,05$).

As dez drogas cuja sensibilidade *in vitro* das bactérias Gram-negativas foi maior estão dispostas na TABELA 12, a seguir. Observa-se que as oito primeiras drogas obtiveram respostas estatisticamente similares ($P \geq 0,05$), sendo que quatro destas drogas são da classe das fluoroquinolonas, e três são drogas aminoglicosídeos.

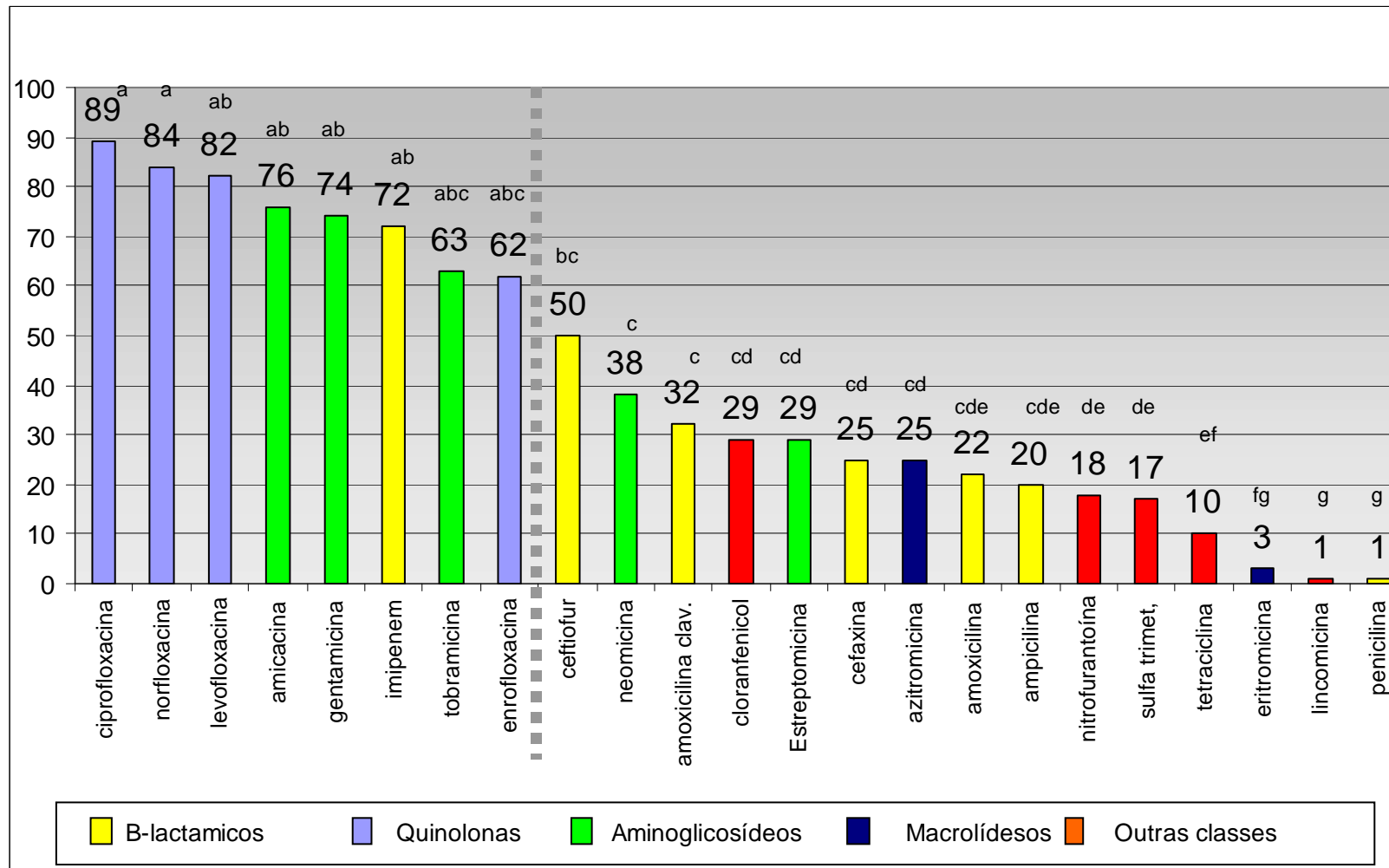
TABELA 12 - ANTIMICROBIANOS CLASSIFICADOS QUANTO À SENSIBILIDADE *IN VITRO* DAS BACTÉRIAS GRAM-NEGATIVAS.

Droga	Total testado	Sensíveis	%	Significância
Ciprofloxacina	78	70	89	a
Norfloxacina	79	67	84	a
Levofloxacina	78	64	82	ab
Amicacina	80	61	76	ab
Gentamicina	79	58	74	ab
Imipenem	72	52	72	ab
Tobramicina	80	51	63	abc
Enrofloxacina	79	49	62	abc
Ceftiofur	61	30	50	bc
Neomicina	80	30	38	c

NOTA: letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística significativa ($P \leq 0,05$)

O GRÁFICO 14 apresenta as porcentagens de sensibilidade *in vitro* das bactérias Gram-negativas às drogas antimicrobianas, distinguindo as classes através do uso de diferentes cores.

GRÁFICO 14 – PORCENTAGENS DE SENSIBILIDADE ‘IN VITRO’ DE DROGAS ANTIMICROBIANAS SOBRE CULTIVOS DE BACTÉRIAS GRAM-NEGATIVAS OBTIDAS A PARTIR DE AMOSTRAS DE OTITE CANINA



NOTA: letras diferentes indicam diferença estatística significativa ($P \leq 0,05$); o traçado em cinza separa as nove drogas que apresentaram mesma eficácia ($P \geq 0,05$).

A TABELA 13, a seguir, apresenta as quinze drogas de maior eficiência contra bactérias Gram-positivas, em ordem decrescente, sendo que as dez primeiras drogas não apresentaram diferenças significativas ($P \geq 0,05$).

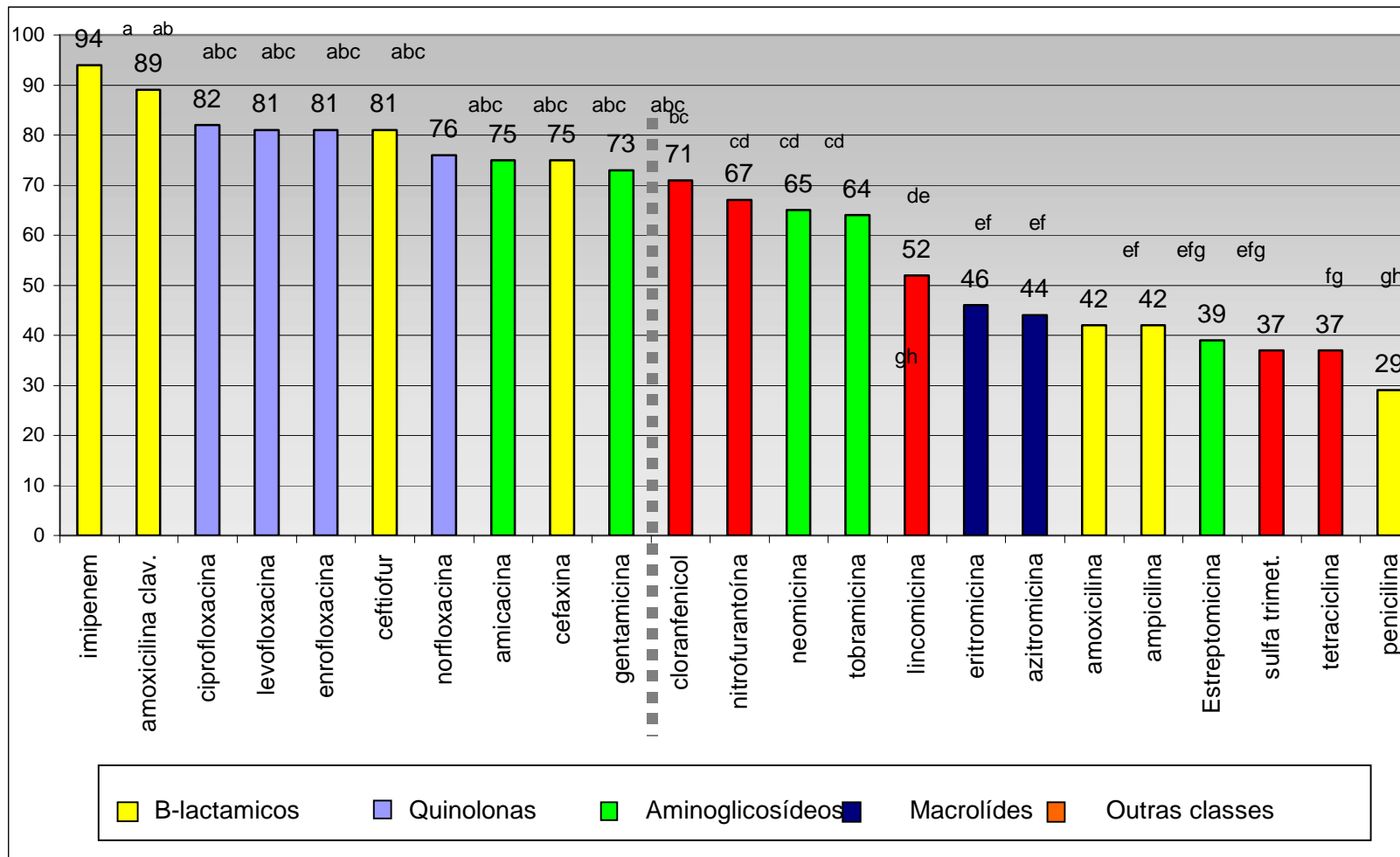
TABELA 13 - ANTIMICROBIANOS CLASSIFICADOS QUANTO À SENSIBILIDADE *IN VITRO* DAS BACTÉRIAS GRAM-POSITIVAS.

Droga	Total testado	Sensíveis	%	Significância
Imipenem	221	207	94	a
Amoxicilina Clav.	242	216	89	ab
Ciprofloxacina	239	195	82	abc
Levofloxacina	238	194	81	abc
Enrofloxacina	242	195	81	abc
Ceftiofur	183	148	81	abc
Norfloxacina	241	183	76	abc
Amicacina	239	179	75	abc
Cefaxina	244	184	75	abc
Gentamicina	244	178	73	abc
Cloranfenicol	240	170	71	bc
Nitrofurantoína	241	161	67	cd
Neomicina	243	160	65	cd
Tobramicina	240	153	64	cd
Lincomicina	232	121	52	d

NOTA: letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística significativa ($P \leq 0,05$).

O GRÁFICO 15 apresenta as porcentagens de sensibilidade *in vitro* das bactérias Gram-positivas às drogas antimicrobianas, distinguindo as classes através do uso de diferentes cores.

GRÁFICO 15 – PORCENTAGENS DE SENSIBILIDADE 'IN VITRO' DE DROGAS ANTIMICROBIANAS SOBRE CULTIVOS DE BACTÉRIAS GRAM-POSITIVAS OBTIDAS A PARTIR DE AMOSTRAS DE OTITE CANINA

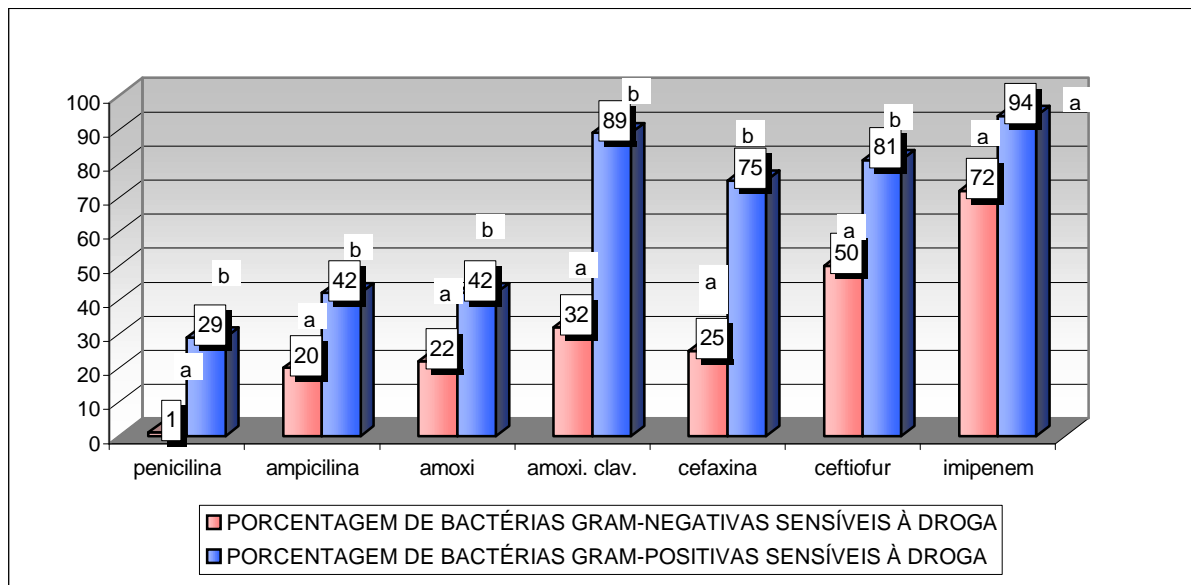


NOTA: letras diferentes indicam diferença estatística significativa ($P \leq 0,05$); o traçado em cinza separa as nove drogas que apresentaram mesma eficácia ($P \geq 0,05$).

4.15. COMPARAÇÃO ENTRE OS VALORES DE SENSIBILIDADE *IN VITRO* DAS BACTÉRIAS GRAM-POSITIVAS E GRAM-NEGATIVAS

O GRÁFICO 16 apresenta os percentuais de sensibilidade bacteriana *in vitro* aos seguintes beta-lactâmicos: penicilina, ampicilina, amoxicilina, amoxicilina com ácido clavulânico, cefalexina, ceftiofur e imipenem. O gráfico dispõe os valores referentes ao grupo de bactérias Gram-negativas e Gram-positivas. Para todas as drogas beta-lactâmicas testadas, as sensibilidades *in vitro* das bactérias Gram-positivas foram maiores que as apresentadas pelas bactérias Gram-negativas ($P \leq 0,05$), exceto para o imipenem, cuja eficácia foi semelhante.

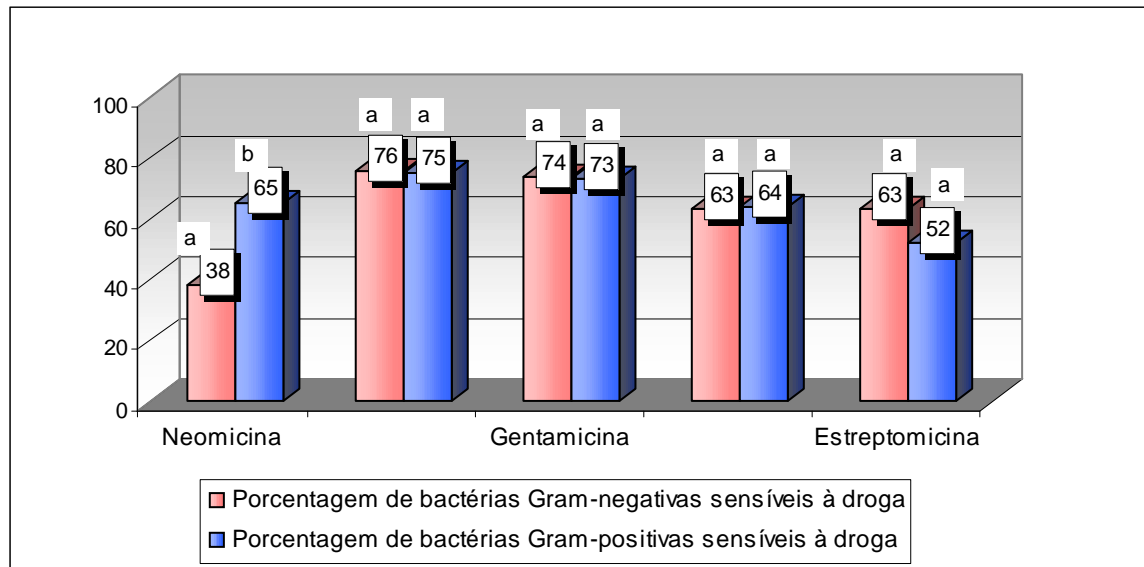
GRÁFICO 16 – PORCENTAGENS DE SENSIBILIDADE *IN VITRO* AOS BETA-LACTÂMICOS DAS BACTÉRIAS GRAM-NEGATIVAS E GRAM-POSITIVAS OBTIDAS A PARTIR DE AMOSTRAS DE OTITE CANINA



NOTA: letras diferentes indicam diferença estatística significativa ($P \leq 0,05$).

O GRÁFICO 17, a seguir, apresenta os percentuais de sensibilidade *in vitro* das bactérias Gram-negativas e Gram-positivas aos aminoglicosídeos neomicina, amicacina, tobramicina, gentamicina e estreptomina. Observou-se diferença estatística entre os dois grupos bacterianos somente para a droga neomicina ($P \leq 0,05$).

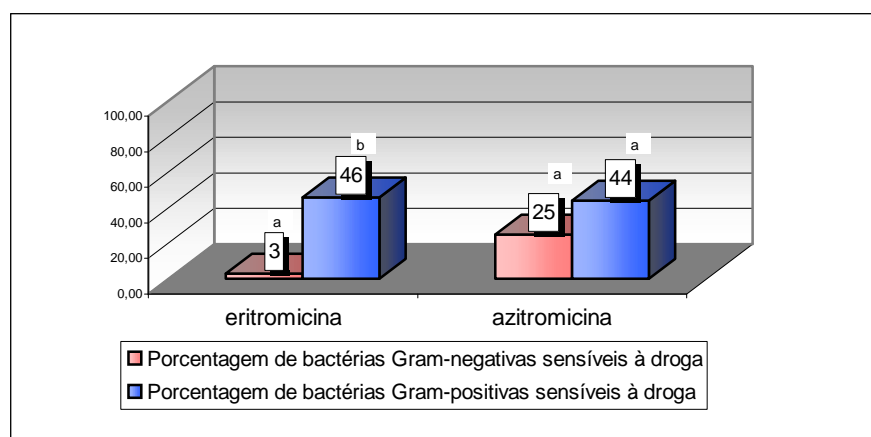
GRÁFICO 17 – PORCENTAGENS DE SENSIBILIDADE *IN VITRO* AOS AMINOGLICOSÍDEOS DAS BACTÉRIAS GRAM-NEGATIVAS E GRAM-POSITIVAS OBTIDAS A PARTIR DE AMOSTRAS DE OTITE CANINA



NOTA: letras diferentes indicam diferença estatística significativa ($P \leq 0,05$).

O GRÁFICO 18 a seguir apresenta os percentuais de sensibilidade *in vitro* das bactérias Gram-negativas e Gram-positivas às duas drogas da classe dos macrolídeos: eritromicina e azitromicina. As bactérias Gram-positivas demonstraram maior sensibilidade à eritromicina do que as bactérias Gram-negativas ($P \leq 0,05$).

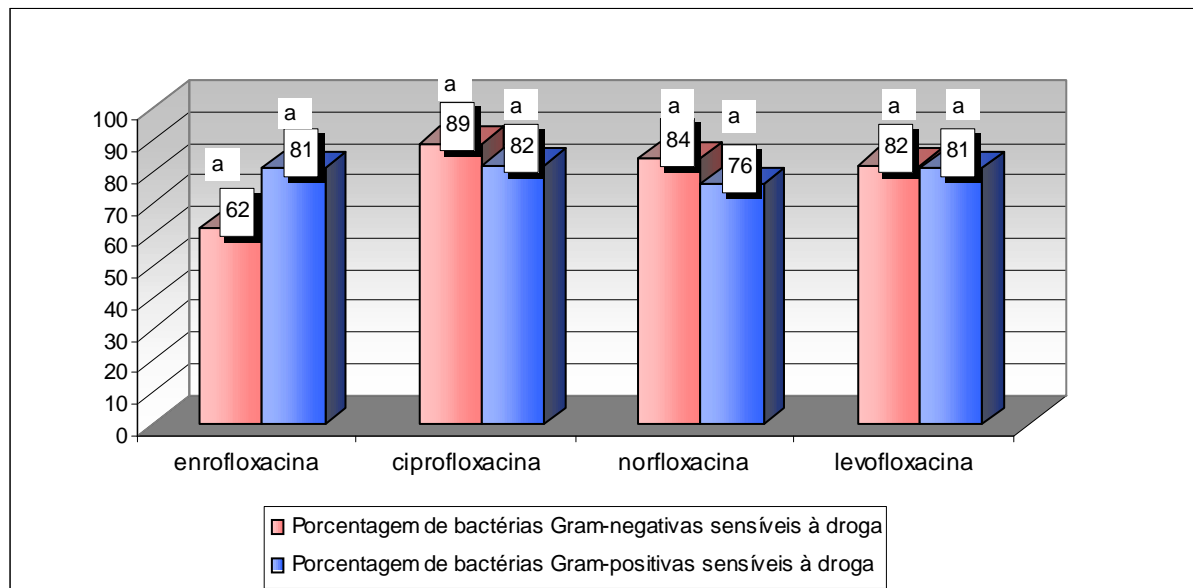
GRÁFICO 18 – PORCENTAGENS DE SENSIBILIDADE *IN VITRO* AOS MACROLÍDEOS DAS BACTÉRIAS GRAM-NEGATIVAS E GRAM-POSITIVAS OBTIDAS A PARTIR DE AMOSTRAS DE OTITE CANINA



NOTA: letras diferentes indicam diferença estatística significativa ($P \leq 0,05$).

O GRÁFICO 19 a seguir apresenta os percentuais de sensibilidade *in vitro* das bactérias Gram-negativas e Gram-positivas às seguintes quinolonas: enrofloxacina, ciprofloxacina, norfloxacina e levofloxacina. Nenhuma das drogas dessa classe apresentou diferença estatística ao se comparar a sensibilidades *in vitro* das bactérias Gram-negativas com as sensibilidades das Gram-positivas ($P \geq 0,05$).

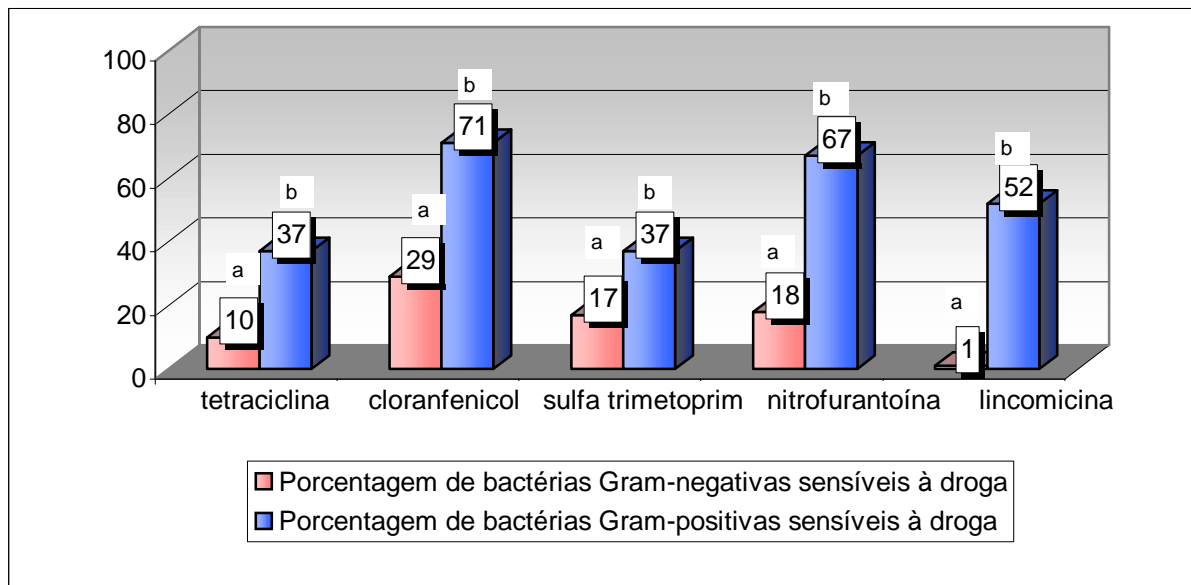
GRÁFICO 19 – PORCENTAGENS DE SENSIBILIDADE *IN VITRO* ÀS QUINOLONAS DAS BACTÉRIAS GRAM-NEGATIVAS E GRAM-POSITIVAS OBTIDAS A PARTIR DE AMOSTRAS DE OTITE CANINA



NOTA: letras diferentes indicam diferença estatística significativa ($P \leq 0,05$).

O GRÁFICO 20 apresenta os percentuais de sensibilidade *in vitro* das bactérias Gram-negativas e Gram-positivas às drogas pertencentes a outras classes, sendo elas: tetraciclina, cloranfenicol, sulfonamida com trimetoprim, nitrofurantoína e lincomicina. Todas estas drogas mostraram diferença significativa de sensibilidade ao se comparar bactérias Gram-negativas com Gram-positivas ($P \leq 0,05$).

GRÁFICO 20 – PORCENTAGENS DE SENSIBILIDADE *IN VITRO* A OUTRAS CLASSES DE ANTIMICROBIANOS DAS BACTÉRIAS GRAM-NEGATIVAS E GRAM-POSITIVAS OBTIDAS A PARTIR DE AMOSTRAS DE OTITE CANINA



NOTA: letras diferentes indicam diferença estatística significativa ($P \leq 0,05$).

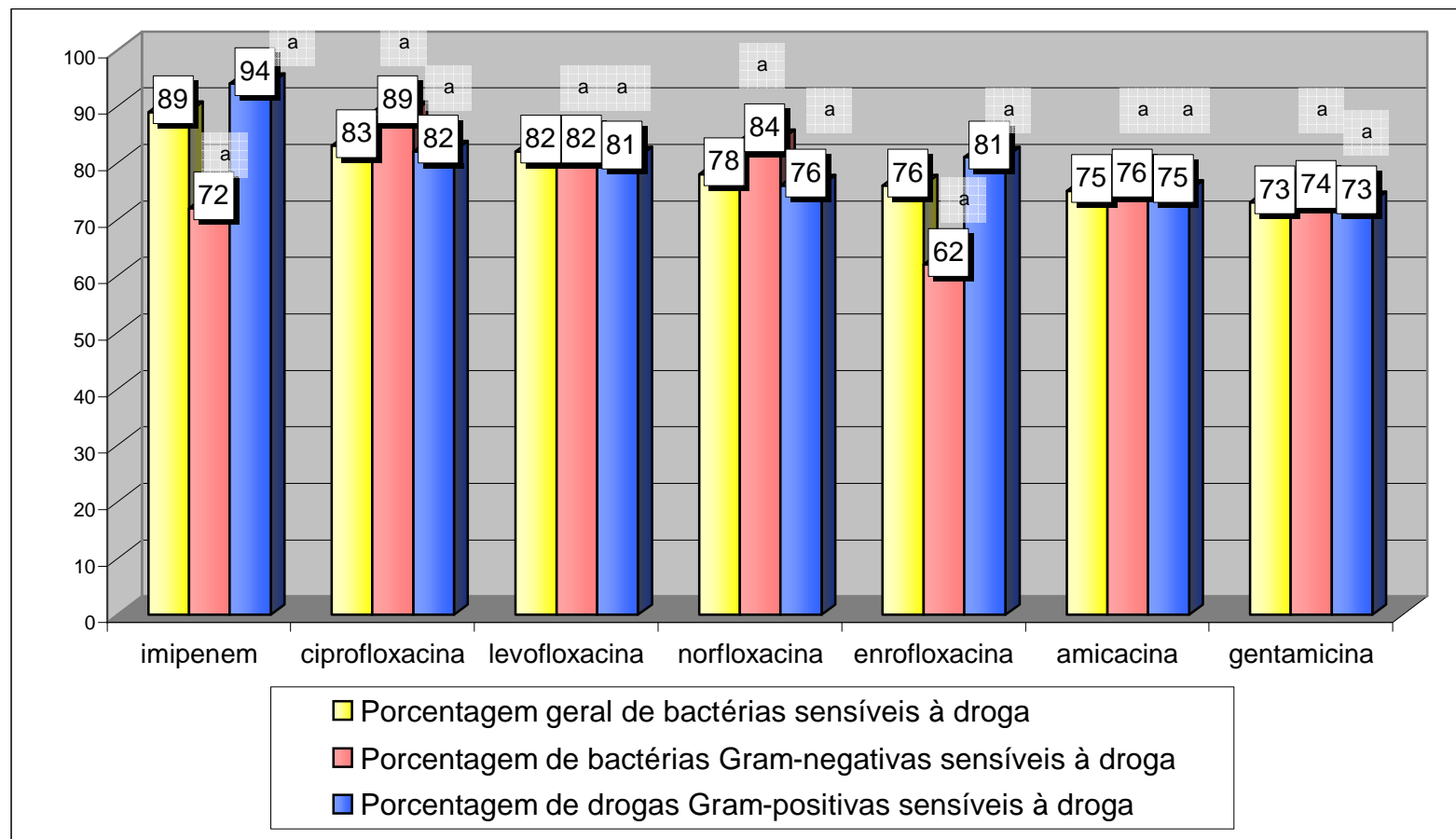
4.16. RELAÇÃO DOS ANTIMICROBIANOS COM MAIS DE 70% DE EFICÁCIA

O GRÁFICO 21 dispõe as porcentagens de sensibilidade *in vitro* obtida pelos sete agentes antimicrobianos que demonstraram eficiência maior que 70% para o grupo total de bactérias, além de figurarem entre os mais efetivos tanto para bactérias Gram-positivas como Gram-negativas, sendo eles:

- imipenem (da classe dos beta-lactâmicos);
- ciprofloxacina, levofloxacina, norfloxacina e enrofloxacina (pertencentes ao grupo das quinolonas);
- amicacina e gentamicina (da classe dos aminoglicosídeos).

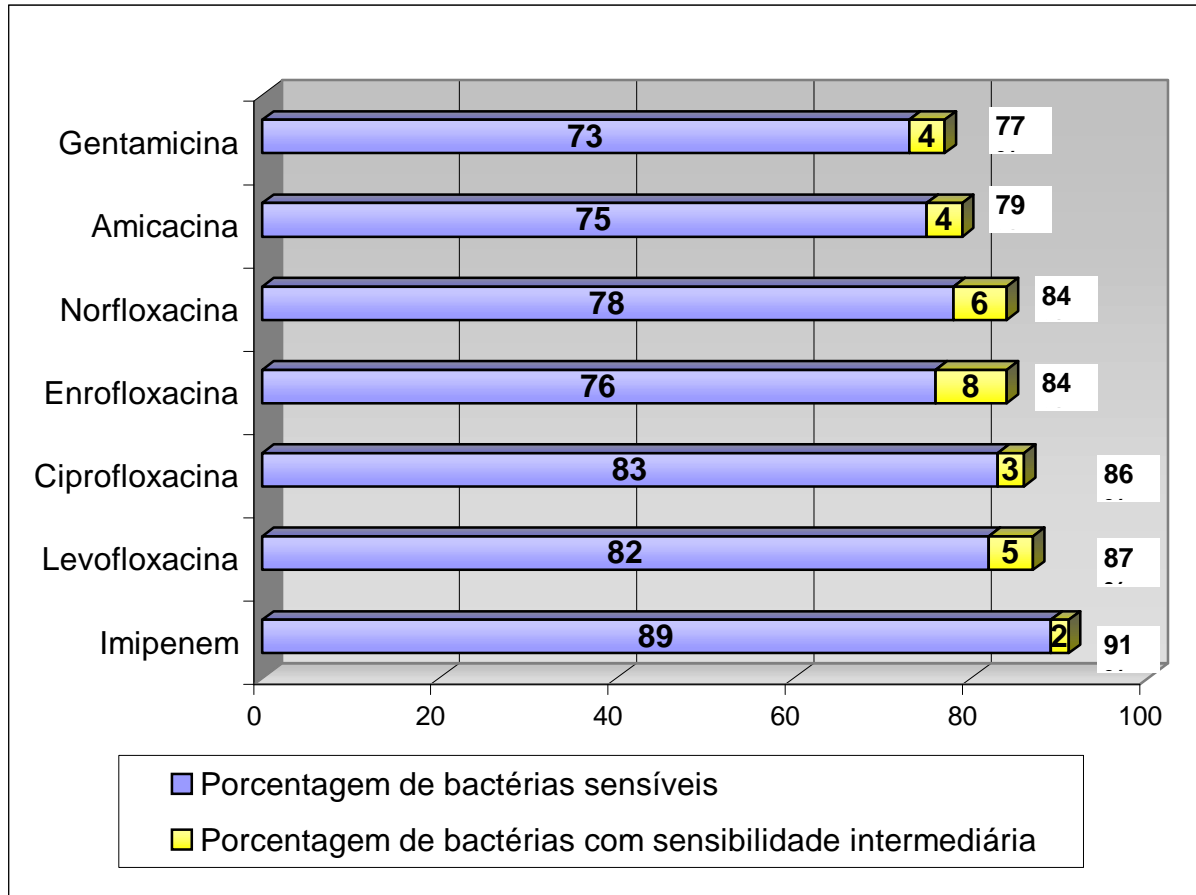
O GRÁFICO 22 apresenta esses mesmos antibacterianos, acrescentando-se seus índices de resposta intermediária à sensibilidade *in vitro*, de forma a explicitar o potencial dessas drogas.

GRÁFICO 21 – PORCENTAGENS DE SENSIBILIDADE ‘IN VITRO’ DOS SETE ANTIMICROBIANOS COM MAIS 70% DE EFICÁCIA GERAL E COM DESEMPENHO IGUALMENTE EFICAZ PARA BACTÉRIAS GRAM-NEGATIVAS E GRAM-POSITIVAS OBTIDAS A PARTIR DE AMOSTRAS DE OTITE CANINA



NOTA: letras semelhantes indicam que não há diferença estatística significativa ($P \geq 0,05$).

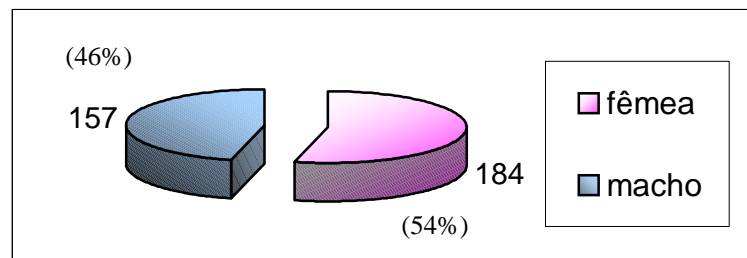
GRÁFICO 22 – ÍNDICES DE RESPOSTA INTERMEDIÁRIA E SENSIBILIDADE *IN VITRO* DOS SETE ANTIMICROBIANOS COM MAIS 70% DE EFICÁCIA GERAL E COM DESEMPENHO IGUALMENTE EFICAZ PARA BACTÉRIAS GRAM-NEGATIVAS E GRAM-POSITIVAS OBTIDAS A PARTIR DE AMOSTRAS DE OTITE CANINA



4.17. DISTRIBUIÇÃO DAS AMOSTRAS QUANTO AO SEXO

Quanto à prevalência de otite em cães machos ou fêmeas, não foi encontrada diferença significativa entre os sexos (qui-quadrado = 1,426), apesar de haver uma predominância maior de fêmeas com otite, como mostra o gráfico a seguir.

GRÁFICO 23 – DISTRIBUIÇÃO DAS AMOSTRAS DE OTITE CANINA QUANTO AO SEXO



4.18. DISTRIBUIÇÃO DAS AMOSTRAS QUANTO À FAIXA ETÁRIA

Do total de amostras enviadas (341), 37 delas não apresentavam as idades dos animais, havendo, portanto, 304 amostras com idade informada. O GRÁFICO 23 e a TABELA 14 apresentam a distribuição dos animais de acordo com a faixa etária.

Foi observada menor incidência de otite nos animais até um ano de idade (Grupo 'A'), bem como naqueles com mais de 10 anos de idade (Grupo 'D'). Observou-se que animais dos Grupos 'B' e 'C' (acima de um ano até cinco anos, e acima de cinco até dez anos, respectivamente) apresentaram maior número de casos de otite de forma significativa, não havendo, entretanto, diferença estatística entre eles.

GRÁFICO 24 – DISTRIBUIÇÃO DAS AMOSTRAS DE OTITE CANINA QUANTO À FAIXA ETÁRIA

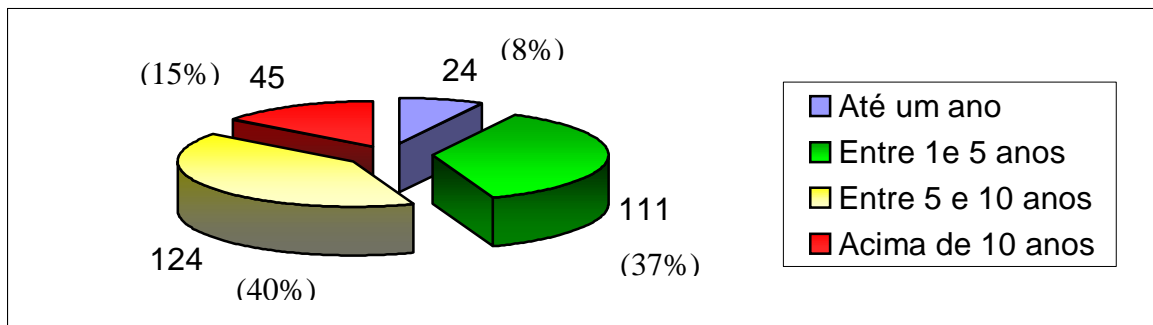


TABELA 14 – DISTRIBUIÇÃO DAS AMOSTRAS DE OTITE CANINA QUANTO À FAIXA ETÁRIA

GRUPOFAIXA ETÁRIA	TOTAL	%
A Até um ano	24 ^a	8
B Acima de um até cinco anos	111 ^b	37
C Acima de cinco até dez anos	124 ^b	40
D Acima de dez anos	45 ^a	15
Total de amostras com idade informada	304	100

NOTA: letras diferentes indicam diferença estatística significativa ($P \leq 0,05$).

4.19. DISTRIBUIÇÃO DAS AMOSTRAS DE OTITE CANINA QUANTO À RAÇA

Das 341 amostras enviadas, 333 delas apresentavam a identificação da raça do animal. As raças caninas que apresentaram maior número de casos de otite, em ordem decrescente, foram: Poodle, Cocker, SRD (sem raça definida), Lhasa Apso, Pastor Alemão, Labrador, Dachshund e Golden Retriever, como mostram o GRÁFICO 24 e a TABELA 15.

GRÁFICO 25 – RAÇAS COM MAIOR FREQUÊNCIA DE AMOSTRAS ENVIADAS

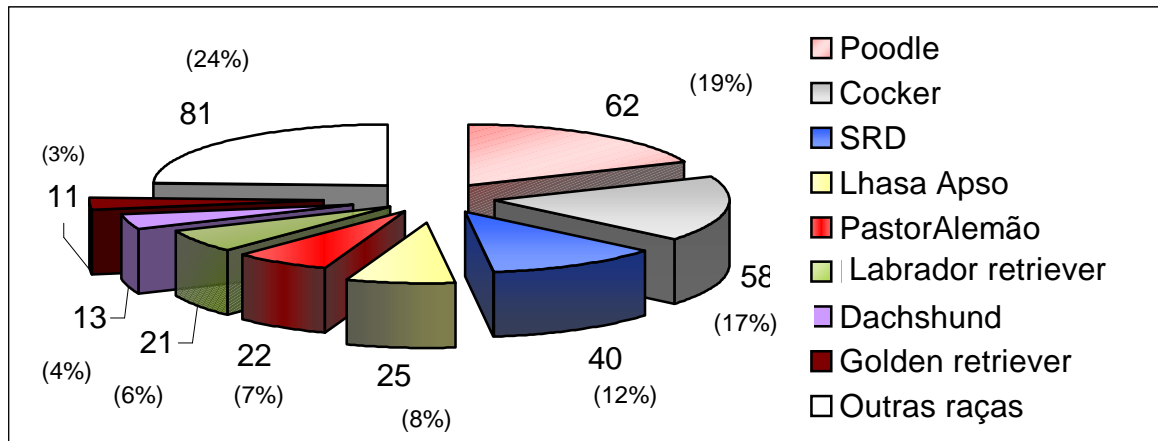


TABELA 15– RAÇAS COM MAIOR FREQUÊNCIA DE AMOSTRAS ENVIADAS

RAÇA	Nº DE AMOSTRAS	%
Poodle	62 ^a	19
Cocker	58 ^{ab}	17
SRD	40 ^{bc}	12
Lhasa Apso	25 ^{cd}	8
Pastor Alemão	22 ^{de}	7
Labrador Retriever	21 ^{de}	6
Dachshund	13 ^{de}	4
Golden Retriever	11 ^e	3
Outras raças	81	24
Total	333	100

NOTA: letras diferentes indicam diferença estatística significativa ($P \leq 0,05$).

5. DISCUSSÃO

5.1. ENVOLVIMENTO MICROBIANO NAS OTITES EM CÃES

Das 277 amostras enviadas simultaneamente para cultivo bacteriano e micológico, 17 delas (6%) não apresentaram crescimento microbiano algum (GRÁFICO 2). Considerando que foram observados sinais clínicos correspondentes à otite, esse percentual de culturas negativas pode ser explicado por uma dessas suposições:

- 1) Erro no procedimento de colheita ou transporte da amostra otológica (MONTIANI-FERREIRA, 1997);
- 2) Amostra de secreção otológica obtida durante tratamento antimicrobiano (GRIFFIN, 1996);
- 3) Otite causada por fatores não infecciosos, como processos alérgicos, infestação por ácaros (CURTIS, 2004), corpos estranhos ou contato com produtos irritantes (LOGAS, 1994).

No entanto, essa proporção de 6% de amostras sem crescimento microbiano mostrou-se bem menor a taxa verificada no Rio de Janeiro por LILENBAUM et al. (2000), que obtiveram 12 amostras negativas de um total de 65 amostras, o que equivale a 18,5%.

As amostras enviadas simultaneamente para cultivo bacteriano e micológico possibilitaram verificar a proporção de otites causadas por um único agente infeccioso ou por uma associação destes, o que se denomina infecção polimicrobiana. Nesta investigação, 130 amostras (50%) resultaram no isolamento de apenas um agente, levedura ou bactéria. Das 130 amostras restantes (50%) houve isolamento de mais de um agente microbiano, valor muito próximo ao verificado no Ceará por OLIVEIRA et al. (2005), que obtiveram a freqüência de 49,5% de infecção polimicrobiana. Essa proporção de infecção polimicrobiana, no entanto, é bem maior do que aquela averiguada por BLUE e WOOLEY (1977), nos

Estados Unidos, de 26,9%, onde apenas 87 amostras do total de 323 apresentaram mais de um microrganismo isolado.

Nessa investigação, entre as amostras positivas enviadas para ambos os cultivos (bacteriano e micológico), verificou-se que a proporção de otites exclusivamente bacterianas foi de 42% (GRÁFICO 4), valor idêntico ao obtido por ROUGIER et al. (2005), na França. Entretanto, LARSSON (1987), em São Paulo, chegou a uma proporção muito menor, de apenas 22,1%. No entanto o citado estudo incluiu pacientes felinos e caninos, além de ter seguido uma classificação mais detalhada das otopatias, obtendo os seguintes índices: otites parasitárias (24,3%), bacterianas (22,1%), ceruminosas (20,2%), micóticas (12,1%), otites médias (6,3%), otites externas eczematosas (6%) e estenosantes (4,1%) e atresia do poro acústico (1,9%).

O alto isolamento apenas de bactérias entre as amostras enviadas para ambos os cultivos (42%, ou 110 amostras entre 260) reafirma a importância bacteriana nas otites caninas. Ao contrário das otites leveduriformes, que dispensam agentes antibacterianos tópicos, as otites bacterianas necessitam ser tratadas concomitantemente por agentes antibacterianos e antifúngicos. Isso se justifica porque as mudanças no micro-clima do canal auditivo provocadas pela terapia antibacteriana tópica podem predispor à transformação da *Malassezia pachydermatis* de comensal para patogênica (MASON e EVANS, 1991).

Ao se avaliar a presença bacteriana nas otites estudadas nesta investigação, somando-se o total de infecções mistas com o total de infecções exclusivamente bacterianas, verificou-se que em 87% dos casos houve envolvimento bacteriano (225 amostras de 260).

5.2. PREVALÊNCIA BACTERIANA NAS OTITES EM CÃES

5.2.1. Amostras Bacterianas Positivas

Das amostras encaminhadas para cultivo bacteriano, 84% foram positivas, proporção menor que a encontrada por OLIVEIRA et al. (2005), no Ceará, que obtiveram 91,5% de cultivos bacterianos positivos.

5.2.2. Classificação das Amostras Bacterianas Quanto à Estrutura da Parede Celular

Neste levantamento, 75% das amostras resultaram em cultivos de bactérias Gram-positivas, e 25% em cultivo de bactérias Gram-negativas. Esta proporção de bactérias Gram-positivas é maior do que a taxa de 54% observada no Rio de Janeiro por DIECKMANN et al. (1996), e de 55% obtida nos Estados Unidos por BLUE e WOOLEY (1977). O envolvimento acentuado de bactérias Gram-positivas observado nesta investigação não exclui a importância da realização de testes de sensibilidade, uma vez que as bactérias Gram-positivas isoladas apresentaram resistência significativa a antibacterianos comumente presentes nas formulações otológicas comerciais.

5.2.3. Prevalência Bacteriana Específica

A presente investigação clínico-laboratorial apontou a espécie *Staphylococcus intermedius* como a mais freqüentemente isolada a partir de amostras de ouvidos de cães com otite, representando 71% das bactérias isoladas. Diversos pesquisadores brasileiros também verificaram que esta espécie é a mais comumente isolada, embora todos eles tenham obtido freqüências de isolamento bem menores. Entre esses autores, DIECKMANN et al. (1996), no Rio de Janeiro, identificaram a espécie *Staphylococcus intermedius* como a mais freqüente nas otites caninas, tendo sido isolada em 44% dos casos. MOTA et al (2000), ao avaliarem a microbiota de cinquenta e dois cães diagnosticados clinicamente com

otite externa, em Pernambuco, obtiveram a predominância de bactérias do gênero *Staphylococcus* sp., isoladas em 27,77% dos cães. OLIVEIRA et al. (2005), no Ceará, verificaram que as espécies coagulase-positivas (entre elas a *Staphylococcus intermedius*) foram as mais freqüentemente isoladas a partir de amostras de cães com sinais de otite externa.

Contrariamente, SILVA (2001), em Minas Gerais, verificou que a espécie *Staphylococcus sciuri* (coagulase-negativa) foi a mais freqüentemente isolada a partir de casos de otite canina crônica, correspondendo a 23% do total de bactérias do gênero *Staphylococcus* sp., seguida pela *Staphylococcus intermedius* (coagulase-positiva), cuja freqüência foi de 12%. Para esse autor houve predominância de bactérias *Staphylococcus* sp. coagulase-negativas sobre as coagulase-positivas. LILENBAUM et al. (2000), no Rio de Janeiro, também concluíram que *Staphylococcus* sp. coagulase-negativos estão mais comumente envolvidos nas otites caninas, correspondendo a 61,3% do total de estafilococos isolados. Para esses autores, entre as espécies de *Staphylococcus* sp. isoladas, as mais freqüentes foram *Staphylococcus aureus* (coagulase-positiva) e *Staphylococcus epidermidis* (coagulase-negativa) cada uma representando 25% do total, seguidas por *Staphylococcus simulans* (coagulase-negativa), correspondente a 16%, e *Staphylococcus intermedius* (coagulase-positiva) cuja prevalência foi de apenas 14%.

RIBEIRO et al. (2000), no Estado do Mato Grosso do Sul, avaliaram a microbiota da orelha de 44 cães com ou sem sinais clínicos de otite. Do total examinado, 40% apresentou crescimento bacteriano, predominando o isolamento de culturas puras de *Staphylococcus* sp. (25% do total). Contrariamente ao citado por outros autores, não foram isolados cultivos de *Pseudomonas aeruginosa*.

Entre os pesquisadores de outros países, a maioria apontou o gênero *Staphylococcus* sp. como o mais freqüente, embora não tenha sido unanimidade. Os gêneros e espécies encontrados por esses pesquisadores coincidem com os obtidos

na presente investigação clínico-laboratorial, embora a proporção de *Staphylococcus intermedius* isoladas neste levantamento continue sendo muito maior que a obtida por qualquer outro pesquisador (71%).

BLUE e WOOLEY (1977), nos Estados Unidos, observaram que a espécie *Staphylococcus aureus* é a mais freqüentemente isolada de cães com otite externa (32,1% do total), valor que pode ser atribuído ao *Staphylococcus intermedius* devido mudança na taxonomia bacteriana atualizada. No levantamento realizado por esses autores, a espécie *Pseudomonas aeruginosa* e os gêneros *Proteus* sp. e *Streptococcus* sp. estavam presentes em 20%, 13% e 9,0% dos casos de otite, respectivamente.

KISS et al (1997a), na Hungria, verificaram que *Staphylococcus intermedius* foi o segundo agente microbiano mais freqüentemente isolado (39,22%), suplantando apenas pela levedura *Malassezia pachydermatis*, sendo que a espécie *Pseudomonas aeruginosa* foi o terceiro agente infeccioso mais freqüente (12,6%).

PETERSEN et al. (2002), nos Estados Unidos, constataram que durante um período de seis anos, a bactéria *Staphylococcus intermedius* foi isolada em 49,4% das otites caninas, sendo que sua freqüência de isolamento não se alterou entre os anos. A segunda bactéria mais freqüente foi *Pseudomonas aeruginosa*, isolada a partir de 27,8% das amostras otológicas de cães, mantendo regularidade de isolamento durante o período de seis anos. Comparando esses resultados com os dessa investigação, ambos referentes a períodos de tempo prolongados, verifica-se que as bactérias mais freqüentes são as mesmas, embora a proporção de *Staphylococcus intermedius* tenha sido bem maior no presente estudo.

YAMASHITA et al (2004), no Japão, observaram que bactérias do gênero *Staphylococcus* sp. são as mais prevalentes em orelhas caninas, tendo sido isoladas em 48,3% das amostras da secreção auricular de cães com otite externa. Esses autores observaram a predominância das espécies *Staphylococcus intermedius* (28,6%) e *Staphylococcus epidermidis* (35,7%) entre os componentes do

gênero *Staphylococcus* mais freqüentemente isolados dos cães com sintomatologia de otite externa.

Na França, ROUGIER et al. (2005) verificaram que as bactérias mais freqüentemente isoladas de otites caninas externas foram membros do gênero *Staphylococcus* sp. (39,5%), *Enterobacteriaceae* (17,1%) e *Pseudomonas* sp. (12,9%). Entre as bactérias *Staphylococcus* sp. isoladas, *Staphylococcus intermedius* foi a espécie mais comum (82%), seguida por *S. aureus* e *S. epidermidis*. No Canadá, HARIHARAN et al. (2006) constataram que espécies bacterianas comumente isoladas de amostras de otite canina externa foram *Staphylococcus intermedius* (42%), *Pseudomonas aeruginosa* (20%), *Streptococcus* sp. (12%), *Proteus* sp. (12%), *Escherichia coli* (11%) e *Enterococcus* sp. (3%).

Contrariamente à maioria dos pesquisadores, FERNANDEZ et al. (2006), na Venezuela, verificaram uma prevalência bacteriana bem distinta daquela obtida na presente investigação, apontando a espécie *Pseudomonas aeruginosa* como a mais freqüentemente isolada (22,2%), seguida por *Proteus mirabilis* (13,9%), *Staphylococcus aureus* (12,5%), *Staphylococcus epidermidis* (8,3%) e *Escherichia coli* (5,6%) e *Staphylococcus* sp. coagulase-negativos (5,6%). Os autores suspeitam que essa alta incidência de *Pseudomonas aeruginosa* pode ser devido ao aumento na virulência desta bactéria em locais de clima tropical.

COLE et al. (1998) compararam os microrganismos isolados no canal auditivo vertical com aqueles isolados a partir de amostras da secreção da orelha média de cães com otite média. Os três microrganismos mais freqüentemente isolados das orelhas externas foram bactérias *Staphylococcus intermedius* (29,7% do total isolado), leveduras (27,5%) e *Pseudomonas aeruginosa* (17,6%). Os microrganismos isolados das orelhas médias foram os mesmos, embora na seguinte ordem: *Pseudomonas aeruginosa* (26%), *Staphylococcus intermedius* (18,2%) e leveduras (16,9%).

5.2.4. Infecções Bacterianas Múltiplas

Nesta investigação as bactérias do gênero *Proteus* sp. apresentaram a terceira maior frequência de isolamento, superando a proporção de bactérias *Streptococcus* sp., apontada como a terceira mais frequentemente isolada por outros autores (ROUGIER et al., 2005; HARIHARAN et al., 2006).

Provavelmente esse maior isolamento de *Proteus* sp. deve-se às infecções bacterianas Múltiplas, que constituíram 14,8% das amostras bacterianas positivas (39 amostras das 284), onde 66% das associações bacterianas observadas correspondiam ao isolamento simultâneo de *Staphylococcus intermedius* e *Proteus* sp. (26 amostras do total de 39, ver TABELA 8 e GRÁFICO 11).

OLIVEIRA et al. (2005), no Ceará, observaram que as proporções de bactérias *Staphylococcus* sp. observadas em cultivos bacterianos únicos e em cultivos bacterianos mistos (isolamento de mais de uma bactéria) foram similares. Já a espécie *Pseudomonas aeruginosa*, a segunda bactéria mais frequente, foi mais predominante nos cultivos bacterianos mistos do que nos cultivos únicos. Esses resultados diferem com os verificados nesta investigação, uma vez que bactérias do gênero *Staphylococcus* sp. apresentaram-se estatisticamente mais frequentes nos cultivos bacterianos únicos do que nos mistos (TABELA 7). Além disso, no presente levantamento as bactérias *Pseudomonas aeruginosa* não apresentaram alteração na sua frequência em cultivos únicos ou mistos. Adicionalmente, as bactérias do gênero *Proteus* sp. mostraram-se estatisticamente muito mais frequentes nos cultivos mistos que nos cultivos bacterianos únicos (TABELA 7).

5.3. SENSIBILIDADE *IN VITRO* DAS CEPAS DE *Staphylococcus intermedius*

5.3.1. Porcentagem de Resistência Entre as Cepas de *Staphylococcus* sp.

Neste levantamento 90,9% das cepas de *Staphylococcus* sp. isoladas foram resistentes a no mínimo um antimicrobiano, valor exatamente igual ao obtido no Rio de Janeiro por LILENBAUM et al. (2000), que destacaram o fato da resistência múltipla ter sido um achado comum. Entretanto, essa proporção de cepas de *Staphylococcus* sp. com múltipla resistência é bem maior que a verificada por YAMASHITA et al (2004), no Japão, que obtiveram apenas 59,4% de *Staphylococcus* sp. resistentes a um ou mais dos 17 antimicrobianos testados.

Provavelmente esse maior índice de resistência observado por pesquisadores brasileiros deve-se ao custo dos exames microbiológicos, o que leva à dificuldade em solicitá-los. Pode-se inferir que a maioria das amostras desta investigação foi proveniente de casos de otite crônica, quando o clínico solicitou cultura e antibiograma para auxiliar na escolha do tratamento. Essa tendência deve ser ainda maior com relação às amostras provenientes de clínicas/consultórios particulares, quando o custo do transporte da amostra deve ser adicionado custo total do procedimento.

5.3.2. Sensibilidade *in vitro* aos Antimicrobianos

As sensibilidades *in vitro* para as cepas de *Staphylococcus intermedius* isoladas nesta investigação, cujos valores foram superiores à 70%, foram: neomicina (100%), enrofloxacina (94%), imipenem (93%), amoxicilina com clavulanato (89%), ceftiofur (83%), levofloxacina (83%), lincomicina (83%), ciprofloxacina (82%), cefalexina (76%) amicacina (76%) e norfloxacina (76%), como mostra a TABELA 16.

TABELA 16 - DROGAS CUJA SENSIBILIDADE *IN VITRO* DAS CEPAS DE *Staphylococcus intermedius* ISOLADAS A PARTIR DE AMOSTRAS DE OTITE CANINA FORAM SUPERIORES A 70%

Droga Testada	Porcentagem de sensibilidade
Neomicina	100
Enrofloxacina	94
Imipenem	93
Amoxicilina Clav.	89
Ceftiofur	83
Levofloxacina	83
Lincomicina	83
Ciprofloxacina	82
Cefalexina	76
Amicacina	76
Norfloxacina	76
Gentamicina	74
Cloranfenicol	70

FONTE: os dados nesta tabela foram extraídos dos resultados obtidos na presente investigação.

DIECKMANN et al. (1996), no Rio de Janeiro, obtiveram 100% de sensibilidade *in vitro* das bactérias *Staphylococcus intermedius* para a gentamicina, sendo que a sensibilidade à amicacina e à ampicilina foram de 92,9% e 60%. Na presente investigação, todos esses valores de sensibilidade foram inferiores, principalmente o da ampicilina (TABELA 10).

LILENBAUM et al. (2000), no Rio de Janeiro, verificaram que as melhores drogas contra os *Staphylococcus sp.* isolados a partir de otites caninas foram: rifancina (97,7%), oxacilina (95,4%), tetraciclina (93%), gentamicina (84,1%) e ampicilina (70,4%). Duas das drogas testadas em comum nesta investigação (tetraciclina e ampicilina) apresentaram resultados de sensibilidades *in vitro* muito inferiores (37 e 40%, respectivamente), enquanto que a gentamicina mostrou eficácia de 70%.

MOTA et al. (2000), em Pernambuco, verificaram que as sensibilidades do gênero *Staphylococcus sp.* à gentamicina e à cefalexina foram de 100%, enquanto a sensibilidade ao cloranfenicol foi de 75%. SILVA (2001), em Minas Gerais, verificou que os maiores índices de sensibilidade *in vitro* para bactérias *Staphylococcus sp.* foram: enrofloxacina (98%), gentamicina (95%), cefalotina (89%), cloranfenicol (82%)

e neomicina (79%). Todas essas drogas também constam entre as mais eficazes no presente levantamento.

OLIVEIRA et al. (2005) verificaram que espécies *Staphylococcus sp.* coagulase-positivas apresentaram maior sensibilidade frente aos seguintes antimicrobianos: amoxicilina com clavulanato (98,3%) imipenem (96,7%), ciprofloxacina (87,1%), enrofloxacina (87,1%), tobramicina (78,8%), cefalexina (74,6%), cloranfenicol (74,4%), gentamicina (72,4%) e amicacina (70,6%). Apenas a tobramicina não apresentou índice de sensibilidade satisfatório na atual investigação (66%).

RIBEIRO et al (2000) não observaram resistência bacteriana significativa entre os cultivos bacterianos obtidos a partir de amostras de cães sadios e de cães com otite externa. A sensibilidade das cepas de *Staphylococcus sp.* isoladas foi de 100% frente aos seguintes antimicrobianos: gentamicina, kanamicina, neomicina, cloranfenicol, enrofloxacina e florfenicol. As sensibilidades à penicilina, ampicilina e tetraciclina foram as mais baixas: 81,81%, 72,72% e 81,81%, respectivamente. A obtenção de valores de sensibilidade tão elevados pode ser justificada pelo fato dos cultivos bacterianos terem sido obtidos a partir de amostras de ouvidos cães com ou sem sinais clínicos de otite, portanto as amostras de cães sadios provavelmente deram origem a cultivos bacterianos com alta sensibilidade.

Nos Estados Unidos, BLUE e WOOLEY. (1977) verificaram maior sensibilidade dos *Staphylococcus sp.* à gentamicina (94,4%), neomicina (88%), cloranfenicol (85,6%) e eritromicina (82,4%). Posteriormente, PETERSEN et al. (2002), durante um período de cinco anos, verificaram que as sensibilidades *in vitro* desta bactéria à cefalotina e à oxacilina foram de 95%. Das drogas mencionadas também testadas nesta investigação (gentamicina, neomicina, cloranfenicol e eritromicina), apenas a eritromicina não mostrou boa eficácia *in vitro* contra cepas de *Staphylococcus intermedius* (44%, TABELA 10).

Com relação aos pesquisadores de outros países, houve concordância quanto aos antimicrobianos mais eficazes contra *Staphylococcus intermedius* isolados de cães com otite. KISS et al. (1997a), na Hungria, constataram que *Staphylococcus intermedius* mostrou maior sensibilidade à amoxicilina com clavulanato (98%), enrofloxaxina (98%), cefalexina (98%) e gentamicina (96%). ROUGIER et al. (2005), na França, verificaram que *Staphylococcus* sp. isolados de cães com otite externa são mais sensíveis à marbofloxacina (98,8%), enrofloxacina (90,4%) e à gentamicina (95,2%). Já HARIHARAN et al. (2006) observaram que a sensibilidade das bactérias Gram-positivas à amoxicilina com ácido clavulânico foi de 100%, sendo o cloranfenicol (89%) o segundo melhor antimicrobiano.

COLE et al (1998) observaram o padrão de sensibilidade das cepas de *Staphylococcus intermedius* isoladas da orelha externa de cães com otite externa e média, verificando maior eficácia das seguintes drogas: amoxicilina com clavulanato (100%), polimicina B (100%), tobramicina (100%), gentamicina (96,3%) e enrofloxacina (96,3%). Das drogas também testadas na atual investigação, apenas a tobramicina não apresentou bom índice de eficácia, apenas 66% (TABELA 10).

YAMASHITA et al (2004) verificaram a resistência de cepas de *Staphylococcus* sp. isoladas a partir de cães com otite externa, obtendo os seguintes valores em ordem decrescente: 56,3% de resistência à penicilina; 54,7% à ampicilina, 14,1% à kanamicina, 14,1% à eritromicina, 9,4% à norfloxacina, 7,8% à lincomicina, 6,3% à estreptomicina, 3,1% à ciprofloxacina, 3,1% à ofloxacina, 3,1% à tetraciclina e 1,6% à gentamicina. Portanto, esses autores também constataram que os valores de resistência às fluoroquinolonas foram baixos, tal qual foi verificado na presente pesquisa.

5.4. SENSIBILIDADE *IN VITRO* DAS CEPAS DE *Pseudomonas aeruginosa*

5.4.1. Porcentagem de Resistência Entre as Cepas de *Pseudomonas aeruginosa*.

Neste levantamento 100% das cepas de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas foram resistentes a mais de um antimicrobiano. A existência de *Pseudomonas aeruginosa* multi-resistentes também foi constatada por PETERSEN et al. (2002) após investigação microbiológica com cinco anos de duração. Além disso, os valores de resistência apresentaram-se bastante expressivos em todas as classes de drogas, o que também foi observado por outros autores (SILVA, 2001; COLE et al., 1998; SEOL et al., 2002).

A alta resistência das *Pseudomonas aeruginosa* isoladas a partir de ouvidos caninos deve-se, provavelmente, ao fato do médico veterinário no Brasil recorrer à cultura e antibiograma quando o paciente já apresenta um quadro crônico ou de difícil resolução, situação em que bactérias altamente resistentes já foram selecionadas por terapias anteriores (BLUE e WOLLEY, 1977). Além disso, pode estar acontecendo uma indução à resistência bacteriana através do uso indiscriminado de antimicrobianos tópicos pelos proprietários dos cães, que freqüentemente ignoram preceitos de limpeza, freqüência regular de aplicações e duração mínima do tratamento (LILENBAUM et al., 2000; PRESCOTT et al., 2002; MORRIS, 2004; HARIHARAN et al, 2006).

5.4.2. Sensibilidade *in vitro* aos Antimicrobianos

As sensibilidades *in vitro* das cepas de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas nesta investigação, cujos valores foram superiores à 60%, foram: ciprofloxacina (87%), norfloxacin (83%), levofloxacin (76%), tobramicina (70%), amicacina (69%), imipenem (65%) e gentamicina (65%), como mostra a TABELA 17.

TABELA 17 - DROGAS CUJA SENSIBILIDADE *IN VITRO* DAS CEPAS DE *Pseudomonas aeruginosa* ISOLADAS A PARTIR DE AMOSTRAS DE OTITE CANINA FORAM SUPERIORES A 60%

Droga Testada	% de sensibilidade
Ciprofloxacina	87
Norfloxacina	83
Levofloxacina	76
Tobramicina	70
Amicacina	69
Imipenem	65
Gentamicina	65

FONTE: os dados nesta tabela foram extraídos dos resultados obtidos na presente investigação.

DIECKMANN et al. (1996), no Rio de Janeiro, obtiveram cepas de *Pseudomonas aeruginosa* com sensibilidades *in vitro* à amicacina e à ampicilina inferiores a 10%, enquanto que 100% destas bactérias mostraram-se sensíveis à gentamicina. No presente levantamento a porcentagens de sensibilidade desta bactéria à gentamicina não foi tão alta, apenas 65%, no entanto esse índice figurou entre os sete mais satisfatórias (TABELA 17)

Mais recentemente, OLIVEIRA et al. (2005), no Ceará, verificaram que cepas de *Pseudomonas aeruginosa* são mais sensíveis às seguintes drogas: ciprofloxacina (97,1%), imipenem (90,1%), tobramicina (85,9%), enrofloxacina (73,3%), amicacina (59,7%) e gentamicina (53,3%). As drogas mais eficazes coincidem com aquelas apontadas por este levantamento, exceto a enrofloxacina, que obteve apenas 44% de sensibilidade *in vitro* (TABELA 10).

BLUE e WOOLEY (1977), verificaram que as cepas de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas a partir de amostras de otite canina externa foram mais sensíveis à gentamicina (88,2%) e à polimicina B (75%). Segundo KISS et al. (1997a), cepas de *Pseudomonas aeruginosa* foram mais sensíveis aos antibióticos gentamicina (92%) e tobramicina (85%). Entre os antibióticos testados por esta investigação, gentamicina e tobramicina, ambos também apresentaram bons índices de sensibilidade (65 e 70%, respectivamente).

SEOL et al (2002), na Croácia, também verificaram grande sensibilidade *in vitro* de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas a partir de cães frente ao imipenen (96,7%), à ciprofloxacina (93,4%), à amicacina (87,4%), à gentamicina (83,1%) e à enrofloxacina (71,0%). HARIHARAN et al (2006), no Canadá, observaram que a maioria (90%) das bactérias Gram-negativas isoladas foram sensíveis à amicacina e à gentamicina, sendo que a sensibilidade da *Pseudomonas aeruginosa* à gentamicina foi de 85%. Novamente as drogas aqui apontadas estão entre as melhores também neste levantamento, exceto a enrofloxacina.

ROUGIER et al. (2005) verificaram que as cepas de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas de cães com otite externa são mais sensíveis à marbofloxacina (96,3%), polimicina B (70,4%), sendo pouco sensível à gentamicina (29,6%). No entanto, os autores trabalharam com apenas 27 cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, ficando o questionamento se esse valor baixo de sensibilidade à gentamicina poderia ser explicado pelo baixo número de amostras isoladas.

MARTIN et al (2000), na Espanha, ao observarem a sensibilidade a antimicrobianos de cepas de *Pseudomonas* sp. isoladas a partir de cães com otites externas crônicas, verificaram maior sensibilidade à tobramicina (100%) e marbofloxacina (91.3%), ticarcilina (86%) e gentamicina (65.2%). Baixas sensibilidades foram observadas para enrofloxacina (52.1%), o que, segundo os autores, pode ser justificado pelo seu uso indiscriminado. Tal fato também foi verificado na presente investigação, onde apenas 44% das cepas de *Pseudomonas aeruginosa* foram sensíveis a esta droga (TABELA 11).

COLE et al (1998) observaram o padrão de sensibilidade dos cultivos de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas da orelha externa de cães com otite externa e média, verificando maior eficácia das seguintes drogas: polimicina B (100%), tobramicina (85,7%) e gentamicina (56,3%). A enrofloxacina mostrou eficácia muito baixa, de apenas 12,5%. Esses valores mais baixos de sensibilidade devem-se provavelmente ao fato desses autores terem trabalhado apenas com cães com otite

média e externa concomitante, ou seja, cães com infecções crônicas, quando o índice de resistência aumenta. Comparando esses valores com os obtidos no presente levantamento, tanto a tobramicina como a gentamicina também mostraram boa eficácia *in vitro* (70 e 65%, respectivamente, TABELA 10).

5.5. PREVALÊNCIA DA LEVEDURA *Malassezia pachydermatis*

Nesta investigação, dentre as amostras enviadas simultaneamente para cultura bacteriana e micológica que resultaram em isolamento microbiano, 13 % dos casos de otite deveram-se exclusivamente a leveduras (GRÁFICO 4), destacando-se entre eles a *Malassezia pachydermatis* (GRÁFICO 10). Esse valor é muito próximo ao encontrado em São Paulo por LARSSON (1987), que verificou que 15,1% das otites em cães e gatos tinham causas micóticas, sendo a levedura *Malassezia pachydermatis* o agente leveduriforme predominante. Enquanto que para ROUGIER et al. (2005), na França, 8% das otites deviam-se a infecções por leveduras.

ROUGIER et al. (2005) obtiveram 45% de amostras micológicas positivas, sendo que a levedura *Malassezia pachydermatis* foi o agente micológico predominante (68,8%). FERNANDEZ et al. (2006) verificaram que *Malassezia pachydermatis* foi a levedura mais freqüentemente isolada (69,8%), seguida pela *Candida* sp. (20,7%). Esses valores são inferiores ao do presente levantamento, que obteve 57% culturas micológicas positivas, das quais 99% correspondem à *Malassezia pachydermatis*.

A prevalência da levedura *Malassezia pachydermatis* nos cães com otite externa é extremamente variável entre os autores. A TABELA 18, a seguir, dispõe a porcentagem de isolamento verificada por diferentes pesquisadores.

TABELA 18- PORCENTAGEM DE ISOLAMENTO DA LEVEDURA *Malassezia pachydermatis* A PARTIR DE AMOSTRAS E OTITE CANINA

AUTOR (S)	PORCENTAGEM DE ISOLAMENTO
BLUE et al (1977)	3,7
GEDEK et al. (1970)	16,8
MOTA et al. (2000),	22,8
BAXTER (1976)	49,0
CAFARCHIA et al. (2005)	57,3
NAKANO et al. (2005)	57,3
SHARMA e RHOADES (1975)	60,0
CRESPO et al. (2002)	62,2
KISS at al. (1997a)	76,0
NOBRE et al. (2001)	76,5
NOBRE et al. (2001)	80,7
KUMAR et al. (2002)	82,2
LEITE et al (2003)	88,0

Entre os pesquisadores brasileiros, NOBRE et al. (1998), no Rio Grande do Sul, isolaram essa levedura em 80,7 % das amostras de cães com otite externa, caracterizando-a como o agente infeccioso mais prevalente. Para MOTA et al (2000), *Malassezia pachydermatis* foi um dos microrganismos mais isolados nas otites caninas externas, estando presente em 22,77% dos casos. Posteriormente, NOBRE et al. (2001) obtiveram cultivo de *Malassezia pachydermatis* em 76,5% das amostras de cães com otite, sendo a levedura o agente infeccioso mais freqüente nas otites externas. Finalmente, LEITE et al (2003), em Minas Gerais, observaram evidência de infecção por *Malassezia pachydermatis* em 79% das citologias diretas em cães com otite externa, e em 88% das culturas feitas em Ágar Sabouraud.

Na literatura internacional a prevalência de *Malassezia pachydermatis* é ainda mais variável. Enquanto BLUE e WOOLEY (1977) e GEDEK et al. (1970) obtiveram índices muito baixos (3,7% e 16,8%, respectivamente), BAXTER (1976), na Nova Zelândia, isolaram a levedura em 49% das orelhas com otite, enquanto SHARMA E RHOADES (1975) obtiveram seu cultivo em 60% dos cães com otite. KISS at al. (1997a), na Hungria, isolaram esta levedura em 76% dos cães com otite.

Comumente os autores comparam a freqüência desta levedura entre cães com sinais de otite e os cães sadios, sendo que em geral os índices maiores correspondem ao grupo de cães com otite. Esse é o caso de CRESPO et al. (2002), na Espanha, que isolaram *Malassezia pachydermatis* em 62.2% dos cães com otite externa e em 50% dos cães sadios. KUMAR et al. (2002) isolaram *Malassezia pachydermatis* em 82 % dos cultivos de orelhas caninas com sinais de otite e em 45% dos cultivos de orelhas caninas sadias. GIRAO et al. (2005) isolaram essa levedura em 57% das amostras de orelhas de cães com otite ($P < 0.05$) e em 30% das amostras de cães sem otite. CAFARCHIA et al. (2005), na Itália, isolaram *Malassezia* sp. em 57% das amostras de cães com otite externa crônica, e em 28%, das amostras de cães sadios. Apenas. NAKANO et al. (2005) isolaram essa levedura com menor freqüência no grupo de cães com otite (57,3%) que nos cães sadios (80%).

Nos casos de otite cujo único agente infeccioso verificado é a levedura *Malassezia pachydermatis* não haveria necessidade de tratamento tópico com droga antibacteriana, presente em todos os produtos otológicos comerciais. A possibilidade de haver otite exclusivamente causada por agente leveduriforme reforça a necessidade de envio da amostra otológica para ambos os cultivos, a fim de prescrever uma terapia mais específica (GRIFFIN, 1996), provavelmente usando-se solução otológica manipulada contendo apenas princípio antifúngico.

É importante salientar que, embora a *Malassezia pachydermatis* não seja o fator primário das otites leveduriformes, a terapia antifúngica deve ser instituída para remoção da infecção micótica, a fim de facilitar a investigação do fator que está estimulando diretamente a ocorrência da otite (MORRIS, 1999).

A sensibilidade *in vitro* da *Malassezia pachydermatis* não foi averiguada nessa investigação porque seus índices variam significativamente de acordo conforme o método realizado no laboratório (Etest®, microdiluição em caldo, entre outros), havendo a necessidade urgente de escolher um método padrão para avaliar

a eficiência das drogas antifúngicas (NASCENTE et al., 2003; EICHNBERG et al., 2003).

5.6. INFECÇÕES MISTAS

Na presente investigação, 115 das 260 amostras (45%) resultaram em infecção mista, ou seja, associação de levedura e bactéria (s). Este valor é bastante próximo ao verificado por COLE et al (1998), nos Estados Unidos, de 44,7%, referente a 17 amostras mistas do total de 38 amostras. Essa proporção, entretanto, é maior que a observada na França por ROUGIER et al. (2005), de 30%, e no Rio de Janeiro por DIECKMANN et al. (1996), de 19,5%.

Dentre as infecções mistas, 83,5% das associações observadas ocorreram entre a levedura *Malassezia pachydermatis* e bactéria *Staphylococcus intermedius*, podendo esse índice aumentar para 89,6% ao se considerar as associações entre esses dois microrganismos e o bacilo *Proteus* sp. (TABELA 10 e GRÁFICO 12). Essa associação já havia sido referida por DICKSON e LOVE (1983).

KISS et al. (1997a), ao avaliar as infecções auriculares mistas, apontaram a associação da levedura *Malassezia pachydermatis* com os *Staphylococcus* sp. coagulase-positivos como a mais comum. Os autores constataram que dos 202 cultivos de *Staphylococcus intermedius* obtidos, apenas 76 eram puros, enquanto que 120 (65,6%) eram em associação com a levedura *Malassezia pachydermatis*.

NOBRE et al. (2001) também observaram uma maior associação entre *Malassezia pachydermatis* e *Staphylococcus aureus* ($P < 0,01$), mas não entre a levedura e *Pseudomonas aeruginosa* ($P > 0,05$). Na presente investigação verificou-se que a prevalência de *Pseudomonas aeruginosa* nas infecções mistas foi significativamente menor do que nos cultivos unicamente bacterianos, ou seja, esta bactéria está mais associada à otite exclusivamente bacteriana.

5.7. DISTRIBUIÇÃO DE CASOS DE OTITE CANINA QUANTO AO SEXO

Neste levantamento, apesar de haver porcentagem maior de fêmeas acometidas do que machos, 54% e 46 %, respectivamente, essa diferença não foi estatisticamente significativa, coincidindo com os resultados encontrados por outros autores (SHARMA e RHOADS, 1975; AUGUST, 1988; HUANG e HUANG. 1999; OLIVEIRA et al., 2005). FERNANDEZ et al. (2006) também verificou maior proporção de fêmeas acometidas (58%). Já DIECKMANN et al. (1996), verificaram que 65% dos cães com otite eram do sexo masculino, embora da mesma forma essa diferença não tenha sido significativa.

5.8. DISTRIBUIÇÃO DE CASOS DE OTITE CANINA QUANTO À FAIXA ETÁRIA

As amostras de otite canina em sua maioria eram de cães entre 1 e 10 anos (77%), tal qual observaram SHARMA e RHOADES (1975), com 71,5% de casos nessa faixa etária, e DIECKMANN et al. (1996), com 80% de animais.

FERNANDEZ et al. (2006) verificaram maior proporção de casos (43,4%) de otite na faixa entre 2 a 5 anos, igualmente observado por KISS et al. (1997a). SHARMA e RHOADES (1975) verificaram maior porcentagem de casos entre um a quatro anos (36%), e entre quatro a sete anos (22%). AUGUST et al. (1988), entretanto, obtiveram resultados semelhantes ao desse levantamento, apontando como grupo etário mais predominantemente afetado por otite externa aquele entre 5 a 8 anos de idade. ROUGIER et al. (2005) obtiveram em seu estudo média de idade entre 5,8 a 6,2 anos, portanto dentro da faixa mais prevalente também neste estudo.

Para SHARMA e RHOADES (1975), os cães com mais de dez anos representaram 7% das amostras, enquanto que neste levantamento compuseram 15% do total. DIECKMANN et al. (1996) também verificaram que 15% dos cães com otite tinham mais que 10 anos.

5.9. DISTRIBUIÇÃO DE CASOS DE OTITE CANINA QUANTO À RAÇA

As raças caninas que apresentaram maior número de casos de otite, em ordem decrescente, foram: Poodle (19%), Cocker Spaniel (17%), SRD (12%), Lhasa Apso (8%), Pastor Alemão (7%), Labrador Retriever (6%), Dachshund (4%) e Golden Retriever (3%), todas raças consideradas predisponentes devido às características anatômicas das orelhas. No entanto, como não se tem os dados demográficos da população canina de Curitiba e região, não é possível estabelecer se a maior predominância de algumas raças é devido à maior frequência dessas raças na população canina, ou devido às predisposições raciais.

Comparando este levantamento com o realizado por DIECKMANN et al. (1996), três raças em comum apresentam-se mais freqüentes em ambos os levantamentos: SRD (43% do total encontrado por DIECKMANN), Pastores Alemães (16%) e Cocker Spaniels (13%). As demais raças apresentadas nas distribuições pouco freqüentes ou não coincidentes.

OLIVEIRA et al. (2005) obtiveram também como mais freqüentes as raças: Poodle (33,3%), Cocker Spaniel Inglês (14,7%) e Pastor Alemão (12,9%).

FERNANDEZ et al. (1988) apresentaram a raça Poodle como a mais predominante (30,2%), seguida por SRD (26,4%), Cocker Spaniel (17%) e Pastor Alemão (9,4%), todas raças que estão entre as cinco mais freqüentes observadas neste levantamento.

A profusa quantidade de pêlos dentro do canal auditivo de cães da raça Poodle tem sido reportada com um fator predisponente à otite (AUGUST, 1988), sendo que a grande proporção de cães dessa raça verificada neste levantamento está confirmando a favor dessa suspeita.

A grande proporção de amostras de cães da raça Cocker Spaniel neste levantamento (17%) coincide com os achados na literatura, que classificam esta raça como predisponente (KISS et al, 1997a; WHITE e POMEROY, 1990), bem como os Labradores (STOUT-GRAHAM et al., 1990).

Os cães da raça Pastor Alemão também tiveram presença significativa neste levantamento, o que está de acordo com a sua predisposição apontada por outros autores (AUGUST, 1988; LOGAS, 1994).

MASUDA et al. (2000) observaram que cães com orelhas pendulares (85 dos 672 cães com pendulares, ou 12%) apresentaram mais casos de otite externa do que aqueles de orelhas eretas (35 dos 698 cães com orelhas eretas, ou 5%), sendo que a diferença estatisticamente significativa ($P < 0.05$). CAFARCHIA et al. (2005) também observaram que cães com orelhas pendulares mostraram maior incidência de infecção que aqueles com orelhas eretas. No entanto, neste levantamento não é possível determinar se essa tendência foi seguida porque muitas amostras (12%) foram provenientes de cães SRD, sendo impossível predizer quais tinham orelhas pendulares ou eretas.

5.10. POTENCIAL DE EFICÁCIA DOS PRODUTOS ANTIBACTERIANOS COMERCIAIS DE USO OTOLÓGICO

Dentro dos critérios estabelecidos de verificação da eficácia *in vitro* frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, destacaram-se sete antimicrobianos mais efetivos, sendo eles:

- Classe dos beta-lactâmicos: imipenem;
- Classe das quinolonas: ciprofloxacina, levofloxacina, norfloxacina, enrofloxacina;
- Classe dos aminoglicosídeos: amicacina e gentamicina.

Por outro lado, entre os dezesseis principais produtos otológicos comerciais disponíveis em nosso país, apenas seis deles apresentam em sua formulação um dos sete antimicrobianos elegidos nesta investigação como mais eficazes *in vitro*. São eles:

- Produtos contendo gentamicina: **Otomax**[®] (Schering-plough), **Otcanixs Max**[®] (Provet), **Aurivet**[®] (Univet), **Oto Sana**[®] (Mundo Animal) e **Otogen**[®] (Ouro Fino);
- Produto contendo enrofloxacina: **Otoneodex**[®] (Uzinas).

É importante destacar que os resultados dos testes de sensibilidade *in vitro* (sensível, intermediário e resistente) são interpretados baseando-se na concentração plasmática alcançada da droga, não refletindo aquela obtida no sítio desta infecção superficial, que ocorre na orelha do cão. Além disso, inúmeros fatores podem influenciar a farmacocinética e a farmacodinâmica dos antimicrobianos, o que influenciará na eficácia dos produtos otológicos, tais como presença de pus, restos celulares ou baixa tensão de oxigênio (MONTIANI-FERREIRA, 1997). O excesso de debris, por exemplo, pode inativar algumas drogas, como a polimicina B (NEU, 1984) e a gentamicina (NUTTAL e COLE, 2004).

Adicionalmente, a presente investigação desconsiderou os valores de sensibilidade intermediária, que aumentariam significativamente os índices de

eficácia. É de conhecimento geral que a terapia tópica no canal auditivo atinge concentrações farmacológicas maiores que a verificada na corrente sanguínea.

Os produtos otológicos à base de neomicina podem ser indicados quando há suspeita da otite ser causada por *Staphylococcus intermedius* (TABELA 16) ou quando a infecção bacteriana é secundária a um fator primário detectado. Neste caso, alguns produtos já apresentam na sua formulação o princípio ativo específico para o combate do fator primário, como o diazinon e o tiabendazol contra o ácaro *Otodectes cynotis* (**Natalene**[®] e **Otodem Plus**[®], respectivamente), ou a dexametasona contra sensibilidade alérgica (**Previn Solução Otológica**[®]).

Produtos otológicos contendo apenas sulfonamida (**Otocanis**[®], **Otolin**[®]) como agente antibacteriano são desaconselháveis tendo como base os resultados desta investigação, uma vez que os índices de sensibilidade *in vitro* foram baixos mesmo em associação potencializadora com trimetoprim, obtendo-se eficácia 32% de para os ambos grupos (Gram-positivas e Gram-negativas), 37% para Gram-positivas e 7% para Gram-negativas.

Tendo em vista as alterações no micro-clima do ouvido provocadas pelo uso de produtos otológicos antibacterianos, desaconselha-se a terapia de otites bacterianas com produtos otológicos que não apresentem antifúngicos na sua formulação (**Otospan**[®], **Ototron**[®], **Otocanis**[®], **Otolin**[®], **DM-gel**[®]), pois podem predispor à superpopulação de *Malassezia pachydermatis*, caso típico de superinfecção.

A partir dos resultados de sensibilidade *in vitro* obtidos infere-se que outros produtos otológicos poderiam ser desenvolvidos, de forma comercial ou manipulada, com a intenção de aumentar a gama de opções do clínico veterinário. Isso porque dos sete antimicrobianos verificados como excelentes para todas as bactérias, apenas dois deles (gentamicina e enrofloxacina) apresentam formulações comerciais. Existe, portanto, potencial para desenvolvimento de soluções contendo

os princípios ativos do imipenem, ciprofloxacina, levofloxacina, norfloxacina ou amicacina, mesmo que sejam produzidas em farmácias de manipulação.

Adicionalmente, caso o simples procedimento de coloração de Gram fosse praticado rotineiramente nos estabelecimentos veterinários, a classificação do patógeno quanto à parede celular (Gram-positivo ou Gram-negativo) possibilitaria ao clínico a escolha de antimicrobianos mais eficazes para cada classe (GRÁFICOS 14 e 15). Como exemplo, verificou-se que a amoxicilina com ácido clavulânico, o ceftiofur ou a cefalexina seriam ótimas opções contra bactérias Gram-positivas. Enquanto que a tobramicina, já presente em apresentação otológica comercial (**Otoguard**[®]), seria uma opção adicional caso fossem visualizadas apenas bactérias Gram-negativas. Os princípios ativos eficazes que não compõem nenhuma solução otológica comercial poderiam ficar disponíveis através de manipulação ou, até mesmo, após o desenvolvimento industrial. No entanto, a indicação de produtos otológicos contendo algum desses antibacterianos pressupõe critério clínico para sua prescrição, a fim de evitar o desenvolvimento de resistência bacteriana quando usados de forma empírica.

Verificou-se, ainda, a inexistência de produto otológico comercial voltado para o tratamento da otite em que o único agente infeccioso atuante é a levedura *Malassezia pachydermatis*. Na presente investigação esta levedura demonstrou ser o único agente infeccioso em 13% das amostras encaminhadas para cultura microbiana completa. Esse fato reforça a necessidade de envio de amostra para cultura micológica e bacteriana, de forma a prescrever terapia antibacteriana apenas quando houver necessidade, uma vez que a malasseziose ótica não requer terapia antibacteriana. Embora essa levedura não seja um fator primário, a terapia antifúngica deve ser instituída para remoção da infecção micótica, a fim de facilitar a investigação do fator que está estimulando diretamente a ocorrência da otite (MORRIS, 1999).

A prevalência bacteriana obtida na presente investigação em situações em que apenas um agente infeccioso foi obtido (78,3% de *Staphylococcus intermedius*; 15,6% de *Pseudomonas aeruginosa*, TABELA 7) ou de infecções bacterianas múltiplas (49 % de *Staphylococcus intermedius* e 10% de *Pseudomonas aeruginosa*) mostra de uma forma bastante clara que a prescrição de um determinado antimicrobiano deve ser feita com o maior critério técnico possível face as possíveis resistências a estes fármacos.

A presente investigação recomenda a utilização de exames microscópicos (coloração de Gram) em caso da não realização de exames microbiológicos completos como forma de obter maior sucesso possível nos tratamentos deste tipo de infecção canina. Verifica-se atualmente uma utilização discriminada de produtos tópicos tanto por leigos quanto por médicos veterinários, tendo como consequência desta prática uma grande percentagem de insucesso terapêutico tornando uma otite aguda em crônica, e induzindo invariavelmente a resistências bacterianas.

É comum na prática laboratorial veterinária o recebimento de amostras de secreção de ouvido com informações adicionais de que o animal já fora tratado anteriormente, tendo passado pela avaliação de muitos veterinários. Felizmente, observou-se na presente investigação que, mesmo nos casos considerados “insolúveis”, em que constavam informações como “otite crônica não responsiva ao tratamento”, os agentes bacterianos isolados mostraram boa sensibilidade *in vitro*. Portanto, a obtenção de um bom resultado terapêutico deve passar pelo auxílio laboratorial sob pena da clínica veterinária perder o cliente. Novamente, vale a pena frisar que muito auxiliaria ao clínico veterinário “noções” microbiológicas como uma simples coloração de Gram.

6. CONCLUSÕES

- 6) As espécies bacterianas mais prevalentes nas otites caninas foram: *Staphylococcus intermedius* (71,3%) e *Pseudomonas aeruginosa* (14,2%), havendo predominância de bactérias Gram-positivas (75%).
- 7) A associação de *Staphylococcus intermedius* com *Proteus* sp. (66%) foi a mais freqüentemente observada nas otites bacterianas múltiplas, que corresponderam a 13,8% do total de amostras bacterianas positivas.
- 8) A associação de *Staphylococcus intermedius* e *Malassezia pachydermatis* foi a mais frequentemente observada nas otites bacterianas múltiplas (89,6%), que corresponderam a 45% do total de amostras positivas.
- 9) A levedura *Malassezia pachydermatis* foi isolada em 57% das amostras de otite canina, sendo o único agente infeccioso em 13% dos casos.
- 10) As cepas bacterianas Gram-negativas apresentaram de uma forma geral maior resistência aos antimicrobianos testados do que as cepas Gram-positivas.
- 11) Os antimicrobianos que apresentaram eficácia *in vitro* maior ou igual a 70% frente a todas as bactérias isoladas foram: imipenem (89%), ciprofloxacina (83%), levofloxacina (82%), norfloxacina (78%), enrofloxacina (76%), amoxicilina com clavulanato (75%), amicacina (75%), ceftiofur (73%) e gentamicina (73%).
- 12) Entre os antimicrobianos com eficácia *in vitro* maior ou igual a 70%, sete figuraram entre os mais efetivos tanto para bactérias Gram-positivas como para Gram-negativas, sendo eles: imipenem, ciprofloxacina, levofloxacina, norfloxacina, enrofloxacina, amicacina e gentamicina.

Amoxicilina com clavulanato e ceftiofur não constam nessa lista porque as sensibilidades *in vitro* das bactérias Gram-negativas foram significativamente mais baixas (32% e 50 %, respectivamente) para esses antimicrobianos.

13) As drogas mais efetivas *in vitro* contra bactérias Gram-positivas foram:

- Beta-lactâmicos: imipenem (94%), amoxicilina com ácido clavulânico (89%), ceftiofur (82%) e cefalexina (75%);
- Fluoroquinolonas: ciprofloxacina (82%), levofloxacina (81%), norfloxacina (76%) e enrofloxacina (81%);
- Aminoglicosídeos: gentamicina (73%) e amicacina (75%).

14) As drogas mais efetivas *in vitro* contra bactérias Gram-negativas foram:

- Beta-lactâmicos: imipenem (72%);
- Fluoroquinolonas: ciprofloxacina (89%), levofloxacina (82%), norfloxacina (84%) e enrofloxacina (62%);
- Aminoglicosídeos: gentamicina (74%), amicacina (76%) e tobramicina (63%).

15) Baseando-se nos resultados obtidos, recomenda-se para o tratamento de otites bacterianas infecciosas, independentemente do agente bacteriano causador, os produtos comerciais otológicos que contenham em sua formulação gentamicina ou enrofloxacina.

16) Os demais antimicrobianos (imipenem, ciprofloxacina, levofloxacina, norfloxacina ou amicacina) seriam igualmente eficientes para bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, constituindo princípios ativos potenciais para futuras soluções otológicas.

- 17) Quando a coloração de Gram indicar a presença de bactérias Gram-negativas, além dos produtos já citados poder-se-á incluir com igual eficácia aqueles a base de tobramicina.
- 18) Quando a coloração de Gram indicar a presença de bactérias Gram-positivas, além dos produtos já citados poder-se-á incluir com igual eficácia a associação amoxicilina com ácido clavulânico, ceftiofur ou cefalexina.
- 19) Os dados epidemiológicos obtidos nessa investigação demonstraram:
- Percentagem maior de fêmeas acometidas (54%) do que machos (46%), resultado estatisticamente não significativo;
 - Em 77% dos casos a faixa etária mais afetada situou-se entre um e dez anos de idade;
 - As raças caninas que apresentaram maior freqüência de casos de otite foram: Poodle (19%), Cocker Spaniel (17%), SRD (12%), Lhasa Apso (8%), Pastor Alemão (7%), Labrador Retriever (6%), Dachshund (4%) e Golden Retriever (3%).

O resultados aqui relacionados são bastante relevantes na escolha do tratamento antibacteriano das otites caninas. Entretanto, é notório que o sucesso da terapia otológica dependerá do controle ou da eliminação dos fatores envolvidos no processo (predisponentes, primários e perpetuadores), sendo que a não detecção destes comprometerá o resultado do tratamento, podendo levar à cronicidade da doença. Reafirma-se, dessa forma, a importância do exame clínico completo para a obtenção de resultados satisfatórios e duradouros.

8. REFERÊNCIAS

ABRAHAM, G.; GOTTSCHALK, J.; UNGEMACH, F.R. Evidence for ototopical glucocorticoid-induced decrease in hypothalamic-pituitary-adrenal axis response and liver function. **Endocrinology**. v.146, n.7, p.3163-3171, 2005. Disponível em: < <http://endo.endojournals.org/cgi/content/full/146/7/3163>> Acesso em: 21 jun. 2005.

ALLAKER, R.P.; LLOYD, D.H.; BAILEY, R.M. Population sizes and frequency of staphylococci at mucocutaneous sites on healthy dogs. **Veterinary Record**. London, v.130, n.14, p.303-304, 1992.

ALTMAN, D.G. **Practical statistics for medical research**. 1ª ed. London: Chapman & Hall, 1991.

ANGUS, J.C.; CAMPBELL, K.L. Uses and indications for video-otocopy in small animal practice. **Veterinary Clinic of North American Small Animal Practice**. v.31, n. 4, p.809-828, 2001.

ANGUS, J.C.; LICHTENSTEIGER, C.; CAMPBELL, K.L.; SCHAEFFER, D.J. Breed variations in histopathologic features of chronic severe otitis externa in dogs: 80 cases (1995-2001). **Journal of American Veterinary Medical Association**. v. 221, n.7, p.1000-1006, 2002.

ANGUS, J.C. Otic cytology in health and disease. **Veterinary Clinic of North American Small Animal Practice**. v.34, n.2, p.411-424, 2004.

AQUINO, J.O.; MANISCALCO, C.L.; PASSOS, R.F.B.; OLIVEIRA, G.G.S.; SANCHES, R.C. Videotoscopia: um novo método de diagnóstico e auxílio terapêutico para distúrbios auriculares de cães – revisão de literatura. **Clínica Veterinária**. n.53, p.58-62, 2004.

AUGUST, J.R. Otitis externa: a disease of multifactorial etiology. **Veterinary Clinic of North American Small Animal Practice**. n.18, p. 731-742, 1988.

AUTHIER S, PAQUETTE D, LABRECQUE O, MESSIER S. Comparison of susceptibility to antimicrobials of bacterial isolates from companion animals in a veterinary diagnostic laboratory in Canada between 2 time points 10 years apart. **Canadian Veterinary Journal**. v.47, n.8, p. 774-778, 2006.

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

BAXTER, M. The association *Pityrosporum pachydermatis* with the normal external ear canal of dogs and cats. **Journal of Small Animal Practice**. v.17, n.4, p. 231-234, 1976.

BIER, O. **Bacteriologia e imunologia**. São Paulo : Melhoramentos, 19^a ed., 1978.

BISCHOFF, M.G.; KNELLER, S.K. Diagnostic imaging of the canine and feline ear. **Veterinary Clinic of North American Small Animal Practice**. v.2, n. 34, p.437-458, 2004.

BLANCO, J.L.; GUEDEJA-MARRON, J.; BLANCO, I.; GARCIA, M.E. Optimum incubation conditions for the isolation of yeasts from canine otitis externa. **Journal of Veterinary Medicine**. v.47, p.599-605, 2000.

BLUE, J.L. WOOLEY, R.E. Antibacterial sensitivity patterns of bacteria isolated from dogs with otitis externa. **Journal of American Veterinary Medical Association**. v.171, n.4,p.362-363, 1977.

BOND, R.; SAIJONMAA-KOULUMIES, E.M.; LLOYD, D.H. Population sizes and frequency of *Malassezia pachydermatis* at skin and mucosal sites on healthy dogs. **Journal of Small Animal Practice**. n. 36, p.147-150, 1995.

CAFARCHIA, C.; OTRANTO, D. Association between Phospholipase production by *Malassezia pachydermatis* and skin lesions. **Journal of Clinical Microbiology**. v.42, n.10, p.4868-4869, 2004.

CAFARCHIA, C.; GALLO S.; CAPELLI G.; OTRANTO D. Occurrence and population size of *Malassezia* spp. in the external ear canal of dogs and cats both healthy and with otitis. **Mycopathology**. v.2, n.160, p.143-149, 2005.

CARLOTTI, D.N. Clinical Aspects, Diagnosis and Therapy of Canine Pyoderma. **World Small Animal Veterinary Association World Congress Proceedings**, 2003. Disponível em: <<http://www.vin.com/proceedings/Proceedings.plx?CID=WSAVA2003&PID=6550&Print=1&O=Generic>> Acesso em: 15 jan. 2006.

CHANG, H.J.; MILLER, H.L.; WATKINS, N.; ARDUINO. M.J.; ASHFORD, D.A.; MIDGLEY, G.; AGUERO, S.M.; PINTO-POWELL, R.; VON REYN, C.F.; EDWARDS, W.; MCNEIL, M.M.; JARVIS, W.R. An epidemic of *Malassezia pachydermatis* in an intensive care nursery associated with colonization of health care workers' pet dogs. **New England Journal of Medicine**. v.338, n. 11, p. 706-711, 1998.

CHICKERING, W.R. Cytologic evaluation of otic exudates. **Veterinary Clinic of North American Small Animal Practice**. v. 4, n.18, p.773-782, 1988.

COLE, L.K.; KWOCZKA, K.W.; KOWALSKI, J.J.; HILLIER, A. Microbial flora and antimicrobial susceptibility patterns of isolated pathogens from the horizontal ear canal and middle ear in dogs with otitis media. **Journal of the American Medical Association**. v.212, n.4, p.534-538, 1998.

COLE, L.K.; KWOCCHKA, K.W.; KOWALSKI, J.J.; HILLIER, A.; HOSHAW-WOODARD, S.L. Evaluation of an ear cleanser for the treatment of infectious otitis externa in dogs. **Veterinary Therapeutics**.v.1, n.4, p.12-23, 2003.

COLE, L.K. Ooscopic evaluation of the ear canal. **Veterinary Clinic of North American Small Animal Practice**. v.2, n. 34, p.397-410, 2004.

COLE, L.K.; KWOCCHKA, K.W.; HILLIER, A.; KOWALSKI, J.J.; SMEAK, D.D. Comparison of bacterial organisms and their susceptibility patterns from otic exudate and ear tissue from the vertical ear canal of dogs undergoing a total ear canal ablation. **Veterinary Therapeutics**.v.3, n.6, p.252-29, 2005.

COLE, L.K.; LUU, D.H.; RAJALA-SCHULTZ, P.J.; MEADOWS, C.; TORRES, A.H. In vitro activity of an ear rinse containing tromethamine, EDTA, and benzyl alcohol on bacterial pathogens from dogs with otitis. **American Journal of Veterinary Research**. v.67, n.6, p.1040-1044, 2006.

COLOMBINI, S.; MERCHANT, S.R.; HASGAAD. Microbial flora and antimicrobial susceptibility patterns from dogs with otitis media. **Veterinary Dermatology**. v.11, n.4, p.235-239, 2000.

CONCEIÇÃO, L.G.; FABRIS, V.E. Piodermite canina: parte I. **Cães e Gatos**. n.85, p. 35-39, 1999.

COSTERTON, J.W.; LEWANDOWSKI, Z.; CALDWELL, D.E.; KORBER, D.R.; LAPPIN-SCOTT, H.M. Microbial biofilms. **Annual Review of Microbiology**. n.49, p. 711-745,1995.

CRESPO, M.J.; ABARCA, M.L.; CABANES, F.J. Atypical Lipid-Dependent *Malassezia* Species Isolated from Dogs with Otitis Externa. **Journal of Clinical Microbiology**. v.38, n.6, p.2383-2385, 2000.

CRESPO, M.J.; ABARCA, M.L.; CABANES, F.J. Occurrence of *Malassezia* spp. in the external ear canals of dogs and cats with and without otitis externa. **Medical Mycology**. v.2, n. 40, p. 115-121, 2002.

CURTIS, C.F. Current trends in the treatment of *Sarcoptes*, *Cheyletiella* and *Otodectes* mites infestations in dogs and cats. **Veterinary Dermatology**. v.15, p. 108-114, 2004.

De ARGILA, D.; ORTIZ-FRUTOS, J.; IGLESIAS, L. Occupational allergic contact dermatitis from colophony in depilatory wax. **Contact Dermatitis**. v. 34, p.369-377, 1996.

DICKIE, A.M.; DOUS, T. R.; CROMARTY, L.; JOHNSON, V.S.; SULLIVAN, M.; BOYD, J.S. Comparison of ultrasonography, radiography and a single computed tomography slice for the identification of fluid within the canine tympanic bulla. **Research in Veterinary Science**. v.3, n.75, p.209-216, 2003.

DICKSON, D.B; LOVE, D.N. Bacteriology of the horizontal ear canal of dogs. **Journal of Small Animal Practice**. n.24, p. 413-421, 1983.

DIECKMANN, A. M.; TORRES, H.M.; FERREIRA, T.; AQUINO, M.H.C. Aspectos clínicos e avaliação antibacteriana terapêutica da otite externa em cães. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**. v.18, n.6, p.242-245, 1996.

DOWLING , P. M. Antimicrobial therapy of skin and ear infections. **Canadian Veterinary Journal**. v.37, p. 695-699, 1996.

EHRlich, G. D.; VEEH, R.; WANG, X.; COSTERTON, J. W.; HAYES, J. D.; HU, F. Z.; DAIGLE, B. J.; EHRlich, M. D.; POST, J. C. Mucosal biofilm formation on middle-ear mucosa in the chinchilla model of otitis media. **Journal of the American Medical Association**. v.287, n.13, p.1710-1715, 2002.

EICHENBERG, M.L.; APPEIT, C.E.; MUSCHNER, A.C.; NOBRE, M.O.; MATTA, D.; ALVES, S.H.; FERREIRO, L. Avaliação da susceptibilidade da *Malassezia pachydermatis* aos antifúngicos azólicos através de um novo método de microdiluição em caldo. **Acta Scientiae Veterinariae**. v.31, n.2, p.75-80, 2003.

EMGARD, P.; HELLSTROM, S. A topical steroid without an antibiotic cures external otitis efficiently: a study in an animal model. **European Archives of Oto-Rhino-Laryngology**. v.6, n.258, p.287-291, 2001.

FARCA, A.M.; PIROMALLI, G.; MAFFEI, F.; RE, G. Potentiating effect of EDTA-Tris on the activity of antibiotics against resistant bacteria associated with otitis, dermatitis and cystitis. **Journal of Small Animal Practice**. v.38, n.6, p.243-245, 1997.

FERGIE, N.; BAYSTON, R.; PEARSON, J.P.; BIRCHALL, J.P. Is otitis media with effusion a biofilm infection? **Clinical Otolaryngology and Allied Sciences**. v.1, n. 29, p. 38-46, 2004.

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

GARCIA, M. E.; BLANCO, J.L. Principales enfermedades fúngicas que afectan a los animales domésticos. **Revista Iberoamericana de Micología**. v.17, p.2-7, 2000.

GEDEK, B.; BRUTZESL, K.; GERLACH, R. NETZER, F. ROCKEN, H.; UNGER, H. The role of *Pityrosporum pachydermatis* in otitis externa in dogs: evaluation of a treatment with miconazol. **Veterinary Record**. London, v.104, p.138-140, 1979.

GHUBASH, R.; MARSELLA, R.; KUNKLE, G. Evaluation of adrenal function in small-breed dogs receiving otic glucocorticoids. **Veterinary Dermatology**. v.6, n.15, p.363-368, 2004.

GINEL, P.J.; LUCENA, R.; RODRIGUEZ, J.C., ORTEGA, J. A semiquantitative cytological evaluation of normal and pathological samples from the external ear canal of dogs and cats. **J. Veterinary Dermatology** v.3, n.13, p. 151-156, 2002.

GIRAO, M.D.; PRADO, M.R.; BRILHANTE, R.S.; CORDEIRO, R.A.; MONTEIRO, A.J.; SIDRIM, J.J.; ROCHA, M.F. *Malassezia pachydermatis* isolated from normal and diseased external ear canals in dogs: A comparative analysis. **Veterinary Journal**. v.172, n.3, p.544-548, 2005.

GORTEL, K. Otic flushing. **Veterinary Clinic of North American Small Animal Practice**. v.2, n.34, p.557-565, 2004.

GOTTHELF LN. Diagnosis and treatment of otitis media in dogs and cats. **Veterinary Clinic of North American Small Animal Practice**. v.2, n.34, p. 469-487, 2004.

GRAHAM-MIZE, C.A.; ROSSER, E.J. jr. Comparison of microbial isolates and susceptibility patterns from the external ear canal of dogs with otitis externa. **Journal of the American Animal Hospital Association**. v.2, n. 40, p.102-108, 2004.

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

GRONO, L.R. Studies of the microclimate of the external auditory canal in the dog. I. Aural temperature. **Research in Veterinary Science**. v.4, n.11, p. 307-311, 1970(a).

GRONO, L.R. Studies of the microclimate of the external auditory canal in the dog. II. Hydrogen ion concentration of the external auditory meatus in the dog. **Research in Veterinary Science**. v.4, n.11, p. 312-315, 1970(b).

GRONO, L.R. Studies of the microclimate of the external auditory canal in the dog. III. Relative humidity within the external auditory meatus. **Research in Veterinary Science**. v.4, n.11, p. 316-319, 1970(c).

HAAGEN, A.J.; VAN DER GAAG, I. Orelha. In: GOLDSTON, R.T.; HOSKINS, J.D. **Geriatrics & Gerontologia do cão e do gato**. São Paulo : Roca, 1999, p. 283-292.

HAAR, T. Diseases of the outer ear. In: 30th World Small Animal Veterinary Association World Congress Proceedings, 2005, Cidade do México. **Anais eletrônicos...** Disponível em: < <http://www.vin.com/proceedings/Proceedings.plx?CID=WSAVA2005&PID=pr11006&O=Generic> > Acesso em: 20 out. 2005.

HAMMOND, D.L.; CONROY, J.D.; WOODY, B.J. The histological effects of a chemical depilatory on the auditory canal of dogs. **Journal of the American Animal Hospital Association**. v.26, p.551-554, 1990.

HARIHARAN, H.; COLES, M.; POOLE, D.; LUND, L.; PAGE, R. Update on antimicrobial susceptibilities of bacterial isolates from canine and feline otitis externa. **Canadian Veterinary Journal**. v. 47, n.3, p. 253-255, 2006.

HARVEY, R.G.; HARARI, J.; DELAUCHE, A.J. **Doença do ouvido em cães e gatos**. Rio de Janeiro: Revinter, 272p., 2004.

HAYES, H.M.; PICKLE, L.W.; WILSON, G.P. Effects of ear type and weather on the hospital prevalence of canine otitis externa. **Research in Veterinary Science**. v.3, n. 42, p. 294-298, 1987.

HENDRICKS, A.; BROOKS, H.; POCKNELL, A.; BOND, R. Ulcerative otitis externa responsive to immunosuppressive therapy in two dogs. **Journal of Small Animal Practice**. v.8, n.43, p.350-354, 2002.

HUANG, H.P.; LITTLE, C.J.L. Effects of fatty acids on the growth and composition of *Malassezia pachydermatis* and their relevance to canine otitis externa. **Research in Veterinary Science**. n.55, p. 119-123, 1993.

HUANG, H.P.; FIXTER, L.M.; LITTLE, C.J.L. Lipid content of cerumen from normal dogs and otitic canine ears. **Veterinary Record**. London, n. 134, p. 380-381, 1994.

HUANG, H.P.; HUANG, H.M. Effects of ear type, sex, age, body weight, and climate on temperatures in the external acoustic meatus of dogs. **American Journal of Veterinary Research**. v. 9, n.60, p.1173-1176, 1999.

HUANG, H.P.; LIEN, Y.H. Otic ivermectin in the treatment of feline *Otodectes* infestation. **Veterinary Dermatology**. n. 11.. p.46

HUTCHINGS, S.M. Juvenile cellulitis in a puppy. **Canadian Veterinary Journal**. n.44, p. 418-419, 2003.

JACOBSON, L.S. Diagnosis and medical treatment of otitis externa in the dog and cat. **Journal of the South African Veterinary Association**. v.4, n.73,p.162-170, 2002.

KERN, T.J.; ERB, H.N. Facial neuropathy in dogs and cats: 95 cases. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v.191, n.12, p. 1604-1609, 1987.

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(a).

KISS, G.; RADVANYI, S.; SZIGETI, G.; LUKATS, B.; NAGY, G. New combination for the therapy of canine otitis externa. II. Efficacy in vitro and in vivo. **Journal of Small Animal Practice**. v.2, n.38, p.51-56, 1997(b).

KNOTTENBELT, M.K. Chronic otitis externa due to *Demodex canis* in a Tibetan spaniel. **Veterinary Record**. London, p. 409-410, 1994.

KONEMAN, E.W. ; ALLEN, S.D.; DOWELL, V.R.; SOMMERS, H.M. **Diagnóstico Microbiológico**. São Paulo : Panamericana, 2 ed., 1993.

KOWALSKI, J.J. The microbial environment of the ear canal in health and disease. **Veterinary Clinic of North American Small Animal Practice**. v.4, n. 18, p.743-754, 1988.

KUMAR, A.; SINGH, K.; SHARMA, A. Prevalence of *Malassezia pachydermatis* and other organisms in healthy and infected dogs ears. **Israel Veterinary Medicine Association**. v.57, n.4, p.145-148, 2002. Disponível em: <http://www.isrvma.org/article/57_4_3.htm> Acesso em: 21 ago. 2006.

LARSSON, C. E. **Contribuição ao estudo das otopatias e cães e gatos**. São Paulo, 1987. 182 f. Tese (Pós Doutorado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

LEITE, C.A.L **Entendendo a otite externa de cães e gatos**: um guia prático para o profissional veterinário. 2^a.ed. Universidade Federal de Lavras : Lavras, 40p., 2000b.

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

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

LITTLE, C.J.; LANE, J.G. An evaluation of tympanometry, otoscopy and palpation for assessment of the canine tympanic membrane. **Veterinary Record**. London, v.1, n.124, p.5-8, 1989.

LITTLE, C.J.; LANE, J.G.; PEARSON, G.R. Inflammatory middle ear disease of the dog: the pathology of otitis media. **Veterinary Record**. v.128, n.13, p.293-296, 1991.

LOBELL, R.; WEINGARTEN, A.; SIMMONS, R. Um novo agente para o tratamento da otite externa canina. **Hora veterinária**. v.15, n.88, p.29-33, 1995.

LOGAS, D.B. Diseases of the ear canal. **Veterinary Clinic of North American Small Animal Practice**. v.5, n.24, p. 905, 1994.

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.

McCARTHY, P.E.; McCARTHY, R.J. Surgery of the ear. **Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice.** v.24, n.5, p. 953-969, 1994.

MANSFIELD, P.D.; BOOSSINGER, T.R.; ATTLELERGER, M.H. Infectivity of *Mallassezia pachydermatis* in the external ear canal of dogs. **Journal of the American Animal Hospital Association.** v.26, p.97-100, 1990.

MANSFIELD, P.D.; STEISS, J.E.; BOOSINGER, T.R.; MARSHALL, A.E. The effects of four, commercial ceruminolytic agents on the middle ear. **Journal of the American Animal Hospital Association.** v.6, n.33, p.479-486, 1997.

MARTÍN, J. L. , LUPIOLA, P.; GONZÁLEZ, Z.; TEJEDOR, M. T. Antibacterial susceptibility patterns of pseudomonas strains isolated from chronic canine otitis externa. **Journal of Veterinary Medicine.** v.47, n.3, p.191-196, 2000.

MASON, K.V.; EVANS, A.G. Dermatitis associated with *Malassezia pachydermatis* in 11 dogs. **Journal of the American Animal Hospital Association.** v. 27, p.13-20, 1991.

MASUDA, A.; SUKEGAWA, T.; MIZUMOTO, N.; TANI, H.; MIYAMOTO, T.; SASAI, K.; BABA, E. Study of lipid in the ear canal in canine otitis externa with *Malassezia pachydermatis*. **Journal of Veterinary Medical Science.** v. 11, n. 62, p. 1177-1182, 2000.

MASUDA, A.; SUKEGAWA, T.; TANI, H.; MIYAMOTO, T.; SASAI, K.; MORIKAWA, Y.; BABA, E. Attachment of *Malassezia pachydermatis* to the ear dermal cells in canine otitis externa. **Journal of Veterinary Medical Science.** v. 63, n. 6 p.667-669, 2001.

MATOUSEK JL. Diseases of the ear pinna. **Veterinary Clinic of North American Small Animal Practice.** v.2, n.34, p. 511-540, 2004.

MATSUDA, H.; TOJO, M.; FUKUI, K.; IMORI, T.; BABA, E. The aerobic bacterial flora of the middle and external ears in normal dogs. **Journal of Small Animal Practice.** n. 25, p. 269-274, 1984.

McKELLAR, Q.A.; RYCROFT, A.; ANDERSON, L.; LOVE, J. Otitis externa in a foxhound pack associated with *Candida albicans*. **Veterinary Record.** London, v.1, n.127, p.15-16, 1990.

MERCHANT, S.R. Ototoxicity. **Veterinary Clinic of North American Small Animal Practice.** v.24, n.5, p. 971-979, 1994.

MIDGLEY, G. The diversity of Pityrosporum (*Malassezia*) yeasts in vivo and in vitro. **Mycopathologia.** v.3, n. 106, p.143-153, 1989.

MORIELLO KA, FEHRER-SAWYER SL, MEYER DJ, FEDER B Adrenocortical suppression associated with topical otic administration of glucocorticoids in dogs. **Journal of American Veterinary Medical Association.** v.193, n.3, p.329-331,1988.

MORRIS, D.O. *Malassezia* dermatitis and otitis. **Veterinary Clinic of North American Small Animal Practice.** v.6, n.29, p.1303-1310, 1999.

MORRIS D.O. Medical therapy of otitis externa and otitis media. **Veterinary Clinic of North American Small Animal Practice.** v.2, n.34, p.541-555, 2004.

MOTA, R.A.; FARIAS, J.K.O.; SILVA, L.B.G.; LIMA, E.T.; OLIVEIRA, A.A.F.; MOURA, R.T.D. Eficácia do Otomax no tratamento da otite bacteriana e fúngica em cães. **Hora Veterinária.** v. 19, n., p. 13-16, 2000.

MURPHY, K.M. A review of techniques for the investigation of otitis externa and otitis media. **Clinical techniques in small animal practice.** v.4, n.16, p.236-241, 2001.

NAKANO, Y.; WADA, M.; TANI, H.; SASAI, K.; BABA, E. Effects of β -Thujaplicin on anti-*Malassezia pachydermatis* remedy for canine otitis externa. **Journal of Veterinary Medicine Science.**v.12, n. 67, p. 1243-1247, 2005.

NARDONI, S.; MANCIANTI, F.; CORAZZA, M.; RUM, A. Occurrence of *Malassezia* species in healthy and dermatologically diseased dogs. **Mycopathologia.** v.4, n. 157, p. 383-388, 2004.

NASCENTE, P.S.; NOBRE, M.O.; SCHUCH, L.F. Evaluation of *Malassezia pachydermatis* antifungal susceptibility using two different methods. **Brazilian Journal of Microbiology.** v.34, n.4, p.359-362, 2003.

NASCENTE, P.S.; CLEFF, M.B.; FARIA, R.O.; NOBRE, M.O.; XAVIER, M.O.; MEIRELES, M.C.A.; MELLO, J.R.B. Malasseziose ótica canina: inoculação experimental e tratamento. **Clínica Veterinária.** n.55, p. 54-60, 2005.

NEU, H.C. Contemporary antibiotic therapy in otolaryngology. **Otolaryngologic Clinics of North America.** v.17, n.4, p.749, 1984.

NEWTON, H.M.; ROSENKRANTZ, W.S.; MUSE, R.; GRIFFIN, C.E. Evaluation of otoscope cone cleaning and disinfection procedures commonly used in veterinary medical practices: a pilot study. **Veterinary Dermatology.**v.2, n.17, p. 147-150, 2006.

NOBRE, M.O.; MEIRELES, M.C.A.; GASPAR, L.F.; PEREIRA, D.; SCHRAMM, R.; SCHUCH, L.F.; 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. Ocorrência de *Malassezia pachydermatis* e outros agentes infecciosos como causa de otite externa em cães do Estado do Rio Grande do Sul, BR (1996/1997). **Jornal Brasileiro de Microbiologia**. v.32, n.3, p.245-249, 2001.

NUTTALL, T.; COLE, L. Ear cleaning: the UK and US perspective. **Veterinary Dermatology**. v. 15, p.127-136, 2004.

OLIVEIRA, L.C.; MEDEIROS, C.M.O.; SILVA, I.N.G.; MONTEIRO, A.J.; LEITE, C.A.L.; CARVALHO, C.B.M. Susceptibilidade a antimicrobianos de bactérias isoladas de otite externa em cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.57, n.3, p.405-408, 2005.

OVERMAN, P.R. Biofilm: a new view of plaque. **Journal of Contemporary Dental Practice**. v. 1, n. 3, p.18-29, 2000.

PALMEIRO BS, MORRIS DO, WIEMELT SP, SHOFER FS. Evaluation of outcome of otitis media after lavage of the tympanic bulla and long-term antimicrobial drug treatment in dogs: 44 cases (1998-2002). **Journal of American Veterinary Medical Association**. v.4, n.225, p. 548-553, 2004.

PETERMANN, S.R.; DOETKOTT, C.; RUST, L. Elastase deficiency phenotype of *Pseudomonas aeruginosa* canine otitis externa isolates. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**. v. 3, n.8, p. 632-636, 2001.

PETERSEN, A.D.; WALKER, R.D.; BOWMAN, M.M.; SCHOTT, H.C.; ROSSER, E.J. Jr. Frequency of isolation and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus intermedius* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates from canine skin and ear samples over a 6-year period (1992-1997). **Journal of the American Animal Hospital Association**. v.38, p.407-413, 2002.

PINCHBECK, L.R.; HILLIER, A.; KOWALSKI, J.J.; KWOCKHA, K.W. Comparison of pulse administration versus once daily administration of itraconazole for the treatment of *Malassezia pachydermatis* dermatitis and otitis in dogs. **Journal of American Veterinary Medical Association**. v.12, n.15, p. 1807-1812, 2002.

POST, J.C. Direct evidence of bacterial biofilms in otitis media. **Laryngoscope**. v.12, n.111, p. 2083-2094, 2001.

POST, J.C.; STOODLEY, P.; HALL-STOODLEY, L.; EHRLICH, G.D. The role of biofilms in otolaryngologic infections. **Current Opinion in Otolaryngology & Head and Neck Surgery**. v.3, n.12, p. 185-190, 2004.

PRATSCHKE, K.M. Inflammatory polyps of the middle ear in 5 dogs. **Veterinary Surgery**. n.32, p.292-296, 2003.

PRESCOTT, J. F; HANNA, W. J. B.; REID-SMITH, R.; DROST, K. Antimicrobial drug use and resistance in dogs. **Canadian Veterinary Journal**. v.43, n.2, p.107-116, 2002.

QUINN, P.J.; MARKEY, B.K.; CARTER, M.E.; DONNELLY, W.J.; LEONARD, F.C. **Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas**. Porto Alegre, Brasil: Artmed, 2005.

RAMAGE, G.; SAVILLE, S.P.; THOMAS, D.P.; LÓPEZ-BIBOT, J.L. Candida biofilms: an update. **Eukaryotic cell**. v.4, n.4, p.633-638, 2005.

REME, C.A.; PIN, D.; COLLINOT, C.; CADIERGUES, M.C.; JOYCE, J.A.; FONTAINE, J. The efficacy of an antiseptic and microbial anti-adhesive ear cleanser in dogs with otitis externa. **Veterinary Therapeutics**. v.1, n.7, p.15-26, 2006.

REMEDIOS, A.M.; FOWLER, J.D.; PHARR, J.W. A comparison of radiographic versus surgical diagnosis of otitis media. **Journal of American Animal Hospital Association**. v.27, p.183-188, 1991.

RIBEIRO, L.R.R.; GONFIANTINI, J.M.P.F.; BABO, V.J.; BASTOS, O.P. Flora bacteriana de ouvido de cães atendidos no hospital veterinário da UFMS. **Hora Veterinária**. n.118, p.29-31, 2000.

ROHLEDER, J.J.; JONES, J.C.; DUNCAN, R.B.; LARSON, M.M.; WALDRON, D.L.; TROMBLEE, T. Comparative performance of radiography and computed tomography in the diagnosis of middle ear disease in 31 dogs. **Veterinary Radiology and Ultrasound**. v.1, n. 47, p.45-52, 2006.

ROSE, WR. Small animal clinical otology. Surgery 1--myringotomy. Number twenty-two in a series. **Veterinary Medicine and small Animal Clinician**. v.10, n.72, p.1646-1650, 1977.

ROSSER, E.J Jr. Evaluation of the patient with otitis externa. **Veterinary Clinic of North American Small Animal Practice**. v.4, n.18, p.765-772, 1988.

ROSSER, E.J. Jr. Diagnosis of food allergy in dogs. **Journal of American Veterinary Medical Association**. v.2, n. 15, p. 259-262, 1993.

ROSSER, E.J Jr. Causes of otitis externa. **Veterinary Clinic of North American Small Animal Practice**. v.2, n.34, p. 459-468, 2004.

ROSYCHUK, R.A.W. Management of otitis externa. **Veterinary Clinic of North American Small Animal Practice**. v. 24, n.5, p.921-951, 1994.

ROTH, L. Pathologic changes in otitis externa. **Veterinary Clinic of North American Small Animal Practice**. v.4, n. 18, p. 755-764, 1988.

ROUGIER, S.; BORELL, D.; PHEULPIN, S.; WOEHRLE, F.; BOISRAME, B. A comparative study of two antimicrobial/anti-inflammatory formulations in the treatment of canine otitis externa. **Veterinary Dermatology**. v.5, n.16, p.299-307, 2005.

SASAKI, A.; SHIMIZU, A.; KAWANO, J.; WAKITA, Y.; HAYASHI, T.; OOTSUKI, S. Characteristics of *Staphylococcus intermedius* isolates from diseased and healthy dogs. **Journal of Veterinary Medicine Science**.v. 67, n.1, p.103-106, 2005.

SHARMA, V.D.; RHOADES, H.E.The occurrence and microbiology of otitis externa in the dog. **Journal of Small Animal Practice**. v.16, p.241-247, 1975.

SILVA, N. Identificação e susceptibilidade a antimicrobianos de *Staphylococcus spp.* isolados de cães com otite externa crônica. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.53, n.2, p. 1-5, 2001.

SMEAK, D.D.; CROCKER, C.B.; BIRCHARD, S.J. Treatment of recurrent otitis media that developed after total ear canal ablation and lateral bulla osteotomy in dogs; nine cases (1986-1994). **Journal of American Veterinary Medical Association**. v.209, n.5, p.937-942, 1996.

ŠEOL, B.; NAGLIĆ, T.; MADIĆ, J.;BEDEKOVIĆ, M. *In vitro* antimicrobial susceptibility of 183 *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from dogs to selected antipseudomonal agents **Journal of veterinary medicine. B, Infectious diseases and veterinary public health**. v.49, p. 188-192, 2002.

STEISS, J.E.; BOOSINGER, T.R.; WRIGHT, J.C.; STORRS, D.P.; PILLAI, S.R. Healing of experimental perforated tympanic membranes demonstrated by electrodiagnostic testing and histopathology. **Journal of the American Animal Hospital Association**. v.28, p.307-310, 1992.

STEPHENS, C. Microbiology: breaking down biofilms. **Current Biology**. v.4, n.12, p.132-134, 2002.

STEWART, P.S.; COSTERTON, J.W. Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. **Lancet**. v.9276, n. 358, p.135-138, 2001.

STOUT-GRAHAM, M.; KAINER, R.A.; WHALEN, R.; MACY, D.W. Morphologic measurements of the external horizontal ear canal of dogs. **Journal of Veterinary Research**. v.51, n.7, p.990-994, 1990.

STRAIN, G.M.; MERCHANT, S.R.; NEER, T.M.; TEDFORD, B.L. Ototoxicity assessment of a gentamicin sulfate otic preparation in dogs. **American Journal of Veterinary Research**. v.4, n.56 p.532-538, 1995.

TANAKA, E.M. RIBEIRO, M.G. ; MEGID, J.; LISTONI, F.J.P. In vitro antimicrobial sensitivity test with EDTA-Tris in strains of *Pseudomonas aeruginosa*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Belo Horizonte, v. 54, n. 3, 2002. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352002000300020&lng=en&nrm=iso> Acesso em 29 mar. 2006.

TANNER, M.A.; EVERETT, C.L.; YOUVAN, D.C. Molecular phylogenetic evidence for noninvasive zoonotic transmission of *Staphylococcus intermedius* from a canine pet to a human. **Journal of Clinical Microbiology**. v38, n.4, p.1628-1631, 2000.

TATER, K.C.; SCOTT, D.W.; MILLER Jr, W.H.; ERB, H.N. The cytology of the external ear canal in the normal dog and cat. **Journal of Veterinary Medicine**. v.50, p. 370-374, 2003.

TEJEDOR, M. T.; MARTÍNA, J.S.; NAVIAB, M.; FREIXESC, J.; VILA, J. Mechanisms of fluoroquinolone resistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from canine infections. **Veterinary Microbiology** v. 94, n.4, p.295-301, 2003.

TRON, E.A.M.; WILKE, H.L.; PETERMANN, S.R.; RUST, L. *Pseudomonas aeruginosa* from canine otitis externa exhibit a quorum sensing deficiency. **Veterinary Microbiology**. n. 99, p. 121-129, 2004.

TROWER, N.D.; GREGORY, S.P.; RENFREW, H.; LAMB, C.R. Evaluation of the canine tympanic membrane by positive contrast ear canalography. **Veterinary Record**. London, v.142, p. 78-81, 1998.

UCHIDA, Y.; NAKADE, T.; OTOMO, K.; YAMANE, Y. Efficacy of a pimaricin suspension for treating otitis externa associated with *M. pachydermatis*. **Journal of Small Animal Practice**. n.35, p. 521-523, 1994.

WHITE, R.A.S.; POMEROY, C.J. Total ear cana ablation and lateral bulla osteotomy in the dog. **Journal of Small Animak Practice**. 31, p.547-553, 1990.

WOOLEY, R.E.; ENGEN, W.R. Treating canine otitis externa with an EDTA-Tris-SDS combination. **Veterinary Medicine**. P. 1088-1091, 1988.

YAMASHITA, K.;SHIMIZU, A.; KAWANO, J.; UCHIDA, E.; HARUNA, A.; IGIMI, S. Isolation and characterization of Staphylococci from externa auditory meatus of dogs with or without otitis externa with special reference to *Staphylococcus schleiferi* subsp. *coagulans* isolates. **Journal of Veterinary Medicine Science**.v.67, n.3, p.263-268, 2005.

YOSHIDA, N.; NAITO, F.; FUKATA, T. Studies of certain factors affecting the microenvironment and microflora of the external ear of the dog in health and disease. **Journal of Veterinary Medicine Science**.v.12, n.64, p. 1145-1147, 2002.

ZENOBLE, R.D.; KEMPPAINEN, R.J. Adrenocortical suppression by topically applied corticosteroids in healthy dogs. **Journal of American Veterinary Medical Association**. v.191, n.6, p.685, 1987.

ZIEMER L.S.; SCHWARZ T.; SULLIVAN, M. Otolithiasis in three dogs.**Veterinary Radiology and Ultrasound**. v.44, n.1, p.28-31, 2003.

1. MEIOS DE CULTURA, REAGENTES E SOLUÇÕES

1.1. MEIO STUART (MEIO DE TRANSPORTE)

Adquirido industrialmente pelo Hospital Veterinário e clínicas particulares, acompanhado por *swab* estéril.

Princípio:

A carência de uma fonte de nitrogênio nesse meio impede consideravelmente a multiplicação de microrganismos, enquanto que a composição nutritiva garante a sobrevivência deles. Permite o transporte de diversos materiais e conseqüente conservação dos microrganismos (BIER, 1978).

1.2. ÁGAR BASE PARA ÁGAR SANGUE (BIER, 1978)

INGREDIENTES:

Peptona de caseína.....	5 g
Peptona de carne	10 g
Extrato de levedura	2 g
Infuso de carne	3 g
Cloreto de sódio	5 g
Ágar	15 g

PREPARO: Dissolver 40 g de meio "Ágar Sangue" desidratado em 1000 ml de água destilada. Deixar hidratar por 10 a 15 minutos e aquecia-se até o ponto de ebulição, agitando freqüentemente até a completa dissolução. Após ajuste do pH para 7,3, esterilizar em autoclave a 121° C durante 15 minutos. Esfriar a base à 50°C. Adicionar 5 ml de sangue de carneiro desfibrinado estéril para cada 100 ml de base. Distribuir volumes de aproximadamente 20 ml, em placas de Petri de 15 x 150 mm. Após o resfriamento, os meio são mantidos em geladeira a 4°C.

PRINCIPIO:

O meio de Ágar sangue, usando uma base rica como acima descrita, oferece ótimas condições de crescimento a maioria dos microrganismos. A conservação dos eritrócitos íntegra favorece a formação de halos de hemólise nítidos, úteis para a diferenciação de *Streptococcus* sp. e *Staphylococcus* sp.

Usado para o isolamento de microrganismos e verificação de hemólise dos *Streptococcus* sp. e *Staphylococcus* sp.

É possível diferenciar três tipos de *Streptococcus* sp. de acordo com o seu comportamento em placa de ágar sangue:

- Tipo α : produz em torno das colônias halo de hemólise parcial de coloração verde, devido uma alteração da hemoglobina por um sistema oxirredutor contido na célula bacteriana;
- Tipo β : produz uma área de hemólise total do sangue em torno das colônias.
- Tipo γ : não produz nem coloração verde, nem halo de hemólise.

Classificação de *Staphylococcus* sp. de acordo com a hemólise de eritrócito de carneiro:

- Tipo α : presença de estreito halo junto à colônia (lise total dos eritrócitos).
- Tipo β : presença de amplo halo ao redor das colônias semeadas (lise parcial dos eritrócitos).
- Tipo δ : presença de estreito halo junto à colônia (lise total dos eritrócitos).

Para distinguir a hemólise alfa (α) da delta (δ) é necessário utilizar eritrócitos de outras espécies animais (cavalo, coelho e cão) (QUINN, 2005).

1.3. ÁGAR SABOURAUD COM MYCOSEL

INGREDIENTES:

Peptona de soja	10,00 g
D (+) glucose	10,00 g
Cicloheximide	0,40 g
Cloranfenicol	0,05 g
Ágar	12,50 g

PREPARO: Suspender 33 g do meio em um litro de água destilada, aquecendo em banho Maria até completa dissolução. Esterilizar em autoclave durante 15 minutos a 121°C, ajustando o pH em 6,9. Resfriar à +/- 50°C e distribuir em placas de 90 mm de diâmetro.

PRINCÍPIO:

O Ágar Sabouraud é um meio com nutrientes que favorecem o crescimento de diversos fungos leveduriformes e filamentosos. O Mycosel contém cicloheximida, que serve para selecionar dermatófitos, enquanto que o cloranfenicol inibe o crescimento de bactérias e alguns fungos filamentosos.

1.4. CALDO BHI (*BRAIN HEART INFUSION*)**INGREDIENTES:**

Cloreto de Sódio.....	5g
Dextrose.....	2g
Fosfato Bibásico de Sódio.....	2,5g
Infuso de Cérebro e Coração.....	17,5g
Peptona de Carne.....	5g
Peptona de Caseína.....	5g
pH final: 7,4 a 25°C	

PREPARO: Dissolver 37 g do meio em 1 litro de água destilada. Aquecer ligeiramente e após distribuir volumes de 5 ml em tubos de ensaio. Esterilizar os tubos em autoclave a 121°C durante 15 minutos. Após o resfriamento, manter os meios em geladeira a 4°C.

PRINCIPIO:

É um meio derivado de nutrientes de cérebro e coração, peptona e dextrose. A peptona e a infusão são fontes de nitrogênio, carbono, enxofre e vitaminas. A dextrose é um carboidrato que os microrganismos utilizam para fermentação.

Constitui um meio para cultivo de estreptococos, pneumococos, meningococos, enterobactérias, não fermentadores, leveduras e fungos. Pode ser utilizado na preparação do inóculo para teste de susceptibilidade aos antimicrobianos, para realização de teste de coagulase em tubo, para teste de crescimento bacteriano a 42 e 44°C, e para teste de motilidade em lâmina.

A cor original do meio é amarelo claro, límpido, sendo a interpretação a seguinte:

- Positivo: presença de turvação, que significa crescimento bacteriano.
- Negativo: ausência de turvação.

1.5. ÁGAR MANITOL

INGREDIENTES:

Extrato de carne	1,000 g
Peptona	10,000 g
Cloreto de sódio	75,000 g
D-manitol	10,000 g
Vermelho de fenol	0,025 g
Ágar	15,000 g

PREPARO: Dissolver 40 g de meio "Ágar Manitol" desidratado em 1000 ml de água destilada. Deixar hidratar por 10 a 15 minutos e aquecer até o ponto de ebulição, agitando freqüentemente até a completa dissolução. Após ajuste do pH para 7,1, esterilizar em autoclave a 121° C durante 15 minutos. Distribuir em volumes de aproximadamente 20 ml, em placas de Petri de 15 x 150 mm. Após o resfriamento, os meio são mantidos em geladeira a 4°C.

PRINCÍPIO:

PROVA DO MANITOL (KONEMAN et al., 1993)

O ágar manitol é um meio altamente seletivo, indicado para o isolamento de *Staphylococcus* sp. patogênicos em culturas mistas. *Staphylococcus aureus*, ao contrário do *Staphylococcus epidermidis*, fermenta manitol com produção de ácido. Este meio aproveita a capacidade destas bactérias de se desenvolverem em presença de cloreto de sódio a 7,5%, formando um halo amarelo no ágar circundante, que indica a produção de ácido a partir do manitol.

1.6. MEIO DE HUGH-LEIFSON

INGREDIENTES:

Peptona	5,00 g
Cloreto de sódio	10,00 g
D-glicose	5,00 g
Azul de bromotimol	5,00 g
Ágar	8,00 g
Fosfato dipotássico	0,30 g
Água destilada	11,00 g

PREPARO: Dissolver os ingredientes, aquecendo em Banho-Maria , distribuindo o meio em tubos de ensaio no volume de 5 ml. Acertar o pH para 7,2 de modo a obter a cor verde escuro (verde garrafa). Os tubos são deixados solidificar e mantidos em temperatura de geladeira a 4°C até a sua utilização.

PRINCÍPIO:

Através da fermentação ou da oxidação da glicose as bactérias Gram-negativas podem ser classificadas em fermentadoras e não fermentadoras deste carboidrato. Todas as *Enterobacteriaceae* são classificadas como fermentadoras da glicose, enquanto que membros da família *Pseudomonadaceae* são oxidadoras da glicose.

1.7. ÁGAR MacConkey (BIER,1978)**INGREDIENTES:**

Peptona	17 g
Proteose peptona	3 g
Lactose	10 g
Sais biliares	1,5 g
Cloreto de sódio	5 g
Vermelho neutro	0,03 g
Cristal violeta	0,001 g
Ágar	13,5 g

PREPARO: Dissolver 50 g de meio "Bacto MacConkey Ágar" desidratado em 1000 ml de água destilada. Deixar hidratar por 5 a 10 minutos e aquecer até o ponto de ebulição, agitando freqüentemente até a completa dissolução. Após ajuste do pH para 7,1, esterilizar em autoclave a 121° C durante 15 minutos. O meio é resfriado até a temperatura de 45-50°C e distribuído em volumes de aproximadamente 12 ml em placas de Petri de 15 x 100 mm. Após o resfriamento, os meios são mantidos em geladeira a 4°C.

PRINCIPIO:

O cristal violeta inibe o crescimento de microrganismos Gram-positivos, especialmente enterococos e estafilococos. Portanto esse meio isola os bacilos Gram-negativos (enterobactérias e não fermentadores) e verifica a fermentação ou não da lactose. A concentração de sais de bile é relativamente baixa em comparação com outros meios, por isso não é tão seletivo para Gram-negativos como outros meios.

A cor original do meio é rosa avermelhado e ele permite o crescimento de bacilos Gram-negativos, não havendo crescimento de cocos Gram-positivos. Além disso, o meio permite as seguintes observações:

- Colônias cor de rosa: bactérias fermentadoras de lactose.
- Colônias incolores: bactérias não fermentadoras de lactose.

1.8. ÁGUA PEPTONADA (KONEMAN, 2001)

INGREDIENTES:

Peptona	10 g
Cloreto de sódio	5 g
Água destilada	1000 ml

PREPARO: Dissolver 15 g do meio água peptonada desidratada em 1000 ml de água destilada. Deixar hidratar por cinco a dez minutos e aquecer até o ponto de ebulição. Ajustar o pH para 8,4 – 8,5 e distribuir a solução em volumes de 5 ml em tubos de ensaio. Deixar em autoclave a 121°C durante 15 minutos. Os tubos são mantidos em temperatura de geladeira até a sua utilização.

PRINCÍPIO:

PROVA DO INDOL (KONEMAN et al., 1993)

Determina a habilidade do microrganismo de metabolizar o triptofano em indol. Triptofano é um aminoácido que pode ser oxidado por certas bactérias resultando na produção de indol, após a adição de reagentes de Erlich.

Reativo de Ehrlich para a prova do Indol

<i>p</i> -dimetilaminobenzaldeído	2 g
Ácido clorídrico concentrado	40 ml
Álcool etílico absoluto	190 ml

Fazer um inóculo leve com colônia pura de cultura de 18-24 horas (para enterobactérias, bacilos Gram-negativos não fermentadores ou anaeróbios). Adicionar pela parede do tubo 0,5 ml do reativo de Erlich e realizar a leitura. Interpretar da seguinte forma:

- Indol positivo: aparecerá um anel vermelho;
- Indol negativo: permanecerá um anel amarelo.

1.9. CALDO VM/VP

INGREDIENTES:

Polipeptona	7g
Glicose	5 g
Fosfato dipotássico	5 g
Água destilada	1000 ml

PREPARO: Dissolver 17 g do do meio VM/VP desidratado em 1000 ml de água destilada. Hidratar por cinco a dez minutos e aquecer até o ponto de ebulição. Ajustar o pH para 6,9 e distribuir a solução em volumes de 5 ml em tubos de ensaio. Deixar em autoclave a 121°C durante 15 minutos. Os tubos são mantidos em temperatura de geladeira até a sua utilização.

PROVA DO VERMELHO DE METILA

Reagente:

Indicador de pH Vermelho de Metila

Vermelho de metila	0,1 g
Álcool etílico a 95%	300 ml
Água destilada	200 ml

PRINCÍPIO:

O metabolismo do piruvato formado a partir da fermentação da glicose contém apenas duas vias metabólicas alternativas: ácidos mistos e butileno glicol. As bactérias que primariamente seguem a via de fermentação de ácidos mistos com frequência produzem ácido suficiente para manter o pH abaixo de 4,4 (o ponto ácido limite do indicador de vermelho-de-metila). Por este motivo a prova de vermelho de metila proporciona uma característica valiosa para a identificação de espécies bacterianas que produzem ácidos fortes a partir da glicose. O aparecimento da cor vermelha no tubo reflete um decréscimo de pH a 4,4 ou menos, indicativo de presença de fortes fermentadoras, produtoras de ácidos mistos.). A *Escherichia coli* é usada como controle positivo, enquanto que a *Enterobacter aerogenes* é controle negativo.

PROVA DE VOGES-POSKAUER

Reagentes:

▪ Reativo de alfa-naftol	
Alfa-naftol a 5%	5 g
Álcool etílico absoluto	100 ml
▪ Hidróxido de Potássio	
Hidróxido de potássio a 40%	40 g
Água destilada	100 ml

PRINCÍPIO:

Usa-se o caldo VM/VP. A acetoína é convertida a diacetila na presença de oxigênio atmosférico e hidróxido de potássio a 40%, sendo que o α -naftol atua como catalisador para produzir um complexo de cor vermelha. A acetoína é um subproduto inativo proveniente de uma das vias de degradação fermentativa da glicose, produzida por alguns grupos bacterianos.

1.10. ÁGAR CITRATO DE SIMMONS**INGREDIENTES:**

Amônio dehidrogenosfosfato	1,0 g
Di-potássio hidrogenofosfato	1,0 g
Cloreto de sódio	5 g
Citrato de sódio	5g
Sulfato de magnésio	0,2 g
Azul de bromotimol	0,08 g
Ágar	12 g

PREPARO: Dissolver 22 g do meio de ágar citrato, segundo Simmons (MERCK, 1982) desidratado em 1000 ml de água destilada. Hidratar por 5 a 10 minutos e aquecer até o ponto de ebulição. Ajustar o pH para 6,9 e distribuir em volumes de 5 ml em tubos de ensaio. Esterilizar em autoclave a 121° C durante 15 minutos e resfriar os tubos na posição inclinada até a solidificação do ágar. Os meios são mantidos no refrigerador a 4° C.

PRINCÍPIO:**PROVA DO CITRATO**

Determina a capacidade de um microrganismo de usar citrato de sódio como única fonte de carbono para metabolismo e crescimento. A utilização do citrato por uma bactéria é detectada através da produção de subprodutos alcalinos. O meio contém citrato de sódio, um ânion, como única fonte de carbono e fosfato de amônia como única fonte de nitrogênio.

Com o auxílio de uma alça de cromo níquel inocular a colônia na superfície do ágar inclinado, não furar a base. Realizar o teste com colônias puras de 18 a 24 horas. A cor original do meio é verde, sendo a interpretação feita da seguinte forma:

- Positivo: cor azul ou crescimento no local do inóculo.
- Negativo: não há crescimento e a cor permanece inalterada.

Se houver crescimento visual na área do inóculo sem mudança de cor, o teste pode ser considerado positivo, reincubar por 24 até 72 horas, a incubação poderá mudar a cor do meio para alcalino (azul). A *Escherichia coli* é usada como controle negativo, enquanto que a *Enterobacter aerogenes* é controle positivo.

1.11. ÁGAR URÉIA DE CHRISTENSEN

INGREDIENTES:

Peptona de carne	1,000 g
D (+) glicose	1,000 g
Cloreto de sódio	5,000 g
Potássio dihidrogenofosfato	2,000 g
Vermelho de fenol	0,012 g
Ágar	12,000 g
Aditivo uréia	20,000 g

PREPARO: Dissolver 21 g do meio 'ágar uréia de Christensen' desidratado em 1000 ml de água destilada. Hidratar por 5 a 10 minutos e aquecer até o ponto de ebulição, agitando freqüentemente até a completa dissolução. Ajustar o pH para 6,8 e esterilizar em autoclave a 121° C durante 15 minutos. O meio base é resfriado até 45° C, incorporando-se ao mesmo 50 ml de solução de uréia a 40% previamente esterilizada por filtração. Distribuir a solução em volumes de 5 ml em tubos de ensaio. Após o resfriamento dos mesmos, estes são mantidos em geladeira a 4° C.

PRINCÍPIO:

PROVA DA URÉIA

Usada para determinar a habilidade do microrganismo de degradar a uréia em duas moléculas de amônia pela ação da enzima urease, resultando na alcalinização do meio.

Após preparação do ágar Ágar Base Uréia (Christensen), inocula-se colônia pura de 18 a 24 horas. Fazer um inóculo denso. Semear na superfície do meio, não picar a base, pois a base pode servir como controle. Incubar 35°C de 6 a 24 horas, podendo ser necessário até 6 dias.

A cor original do meio é amarelo palha, sendo a interpretação feita da seguinte forma:

- Positivo: alteração do meio para cor de rosa (pink).
- Negativo: sem alteração de cor do meio.

1.12. ÁGAR SIM

INGREDIENTES:

Peptona de caseína	20 g
Peptona da carne	36 g
Sulfato de ferro e amônio	0,2 g
Tiosulfato de sódio	0,2 g
Ágar	3,5 g

PREPARO: Dissolver 30 g do meio 'ágar SIM' desidratado em 1000 ml de água destilada. Hidratar por 5 a 10 minutos e aquecer até o ponto de ebulição, agitando freqüentemente até a completa dissolução. Ajustar o pH para 7,3 e esterilizar em autoclave a 121° C durante 15 minutos. Distribuir a solução em volumes de 5 ml em tubos de ensaio. Após o resfriamento dos mesmos, estes são mantidos em geladeira a 4° C.

PRINCÍPIO:

PROVA DA MOBILIDADE E PROVA DA PRODUÇÃO DE ÁCIDO SULFÚDRICO

A bactéria é móvel através do seu flagelo. Flagelos ocorrem nos bacilos Gram- negativos, poucas formas de cocos são móveis. A bactéria pode conter um ou muitos flagelos e sua localização varia com a espécie da bactéria e as condições de cultura.

Interpretação:

- Motilidade positiva: organismos móveis migram pela linha do inóculo e difundem-se no meio, causando turbidez.
- Motilidade negativa: bactéria tem um crescimento acentuado ao longo da linha de inóculo, em volta continua límpido.
- H₂S positivo = presença de precipitado negro ao longo da linha de semeadura vertical

1.13. ÁGAR MUELLER-HILTON (BIER,1978)

INGREDIENTES:

Infusão de carne..	5 g
Caseína hidrolizada	17,5 g
Amido	1,5 g
Ágar	12,5 g

PREPARO: Dissolver 36,5 g de meio "Ágar Mueller-Hilton" desidratado em 1000 ml de água destilada. Hidratar por 5 a 10 minutos e aquecer até o ponto de ebulição, agitando freqüentemente até a completa dissolução. Após ajuste do pH para 7,4, esterilizar em autoclave a 121°C durante 15 minutos. Distribuir volumes de 20 ml em placas de Petri de 15 x 150 mm. Após o resfriamento os meios são mantidos em geladeira a 4°C.

PRINCIPIO:

Ágar padronizado por KIRBY-BAUER que oferece condições de crescimento das principais bactérias. Meio utilizado para a realização do teste de avaliação da resistência aos antimicrobianos pelos métodos de difusão em disco para enterobactérias, não fermentadores, *Staphylococcus*, *Enterococcus* sp.

A zona do diâmetro é particular para cada droga e organismo, sendo comparado com diâmetros padronizados, que determina cada microrganismo sendo sensível, intermediário ou resistente.

1.14. MEIO DE LIGNIÈRES

INGREDIENTES:

Caldo simples.....	1000 ml
Gelatina.....	5g
Ágar.....	5g

PREPARO: Aquecer em banho maria para dissolver e distribuir 5 ml em frascos de vidro do tipo "penicilina" lacrados com tampa de alumínio. Ajustar o pH para 7,4. Esterilizar em autoclave a 121°C por 15 minutos. Após o resfriamento, manter em temperatura de geladeira a 4°C

PRINCÍPIO:

O Meio de Lignières é um meio de preservação (BIER,1978).

2. COLORAÇÕES E PROVAS MICROBIOLÓGICAS

2.1. COLORAÇÃO DE GRAM (BIER, 1978)

MATERIAL:

- Cristal-Violeta: cristal violeta (10g/l), álcool etílico absoluto (100 ml/l), oxalato de amônio (8g/l).
- Lugol: lugol-forte (0,333 ml/l).
- Álcool-acetona: acetona P.A. (300 ml/l), álcool etílico absoluto (700 ml/l)
- Fucsina fenicada de Gram: fucsina fenicada de Ziehl Nelseen diluída 1/10.

TÉCNICA:

- 1) Recobrir a lâmina com solução de Cristal-Violeta e deixar por trinta segundo a um minuto. Escorrer o excesso de corante.
- 2) Verter sobre a lâmina a solução de Lugol para Gram.
- 3) Deixar agir durante um minuto e verter fora o excesso de solução.
- 4) Lavar com água corrente.
- 5) Recobrir a lâmina com solução de Álcool-Acetona e lavar a lâmina com esta solução até que a cor roxa cesse de desprender-se.
- 6) Lavar com água corrente.
- 7) Corar com a Fucsina Fenicada de Gram, durante trinta segundos.
- 8) Escorrer o corante, lavar com água. Secar e proceder a leitura com objetiva de imersão de 100 X.

2.1. PROVA DA CATALASE (KONEMAN et al., 1993)

MATERIAL:

Peróxido de hidrogênio (água oxigenada, H₂O₂) a 3%.

TÉCNICA:

- 1) Colocar uma gota de peróxido de hidrogênio (água oxigenada, H₂O₂) a 3% sobre uma lâmina. Com auxílio de fio bacteriológico, agregar a colônia em estudo na gota de peróxido de hidrogênio.

- 2) A catalase é uma enzima que decompõe o peróxido de hidrogênio (H₂O₂) em água e oxigênio.
- 3) Prova positiva: conferida pela presença imediata de bolhas, já que a produção de efervescência indica a conversão do H₂O₂ em água e oxigênio gasoso. *Staphylococcus aureus* é bactéria que tipicamente tem resposta positiva.
- 4) Prova Negativo: Ausência de bolhas ou efervescência. Espécies de *Streptococcus* sp. são negativas.

2.3. PROVA DA COAGULASE (KONEMAN et al., 1993)

Verifica a capacidade de microrganismos reagirem com o plasma e formarem um coágulo, uma vez que a coagulase é uma proteína com atividade similar à protombrina, capaz de converter o fibrinogênio em fibrina, que resulta na formação de um coágulo visível.

Pode ser encontrada em duas formas que possuem diferentes propriedades: coagulase conjugada (em lâmina) e coagulase livre.

- LIGADA CONJUGADA

Essa prova é realizada emulsionando-se células de sua colônia típica de estafilococos em uma gota de água sobre uma lâmina de microscopia, e misturando-se à sua suspensão uma gota de plasma de coelho. O aparecimento de agregados brancos em cinco segundos indica uma prova positiva.

- COAGULASE LIVRE

Esta prova é realizada inoculando-se 0,5 ml de uma diluição 1:4 de plasma de coelho com abundante material da colônia suspeita. As cepas coagulase-positivas produzem geralmente um coágulo visível dentro de 1 a 4 horas.

2.4. PROVA DA CITOCROMO-OXIDASE

REAGENTE:

Reativo para teste de citocromo-oxidase

N,N,N,N-tetrametil-p-fenileno diamina mono-hidrocloridrato 1g

Água destilada 100 ml

PRINCÍPIO:

O teste de oxidase é baseado na produção intracelular da enzima oxidase pela bactéria. Ajuda a bactérias distinguir não fermentadores (oxidase positiva) de enterobactérias (oxidase negativa). Diferencia algumas bactérias fermentadoras oxidase positiva.

Usa-se reativo para teste de oxidase preparado no laboratório. Com auxílio de um palito de madeira ou plástico, espalhar a colônia a ser testada sobre a fita de oxidase. Observar se há formação de cor roxa de imediato. Sendo a cor original branca ou levemente azulada, interpreta-se:

- Oxidase positiva: produção de cor roxa imediatamente no local da inoculação da bactéria.
- Oxidase negativa: não há mudança da cor do papel no local da inoculação da bactéria.

QUADRO 1 - PRODUTOS COMERCIAIS PARA TERAPIA DE OTITE CANINA DISPONÍVEIS NO BRASIL, FABRICANTE, FORMULAÇÃO E INDICAÇÃO.

NOME COMERCIAL	FABRICANTE	FORMULAÇÃO (EM 100 ml)	INDICAÇÕES
Aurivet	Vetnil	Clotrimazol: 1g Sulfato de gentamicina: 0,50 g Valerato de betametasona: 0,15 g Benzocaína:2 g	Otite fúngica Otite bacteriana Otite mista
DM-gel otológico	Vetnil	Dimetilsulfóxido:48,4 g Solução de escina 20%:2,28 g Acetato de prednisolona :0,2 g Cloridrato de lidocaína: 1,0 g Eucalipto: 0,29 g	Otite bacteriana
Natalene	Virbac	Diazinon fosforotionato:1000 mg Pimaricina:300 mg Sulfato de neomicina:375 mg Acetato de dexametasona :10 mg	Otite por ácaro Otite fúngica Otite bacteriana Otite mista
Otocanis	Provet	Sulfanilamida (sal sódico) :1,00 g	Otite bacteriana
Otocanis Max	Provet	Gentamicina (Sulfato):0,300 g Betametasona (Valerato):0,122 g Clotrimazol:1,000 g	Otite fúngica Otite bacteriana Otite mista
Otodem Plus	Vetbrands	Tiabendazol:4,00 g Neomicina (sulfato):0,32 g Dexametasona:0,10 g Cloridrato de lidocaína:1,50 g	Otite por ácaro Otite fúngica Otite bacteriana Otite mista
Otogen	Ouro Fino	Sulfato de gentamicina:300 mg Valerato de betametasona:122 mg Miconazol:1.000 mg	Otite fúngica Otite bacteriana Otite mista
Otoguard	Cepav	Cetoconazol:1 g Sulfato de tobramicina:0,380 g Fosfato sódico de dexametasona:0,132 g (equivalente a 0,1 g) Cloridrato de lidocaína:1,900 g (equivalente a 1,5 g)	Otite fúngica Otite bacteriana Otite mista
Otolin	Uzinas	Sulfametazina sódica.:4,00g Ácido bórico:1,66g Cloridrato de procaína:1,00g Fenol cristal (USP):1,00g	Otite bacteriana
Otomax	Schering-plough	Sulfato de gentamicina:300 mg Valerato de betametasona:122 mg Clotrimazol micronizado :1 g	Otite fúngica Otite bacteriana Otite mista

NOME COMERCIAL	FABRICANTE	FORMULAÇÃO (EM 100 ml)	INDICAÇÕES
Otoneodex	Uzinas	Enrofloxacina:233mg Clotrimidazol:132mg Fosfato sódico de betametasona:1000 mg	Otite fúngica Otite bacteriana Otite mista
Otospan	Duprat	Sulfato de polimixina-B: 1000 Sulfato de Neomicina.: 340 Hidrocortisona: 1000 mg	Otite bacteriana
Ototron	Jofadel	Cloridrato de lidocaína:3000 mg Fosfato sódico de dexametasona 658 mg Sulfato de neomicina: 500 mg	Otite bacteriana
Panolog Pomada	Novartis	Nistatina:10 mg Sulfato de neomicina : 250 mg Tioestrepton : 0,25 mg Acetonil triancinolona : 100 mg	Otite fúngica Otite bacteriana Otite mista

FONTE: SINDAN, 2006.

QUADRO 2- RESULTADOS DE SENSIBILIDADES *IN VITRO*

ANTIBIÓTICO	<i>P. aeruginosa</i>	<i>Proteus sp.</i>	<i>E. coli</i>	<i>Entero-bacter sp.</i>	<i>S. intermedius</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus sp.</i>	<i>Streptococcus sp.</i>	<i>Corynebacterium-like</i>
Penicilina									
Resistente	45	24	3	1	148	0	0	3	1
Intermediário	0	6	0	0	19	0	0	2	0
Sensível	1	0	0	0	64	1	1	5	0
Ampicilina									
Resistente	45	16	1	1	126	0	0	2	1
Intermediário	0	1	0	0	13	0	0	0	0
Sensível	1	13	2	0	92	1	1	8	0
Amoxicilina									
Resistente	45	13	1	1	121	0	1	2	1
Intermediário	0	2	0	0	14	0	0	0	0
Sensível	1	14	2	0	92	1	0	8	0
Amoxi. Clav.									
Resistente	44	7	0	0	21	0	0	1	0
Intermediário	1	0	0	0	4	0	0	0	0
Sensível	0	21	3	1	204	1	1	9	1
Cefalexina									
Resistente	45	11	0	0	44	0	0	4	0
Intermediário	0	2	1	0	11	0	0	0	1
Sensível	1	16	2	1	176	1	1	6	0
Ceftiofur									
Resistente	20	4	0	0	20	0	0	4	0
Intermediário	5	2	0	0	11	0	0	0	0
Sensível	8	18	3	1	143	0	0	4	1
Imipenem									
Resistente	10	4	0	1	12	0	0	0	0
Intermediário	4	1	0	0	2	0	0	0	0
Sensível	26	23	3	0	197	0	0	9	1
Neomicina									
Resistente	25	10	0	0	0	0	56	6	0
Intermediário	9	3	2	1	0	19	0	2	0
Sensível	12	17	1	0	155	1	1	2	1
Amicacina									
Resistente	11	4	0	0	45	0	0	7	0
Intermediário	3	0	0	1	8	0	0	0	0
Sensível	32	26	3	0	174	1	1	2	1
Gentamicina									
Resistente	11	5	0	0	51	0	0	6	0
Intermediário	5	0	0	0	9	0	0	0	0
Sensível	29	25	3	1	173	0	0	4	1
Tobramicina									
Resistente	12	10	1	0	64	0	0	8	0
Intermediário	2	2	1	1	14	0	0	0	1
Sensível	32	18	1	0	149	1	1	2	0

ANTIBIÓTICO	<i>P. aeruginosa</i>	<i>Proteus sp.</i>	<i>E. coli</i>	<i>Entero-bacter sp.</i>	<i>S. intermedius</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus sp.</i>	<i>Streptococcus sp.</i>	<i>Corynebacterium-like</i>
Estreptomicina									
Resistente	31	17	1	1	116	0	0	6	1
Intermediário	4	2	0	0	21	0	1	0	0
Sensível	10	11	2	0	90	1	0	3	0
Eritromicina									
Resistente	44	28	3	1	110	0	0	6	1
Intermediário	0	1	0	0	12	0	0	1	0
Sensível	1	1	0	0	106	1	1	3	0
Azitromicina									
Resistente	23	20	0	1	88	0	0	4	1
Intermediário	2	0	0	0	10	0	0	1	0
Sensível	8	4	3	0	78	0	0	3	0
Enrofloxacina									
Resistente	13	3	0	0	0	31	0	4	0
Intermediário	13	1	0	0	11	0	0	1	0
Sensível	20	25	3	1	187	1	1	5	1
Ciprofloxacina									
Resistente	4	2	0	0	34	0	0	3	0
Intermediário	2	0	0	0	6	0	0	1	0
Sensível	39	27	3	1	186	1	1	6	1
Norfloxacina									
Resistente	6	4	0	0	36	0	0	4	0
Intermediário	2	0	0	0	18	0	0	0	0
Sensível	37	26	3	1	175	1	0	6	1
Levofloxacina									
Resistente	6	3	0	0	29	0	1	3	0
Intermediário	5	0	0	0	10	0	0	1	0
Sensível	34	26	3	1	187	1	0	6	0
Tetraciclina									
Resistente	41	25	1	0	136	0	0	5	1
Intermediário	4	2	0	0	7	0	0	2	0
Sensível	3	2	2	1	85	1	1	3	0
Cloranfênicol									
Resistente	38	15	0	0	54	0	0	0	1
Intermediário	2	2	0	0	13	0	0	2	0
Sensível	6	13	3	1	160	1	1	8	0
Sulfa Trim.									
Resistente	41	21	0	0	118	0	1	5	1
Intermediário	1	1	0	0	18	0	0	1	0
Sensível	2	7	3	1	80	1	0	3	0
Nitrofurantoina									
Resistente	42	18	0	1	36	0	0	3	0
Intermediário	1	4	0	0	41	0	0	0	0
Sensível	3	8	3	0	151	1	1	7	1
Lincomicina									
Resistente	45	28	3	1	84	0	0	5	1
Intermediário	0	0	0	0	20	0	0	1	0
Sensível	0	1	0	0	116	1	0	4	0

