

# MULTIRRESISTÊNCIA BACTERIANA IN VITRO DE OTITE EXTERNA DE CÃES

SOUSA, A. B. ([alouattacaraya@yahoo.com.br](mailto:alouattacaraya@yahoo.com.br))<sup>1</sup>; CASSEB, L. M. N.<sup>2</sup>; VIEIRA<sup>3</sup>, C. M. A.; MOREIRA, V.M.T.S.<sup>3</sup>; CASSEB, A. R.<sup>3</sup>([alexcasseb@yahoo.com.br](mailto:alexcasseb@yahoo.com.br))

**RESUMO:** O objetivo deste trabalho foi pesquisar os principais agentes microbianos que podem causar otite externa canina, assim como verificar a sensibilidade *in vitro* dos agentes microbianos à antimicrobianos, normalmente utilizados em otites caninas. Avaliando assim o padrão de eficácia *in vitro* de 15 fármacos antimicrobianos. Foram investigadas 57 amostras de secreções otológicas provenientes de 39 cães de ambos sexos. Estas amostras foram coletadas assepticamente, de cães que apresentavam sinais clínicos de otite. Confeccionaram –se esfregaços que foram corados pela técnica de Gram e Giemsa e observados em microscópio comum em objetiva de imersão (aumento de 1000 vezes). Em seguida as amostras foram semeadas em meio de Agar sangue de carneiro a 5%, Ágar Mackonkey, Ágar sabouraud, caldo cérebro-coração e incubados a 37°C. As espécies microbianas foram identificadas com base na morfologia de colônia, coloração pelo método de Gram, produção de pigmento, e prova bioquímica. Foram isolados cocos Gram positivos: *Staphylococcus* spp (37.8%), *Streptococcus* spp (12.2%); bacilos Gram positivos: *Bacillus* spp (7.32%); enterobactérias: *Proteus* spp (10.98%), *Escherichia coli* (3.66%) e *Klebsiella* spp (1.22%); bacilos Gram negativos não fermentadores: *Pseudomonas aeruginosas* (17.07%) e bacilos não identificados (9.76%); leveduras (13.68%): *Candida albicans* (84.62%) e *Malassezia pachydermatis* (15.38%). A susceptibilidade a antimicrobianos foi avaliada pelo método de difusão em Ágar estabelecido pelo Comitê Nacional de Clínica Laboratorial, observando os seguintes resultados: Gentamicina (68.6%), Norfloxacin (61.11%), Enrofloxacin (58.33%), Amicacina (54.17%), Estreptomycin (48.61%), Tetraciclina (29.17%), Ciprofloxacina (27.78%), Cloranfenicol (25,00%), Cefalexina (23.61%), Florfenicol (18.06%), Ceftriaxona (12.50%), Cefalotina (11.11%), Sulfonamidas (5.56%), Penicilina G (2.78%) e Ácido Nalidíxico (1.39%). Concluiu-se que os cocos Gram positivos foram os mais prevalentes e do gênero *Staphylococcus* spp. As amostras bacterianas causadoras de otite externa nos cães estudados são multirresistentes.

**Palavras-chave:** Cultura, bactérias, antibiograma, multirresistência.

## 1. INTRODUÇÃO

Otite refere-se a qualquer alteração morfofuncional do ouvido. Desta maneira, desde escoriações na parte mais externa do ouvido até os complicados casos de cocleovestibulite bilateral podem ser enquadrados como otite, não importando a sua gravidade ou extensão (LOPES, 2000). Otite externa é uma inflamação aguda ou crônica do epitélio do meato auditivo externo, às vezes envolvendo a pina ou pavilhão auricular (ETTINGER, 1997).

<sup>1</sup> Médico Veterinário Autônomo - [alouattacaraya@yahoo.com.br](mailto:alouattacaraya@yahoo.com.br)

<sup>2</sup> Médica Veterinária mestranda em patologia das doenças tropicais/UFPA - [liviacasseb@iec.pa.gov.br](mailto:liviacasseb@iec.pa.gov.br)

<sup>3</sup> Professora Dra. do Instituto da Saúde e Produção Animal (ISPA) da UFRA - [cmavieira@yahoo.com.br](mailto:cmavieira@yahoo.com.br)

<sup>4</sup> Professora Dra. do ISPA/UFRA - [vmts@oi.com.br](mailto:vmts@oi.com.br)

<sup>5</sup> Professor e Doutorando em biologia dos agentes infecciosos e parasitários, ISPA/UFRA - [alexcasseb@yahoo.com.br](mailto:alexcasseb@yahoo.com.br)

A microbiota residente do ouvido externo canino é constituída por cocos Gram-positivos, bastonetes Gram-positivos e leveduras da espécie *Malassezia pachydermatis* (BONATES, 2003). *M. Pachidermatis* é um microrganismo das microbiotas auricular e dérmica de carnívoros domésticos, embora possa apresentar patogenicidade em diversas situações (MANSFIED et al., 1990). Dentre os quais nos casos de otite alérgica e podendo surgir como uma superinfecção após antibióticoterapia (VAL, 1999). Segundo Tuleski (2007) e 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 de otite externa crônica providencia uma relação acurada das espécies bacterianas presentes e do padrão de susceptibilidade dessas espécies. Este trabalho se justifica devido ao grande número de casos de otite canina que são tratados na maioria das vezes sem realização de diagnóstico microbiológico e principalmente com tratamento aleatório, produzindo grande quantidade de animais com otite crônica e bactérias multirresistentes. É através deste trabalho que se demonstra a importância do diagnóstico microbiológico e teste de sensibilidade *in vitro* para agentes microbianos e posterior tratamento específico desta enfermidade.

## **2. METODOLOGIA**

Foram analisadas 57 amostras de secreções otológicas provenientes de 39 cães de ambos sexos. Estas amostras foram coletadas assepticamente, de cães que apresentavam sinais clínicos de otite. Confeccionaram – se esfregaços que foram corados pela técnica de Gram e Giemsa e observados em microscópio comum em objetiva de imersão (aumento de 1000 vezes). Em seguida as amostras foram semeadas em meio de Agar sangue de carneiro a 5%, Ágar Mackonkey, Ágar sabouraud, caldo cérebro-coração e incubados a 37°C. As espécies microbianas foram identificadas com base na morfologia de colônia, coloração pelo método de Gram, produção de pigmento, e prova bioquímica. Para realização dos testes de sensibilidade dos microrganismos a fármacos antimicrobianos, foi utilizado o método de difusão em discos (PERFORMANCE, 1997). Os antimicrobianos usados incluíram: Penicilina (Penicilina G), Aminoglicosídeos (Gentamicina, Estreptomina, Amicacina), Quinolonas (Enrofloxacina, Norfloxacina, Ciprofloxacina), Cefalosporinas (Cefalotina, Ceftriaxona, Cefalexina), Tetraciclina, Cloranfenicol, Florfenicol, Sulfonamida e Ácido Nalidíxico. Para análise estatística foi utilizado o teste do qui-quadrado ( $\chi^2$ ), admitindo-se para valores menores de cinco a correção de Yates; para ambos os testes preconizou-se nível de significância  $\alpha < 0.05$ , utilizando o software BioEstat 5.0 (AYRES et al., 2007).

## **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

No presente estudo, foi observado um grande número de amostras de leveduras, porém, apenas foram relatados aqueles que apresentavam quantidade significativa de células (13.68%), ou seja, numerosos (30 ou mais células em 10 campos microscópicos em um aumento de 1000 vezes).

Em 100% das amostras analisadas obteve-se isolamento de microrganismos, principalmente bactérias, correspondendo a 82 amostras (86.32%), contra 13

amostras (13.68%) de leveduras, mostrando-se uma diferença altamente significativa ( $p < 0.001$ ), mesmo após correção de Yates (Tabela 1).

**Tabela 1: Espécies bacterianas e fúngicas isoladas em amostras de secreção auricular de ouvido externo de cães otopatas**

<b>Microrganismos</b>	<b>N</b>	<b>Percentual</b>
<b>Cocos Gram positivos</b>		
<i>Streptococcus spp</i>	10	12.20%
<i>Staphylococcus spp</i>	31	37.80%
Total	41	50.00%
<b>Bacilos Gram positivos</b>		
<i>Bacillus spp</i>	06	7.32%
Total	06	7.32%
<b>Enterobactérias</b>		
<i>Klebsiella spp</i>	01	1.22%
<i>Proteus spp</i>	09	10.98%
<i>Escherichia coli</i>	03	3.66%
Total	13	15.85%
<b>Bacilos Gram negativos não fermentadores</b>		
Não identificados	08	9.76%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14	17.07%
Total	22	26.83%
<b>Total de bactérias</b>	<b>82</b>	<b>86.32%</b>
<b>Leveduras</b>		
<i>Candida albicans</i>	2	15.38%
<i>Malassezzia pachydermatis</i>	11	84.62%
<b>Total de leveduras</b>	<b>13</b>	<b>13.68%</b>
<b>Total geral</b>	<b>95</b>	<b>100.00%</b>

N: corresponde ao número de vezes que o microrganismo foi isolado ( $p < 0.01$ )

Dentre os microrganismos isolados os mais prevalentes causadores de otite externa nos animais estudados foram os cocos Gram positivos (50.00%), seguidos por bacilos Gram negativos não fermentadores (26.83%), Enterobactérias (15.85%), Leveduras (13.68%) e bacilos Gram positivos (7.32%) ( $p < 0.0001$ ).

Quando se comparou somente as bactérias isoladas o principal gênero encontrado foi *Staphylococcus spp* ( $p < 0.0001$ ). Dentre as leveduras a mais prevalente foi a *Malassezzia pachydermatis* (84.62%) e *Candida spp* (15.38%) ( $p = 0.0126$  após correção de Yates  $p = 0.0265$ ).

Com relação ao teste de sensibilidade aos antimicrobianos houve diferença significativa entre a eficiência dos antimicrobianos para as bactérias Gram positivas ( $p < 0.0001$ ), assim como para o grupo das bactérias Gram negativas ( $p < 0.0001$ ). Cefalexina e tetraciclina não demonstraram eficiência contra Gram negativos. Duas amostras de *Staphylococcus spp* foram resistentes a todos antimicrobianos testados (Tabela 2). Todas as amostras bacterianas isoladas foram resistentes a mais de dois antibióticos testados, mostrando que todas as amostras testadas apresentavam quadro de multirresistência (resistência a dois ou mais antibióticos).

**Tabela 2: Quantidade e percentual de bactérias Gram positivas e Gram negativas sensíveis aos antimicrobianos testados.**

<b>Antimicrobianos</b>	<b>Gram+ N=47</b>	<b>%</b>	<b>Gram- N=35</b>	<b>%</b>	<b>Total N=82</b>	<b>%</b>
<b>Aminoglicosídeos</b>						
Gentamicina	24	51.06	25	71.43	49	59.76
Amicacina	21	44.68	18	51.43	39	47.56
Estreptomicina	17	36.17	18	51.43	35	42.68
<b>Quinolonas</b>						
Enrofloxacina	24	51.06	18	51.43	42	51.22
Norfloxacina	21	44.68	23	65.71	44	53.66
Ciprofloxacina	10	21.28	10	28.57	20	24.39
<b>Sulfas</b>						
Sulfonamida	2	4.26	2	5.71	4	4.88
<b>Cefalosporinas</b>						
Cefalexina*	12	25.53	5	14.29	17	20.73
Ceftriaxona	5	10.64	4	11.43	9	10.98
Cefalotina	4	8.51	4	11.43	8	9.76
<b>Tetraciclinas</b>						
Tetraciclina*	15	31.91	6	17.14	21	25.61
<b>Cloranfenicol</b>						
Cloranfenicol	11	23.40	7	20.00	18	21.95
Florfenicol	5	10.64	8	22.86	13	15.85
<b>Penicilinas</b>						
Penicilina G	2	4.26	-	-	2	2.44
<b>Ácido nalidíxico</b>						
Ácido nalidíxico	-	-	1	2.86	1	1.22
Resistente a todos os antimicrobianos	2	4.26	-	-	2	2.44
Multirresistência	47	100	35	100	82	100

\*p<0.0001 entre Gram positivas e Gram negativas

Oliveira et al (2006) não observaram resistência das cepas de *Staphylococcus intermedius* aos aminoglicosídeos. Tem sido descrito para a gentamicina contra cepas de *Staphylococcus spp* isoladas de otite externa canina, taxas de susceptibilidade variando entre 90–100% na maioria dos estudos ao longo dos anos (JUNCO, BARRASA, 2002; LEITE, 1995; OLIVEIRA et al., 2005). De acordo com o presente estudo a gentamicina, norfloxacina, enrofloxacina, amicacina e estreptomicina podem ser utilizados no tratamento das otites externas de cães, pois apresentam os mesmos parâmetros de eficiência, que variaram de 47.22% a 69.44%. Porém, já mostrando índices menores de eficiência isso provavelmente se deve ao fato do uso indiscriminado destes antibióticos em tratamentos otológicos.

Souza et al (2005), ratifica a importância da realização do tratamento da otite canina com o respaldo do perfil de sensibilidade bacteriana à fármacos, visando maior efetividade da terapia, especialmente em casos de *Pseudomonas aeruginosa*, em virtude da multirresistência do agente aos antimicrobianos convencionais. Porém, como se observa neste estudo, todos os microrganismos bacterianos apresentaram algum grau de resistência aos

antimicrobianos, caracterizando ainda mais a necessidade do uso do antibiograma para o tratamento específico da otite.

#### 4. CONCLUSÕES

Dos resultados desta pesquisa pode – se concluir que:

- 1- Os cocos Gram positivos mais prevalentes foram do gênero *Staphylococcus* spp.
- 2- As amostras bacterianas se mostram multirresistentes.
- 3- Gentamicina, estreptomicina, amicacina, norfloxacina e enrofloxacina apresentaram os mesmos parâmetros de eficiência *in vitro* para as bactérias causadoras de otite externa nos cães estudados.
- 4- Ácido Nalídixico, Penicilina G e Sulfonamidas foram menos eficientes *in vitro* para as bactérias causadoras de otite externa nos cães estudados.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AYRES, M.; AYRES, J.R.M.; AYRES, D.L.; SANTOS, A.S. Bioestatística 5.0 . Aplicações estatísticas nas áreas das Ciências Biológicas e Médicas. Belém: Sociedade civil marirauá, Brasília CNPQ; 391 p., 2007.
- BONATES, A. Otite; Conhecimento detalhado permite diagnóstico preciso e sucesso no tratamento. **Veterinary News**, v.62, p. 6-8, 2003.
- COLE, L.K; KWOCHKA, K.W; KOWASLKY, J.J; HILLER, 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.
- ETTINGER, S.J. **Tratado de Medicina Veterinária: Moléstia do cão e do gato**, 4 ed., São Paulo: Manole, v.2, 1997.
- JUNCO, M. T. T.; BARRASA, J. T. M. ;Identification and antimicrobial susceptibility of coagulase positive Staphylococcus isolated from healthy and dogs suffering from otitis externa . **Journal Veterinary Medicine Biochemistry**, V. 49, p. 419 - 423, 2002.
- LEITE, C.A.L. **Isolamento, identificação e sensibilidade de agentes microbianos causadores de otite em cães (*Canis familiaris*)**. Dissertação (Mestrado), Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte. 1995. 60f.
- LOPES, C. A; As otites de cães e gatos. **Revista Cães & Gatos**. Nro. 93, set/out, págs. 22-26, 2000.
- MANSFIED, P. D.; BOOSINGER,T.R.; ATTLEBERGER, M.H. Infectivity of *Malassezia pachydermatis* in the external ear of dog. **Journal American Animal Hospital Association**, vol.146, pages. 97-100. 1990.
- OLIVEIRA, L. C., BRILHANTE, R. S. N., CUNHA, <sup>a</sup> M. S., CARVALHO, C. B. M; Perfil de isolamento microbiana em cães com otite media e externa associada; **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 6, p. 1009-1017, 2006.
- OLIVEIRA, L.C; MEDEIROS, C.M. O; SILVA, I.N.G.. Susceptibilidade a antimicrobianos de bactérias isoladas de otite externa em cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária Zootecnia** . V.57, p.405-408, 2005.
- PERFORMANCE, Standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals; **Tentative Standard NCCLS Document**

**M31-T [ISBN- 56238-330.2]**, 940 West Vallery Road, 1400, Wayne Pennsylvania 1987. USA, 1997.

SOUZA, A V. G; SALERNO, T; SIQUEIRA, M. G; PAES, A C; LISTONI, F. J. P; Perfil de sensibilidade microbiana em 135 linhagens de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas de cães com otite. **Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP-Botucatu**, 2005.

TULESKI, G.L.R. **Avaliação da prevalência infecciosa e da sensibilidade *in vitro* aos antimicrobianos em otites de cães**. Dissertação apresentada ao curso de Pós-graduação em ciências veterinária, UFPR, como requisito parcial à obtenção de grau de mestre em Patologia Veterinária, Curitiba, 167 p., 2007.

VAL, A.P.C. 1999 [on line]. Otite externa. Disponível em: [http://www.homeopatiaveterinaria.com.br/otite\\_externa.htm](http://www.homeopatiaveterinaria.com.br/otite_externa.htm). Acesso em 10/02/2008.