

***Pseudomonas aeruginosa* COMO CAUSA DE OTITE EXTERNA EM CÃES E VERIFICAÇÃO DO PADRÃO DE SENSIBILIDADE DAS AMOSTRAS ISOLADAS**

***Pseudomonas aeruginosa* AS A CAUSE OF EXTERNAL OTITIS IN DOGS AND VERIFICATION OF ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY PATTERN OF THE ISOLATES**

***Pseudomonas aeruginosa* COMO CAUSA DE OTITIS EXTERNA EN PERROS Y VERIFICACIÓN DEL PATRÓN DE SENSIBILIDAD DE LAS CEPAS A ANTIMICROBIANOS**

SCARTEZZINI, Marília^{1*}; SILVA JÚNIOR, Vilson B.², ABILEIRA, Fernanda S.³; VOGT, Felipe I.¹; MOTTIN, Vanessa D. MSc.³; OLIVEIRA, Sérgio J. Dr.⁴.; PIANTA, Celso Dr.⁴

¹ Alunos do Curso de Medicina Veterinária da ULBRA, Bolsistas

² Méd. Veterinário, Perdigão Alimentos

³ Médica Veterinária, Residente em Microbiologia

⁴ Médico Veterinário, Professor, Curso de Medicina Veterinária, ULBRA

RESUMO

Foram analisadas 374 amostras provenientes de casos de otite externa canina, onde foi identificada *P. aeruginosa* como o agente bacteriano Gram negativo mais importante envolvido na etiologia da doença em 39 casos clínicos. Foram realizados testes de antibiograma, sendo observada grande resistência aos antibióticos beta-lactâmicos.

Palavras-chave: *Pseudomonas aeruginosa*, otite, cães, antimicrobianos

ABSTRACT

Samples from 374 cases of external otitis in dogs were analysed by bacteriology, showing *Pseudomonas aeruginosa* as the main Gram negative aetiological agent, in 39 clinical diseases. Results of antimicrobial susceptibility tests revealed predominantly resistance to betalactamic antibiotics.

Key words: *Pseudomonas aeruginosa*, otitis, dogs, antimicrobials.

INTRODUÇÃO

O gênero *Pseudomonas* originalmente inclui uma grande variedade de bacilos Gram negativos, hemolíticos, móveis ou imóveis, com metabolismo oxidativo e utilizam açúcares como fonte de carbono, no entanto não fermentam a lactose nem outros carboidratos (HARVEY et al., 2008).

Pseudomonas aeruginosa é a espécie mais importante em Medicina Veterinária, embora outras espécies também tenham importância tanto na clínica veterinária como na área de higiene de alimentos e microbiologia da água (HIRSH e ZEE, 2003)

Estes microrganismos são bacilos que se apresentam isolados ou em grupos, não esporulados, aeróbicos, com metabolismo estritamente respiratório, redutores de nitrato,

catalase e oxidase positivos. São cultivados sobre os meios de uso comum em bacteriologia e nos meios empregados para o estudo das enterobactérias. As culturas liberam odor característico e apresentam coloração esverdeada. As colônias, embora possam se apresentar com morfologias distintas, geralmente são grandes, rugosas e com bordos irregulares quando isoladas de material clínico (EUZÉBY, 1997).

Produzem os pigmentos pioverdina e piocianina (raras amostras não produzem estes pigmentos) A pioverdina, que é solúvel em água e insolúvel no clorofórmio, tem um importante papel fisiológico, pois age como um sideróforo. A piocianina é um pigmento específico da *P. aeruginosa*, possui atividade tóxica e bacteriostática principalmente contra Gram positivos. O crescimento em meios claros (ágar cetrimida, ágar triptose, Mueller Hinton) revela pigmentação esverdeada (OLIVEIRA, 2000).

P. aeruginosa é isolada de vários ambientes, desde um habitante saprófita da água, solos úmidos e superfície de vegetais, assim como comensal do intestino humano e animal. Apresenta pequena capacidade de virulência nos indivíduos sadios e, ao contrário, apresenta grande patogenicidade naqueles com defesas imunitárias alteradas, sendo considerada, portanto uma bactéria patogênica oportunista isolada de grande variedade de diferentes tipos de infecções como otite externa e cistite nos cães, endometrite, ceratite e conjuntivite equina (QUINN et al., 2005).

Diversos são os fatores de virulência encontrados na *P. aeruginosa* que permitem a colonização, a sobrevivência e a invasão dos tecidos do hospedeiro. A *pili* facilita a aderência nos epitélios, uma exoenzima e outras adesinas não derivadas da *pili* reforçam esta aderência. O flagelo igualmente auxilia no processo de adesão (as amostras não flageladas mostram virulência atenuada). O sideróforo, principalmente a pioverdina permite o crescimento da bactéria mesmo na ausência do íon ferro livre. A citotoxina liberada pela *P. aeruginosa* é responsável pela alteração na membrana dos leucócitos, liberação das enzimas dos lisossomos e também é responsável pela intensa reação inflamatória e necrose tissular. Produzem pelo menos quatro proteases causadoras de hemorragias e necroses dos tecidos; a mais importante é uma elastase que age sobre a elastina, a laminina, sobre os colágenos tipos III e IV e sobre os proteoglicanos. A exotoxina A inibe a síntese protéica das células eucariontes e a exoenzima S atua sobre as imunoglobulinas A e G e contribui para aumentar a resistência da bactéria aos macrófagos (EUZÉBY, 1997)

P. aeruginosa apresenta diversos fatores de resistência natural e adquirida a muitos antibióticos que variam desde a impermeabilidade da membrana externa da bactéria, passando pela bomba de efluxo, pela alteração dos locais de ação dos antibióticos ou ainda pela produção das enzimas beta-lactamases e amidasinas.

A maioria dos isolados são resistentes às aminopenicilinas, associação amoxicilina-ácido clavulânico, cefalosporinas de primeira e segunda geração, às tetraciclina, macrolídeos, rifampicina e fenicolis, entre outros. Entre os antibióticos que podem mostrar atividade estão a polimixina B, amicacina, colistina, gentamicina, tobramicina, ciprofloxacina e fosfomicina. Observa-se que com os antibióticos em uso na medicina veterinária, o tratamento das infecções animais causadas pela *P. aeruginosa* pode se tornar difícil (EUZÉBY, 1997; QUINN, 1999).

A otite externa é uma inflamação dos componentes de tecido mole do meato auditivo externo, podendo apresentar uma etiologia multifatorial. Sua importância se deve ao fato de constituir um dos problemas mais comuns encontrados na clínica de pequenos animais (NOXON, 1998). De acordo com Leite (2000) e Farias (2002), as otites representam de 8 a 15% dos casos atendidos na prática clínica veterinária no

Brasil e a otite externa crônica (OEC) corresponde a até 76,7% dos casos de otopatia em cães, destacando-se a espécie *Pseudomonas aeruginosa* (NOBRE et al., 2001; GINEL et al., 2002). Entre as bactérias Gram positivas, o *Staphylococcus intermedius* é uma das principais bactérias isoladas no cão com otopatia (Cole et al., 1998; Lilenbaum et al., 2000).

Segundo Quinn (2005), a doença é caracterizada por secreção escura e prurido intenso no canal auditivo, com agitação da cabeça, arranhaduras e fricção das orelhas.

No presente trabalho está descrito o isolamento de 39 amostras de *Pseudomonas aeruginosa* provenientes de 374 casos de otite externa de cães que foram atendidos nos ambulatórios do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária da ULBRA-Canoas, RS, durante o período de abril de 2007 à junho de 2008, assim como os resultados dos testes de sensibilidade realizados sobre estes isolados.

Os resultados obtidos com maior prevalência das culturas bacterianas podem ser observados na Tabela 1.

OBJETIVOS

Avaliar o envolvimento de *Pseudomonas aeruginosa* como agente etiológico de otite externa de cães e identificar o perfil da sensibilidade aos agentes antimicrobianos testados.

MATERIAL E MÉTODOS

Swabs contendo secreção coletada do conduto auditivo de cães com suspeita ou confirmação clínica de otite externa atendidos nos ambulatórios do Hospital Veterinário, foram remetidos para cultura e antibiograma.

O material foi semeado em placas com os meios Agar-sangue (contendo 8% de sangue desfibrinado de carneiro) e MacConkey com cristal violeta. Os meios foram incubados entre 35-37°C por 24-48h em atmosfera de aerobiose, segundo Oliveira (2000).

Nas placas de Agar-sangue que apresentaram crescimento de colônias com bordos irregulares, rugosas, hemolíticas, e com odor característico, foram realizadas as provas de catalase e oxidase nas colônias suspeitas de pertencerem ao gênero *Pseudomonas*. Nestas colônias também foi observada a presença de pigmentação azul-esverdeada, mais evidente quando observadas no meio de MacConkey, colônias não fermentadoras da lactose.

Através da observação microscópica das bactérias coradas pelo método de Gram, pode-se observar a presença de bacilos Gram negativos sem arranjo definido. Os bacilos assim caracterizados foram submetidos ao teste de produção de indol, liquefação da gelatina para caracterização da espécie *P. aeruginosa* (MURRAY et al., 1995; OLIVEIRA, 2000).

Os testes de sensibilidade às drogas antibacterianas foram realizados pelo método de difusão empregando meio de Müller-Hinton, com discos impregnados com os seguintes antibióticos: Amoxicilina, Amox.+Ac. Clavulânico, Azitromicina,

Cefalexina, Ceftiofur, Ciprofloxacina, Doxicilina, Enrofloxacina, Gentamicina, Neomicina, penicilina G, Polimixina, Cefaclor e Tobramicina.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Entre as 374 culturas realizadas a partir de *swabs* impregnados com secreção do conduto auditivo de cães, foram identificados *Staphylococcus intermedius*, *S. aureus* e *Streptococcus* spp. e *Pseudomonas aeruginosa* como os agentes bacterianos mais prevalentes. Os resultados das culturas estão de acordo com os descritos por Cole et al, (1998) e Lilenbaum et al, (2000).

A frequência dos isolamentos encontra-se na Tabela 1.

Tabela 1. Principais isolamentos bacterianos obtidos a partir das 374 amostras de *swabs* otológicos analisados.

Microrganismo	Número	Frequência (%)
<i>Staphylococcus intermedius</i> e <i>S. aureus</i>	254	68
<i>Streptococcus</i> spp.	56	15
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	39	10
Outros*	25	7
Total	374	100

* *Enterococcus*, *Corynebacterium*, *Bacillus* spp. enterobactérias, *Micrococcus* spp.

Dos 374 materiais impregnados com secreção do conduto auditivo de cães, foram isoladas 39 amostras de *Pseudomonas aeruginosa* as quais revelaram maior resistência aos seguintes antibióticos: Amoxicilina (100%), Penicilina G e Cefaclor (97%), Amox.+Ác.clavulânico e Cefalexina (90%) e Doxicilina (71%). Os maiores percentuais de sensibilidade foram obtidos frente a Polimixina (85%), seguidos de Enrofloxacina (72%) e Amicacina, Ciprofloxacina e Tobramicina (69%).

Os resultados dos testes de antibiograma realizados estão de acordo com os citados na literatura consultada tanto com relação aos padrões de resistência quanto às drogas que mostram maior atividade antibacteriana, conforme Euzéby, (1997) e Quinn et al., (1999).

Os resultados obtidos nos antibiogramas podem ser observados na Tabela 2.

Tabela 2 Resultado dos antibiogramas realizados nas 39 amostras de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas de otite externa de cães

Antibiótico testado	Resistência (%)	Sensibilidade (%)
Amoxicilina	100	0
Amox.+Ác.clavulânico	90	10
Amicacina	31	69
Azitromicina	59	41
Cefalexina	90	10
Ceftiofur	54	46
Ciprofloxacina	31	69
Doxiciclina	71	29
Enrofloxacina	28	72
Gentamicina	46	54
Neomicina	64	36
Penicilina G	97	03
Polimixina	15	85
Cefaclor	97	03
Tobramicina	31	69

(%) = percentual de resistência ou sensibilidade

CONCLUSÃO

Pela análise e observação dos resultados, pode-se concluir que o padrão de resistência / sensibilidade da *P. aeruginosa* nos testes de antibiogramas realizados está de acordo com os citados pela literatura consultada.

A resistência demonstrada aos beta-lactâmicos, mesmo na presença do ácido clavulânico, evidencia que a resistência não é resultado apenas da síntese das enzimas beta-lactamases, sendo também resultado de outros fatores como a bomba de efluxo, a impermeabilidade da membrana externa ou ainda da mudança dos alvos de ação dos antibióticos.

BIBLIOGRAFIA

COLE, L.K.; KWOCKKA, K.W.; KOWALSKI, S.J. et al Microbial flora and antimicrobial susceptibility patterns of isolated pathogens from the horizontal ear and middle ear dogs with otitis media. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.212, p.534-538, 1998.

EUZÉBY, J.P. List of Bacterial Names with Standing in Nomenclature: a folder available on the Internet. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, v. 47, p. 590-592. 1997.

FARIAS, M.F. Terapêutica otológica. In: *Manual de terapêutica veterinária*. 2.ed. São Paulo: Roca, 2002.

GINEL, P.J.; LUCENA, R.; RODRIGUES, J.C. A semiquantitative cytological evaluation of normal and pathological samples from the external ear canal of dogs and cats. *Vet. Dermatol.*, v.13, p.151-156, 2002.

HARVEY, R.A., CHAMPE, P.C., FISCHER, B.D. *Microbiologia Ilustrada*. 2. ed. ARTMED, Porto Alegre, 2008, 236 p.

HIRSH, D.C., ZEE, Y.C. *Microbiologia Veterinária*. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 446p. 2003, 446 p.

LEITE, C.A.L. As otites de cães e gatos. Parte 1 – Epidemiologia. *Cães Gatos*, v.15, p.22-26, 2000.

LILENBAUM, W.; VERAS, M.; BLUM, E. et al. Antimicrobial susceptibility of *Staphylococci* isolated from otitis externa in dogs. *Lett. Appl. Micol.*, v.31, p.42-45, 2000.

MURRAY, P.R., BARON, E.J., PFALLER, M.A., TENOVER, F.C., YOLKEN, R.H. *Manual of Clinical Microbiology* 6. ed. ASM Press, Washington, D.C., 1482p. 1995.

NOBRE, M.O.; CASTRO, A.P.; NASCENTE, P.S. Occurrence of *Malassezia pachydermatis* and other infectious agents as cause of external otitis in dogs from Rio Grande do Sul State, Brazil (1996/1997). *Braz. J. Microbiol.*, v.32, 245-249, 2001.

NOXON, J.O. Otite Externa. In: BIRCHARD, S.J. SHERDING, R.G. *Manual Saunders – Clínica de Pequenos Animais*. São Paulo: Roca, 1998.

OLIVEIRA, S.J. *Microbiologia Veterinária: Guia bacteriológico prático*. 2. ed. Ed. ULBRA, Canoas, 2000, 240 p.

QUINN, P.J.; CARTER, M.E.; MARKEY, B. & CARTER, G.R. *Clinical Veterinary Microbiology*. Edimburgh: MOSBY Harcourt Publishers Limited, 648 p., 1999.

QUINN, P.J., MARKEY, B.K., CARTER, M.E., DONNELLY, W.J.C., LEONARD, F.C., MAGUIRE, D. *Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas*. ARTMED, Porto Alegre, 512 p., 2005.