

CARACTERIZAÇÃO DE RESISTÊNCIA E SENSIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS DE BACTÉRIAS ISOLADAS EM OTITE EXTERNA DE CÃES NA CIDADE DE CASCAVEL-PARANÁ

GARCIA, Wagner Jacques ¹
FREITAS, Edmilson Santos de ²

RESUMO

A otite canina pode ser definida como um processo inflamatório dos condutos auditivos dos cães, é causada por agentes infecciosos, dentre eles, fungos e bactérias. A infecção otológica resulta em desconforto e dor intensa ao animal acometido, pode gerar secreção purulenta, mau cheiro, hiperemia, edema e até mesmo, acarretar em perda da função do órgão. A pesquisa foi realizada com base em dados fornecidos por um laboratório veterinário particular da cidade de Cascavel-PR. Foram selecionadas 66 amostras, as quais foram recebidas entre janeiro de 2017 a agosto de 2018, sendo elas, exsudatos óticos coletados em clínicas conveniadas, de animais que apresentaram sintomatologia de pacientes otopatas. Teve por objetivo investigar a etiologia de bactérias e sensibilidade “in vitro” a antimicrobianos. O antibiograma é uma forma de identificar qual antibiótico é o mais adequado para o microrganismo isolado. A metodologia do processo consiste em distribuir diversos tipos de antibióticos em pequenos sítios em um papel feltro, com diferentes tipos de antibióticos. A bactéria irá formar um diâmetro feito pela inibição de crescimento, e por esta medida é classificada em intermediária, sensível e resistente. 43 amostras foram positivas, sendo que *Staphylococcus aureus* foi o agente mais isolado (58,14%). Os patógenos mostraram sensibilidade em maior quantidade para Imipeném (80,00%), Norfloxacin (71,43%) e Amoxicilina com Ácido Clavulânico (59,46%). Ocorrência de resistência foi observada em Eritromicina (69,23%), Estreptomicina (65,38%) e Penicilina (64,29%). Os casos ocorreram principalmente nos primeiros anos de idade, em animais sem raça definida, no período do primavera e verão.

PALAVRAS-CHAVE: Laboratório. Cultura. Antibiótico.

1. INTRODUÇÃO

A otite canina pode ser definida como um processo inflamatório, que acomete os condutos auditivos dos cães, principalmente a porção externa, e é causada por agentes infecciosos, dentre eles, fungos e bactérias (NELSON e COUTO, 2015).

A infecção otológica resulta em desconforto e dor intensa ao animal acometido, e em consequência à proliferação de agentes patogênicos na microflora do canal auditivo, podendo gerar secreção purulenta, mau cheiro, hiperemia, edema e até mesmo, acarretar em perda da função do órgão (ETTINGER e FELDMAN, 2016).

Tendo em vista a estreita convivência entre humanos e animais de companhia, e do potencial zoonótico de certas afecções na atualidade, torna-se necessário fazer uma reflexão acerca do uso consciente de antibióticos, pois a escolha apropriada do antimicrobiano a ser utilizado, garante não apenas o sucesso terapêutico, como também impede a resistência de microrganismos às drogas que já estão sendo utilizadas no mercado (OLIVEIRA et al. 2006).

¹ Acadêmico do Curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário Fundação Assis Gurgacz – FAG. E-mail: wagner_jacques_garcia@hotmail.com

² Professor do Curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário Fundação Assis Gurgacz – FAG. E-mail: edmilsonfreitas@hotmail.com

Com base nisso, estipulou-se como problema de pesquisa: quais os antibióticos que se provam eficazes para combate de otite canina na cidade de Cascavel-PR. Visando responder ao problema proposto, foi objetivo desse artigo determinar e eleger os melhores antibióticos para os agentes microbianos da enfermidade explanada. De modo específico, este trabalho objetivou levantar dados obtidos pelo laboratório, computar dados a fim de gerar percentuais significativos e apresentar como trabalho de conclusão de curso.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A otite canina pode ser definida como uma inflamação do epitélio do conduto auditivo, sendo que a mais observada é a do tipo externa e representa 20% das enfermidades que acometem o conduto auditivo de cães. Os sinais clínicos mais comuns são prurido, seguido de mau cheiro e eritema. Também excesso de cerume, dor e ainda úlceras. Em casos mais extremos podem ser evidenciados oto-hematomas e perda da função do órgão. A sua etiologia é multifatorial e pode atingir a todas as espécies, porém alguns fatores são descritos como predisponentes para que animal seja acometido por esta afecção, como hipertricose, umidade e o animal possuir orelhas pendulares. Pode citar também fatores internos como corpos estranhos, parasitas, fungos e bactérias como causadores da doença. Os microrganismos mais isolados em casos de otite externa de cães são *Staphylococcus sp.* e *Malassezia pachydermatis* (MEGID et al. 1990; ALMEIDA et al. 2016).

A escolha correta do antibiótico a ser utilizado, em casos onde foram isoladas bactérias como agentes etiológicos da afecção, tem como objetivo obter sucesso terapêutico, por outro lado existem diversos microrganismos que desenvolveram resistência por conta do uso incorreto e exacerbado de antimicrobianos e ainda permitem que a infecção se torne crônica. Desta maneira, tornam-se necessários exames que comprovem qual seria o antibiótico de melhor escolha para o microrganismo que está causando a otite, como o antibiograma (OLIVEIRA et al. 2006).

O antibiograma é uma forma de identificar qual antibiótico é o mais adequado para o microrganismo isolado. A metodologia do processo consiste em distribuir diversos tipos de antibióticos em pequenos sítios em um papel filtro, com diferentes tipos de antibióticos. A bactéria irá formar um diâmetro feito pela inibição de crescimento, e por esta medida é classificada em intermediária, sensível e resistente (FONSECA, 2015).

O tratamento desta enfermidade tem por objetivo a limpeza e secagem das orelhas a fim de reduzir a inflamação, a terapia antibacteriana é o tratamento de eleição. Recomenda-se que a limpeza

seja feita sobre efeito de anestesia para que animal não sinta dor, porém principalmente deve descobrir qual é a causa primária da enfermidade, para evitar recidivas. Desta maneira, o antibiograma se prova como melhor forma de diagnóstico para a escolha do antimicrobiano correto. Em casos crônicos ou agudos de caráter inicial pode optar pelo tratamento cirúrgico. Dentre as cirurgias mais frequentes pode citar a ressecção do canal auditivo, ablação total do conduto auditivo e osteotomia lateral da bula (PATEL e FORSYTHE, 2010).

As bactérias vêm adquirindo resistentes a antimicrobianos, isso é devido a mutações cromossômicas e modificações na estrutura da membrana plasmática que bloqueiam o agente de insensibilizar a bactéria. Esse fenômeno ocorre por conta do mau uso de antibióticos, que fazem com que agentes se tornem resistentes até às novas drogas produzidas no mercado. Desta maneira, é necessária a continuidade de pesquisas na área, sendo uma proposta de mercado em ascendência, pois os organismos patogênicos em animais podem causar diferentes doenças no ser humano, então é considerado um problema de saúde pública (PAZIAN e SASS, 2016).

Segundo Madigan et al. (2016), as bactérias contêm uma estrutura conhecida como pili, dentre suas funções, uma delas é a troca genética entre as células. No qual é chamada de conjugação bacteriana, assim resultando em bactérias super-resistentes aos antimicrobianos.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada com base em dados fornecidos por um laboratório veterinário particular da cidade de Cascavel-PR. Foram selecionadas 66 amostras, as quais foram recebidas entre janeiro de 2017 a agosto de 2018, sendo elas, exsudato ótico coletados em clínicas conveniadas, de animais que apresentaram sintomatologia de pacientes otopatas.

O material analisado foi obtido através de swabs estéreis e transportado em meio Stuart. Os pacientes apresentavam classificações específicas, como raças, idade e gênero. Os dados observados ao longo do estudo foram tabulados e assim obtiveram-se percentuais significativos como sensibilidade e resistência aos fármacos testados e caráter sazonal da enfermidade.

A tabela 1 demonstra os discos de antibióticos testados para os agentes diagnosticados no presente estudo.

Tabela 1 – Antimicrobianos testados “in vitro” nas 43 amostras processadas no período de janeiro de 2017 a agosto de 2018.

Antimicrobianos	
Amicacina	Imipeném
Amoxicilina com Ácido Clavulânico	Neomicina
Cefalexina	Norfloxacina
Doxiciclina	Penicilina
Eritromicina	Vancomicina
Estreptomicina	

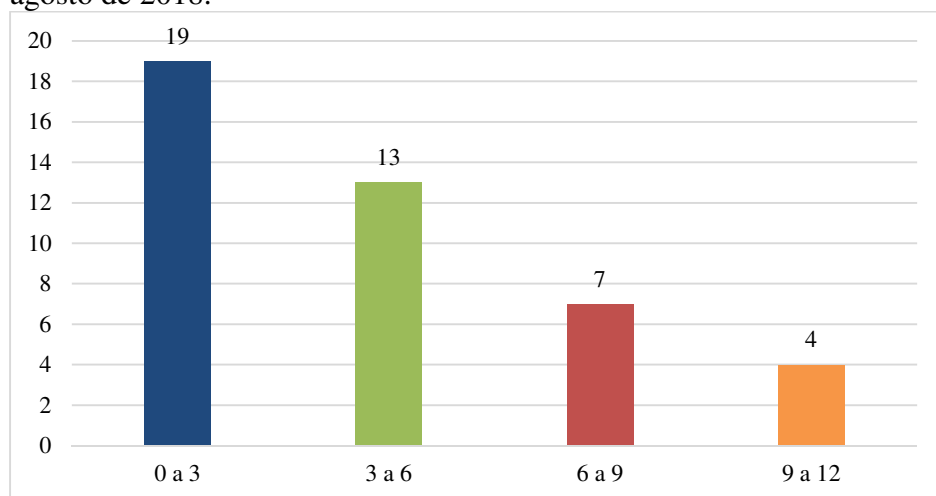
Fonte: Dados da Pesquisa (2018)

4. ANÁLISES E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Dentre o total 66 amostras de secreções otológicas de cães computadas ao longo da pesquisa, 43 amostras apresentaram-se positivas e 23 negativas para crescimento microbiano.

Diversos autores relatam a maior prevalência da ocorrência de casos de otite em cães com idade igual ou maior que quatro anos (OLIVEIRA et al. 2012). Porém, foi observado maior prevalência de amostras positivas com a idade de zero a três anos 19 (44,19%), de acordo com que se observa no gráfico 1. As amostras que foram submetidas ao cultivo microbiológico, pertenciam a cães entre zero e 12 anos de idade, onde 29 (67,44%) eram do sexo feminino e 14 (32,56%) do sexo masculino. Houve maior prevalência de cães do sexo feminino, o mesmo foi observado por Cunha et al. (2003), o que demonstra que a raça dos animais pode ser considerada fator predisponente para este tipo de enfermidade.

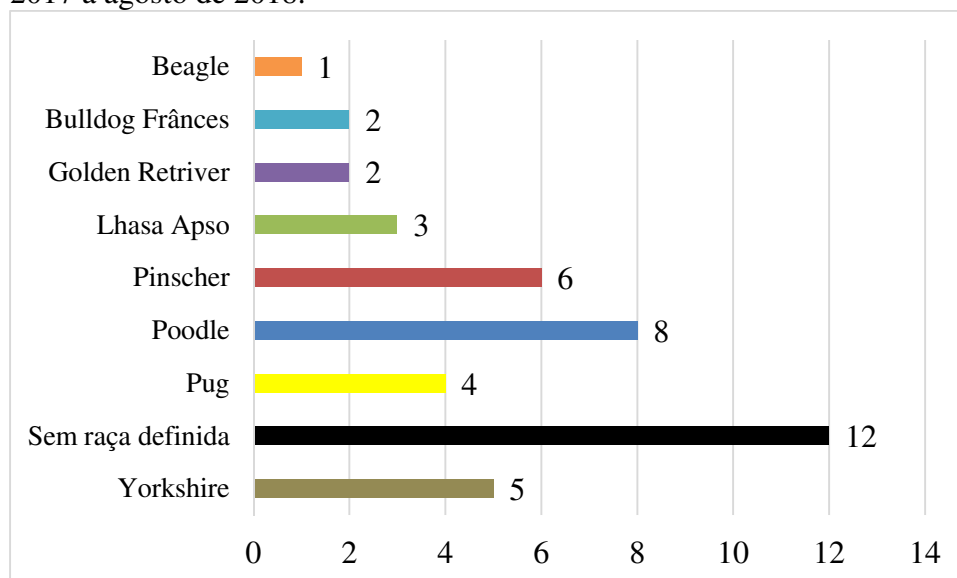
Gráfico 1 – Ocorrência de otite em 43 cães, segundo a faixa etária. Cascavel, PR, janeiro de 2017 a agosto de 2018.



Fonte: Dados da Pesquisa (2018)

Nesta pesquisa, a maioria dos cães acometidos por esta afecção foram os que possuíam orelhas pendulares ou pelos em seus orifícios auditivos, tendo predomínio de animais sem raça definida 12 (27,91%), seguidos de Poodle 8 (18,60%), Pinscher 6 (13,95%), YorkShire 5 (11,63%), Pug 4 (9,30%), Lhasa Apso 3 (6,98%), Golden Retriever e Bulldog Francês 2 (4,65%) e Beagle 1 (2,33%) (Gráfico 2). O mesmo fenômeno foi evidenciado por Cunha et al. (2003). A anatomia desses animais pode predispor a este tipo de problema, pois cria um ambiente propício para crescimentos destes microrganismos, que atuam como agentes que instituem um processo inflamatório e desequilibram a microbiota normal do órgão (GOTTHELF, 2007).

Gráfico 2: Ocorrência de otite em 43 cães, divididos entre diferentes raças. Cascavel, PR, janeiro de 2017 a agosto de 2018.



Fonte: Dados da Pesquisa (2018)

No estudo, foram isolados 11 diferentes tipos de bactérias, as quais três eram Gram positivas (*Staphylococcus sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus sp*) e oito eram Gram negativas (*Pseudomonas aeruginosa*, *Citrobacter sp.*, *Acinetobacter sp.*, *Haemophilus sp.*, *Proteus sp.*, *Actinobacillus sp.*, *Alcaligenes sp.*, *Klebsiella sp*). No entanto, mesmo que a maioria dos agentes isolados foi de caráter Gram negativo, houve maior incidência de casos de otite externa causados por bactérias Gram positivas 30 (70%), que de Gram negativas 13 (30%). A mesma informação foi encontrada em outras pesquisas (Tunon et al., 2008; Ishii et al., 2011; Martins et al., 2011; Guimarães et al. 2017).

Nesse levantamento como demonstra a tabela 2, a bactéria mais frequente foi o *Staphylococcus aureus* 25 (58,14%). Estudos realizados por Oliveira et al. (2012) e Oliveira et al. (2006) apontam a

maior ocorrência deste agente em casos de otite canina. A alta frequência deste patógeno é explicada pelo fato de serem encontrados na microbiota normal do ouvido de cães saudáveis, serem comensais da pele e ainda considerados oportunistas (TULESKI, 2007). Tater et al. (2003) e Yoshida (2002) ainda ressaltam que bactérias Gram negativas só são encontradas na microbiota do ouvido quando há presença de infecção, raramente sendo encontradas em animais saudáveis.

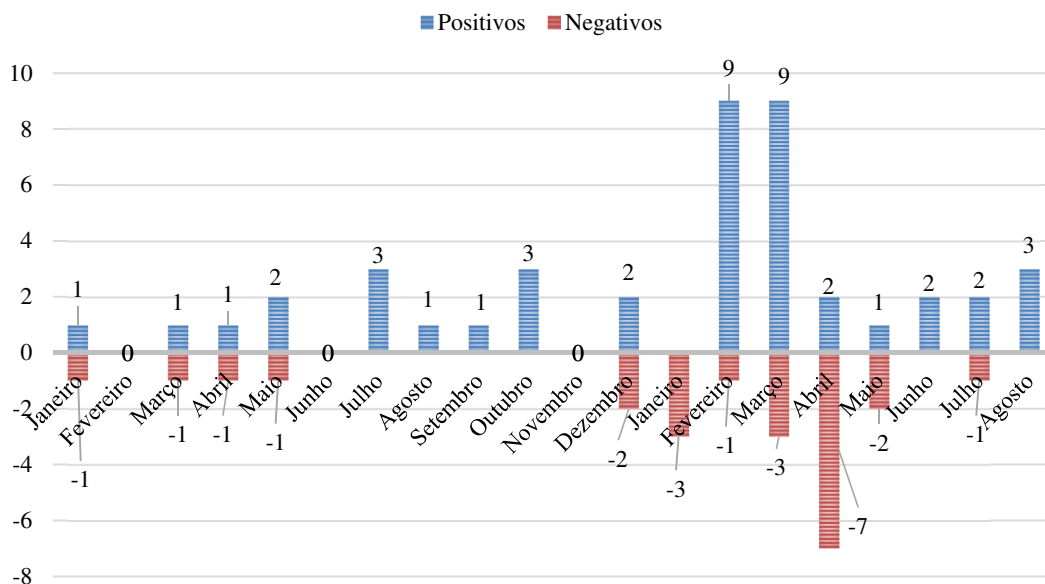
Tabela 2: Agentes bacterianos isolados em 43 amostras de secreções otológicas de cães com otite. Cascavel, PR, janeiro de 2017 a agosto de 2018.

Agente isolados	Gram	Nº de amostras	Percentual
<i>Acinetobacter sp.</i>	Negativa	2	4,65%
<i>Actinobacillus sp.</i>	Negativa	1	2,33%
<i>Alcaligenes sp.</i>	Negativa	1	2,33%
<i>Citrobacter sp.</i>	Negativa	1	2,33%
<i>Enterococcus sp.</i>	Positiva	1	2,33%
<i>Haemophilus sp.</i>	Negativa	1	2,33%
<i>Klebsiella sp.</i>	Negativa	1	2,33%
<i>Proteus sp.</i>	Negativa	1	2,33%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Negativa	5	11,63%
<i>Staphylococcus aureus</i>	Positiva	25	58,14%
<i>Staphylococcus sp.</i>	Positiva	4	9,30%
Total		43	100,0%

Fonte: Dados da Pesquisa (2018)

Ao identificar e tabular os agentes infecciosos apresentados no estudo, gerou-se um gráfico de sazonalidade de positividade e negatividade para crescimento microbiano, cujo o objetivo era identificar padrões de afecções em diferentes estações do ano. Na pesquisa realizada por Alves (2016) foi observado que a maioria dos casos de otite canina ocorreu no início do verão. Este dado foi relacionado pela autora ao fato de estar ligado a alergias sazonais, como dermatite atópica. Ela cita também que nesta estação do ano os pacientes ficam mais expostos a ambientes úmidos e os proprietários aumentam a frequência de banhos dos animais. O que corrobora com dados obtidos apresentados no Gráfico 3.

Gráfico 3: Número de amostras positivas e negativas testadas para otite externa canina. Cascavel, PR, janeiro de 2017 a agosto de 2018.



Fonte: Dados da Pesquisa (2018)

Nota-se na Tabela 3 que os principais agentes bacterianos isolados apresentaram maior sensibilidade “in vitro” para Imipeném (80,00%), Norfloxacin (71,43%) e Amoxicilina com Ácido Clavulânico (59,46%). Pesquisas realizadas por Oliveira et al. (2012) também evidenciaram agentes com maior sensibilidade “in vitro” para Norfloxacin e Oliveira et al. (2005), citam o Imipeném e a Amoxicilina com ácido clavulânico com estas mesmas características.

Os antimicrobianos que tiveram sucesso parcial de sensibilidade considerado como intermediários ao combate dos microrganismos testados foram a Amicacina (41,18%), Vancomicina (37,50%) e Doxíciclina (37,04%). Classifica-se os antibióticos intermediários ou também chamados de parcialmente sensíveis aqueles que não inibem o crescimento por completo do microrganismo “in vitro”, tendo em vista uma possibilidade de tratamento com o mesmo, porém havendo certos riscos de ineficácia (MADDISON et al. 2010).

A ocorrência de resistência das linhagens de bactérias ocorreu principalmente para estes antimicrobianos: Eritromicina (69,23%), Estreptomicina (65,38%) e Penicilina (64,29%). A resistência a um fármaco pode estar relacionada à presença de plasmídeos R, que são os elementos que transferem resistência de uma bactéria a uma determinada droga ou à transferência de material genético. Porém, linhagens de bactérias Gram positivas, raramente adquirem esta substância, dessa maneira, pode então estar relacionada a um processo de mutação dos patógenos e recombinação de genes dos mesmos (ANDRADE, 2008).

Tabela 3: Perfil de sensibilidade microbiana “in vitro”, obtida através do teste de difusão com discos, em amostras bacterianas de 43 casos de otite canina. Cascavel, PR, janeiro de 2017 a agosto de 2018.

Antibióticos	Resistente		Intermediário		Sensível	
	nº de resistentes		nº de intermediários		nº de sensíveis	
	nº de testados (%)		nº de testados (%)		nº de testados (%)	
Amicacina	8/34	(23,53%)	14/34	(41,18%)	12/34	(35,29%)
Amoxicilina com ác. Clavulânico	8/37	(21,62%)	7/37	(18,92%)	22/37	(59,46%)
Cefalexina	9/24	(37,50%)	5/24	(20,83%)	10/24	(41,67%)
Doxiciclina	11/27	(40,74%)	10/27	(37,04%)	6/27	(22,22%)
Eritromicina	9/13	(69,23%)	3/13	(23,08%)	1/13	(7,69%)
Estreptomicina	17/26	(65,38%)	4/26	(15,38%)	5/26	(19,23%)
Imipeném	1/20	(5,00%)	3/20	(15,00%)	16/20	(80,00%)
Neomicina	11/24	(45,83%)	7/24	(29,17%)	6/24	(25,00%)
Norfloxacina	1/14	(7,14%)	3/14	(21,43%)	10/14	(71,43%)
Penicilina	18/28	(64,29%)	3/28	(10,71%)	7/28	(25,00%)
Vancomicina	11/24	(45,83%)	9/24	(37,50%)	4/24	(16,67%)

Fonte: Dados da Pesquisa (2018)

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Logo conclui-se que das 66 amostras recebidas no laboratório de animais com sintomatologia de pacientes otopatas, dentre elas, 43 foram positivas, sendo que *Staphylococcus aureus* foi o agente mais isolado (58,14%). Os patógenos mostraram sensibilidade principalmente para Imipeném (80,00%), Norfloxacina (71,43%) e Amoxicilina com Ácido Clavulânico (59,46%). Houve a ocorrência de resistência em Eritromicina (69,23%), Estreptomicina (65,38%) e Penicilina (64,29%). Os casos ocorreram principalmente nos animais com zero a três anos de idade, e principalmente em animais sem raça definida, com predileção da enfermidade no período do primavera e verão.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, M.S.; SANTOS, S.B.; MOTA, A.R.; SILVA, L.T.R.; SILVA, L.B.G.; MOTA, R.A. Isolamento microbiológico do canal auditivo de cães saudáveis e com otite externa na região metropolitana de Recife, Pernambuco. **Pesq. Vet. Bras.** 36(1):29-32, janeiro 2016.
- ALVES, S.V.G. **Identificação de otite externa em cães apresentados à consulta vacinal.** Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias Faculdade de Medicina Veterinária. Lisboa, 2016.
- ANDRADE, S.F. **Manual de Terapêutica Veterinária.** 3ed. São Paulo: Roca, 2008. 912 pág.

- CUNHA, F. M.; COUTINHO, S. D.; MATERA, A.; FIORIO, W. A. B.; RAMOS, M. C.; SILVEIRA, L. M.G. Avaliação clínica e citológica do conduto auditivo externo de cães com otite. **Revista Educação Continuada CRMV-SP**, São Paulo, v. 6, n. 1-3, p. 7-15, 2003.
- ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária**. 5ed. Vol. 2. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016.
- GUIMARÃES, C.D.O.; FERREIRA, C.S.; DA SILVA, K.M.C.; VIEIRA, A.B.R.; VIEIRA, J.M.S. Isolamento bacteriano e suscetibilidade microbiana em amostras biológicas de cães. **PUBVET**. v.11, n.2, p.168-175, Fev., 2017.
- FONSECA, I.C.F. **Relato das atividades realizadas no laboratório de microbiologia veterinária da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária – UnB**. Universidade de Brasília – Faculdade de agronomia e medicina veterinária. Brasília, 2015.
- GOTTHELF, G. N. **Doenças do ouvido em pequenos animais**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2007. 356 p.
- ISHII, J. B., FREITAS, J. C.; ARIAS, M. V. B. Resistência de bactérias isoladas de cães e gatos no Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina (2008-2009). **Pesquisa Veterinária Brasileira**. 31, 533-537, 2011.
- MADIGAN, M.T.; MARTINKO, J.M.; BENDER, K.S.; BUCKLEY, D.H.; STAHL, D.A. **Microbiologia de brock**. 14. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016. p.1006
- MADDISON, J.E.; PAGE, S.W.; CHURCH, D.B. **Farmacologia Clínica**. Tradução da 2 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.
- MARTINS, E. A., MOMESSO, C. S., NARDO, C. D. D.; CASTRO, K. F., ATIQUÊ, T. S. C., NETTO, H. A.; FURINI, A. A. C. Estudo clínico e microbiológico de otite externa de cães atendidos em hospital veterinário do noroeste paulista. **Acta Veterinaria Brasilica**. 5, 61-67, 2011.
- MEGID, J.; FREITAS, J.C.; MULLER, E.E.; COSTA, L.L.S. Otite canina: Etiologia, sensibilidade antibiótica e suscetibilidade animal. **Semina**. 11(1): 45-48, 1990.
- NELSON, R.W.; COUTO, C.G. **Medicina Interna de Pequenos Animais**. 5 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015.
- OLIVEIRA, L.C.; BRILHANTE, R.S.N.; CUNHA, A.M.S.; CARVALHO, C.B.M. Perfil de isolamento microbiano em cães com otite média e externa associadas. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.58, n.6, p.1009-1017, 2006.
- OLIVEIRA, V.B.; RIBEIRO, M.G.; ALMEIDA, A.C.S.; PAES, A.C.; CONDAS, L.A.Z.; LARA, G.H.B.; FRANCO, M.M.J.; FERNANDES, M.F.; LISTONI, F.J.P. Etiologia, perfil de sensibilidade aos antimicrobianos e aspectos epidemiológicos na otite canina: estudo retrospectivo de 616 casos. **Semina: Ciências Agrárias**. Londrina, v. 33, n. 6, p. 2367-2374, nov./dez. 2012.

PATEL, A.; FORSYTHE, P. **Dermatologia em pequenos animais**. 1 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. p.379

PAZIAN, G.M.; SASS, Z.F.S. Resistência bacteriana a antibióticos. **Revista Cesumar – Ciências humanas e sociais aplicadas**. V 11, n 1, pag 157-163. JAN/JUN, 2006.

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.

TULESKI, G.L.R. **Avaliação da prevalência infecciosa e da sensibilidade *in vitro* aos antimicrobianos em otites de cães**. Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2007.

TUNON, G. I. L., SILVA, E. P.; FAIERSTEIN, C. C. Isolamento de estafilococos multirresistentes de otites em cães e sua importância para a saúde pública. **BEPA. Boletim Epidemiológico Paulista**, 2008.

TRABULSI, L.R. **Microbiologia**. 2 ed. São Paulo: Atheneu, 1989.

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.