

DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO E MULTIRRESISTÊNCIA BACTERIANA *IN VITRO* DE OTITE EXTERNA DE CÃES – COMUNICAÇÃO CURTA

Leopoldo Augusto Moraes¹
Jessica Marisa Mendes Pereira²
Sandro Patroca Silva²
Vânia Maria Trajano da Silva Moreira³
Alexandre do Rosário Casseb³

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi pesquisar os principais agentes bacterianos causadores de otite externa canina e verificar a sensibilidade *in vitro* dos agentes frente a 15 antimicrobianos. Foram coletadas 57 amostras de secreções otológicas provenientes de 39 cães com otite externa, posteriormente semeadas em meio de Ágar sangue de carneiro a 5%, ágar MacConkey, ágar Sabouraud, caldo cérebro-coração e incubados a 37°C para a identificação microbiana, que foi realizada pela morfologia de colônia, coloração pelo método de Gram, produção de pigmento e provas bioquímicas. Foram isolados: *Staphylococcus* spp. (37,8%), *Streptococcus* spp. (12,2%), *Bacillus* spp. (7,32%), *Proteus* spp. (10,98%), *Escherichia coli* (3,66%), *Klebsiella* spp. (1,22%), bacilos Gram negativos não fermentadores: *Pseudomonas aeruginosa* (17,07%) e não identificados (9,76%); leveduras (13,68%): *Candida albicans* (15,38%) e *Malassezia pachydermatis* (84,62%). A susceptibilidade a antimicrobianos foi avaliada com o uso dos seguintes fármacos: gentamicina (68,6%), norfloxacin (61,11%), enrofloxacin (58,33%), amicacina (54,17%), estreptomicina (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%). O agente microbiano prevalente foi *Staphylococcus* spp. e as espécies bacterianas causadoras de otite externa nos cães estudados foram multirresistentes.

Palavras-chave: micro-organismos, multirresistência, otite externa, cães

MICROBIOLOGICAL DIAGNOSIS AND BACTERIAL MULTIRESISTANCE *IN VITRO* OF EXTERNAL OTITIS OF DOGS - SHORT COMMUNICATION

ABSTRACT

The aim of this work has been researching the main microbiological agents causing canine otitis externa and evaluate the *in vitro* sensitivity of bacterial agents front 15 antimicrobials. Were investigated 57 samples of ear secretion from 39 dogs. The samples were cultured in 5% sheep blood agar, agar MacConkey, agar Sabouraud, Brain-heart infusion and incubated 37°C. Microbial identification was made through the morphology of the colony, Gram, production of pigment and biochemical evidence. Have been isolated: *Staphylococcus* spp. (37.8%), *Streptococcus* spp. (12.2%), *Bacillus* spp. (7.32%), *Proteus* spp. (10.98%), *Escherichia coli* (3.66%), *Klebsiella* spp. (1.22%), non-fermenting Gram negative bacilli: *Pseudomonas aeruginosa* (17.7%), unidentified (9.76%) and yeasts (13.68%): *Candida albicans* (84 62%) and *Malassezia pachydermatis* (15.38%). Antimicrobial susceptibility was evaluated using the following drugs: gentamicin (68.6%), norfloxacin (61.8%), enrofloxacin

¹ Aluno de Pós-Graduação no Núcleo de Ciências Agrárias e Desenvolvimento Rural, Universidade Federal do Pará,

² Aluno(a) de Pós-Graduação no Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará.

³ Professor do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural da Amazônia. Av. Pres. Tancredo Neves, s/n°. Bairro: Terra Firme. CEP 66077-530. Belém- (PA).

(58.33%), amikacin (54.5%), streptomycin (48.61%), tetracycline (29.5%), ciprofloxacin (27.78%), chloramphenicol (25.00%), cefalexin (23.61%), florfenicol (6.6%), ceftriaxone (12,50%), cefalotin (11.9%), sulfonamides (5.56%), penicillin G (2.78%) and nalidixic acid (1.39%). The most prevalent microbial agent was *Staphylococcus* spp. and the bacterial species of external otitis in the studied dogs were multidrug resistant.

Keywords: microorganisms, multidrug-resistance, otitis externa, dogs

DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO Y RESISTENCIA MULTIDROGA BACTERIANA *IN VITRO* DE LA OTITIS EXTERNA EN PERROS – COMUNICACIÓN CORTA

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue investigar los principales agentes microbianos causantes de otitis externa canina y verificar la sensibilidad *in vitro* de los agentes bacterianos a 15 antimicrobianos. Fueron colectados 57 muestras de secreciones otológicas provenientes de 39 perros con otitis externa, posteriormente sembradas en medio de Agar sangre de carnero a 5%, agar MacConkey, agar Sabouraud, caldo cerebro corazón e incubados a 37°C para identificación microbiana, que fue realizada a través de morfología de colonia, coloración por método de Gram, producción de pigmento y pruebas bioquímicas. Fueron aislados *Staphylococcus* spp. (37,8%), *Streptococcus* spp. (12,2%), *Bacillus* spp. (7,32%), *Proteus* spp. (10,98%), *Escherichia coli* (3,66%), *Klebsiella* spp. (1,22%), bacilos Gram negativos no fermentadores: *Pseudomonas aeruginosa* (17,07%) y no identificados (9,76%); levaduras (13,68%): *Candida albicans* (15,38%) e *Malassezia pachydermatis* (84,62%). La susceptibilidad a los antimicrobianos fue evaluada con el uso de los siguientes fármacos: gentamicina (68,6%), norfloxacin (61,11%), enrofloxacin (58,33%), amikacin (54,17%), estreptomycin (48,61%), tetraciclina (29,17%), ciprofloxacin (27,78%), cloranfenicol (25,00%), cefalexin (23,61%), florfenicol (18,06%), ceftriaxona (12,50%), cefalotina (11,11%), sulfonamidas (5,56%), penicilina G (2,78%) y ácido nalidíxico (1,39%). El agente microbiano más prevalente fue *Staphylococcus* y las especies bacterianas causadoras de otitis externa en los perros estudiados son multirresistentes

Palabras clave: microorganismos, multirresistencia, otitis externa, perros

Com a emergência de grande proporção de cepas bacterianas resistentes aos antibióticos comumente utilizados nos casos de otite externa canina aumenta a necessidade de realização de cultura bacteriana e antibiograma (1, 2). O objetivo deste trabalho foi pesquisar os principais micro-organismos que podem causar otite externa canina, assim como verificar a sensibilidade *in vitro*.

Foram analisadas 57 amostras de secreções otológicas provenientes de 39 cães atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA). As amostras foram coletadas assepticamente, de cães que apresentavam sinais clínicos de otite externa, sendo confeccionados esfregaços que foram corados pela técnica de Gram e observados em microscopia comum com objetiva de imersão (1000X). Em seguida foram semeadas em meio de ágar sangue de carneiro a 5%, ágar MacConkey, ágar Sabouraud, caldo cérebro-coração e incubadas a 37°C. As espécies microbianas foram identificadas com base na morfologia de colônia, coloração pelo método de Gram, produção de pigmentos e provas bioquímicas (3).

Para realização dos testes de sensibilidade dos micro-organismos a antimicrobianos (Tabela 1), foi utilizado o método de Bauer et al. (4). Para análise estatística foi utilizado o teste do qui-quadrado (χ^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 (5).

Foram isolados: *Staphylococcus* spp. (37,8%), *Streptococcus* spp. (12,2%), *Bacillus* spp. (7,32%), *Proteus* spp. (10,98%), *Escherichia coli* (3,66%), *Klebsiella* spp. (1,22%), bacilos Gram negativos não fermentadores: *Pseudomonas aeruginosa* (17,07%) e não identificados (9,76%); leveduras (13,68%): *Candida albicans* (15,38%) e *Malassezia pachydermatis* (84,62%).

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 ($p < 0.0001$). Outros estudos observaram resistência em pelo menos um antimicrobiano em 55,6% dos casos e multidroga resistência em 35,2% das cepas (6). Comparando a resistência entre os antimicrobianos, o estudo de Cruz, Paes e Siqueira (7), mostrou que tanto para micro-organismos Gram + e Gram – os maiores índices de resistência corresponderam a classe das tetraciclina, diferente do presente relato onde as bactérias foram sensíveis a tal antimicrobiano.

Observa-se que todas as bactérias isoladas foram multirresistentes, observando-se ainda, duas amostras de *Staphylococcus* spp. que se apresentaram resistentes a todos os antibióticos utilizados (Tabela 1). Esse dado difere do estudo de Cruz, Paes e Siqueira (7) onde tal grupo não apresentou altos índices de multirresistência.

Tabela 1. Isolamento bacteriano e porcentagem de resistência aos antimicrobianos testados.

Antimicrobianos	Gram+ N=47	%	Gram- N=35	%	Total N=82	%
Aminoglicosídeos						
Gentamicina	24	51,06	25	71,43	49	59,76
Amicacina	21	44,68	18	51,43	39	47,56
Estreptomina	17	36,17	18	51,43	35	42,68
Quinolonas						
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
Ácido Nalidíxico	-	-	1	2,86	1	1,22
Sulfas						
Sulfonamida	2	4,26	2	5,71	4	4,88
Cefalosporinas						
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
Tetraciclina						
Tetraciclina*	15	31,91	6	17,14	21	25,61
Cloranfenicol						
Cloranfenicol	11	23,40	7	20,00	18	21,95
Florfenicol	5	10,64	8	22,86	13	15,85
Penicilinas						
Penicilina G	2	4,26	-	-	2	2,44
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

** Espécies bacterianas resistentes a dois ou mais antimicrobianos.

REFERÊNCIAS

1. Cole LK, Kwochka KW, Kowalsky JJ, Hillier A. Microbial flora and antimicrobial susceptibility patterns of isolated pathogens from the horizontal ear canal and middle ear in dogs with otitis media. *J Am Vet Med Assoc.* 1998;212:534-8.
2. Tuleski GLR. Avaliação da prevalência infecciosa e da sensibilidade *in vitro* aos antimicrobianos em otites de cães [dissertação]. Curitiba: Universidade Federal do Paraná; 2007.
3. Ikram M. Microbiology. In: Pratt PW. *Laboratory procedures for veterinary technicians.* Missouri: Mosby; 1997. p.119-258.
4. Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol.* 1966;45:493-6.
5. Ayres M, Ayres JRM, Ayres DL, Santos AS. *BioEstat 5.0-Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas.* Belém: Sociedade Civil Mamirauá; Brasília CNPq; 2007.
6. Oliveira LC, Brilhante RSN, Cunha AMS, Carvalho CBM. Perfil de isolamento microbiano em cães com otite média e externa associada. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2006;58:1009-17.
7. Cruz AR, Paes AC, Siqueira AK. Perfil de sensibilidade de bactérias patogênicas isoladas de cães frente a antimicrobianos. *Vet Zootec.* 2012;19:601-10.

Recebido em: 06/02/2013

Aceito em: 22/05/2013