

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA - FAMEV

VITÓRIA RIBEIRO PINTO PORTO

**IDENTIFICAÇÃO E TESTE DE SENSIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS DE
BACTÉRIAS EM AMOSTRAS OTOLÓGICAS DE CANINOS COM
HIPERCORTISOLISMO E HIPOTIREOIDISMO – ESTUDO DE CASO CONTROLE
PAREADO**

UBERLÂNDIA

2022

VITÓRIA RIBEIRO PINTO PORTO

**IDENTIFICAÇÃO E TESTE DE SENSIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS DE
BACTÉRIAS EM AMOSTRAS OTOLÓGICAS DE CANINOS COM
HIPERCORTISOLISMO E HIPOTIREOIDISMO – ESTUDO DE CASO CONTROLE
PAREADO**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Faculdade de Medicina
Veterinária da Universidade Federal de
Uberlândia, como exigência para a
conclusão da graduação

Orientador: Prof^a. Dr^a. Sofia Borin
Crivellenti

UBERLÂNDIA

2022

VITÓRIA RIBEIRO PINTO PORTO

**IDENTIFICAÇÃO E TESTE DE SENSIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS DE
BACTÉRIAS EM AMOSTRAS OTOLÓGICAS DE CANINOS COM
HIPERCORTISOLISMO E HIPOTIREOIDISMO – ESTUDO DE CASO CONTROLE
PAREADO**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Faculdade de Medicina
Veterinária da Universidade Federal de
Uberlândia, como exigência para a
conclusão da graduação

Orientador: Prof^a. Dr^a. Sofia Borin
Crivellenti

Banca Examinadora:

Prof^a Dr^a Sofia Borin Crivellenti

UFU

Prof^a Dr^a Carolina Franchi João

UFU

Me Luana Branco

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a minha mãe, Maria Angelica, por sempre me apoiar nas minhas escolhas e estar ao meu lado me auxiliando durante todos esses anos, nos momentos bons e principalmente nos ruins, essa conquista é mais sua do que minha, sem você seria impossível chegar aonde cheguei, você é meu exemplo de mulher forte, decidida e independente e espero um dia ser uma pessoa incrível como você. A minha prima Fernanda, que é mais uma irmã, por todas as risadas e momentos de descontração que tivemos juntas, pelo tempo em que moramos juntas e por todos os desabafos que foi obrigada a escutar.

Agradeço a minha namorada Maressa por durante esses dois anos me incentivar a melhorar sempre, por ser meu porto seguro, me ouvir quando eu mais precisava e me dar o apoio e carinho, obrigada por acreditar em mim quando nem eu acredito e por nunca me deixar desistir, mesmo quando parecia impossível. Você é um exemplo de pessoa e profissional e como eu sempre digo, espero um dia ter metade da sua capacidade. Obrigada também por dividir sua vida comigo e me tornar uma pessoa e profissional melhor a cada dia.

Agradeço a minha professora e orientadora Sofia por ter me dado a oportunidade de participar desse projeto, por ter me instruído durante um pouco mais de um ano, te admiro imensamente e espero um dia ser uma médica veterinária como a senhora. Aos professores da graduação da veterinária que fizeram parte da minha formação como profissional, obrigada.

Agradeço a Luana por ter aceitado dividir seu projeto comigo, por ter me ajudado em todos os momentos que eu estava desesperada sem saber o que fazer. Agradeço a todos do LADOC, em especial a Lidianne e Leticia, residentes que me ajudaram ao longo desse processo, me ensinando tanto sobre o laboratório, sem vocês esse projeto não teria acontecido.

Agradeço ao DACAW, por ter me acolhido e se tornado minha família nessa faculdade, obrigada por todas as vezes que escutaram meus surtos ao longo da graduação, pelos momentos que passamos naquela salinha, pelos eventos que fizemos e por todos os ensinamentos que pretendo levar para a vida. Em especial Lucas Gayer, Andressa, Lize, Cecilia, Amanda, Carlos, vocês foram essenciais para eu aguentar chegar até aqui e me tornar a pessoa que sou hoje em dia.

Agradeço aos meus amigos que estão comigo desde o início, Maria Mendes, obrigada por todas as risadas e por todos os momentos que conseguimos superar juntas, você foi essencial

para mim, Arthur, vulgo Tutuxo, por sempre me dar um abraço quando precisava e por passar tardes comigo jogando vídeo game, assistindo filme ou apenas jogando conversa fora, Maria Williane por se mostrar uma amiga presente sempre que preciso, Vítor por sempre topar fazer um churrasco, por cuidar sempre que preciso dos meus animais que são tão importantes pra mim, por me mostrar as músicas incríveis que escuta, acho incrível ser tão parecida com uma pessoa que admiro tanto, Ully por todas as cervejas que tomamos juntas, por sempre topar as loucuras que inventamos de fazer, por sempre dividir as dificuldades e problemas comigo tornando eles mais leves de carregar, obrigada por ter feito parte da minha história.

Agradeço as amigas que se tornaram mais próximas ao final da faculdade, Karolina, Lorryne, Any e Yasmin, não sei muito bem como nos aproximamos, mas sou muito grata que isso tenha acontecido, o apoio de vocês nos últimos períodos da faculdade foi o que me fizeram aguentar tudo isso, muito obrigada pelo nosso grupinho.

Agradeço especialmente ao meu amigo Ícaro que está comigo desde nossa primeira semana da faculdade, você tem um lugar especial no meu coração, obrigada por ter me aturado todos esses anos e por ter ficado ao meu lado mesmo quando não concordava com minhas ações, por ter me ajudado todas as vezes que precisei, sou grata por termos vivido esses anos juntos.

Agradeço aos meus animais, aos presentes e aos que já se foram por terem sido uma inspiração na escolha da minha profissão e por todos os dias me lembrarem que estou no caminho certo fazendo o que gosto.

RESUMO

A otite é uma síndrome que acomete cães com bastante frequência na rotina clínica e é causada por diversos fatores que levam a um crescimento bacteriano ou fúngico exacerbado. As endocrinopatias, hipotireoidismo e hipercortisolismo, causam alterações dermatológicas na maioria dos animais, inclusive no canal auditivo e podem ser uma causa para essas otites. O presente trabalho teve como objetivo identificar a relação da presença de otite e endocrinopatias nos cães. Para ser avaliada essa relação foi realizado um estudo de caso controle pareado, onde foram coletadas amostras otológicas de 20 animais, sendo 10 animais portadores de hipercortisolismo ou hipotireoidismo, e 10 animais hígidos em um pareado perfeito com os animais endocrinopatas. Posteriormente foi feita a identificação do perfil bacteriano, suscetibilidade antimicrobiana e citologia destas amostras. Foi identificado crescimento bacteriano, sugestivo de *Staphylococcus spp.* em 25% das amostras e presença da levedura *malassezia* em 30% das amostras citológicas. Devido ao número reduzido de animais neste estudo, não foi possível correlacionar as endocrinopatias com a presença de otite em cães.

Palavras-chaves: hipercortisolismo, hipotireoidismo, otite, antimicrobianos.

ABSTRACT

Otitis is a syndrome that affects dogs and cats quite frequently in clinical routine and is caused by several factors that lead to an exacerbated growth of bacteria and fungi. The endocrinopathies, hypothyroidism and hypercortisolism, induce dermatological changes in most animals, including the ear canal and can be a reason for this otitis. The following study had as objective to identify the relationship between the presence of otitis and endocrinopathy in dogs. To evaluate this relationship, a paired case-control study was conducted, collecting otological samples from 20 animals, 10 animals with hypercortisolism or hypothyroidism, and 10 healthy animals in a perfect match with the endocrinopathies. Subsequently, the bacterial profile, antimicrobial disk susceptibility tests and cytology of every sample were performed. It was identified bacterial growth, suggestive of *Staphylococcus* spp in 25% of the samples and presence of *Malassezia* yeast in 30% of the cytologic samples. Due to the reduced number of animals in this study, it was not possible to correlate the endocrinopathies with the presence of otitis.

Palavras-chaves: hypercortisolism, hypothyroidism, otitis, antimicrobial.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Dados epidemiológicos dos cães pertencentes ao grupo de endocrinopatas 20

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	9
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	11
2.1 MICRORGANISMOS.....	11
2.2 RESISTÊNCIA BACTERIANA.....	11
2.3 ENDOCRINOPATIAS.....	12
2.3.1 HIPERCORTISOLISMO.....	12
2.3.2 HIPOTIREOIDISMO.....	14
2.4 OTITE EM CÃES.....	15
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	17
3.1 DESENHO DE PESQUISA.....	17
3.2 COLETA DO MATERIAL BIOLÓGICO/CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO.....	17
3.3 IDENTIFICAÇÃO DAS BACTÉRIAS.....	17
3.4 ANTIBIOGRAMA.....	18
4. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	19
5 RESULTADOS.....	20
6 DISCUSSÃO.....	22
7 CONCLUSÃO.....	23
8 REFERÊNCIAS.....	24

1 INTRODUÇÃO

As bactérias fazem parte da microbiota fisiológica dos humanos e dos animais. (LYNCH; PEDERSEN, 2016). A maioria destas, vivem de forma comensal com seus hospedeiros. (ANGUS; VAN DER POLL, 2013). Entretanto, infecções bacterianas são causas comuns de doenças nos seres vivos devido a desequilíbrios entre células hospedeiras e bactérias patogênicas. (DAHLMAN et al., 2018). Quanto mais precoce a detecção e o tratamento destas infecções, melhores serão as respostas do organismo animal e as chances de cura (DEUSENBERY; WANG; SHUKLA, 2021)

No entanto, mesmo com o tratamento e manejo adequado, alguns microrganismos podem permanecer resistentes devido a presença de um biofilme e/ou produção de toxinas por alguns tipos de bactérias (DEUSENBERY; WANG; SHUKLA, 2021). Esta resistência é um grande problema no tratamento de infecções hospitalares e na comunidade. Está associada em todo o mundo à uma grande morbidade e mortalidade (FRIERI; KUMAR; BOUTIN, 2017; WRIGHT, 2005).

As bactérias se tornam resistentes devido a capacidade de algumas de evadir-se da ação dos antimicrobianos através de diferentes mecanismos, tais como, neutralização dos antibióticos, capacidade de expulsar o fármaco para fora da célula, capacidade de modificar sua estrutura impossibilitando a ação do fármaco etc. (BREIJYEH; JUBEH; KARAMAN, 2020). O principal causador do aumento crescente da resistência bacteriana decorre do uso indiscriminado de antimicrobianos em pessoas e animais (ROCA et al., 2015). A administração efetiva do uso de antimicrobianos somado a dados epidemiológicos atualizados de suscetibilidade dos patógenos mais comuns são estratégias viáveis para a decisão do tratamento ideal a ser utilizado, evitando assim o aumento da resistência (AKOVA, 2016).

Nos animais, algumas doenças acabam facilitando a formação de biofilmes devido ao comprometimento da imunidade (DEUSENBERY; WANG; SHUKLA, 2021), sendo algumas endocrinopatias exemplos destas doenças. As principais endocrinopatias diagnosticadas nos cães são o hipercortisolismo e o hipotireoidismo (BENNAIM; SHIEL; MOONEY, 2019; CORSINI et al., 2021; GRAHAM, 2009; GUGLIELMINI et al., 2019; MUÑOZ-PRIETO et al., 2021; PETERSON, 2007; POWELL, 2009) e ambos apresentam alterações dermatológicas em decorrência de infecção bacteriana secundária. Estas alterações geralmente ocorrem em pele (piodermite) e/ou ouvidos (otites externas) e são facilmente identificadas pelo tutor e pelo médico veterinário (OUTERBRIDGE, 2013).

A otite externa é uma síndrome inflamatória do canal externo do ouvido causada por uma série de condições e fatores, podendo levar a mudanças severas e irreversíveis no canal auditivo (JACOBSON, 2002). Em cães, pode ser predisposto por fatores ambientais como mudança de temperatura e umidade do meio ambiente ou por fatores relacionados a anatomia da orelha do animal, tais como alta presença de pelos, canal auricular estenótico, alta produção de cerúmen, entre outros. Os sinais clínicos da otite são facilmente visualizados e incluem meneios cefálicos, odor fétido, secreção purulenta, entre outros. O tratamento mais eficaz e recomendado é a utilização de medicamentos tópicos, sendo ainda possível uso de antibióticos e anti-inflamatórios sistêmicos em algumas situações específicas (comprometimento de ouvido médio-interno) (BAJWA, 2019).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 MICRORGANISMOS

As bactérias são componentes essenciais da microbiota tanto humana, como nos animais (LYNCH; PEDERSEN, 2016). Mesmo que a maioria das bactérias sejam inofensivas e ainda auxiliem em funções fisiológicas como a digestão ou gerando competição com agentes patogênicos a infecção bacteriana está entre as causas mais comuns de doenças em humanos e animais (ANGUS; VAN DER POLL, 2013). As infecções bacterianas são causadas quando há um desequilíbrio entre células patogênicas e as do hospedeiro ou ainda quando há uma migração de bactérias de uma área colonizada para uma outra, causando uma colonização atípica, animais com problemas na imunidade estão mais suscetíveis a infecções deste tipo (DAHLMAN et al., 2018).

Uma detecção e tratamentos precoces são essenciais para uma boa reação do animal à infecção e evitar que espalhe mais causando assim uma sepse e levando o animal a óbito. Alguns fatores influenciam na capacidade dessa bactéria ser patogênica ou não como a produção de toxinas e formação de biofilme (DEUSENBERY; WANG; SHUKLA, 2021).

2.2 RESISTÊNCIA BACTERIANA

A resistência antimicrobiana, observada desde o descobrimento dos antimicrobianos e o início da utilização destes na rotina clínica, ocasiona um efeito negativo na resposta ao tratamento de doenças infecciosas (WRIGHT, 2005). Esta resistência é um grande problema no tratamento de infecções hospitalares, na comunidade e está associada em todo o mundo à uma grande morbidade e mortalidade (FRIERI; KUMAR; BOUTIN, 2017; WRIGHT, 2005).

As bactérias se tornam resistentes devido a capacidade de algumas de evadir-se da ação dos antimicrobianos através de diferentes mecanismos, tais como, neutralização dos antibióticos, capacidade de expulsar o fármaco para fora da célula, capacidade de modificar sua estrutura impossibilitando a ação do fármaco, etc (BREIJYEH; JUBEH; KARAMAN, 2020). Esta resistência acontece de duas formas: 1) ativa: a bactéria se modifica e desenvolve um mecanismo de contra-ataque contra um antimicrobiano e/ou à uma classe de antimicrobianos; 2) passiva: consequência de processos adaptativos genéricos, não relacionados a uma classe de antimicrobianos (WRIGHT, 2005).

A utilização de testes de identificação e suscetibilidade bacteriana em pacientes com

infecção é defasado em muitos ambientes médicos o que ocasiona uma utilização indiscriminada de antibióticos de amplo espectro, muitas vezes, sem necessidade (FRIERI; KUMAR; BOUTIN, 2017). As bactérias resistentes são facilmente disseminadas entre os pacientes e o meio ambiente, práticas ineficientes de controle de infecção juntamente com as mutações são responsáveis pela piora desta situação (AKOVA, 2016), entretanto o principal causador do aumento crescente da resistência bacteriana decorre do uso indiscriminado de antimicrobianos em pessoas e animais (ROCA et al., 2015).

A administração efetiva do uso de antimicrobianos somado a dados epidemiológicos atualizados de suscetibilidade dos patógenos mais comuns são estratégias viáveis para a decisão do tratamento ideal a ser utilizado, evitando assim o aumento da resistência (AKOVA, 2016). Outras intervenções como aumento da higiene, biossegurança em grandes plantações e granjas e conscientização de veterinários e fazendeiros para não utilização de antimicrobianos de forma profilática podem ser eficazes para limitar a propagação de bactérias resistentes (ROCA et al., 2015).

2.3 ENDOCRINOPATIAS

Alterações no sistema endócrino são problemas comuns na clínica de cães e gatos. As endocrinopatias apresentam-se, em sua maioria, com sintomatologia crônica, de evolução lenta e encontradas em diversas outras afecções, tornando esses sinais muita das vezes insidiosos (KOENIG, 2013). Nos cães as endocrinopatias com maior prevalência são o hipercortisolismo (BENNAIM; SHIEL; MOONEY, 2019; PETERSON, 2007) e o hipotireoidismo). Uma manifestação clínica comum nestas doenças são as lesões dermatológicas (FRANK, 2006), principalmente as piodermites, alopecias, hiperpigmentação da pele e as doenças otológicas (OUTERBRIDGE, 2013).

2.3.1 HIPERCORTISOLISMO

O hipercortisolismo (HC) é uma das endocrinopatias mais comuns em cães, sendo existentes três tipos: pituitário-dependente (HPD) que ocorre em 80-85% dos cães, adrenal-dependente (HAD) que ocorre em 15-20% e o HC iatrogênico. Em indivíduos saudáveis o hormônio liberador de corticotrofina (CRH) é o principal estimulante da secreção do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) que por sua vez estimula a produção e secreção de glicocorticoides, os quais por meio de feedback negativo são responsáveis por controlar a

secreção de ACTH e CRH. Em animais com HC, os sinais observados refletem gliconeogênese, lipólise, catabolismo de proteínas e ações imunossupressoras e anti-inflamatórias do excesso de cortisol e, portanto, levam a alterações clínicas e laboratoriais (BENNAIM; SHIEL; MOONEY, 2019; PETERSON, 2007).

Normalmente animais idosos apresentam mais HC. Todas as raças estão susceptíveis, porém, Poodles, Dachshunds e pequenos terriers (por exemplo o Yorkshire e o Jack Russell) têm mais risco de manifestar a doença (PETERSON, 2007).

A possibilidade de um paciente ter HC deve ser baseada no histórico e exame físico do paciente, e os testes endócrinos devem ser feitos caso o animal apresente sinais consistentes da doença. A falta de múltiplos indicadores não exclui a doença, porém, quanto mais anormalidades identificadas, maior a indicação de se fazer o teste endócrino (BEHREND et al., 2013).

Os sinais clínicos mais comuns em animais com hipercortisolismo são poliúria e polidipsia, porém, podem apresentar também polifagia, aumento abdominal por hepatomegalia e fraqueza muscular, hipertensão sistêmica, alopecia, hiperpigmentação e outros. As manifestações clínicas são crônicas e progressivas (BENNAIM; SHIEL; MOONEY, 2019).

Os achados bioquímicos mais comuns em cães são aumento da atividade da fosfatase alcalina (FA), aumento da atividade da alanina transferase (ALT) e do colesterol, hiperglicemia e urinálise evidenciando baixa densidade urinária. No hemograma é comum leve eritrocitose, associada ao leucograma de estresse, caracterizado pela presença de leucocitose por neutrofilia sem desvio a esquerda, linfopenia, monocitose e eosinopenia (PETERSON, 2007).

Podem ser feitos testes específicos como teste para função da adrenal que consistem em teste de estimulação do hormônio ACTH ou teste de supressão com dose baixa de dexametasona. Este último é o teste de escolha se a suspeita não for HC iatrogênico e, neste caso, o teste ouro passa a ser o de estimulação do hormônio ACTH (BEHREND et al., 2013; PETERSON, 2007).

O objetivo do tratamento do HC em cães seria idealmente eliminar a causa do excesso de cortisol para alcançar as concentrações normais, eliminar os sinais clínicos e reduzir complicações a longo prazo e a mortalidade e melhorar a qualidade de vida do animal. O único tratamento capaz de alcançar essas metas seria a remoção cirúrgica do tumor ou radioterapia, porém, estes tratamentos estão atrelados a riscos, não são viáveis em todos os pacientes e nem disponíveis em todos os lugares, portanto o tratamento farmacológico com trilostano para eliminar os sinais clínicos é o mais utilizado. Sem tratamento o animal tem uma expectativa média de vida de um ano (SANDERS; KOOISTRA; GALAC, 2018).

2.3.2 HIPOTIREOIDISMO

O hipotireoidismo trata-se de uma das doenças endócrinas mais frequentemente diagnosticadas em cães (CORSINI et al., 2021; GRAHAM, 2009; GUGLIELMINI et al., 2019; MOONEY, 2011; MUÑOZ-PRIETO et al., 2021; POWELL, 2009) possuindo uma prevalência variável de 0,2% a 2,7% devido a dificuldade em diagnosticar corretamente a doença (GUGLIELMINI et al., 2019; MOONEY, 2011).

O hipotireoidismo acomete, principalmente, cães de meia-idade a idosos, e geralmente estes são diagnosticados próximo dos 7 anos de idade, exceto nos casos congênitos da doença (MOONEY, 2011). Esta endocrinopatia possui uma prevalência alta em diversas raças, dentre as quais destacam-se Dobermans, Schnauzers, Retrievers, Spaniels, Shetland Sheepdogs, Irish Setters e Dachshunds (MUÑOZ-PRIETO et al., 2021) e estudos indicam que há influência desta na progressão e idade inicial da doença (GRAHAM; REFSAL; NACHREINER, 2007).

O hipotireoidismo canino é o de origem primária, e ocorre devido à destruição e/ ou perda de função da glândula tireoide, ocasionados por processos imunomediados, inflamatórios ou idiopáticos. Outras causas da forma primária, porém raras, são as doenças congênitas, as doenças iatrogênicas e as neoplasias. O hipotireoidismo secundário, que ocorre devido a alterações na glândula hipofisária, e o terciário, ocasionado por distúrbios no hipotálamo, possuem menor prevalência na rotina clínica (MOONEY, 2011; POWELL, 2009).

O cão hipotireoideo pode apresentar variados sinais clínicos, por ser esta doença responsável por comprometer diversos sistemas do organismo (POWELL, 2009). Os sinais clínicos mais comuns são letargia, dificuldade em perder peso e alterações dermatológicas (CORSINI et al., 2021). Os cães, em sua maioria, apresentam sinais dermatológicos e metabólicos, sendo estes últimos considerados mais sutis devido a demora do tutor em percebê-los (MOONEY, 2011). De maneira simplificada, os sinais clínicos incluem alterações em: 1) Dermatológicas: alopecia bilateral, em cauda e pescoço, seborreia, pele seca ou oleosa e hiperpigmentação; 2) Metabólicas: intolerância ao exercício, fraqueza, bradicardia e arritmias; 3) Outras: alterações neuromusculares, reprodutivas, oftálmicas e gastrointestinais (GRAHAM, 2009; POWELL, 2009).

O diagnóstico do hipotireoidismo se deve a correlação dos sinais clínicos, com achados laboratoriais e testes endocrinológicos (GRAHAM, 2009). Uma variedade de alterações hematológicas e bioquímicas acometem o cão hipotireoideo, incluindo principalmente anemia normocítica e normocrômica, hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia (MOONEY, 2011).

Tiroxina total (T4) livre por dialise diminuída e hormônio TSH normal ou aumentado fecham o diagnóstico de hipotireoidismo e, conseguem diferenciar a diminuição do T4 total e TSH que ocorre em animais eu-tireoideos doentes acometidos por outras comorbidades (CORSINI et al., 2021).

O tratamento do hipotireoidismo se dá através da reposição oral do hormônio tireoidiano. A levotiroxina, T4 sintético, é a droga de eleição e o objetivo da terapêutica é a reposição dos hormônios tireoidianos (GRAHAM, 2009).

2.4 OTITE EM CÃES

Os cães possuem o canal auditivo dividido em dois: os canais horizontal e vertical. Começando no canal horizontal que vai da membrana timpânica ao pavilhão auricular, que pode ser ereto ou pendular, e se conecta ao canal vertical. A colonização do canal auditivo por microrganismos está relacionada com o formato do pavilhão, assim como presença e quantidade de pelos pois têm relação com a retenção de calor e umidade no canal (PEREIRA; CLEMENTE, 2021). Fatores predisponentes de otite externa incluem excesso de pelo no pavilhão auricular, produção de cerúmen aumentada, ouvidos estenóticos, massas otológicas, limpeza feita de maneira indevida e também mudanças na temperatura e umidade do ambiente. Existem ainda fatores que perpetuam a doença, mesmo que o fator primário tenha sido descoberto e corrigido, os quais são infecção por bactérias e presença da infecção no ouvido médio levando a otite externa recorrente (BAJWA, 2019).

Otite externa é uma síndrome e não um diagnóstico, se refere a uma inflamação do canal externo do ouvido que pode ser unilateral ou bilateral, aguda ou crônica, branda a severa, recorrente ou não e responsiva ao tratamento de rotina ou não (JACOBSON, 2002). A inflamação crônica pode levar a mudanças no ouvido externo como hiperplasia e dilatação glandular, hiperplasia epitelial e hiperqueratose, essas mudanças normalmente causam um aumento da produção de cerúmen no canal externo, o que contribui para o aumento de umidade e pH tornando mais predisposto a uma infecção secundária (BAJWA, 2019).

A otite externa pode ser causada por uma série de condições e fatores, quando agudas e sem complicações normalmente são tratadas com sucesso, mas otites crônicas e recorrentes são mais difíceis e se não tratada inicialmente e adequadamente tende a progredir com o tempo, se tornar crônica e diminuir ainda mais a chance de tratamento efetivo, podendo chegar inclusive a mudanças severas em glândulas, fibrose, estenose do canal auditivo, calcificação e ossificação da cartilagem inclusive podem ocorrer, assim como ulceração do canal auditivo (JACOBSON,

2002; BAJWA, 2019). As causas primárias incluem hipersensibilidade, doenças endócrinas, parasitas otológicos, corpos estranhos, neoplasias e defeitos estruturais. Alteração na microbiota podem complicar os casos de otite externa (KORBELIK et al., 2019).

Os sinais clínicos podem incluir sacudir da cabeça, alopecia, prurido, escoriação, crostas, eritema, dor, odor fétido e exsudação. O canal externo pode apresentar hiperemia, ulceração, corrimento ceruminoso ou supurativo, massas, estenose ou corpo estranho, normalmente mais de um achado anormal é notado. O desafio no diagnóstico da otite é identificar a causa primária e os fatores que perpetuam a doença. Para o diagnóstico definitivo é recomendado avaliação do histórico geral e dermatológico do animal, exame físico, otoscopia e citologia (JACOBSON, 2002; BAJWA, 2019). A avaliação citológica do conteúdo otológico é o teste diagnóstico mais informativo e auxilia no tratamento e acompanhamento da eficácia do tratamento. Ocasionalmente, amostras otológicas do canal auditivo podem ser usadas para auxiliar na escolha do antibiótico sistêmico a ser utilizado (BAJWA, 2019).

As bactérias mais comumente encontradas em canais auditivos de cachorros afetados são *Staphylococcus* spp. Outras bactérias comumente associadas com otite incluem *Pseudomonas*, *Proteus*, *Enterococcus*, *Streptococcus* e *Corynebacterium*. Algumas bactérias como *Staphylococcus* e *Pseudomonas* podem produzir biofilme, o que leva a persistência da infecção mesmo com tratamento (BAJWA, 2019).

Para um tratamento efetivo da otite externa é necessário tratar a infecção e as mudanças causadas pela inflamação e determinar o fator inicial que levou a otite. Terapia tópica é o tratamento ouro para otite externa, porém, uso de anti-inflamatórios e/ou antibióticos pode ser recomendado para alguns pacientes. Glicocorticoides podem ser usados por período curto para ajudar a reduzir a dor e o inchaço, podem também ajudar a impedir a formação do biofilme e prevenir otite crônica. É necessário fazer a limpeza do ouvido antes de aplicar o medicamento tópico para diminuir o cerúmen e permitir que o medicamento faça efeito corretamente e também ajuda a desfazer o biofilme (BAJWA, 2019).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os tutores foram convidados a participar do projeto voluntariamente e somente após assinatura do termo de esclarecimento e consentimento livre, os animais foram incluídos no experimento. Salienta-se que o projeto encontra-se aprovado pela CEUA-UFU, sob o número de protocolo 041/20.

3.1 DESENHO DE PESQUISA

Pesquisa analítica tipo caso-controle prospectiva. Este projeto, em particular, trata-se de um grupo pareado prospectivo que nada mais é do que um emparelhamento, no qual há um controle específico bem definido atribuído para cada caso, semelhante em relação às características que possam influenciar nos resultados. Por isso, os animais controles são animais selecionados ao acaso, mas que possuem as mesmas características de sexo, idade e raça dos endocrinopatas estudados, porém não portadores de hipercortisolismo e/ou hipotireoidismo.

3.2 COLETA DO MATERIAL BIOLÓGICO/CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Foram coletadas amostras de secreção de ambos ouvidos de 10 animais da espécie canina, saudáveis, pareados com animais de mesma raça, sexo e idade portadores de hipercortisolismo ou hipotireoidismo (oriundos do projeto mãe – tese de doutorado), que não fizeram uso de antimicrobianos tópicos ou sistêmicos há pelo menos 10 dias, não foi coletado de animais que possuíam algum tipo de hipersensibilidade ou estavam utilizando corticoides tópicos ou sistêmicos, os animais eram provenientes da participação voluntária de tutores que possuam animais com mesmas características da casuística Serviço de Endocrinologia Clínica e do Setor de Clínica Médica de Pequenos Animais do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia (HV-UFU), *campus* Umuarama, Uberlândia, MG.

A identificação do perfil bacteriano e suscetibilidade antimicrobiana foram realizadas no Laboratório de Doenças Infectocontagiosas da UFU.

3.3 IDENTIFICAÇÃO DAS BACTÉRIAS

As bactérias foram isoladas e identificadas a partir das secreções contidas nos *swabs* auriculares, sendo que os métodos desde a coleta de amostra até a constatação do microrganismo infeccioso seguiram de acordo com Scott (2016).

A coleta da amostra deve foi realizada com atenção, minimizando o contato do *swab* com outro tipo de secreção ou tecido, sendo de forma rápida e eficaz. Os *swabs* foram dispostos em meio de transporte stuart, independentemente do tempo decorrido entre sua obtenção e o processamento, e em dias quentes, sendo necessária refrigeração (Quinn et al., 2005; Scott, 2016).

Nessa pesquisa foi utilizado o corante de Gram para corar as placas de citologia feitas de cada amostra coletada e crescimento em meio de cultura comum, como o caldo simples ou ágar simples, pH 7,0, a temperatura ótima de 37°C (Baird- Parker, 1990). Após crescimento bacteriano nos meios de culturas, testes específicos foram utilizados para identificação das bactérias.

3.4 ANTIBIOGRAMA

Os meios foram inoculados com parte da amostra (Scott, 2016), e a consignação do número relativo de microrganismos na amostra traz grande auxílio na interpretação do grau de relevância da infecção.

Após a identificação, as bactérias foram submetidas a teste de suscetibilidade a antimicrobianos chamado de teste antimicrobiano por difusão (Prescott, 2016), que forneceu informações qualitativas.

Segundo Prescott (2016), o teste antimicrobiano por difusão é realizado a partir de uma concentração padrão de uma cultura pura do patógeno colocada em ágar apropriado e sobre ela depositados discos de papel-filtro individuais contendo concentrações conhecidas dos antibióticos testados, e incubado por 18h em temperatura de 35°C. A zona de inibição ao redor de cada disco é mensurada, e classifica o microrganismo como sendo susceptível, resistente ou de suscetibilidade intermediária a determinado antibiótico presente em cada disco.

Os testes foram realizados frente aos seguintes antimicrobianos: Amoxicilina com Ácido Clavulânico (AMC), Ciprofloxacina (CIP), Enrofloxacina (ENO), Fluofenicol (FLF), Gentamicina (GEN), Marbofloxacina (MBF), Neomicina (NEO), Norfloxacina (NOR) e Tobramicina (TOB) e foram utilizadas as tabelas CLSIVET e BRCAS para classificação das bactérias como sensíveis, intermediárias ou resistentes a cada antibiótico testado,

individualmente.

4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Estatísticas descritivas, bem como variáveis de distribuição de frequência, foram utilizadas para descrever os dados dos cães com ambas as endocrinopatias (hipercortisolismo e hipotireoidismo) e o grupo controle pareado.

5 RESULTADOS

Foram coletadas amostras de dez animais portadores de endocrinopatias e dez cães controles pareados. Quanto ao sexo, obteve-se dois machos (10%; n=2) e o restante de fêmeas (90%, n=18). A idade média dos animais foi de $10,8 \pm 2,35$ anos, e a distribuição das raças foram 50% Shih tzu (n=10), 20% Yorkshire (n=4); 10% Poodle (n=2), 10% Pinscher (n=2) e 10% mestiços (n=2). Dentre os endocrinopatas, 20% (n=2) eram portadores de hipotireoidismo e demais (80%; n=8) de hipercortisolismo (Tabela 1).

Tabela 1. Dados epidemiológicos dos cães pertencentes ao grupo de endocrinopatas.

IDENTIFICAÇÃO	RAÇA	IDADE	SEXO	ENDOCRINOPATIA
1	Poodle	13	Fêmea	Hipercortisolismo
2	Shih tzu	14	Fêmea	Hipercortisolismo
3	Pinscher	12	Fêmea	Hipercortisolismo
4	Shih tzu	11	Fêmea	Hipercortisolismo
5	Shih tzu	13	Fêmea	Hipercortisolismo
6	Shih tzu	10	Fêmea	Hipercortisolismo
7	Yorkshire	10	Fêmea	Hipercortisolismo
8	Yorkshire	10	Fêmea	Hipercortisolismo
9	Shih tzu	9	Fêmea	Hipotireoidismo
10	SRD	6	Macho	Hipotireoidismo

Dentre os animais portadores de endocrinopatias apenas 2 cães (20%) apresentavam sintomas clínicos sugestivos de otite (animais 4 e 7). Ambos tinham presença de malassezia na citologia e em somente um (animal 4) houve crescimento bacteriano. Dos 80% (n=8) endocrinopatas assintomáticos, houve crescimento bacteriano nas amostras de dois deles (25%; animal 1 e 8) e presença de malassezia na citologia em outros dois deles (25%, animal 3 e 6)

No que se diz respeito ao grupo sintomático do grupo controle, apenas um animal apresentou sintomas, presença de malassezia na citologia e houve crescimento bacteriano (10%; animal pareado com 10) Nos demais que se apresentavam assintomáticos (90%; controles pareados com os endocrinopatas 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 9), houve crescimento bacteriano nas amostras em apenas um animal, o qual apresentou também malassezia (controle pareado com 6) e um outro animal apresentou cocos na citologia (controle pareado com 3).

As amostras que apresentaram crescimento bacteriano em ambos os grupos foram testadas para identificação dessas colônias e em 100% destas o resultado foi sugestivo de *Staphylococcus spp.*

As placas que tiveram crescimento bacteriano foram submetidas a testes de sensibilidade a antimicrobianos (TSA) e 100% das bactérias encontradas foram sensíveis a todos os antibióticos testados.

6 DISCUSSÃO

Este trabalho objetivou investigar a relação entre a presença de otite e endocrinopatias em cães, foi realizado um controle pareado para minimizar as diferenças entre os dois grupos, sendo a raça, o sexo e a idade dos animais idênticas, e a única diferença entre eles consistindo na presença ou não de endocrinopatias.

A importância do controle pareado se dá, pois, as raças que têm predisposição às endocrinopatias estudadas são as mesmas que possuem predisposição para otite; e a idade também se faz um fator importante pois animais mais velhos apresentam maior incidência de endocrinopatias e de otite (MUÑOZ-PRIETO et al., 2021; PERRY et al., 2017; PETERSON, 2007). Sendo assim, ao retirar esses fatores os resultados permitiriam verificar a real relação da endocrinopatia com presença de otite em cães.

Devido ao número reduzido de amostras coletadas não foi possível relacionar estatisticamente a presença de bactérias, manifestações de sinais clínicos, presença de malassezia ou cocos na citologia com as endocrinopatias.

Quanto ao crescimento de *Staphylococcus* spp., trata-se de um resultado já esperado por esta bactéria ser comumente encontrada em orelhas de animais com otite, além de ser a principal causadora dessa doença (DE FILIPPIS et al., 2021; DE MARTINO et al., 2016; KASAI et al., 2021).

Malassezia, identificada na citologia dos cães tanto do grupo controle, quanto nos endocrinopatas sem sinais clínicos de otite, trata-se de uma levedura comumente encontrada em ouvidos de animais com sintomas clínicos de otite, tais como como prurido, eritema, quantidade aumentada de cerúmen, entre outros (CORONA et al., 2021; NÚÑEZ et al., 2022). Porém, sua alta prevalência neste trabalho se deve ao fato desta levedura também fazer parte da microbiota dos ouvidos de cães saudáveis, podendo se tornar patológica quando associado com alguma alteração local ou sistêmica (CORONA et al., 2021).

7 CONCLUSÃO

Devido ao número reduzido de animais deste estudo, não foi possível correlacionar as endocrinopatias com a presença de otite em cães. Ressalta-se que este estudo ainda está em andamento para integralização do n que possibilitará a realização das comparações e análises estatísticas.

8 REFERÊNCIAS

- AKOVA, M. **Epidemiology of antimicrobial resistance in bloodstream infections. Virulence**Taylor and Francis Inc., , 2 abr. 2016.
- ANGUS, D. C.; VAN DER POLL, T. Severe Sepsis and Septic Shock. **New England Journal of Medicine**, v. 369, n. 9, p. 840–851, 29 ago. 2013.
- BEHREND, E. N. et al. Diagnosis of spontaneous canine hyperadrenocorticism: 2012 acvim consensus statement (small animal). **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 27, n. 6, p. 1292–1304, nov. 2013.
- BENNAIM, M.; SHIEL, R. E.; MOONEY, C. T. **Diagnosis of spontaneous hyperadrenocorticism in dogs. Part 1: Pathophysiology, aetiology, clinical and clinicopathological features. Veterinary Journal**Bailliere Tindall Ltd, , 1 out. 2019.
- BREIJYEH, Z.; JUBEH, B.; KARAMAN, R. **Resistance of gram-negative bacteria to current antibacterial agents and approaches to resolve it. Molecules**MDPI AG, , 2 mar. 2020.
- CORONA, A. et al. In vitro activity of lactoferricin solution against *Malassezia pachydermatis* from otitis externa in dogs and cats. **Veterinary Dermatology**, v. 32, n. 4, p. 316-e86, 1 ago. 2021.
- CORSINI, A. et al. Recombinant human thyrotropin stimulation test in 114 dogs with suspected hypothyroidism: a cross-sectional study. **Journal of Small Animal Practice**, v. 62, n. 4, p. 257–264, 1 abr. 2021.
- DAHLMAN, D. et al. Both localized and systemic bacterial infections are predicted by injection drug use: A prospective follow-up study in Swedish criminal justice clients. **PLoS ONE**, v. 13, n. 5, 1 maio 2018.
- DE FILIPPIS, A. et al. Antimicrobial activity of harzianic acid against *Staphylococcus pseudintermedius*. **Natural Product Research**, v. 35, n. 23, p. 5440–5445, 2021.
- DE MARTINO, L. et al. An update on microbiological causes of canine otitis externa in Campania Region, Italy. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 6, n. 5, p. 384–389, 1 maio 2016.
- DEUSENBERRY, C.; WANG, Y.; SHUKLA, A. **Recent Innovations in Bacterial Infection Detection and Treatment. ACS Infectious Diseases**American Chemical Society, , 9 abr. 2021.
- FRIERI, M.; KUMAR, K.; BOUTIN, A. **Antibiotic resistance. Journal of Infection and Public Health**Elsevier Ltd, , 1 jul. 2017.
- GRAHAM, P. A.; REFSAL, K. R.; NACHREINER, R. F. **Etiopathologic Findings of Canine Hypothyroidism. Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice**, jul. 2007.

- GUGLIELMINI, C. et al. Electrocardiographic and echocardiographic evaluation in dogs with hypothyroidism before and after levothyroxine supplementation: A prospective controlled study. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 33, n. 5, p. 1935–1942, 1 set. 2019.
- KASAI, T. et al. Changes in the ear canal microbiota of dogs with otitis externa. **Journal of Applied Microbiology**, v. 130, n. 4, p. 1084–1091, 1 abr. 2021.
- KORBELIK, J. et al. Characterization of the otic bacterial microbiota in dogs with otitis externa compared to healthy individuals. **Veterinary Dermatology**, v. 30, n. 3, p. 228–e70, 1 jun. 2019.
- LYNCH, S. V.; PEDERSEN, O. The Human Intestinal Microbiome in Health and Disease. **New England Journal of Medicine**, v. 375, n. 24, p. 2369–2379, 15 dez. 2016.
- MOONEY, C. T. **Canine hypothyroidism: A review of aetiology and diagnosis**. **New Zealand Veterinary Journal**, 2011.
- MUÑOZ-PRIETO, A. et al. Untargeted metabolomic profiling of serum in dogs with hypothyroidism. **Research in Veterinary Science**, v. 136, p. 6–10, 1 maio 2021.
- NÚÑEZ, A. H. et al. Antifungal susceptibility of *Malassezia pachydermatis* isolated from the external auditive conduct from dogs, in central Chile. **Open Veterinary Journal**, v. 12, n. 1, p. 99–104, 2022.
- OUTERBRIDGE, C. A. **Cutaneous Manifestations of Internal Diseases**. **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice**, jan. 2013.
- PEREIRA, A. M.; CLEMENTE, A. **Dogs' Microbiome From Tip to Toe**. **Topics in Companion Animal Medicine** W.B. Saunders, , 1 nov. 2021.
- PERRY, L. R. et al. **Article Epidemiological study of dogs with otitis externa in Cape Breton, Nova Scotia** **Can Vet J**. [s.l: s.n.].
- PETERSON, M. E. Diagnosis of Hyperadrenocorticism in Dogs. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v. 22, n. 1, p. 2–11, fev. 2007.
- ROCA, I. et al. **The global threat of antimicrobial resistance: Science for intervention**. **New Microbes and New Infections** Elsevier Ltd, , 1 jul. 2015.
- SANDERS, K.; KOOISTRA, H. S.; GALAC, S. **Treating canine Cushing's syndrome: Current options and future prospects**. **Veterinary Journal** Bailliere Tindall Ltd, , 1 nov. 2018.
- WRIGHT, G. D. **Bacterial resistance to antibiotics: Enzymatic degradation and modification**. **Advanced Drug Delivery Reviews**, 29 jul. 2005.