



CENTRO UNIVERSITÁRIO LUTERANO DE PALMAS

Recredenciado pela Portaria Ministerial nº 1.162, de 13/10/16, D.O.U. nº 198, de 14/10/2016
AELBRA EDUCAÇÃO SUPERIOR - GRADUAÇÃO E PÓS-GRADUAÇÃO S.A.

Joana Louise Machado Peres

OCORRÊNCIA DE LEVEDURAS EM CONDUTO AUDITIVO DE CÃES
COM OTITE ATENDIDOS NA UNIDADE DE VIGILÂNCIA E CONTROLE
DE ZONÓSES DO MUNICÍPIO DE PALMAS - TO

Palmas – TO

2020

Joana Louise Machado Peres

OCORRÊNCIA DE LEVEDURAS EM CONDUTO AUDITIVO DE CÃES COM OTITE
ATENDIDOS NA UNIDADE DE VIGILÂNCIA E CONTROLE DE ZONOSSES DO
MUNICÍPIO DE PALMAS - TO

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) elaborado e apresentado como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em Medicina Veterinária pelo Centro Universitário Luterano de Palmas (CEULP/ULBRA).

Orientador: Prof. Dra. Cristiane Lopes Mazzinghy

Palmas – TO

2020

Joana Louise Machado Peres

OCORRÊNCIA DE LEVEDURAS EM CONDUTO AUDITIVO DE CÃES COM OTITE
ATENDIDOS NA UNIDADE DE VIGILÂNCIA E CONTROLE DE ZOOSES DO
MUNICÍPIO DE PALMAS - TO

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) elaborado e
apresentado como requisito parcial para obtenção do
título de bacharel em Medicina Veterinária pelo Centro
Universitário Luterano de Palmas (CEULP/ULBRA).

Orientador: Prof. Dra. Cristiane Lopes Mazzinghy

Aprovado em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Cristiane Lopes Mazzinghy

Orientador

Centro Universitário Luterano de Palmas – CEULP

Esp. Maria de Assis C. Alexandre

Centro Universitário Luterano de Palmas – CEULP

Esp. Erycka Carolina França

Centro Universitário Luterano de Palmas – CEULP

Palmas – TO

2020

Dedico essa nova realização aos meus familiares, sobretudo à minha avó materna Dejanira, minha mãe Eni, Jorge meu irmão, minha tia Edi e minhas primas Bianca, Bruna e a minha amiga de infância Jessyca Poliane (In memoriam) que sempre acreditaram no meu potencial e contribuíram com essa conquista.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por essa realização, e por todas as coisas boas que me proporcionou, pois sem Ele este sonho não se tornaria realidade.

A minha família que me apoiou muito ao longo desta jornada, a minha mãe Eni por todas as vezes que me encorajou, minha tia Edi por me incentivar a tentar conseguir a bolsa de estudos que me manteve no curso, ao meu irmão Jorge que chegou de surpresa me enchendo de alegria e me ensinando a ser um ser humano melhor. Agradeço em especial minha avó dona Dejanira, que nunca mediu esforços para que eu realizasse meus sonhos. Muito obrigada vó!

Aos meus colegas de curso que se tornaram amigos ao longo desta caminhada, compartilhando todos os dias durante esses anos as alegrias, angústias e medos da vida acadêmica. Obrigada por tudo! Serão excelentes profissionais, me orgulho de tê-los como colegas de trabalho. Em especial Ana Clara Pinow, Elaine Cardoso, Francilara Costa, Leiane Portela, Lilian Diedrichs, Túlio Lírio e Wannessa Adryelle, que me ajudaram muito com palavras de apoio e motivação durante o desenvolvimento desta pesquisa, não me deixando desistir.

Aos meus professores. Sou grata a cada um que passou pela minha vida. Obrigada por transmitir ensinamentos importantes para minha formação como pessoa e profissional.

Agradeço imensamente a minha orientadora que teve paciência e disposição para me guiar neste trabalho. Obrigada professora Cristiane Lopes pelo seu carinho, atenção e dedicação.

A Maria de Assis responsável pelo laboratório de microbiologia do Ceulp Ulbra, que me auxiliou durante a pesquisa.

A banca examinadora por aceitar o convite de fazer parte deste momento tão importante da minha formação.

“Que os nossos esforços desafiem as impossibilidades.
Lembrai-vos de que as grandes proezas da história foram
conquistas daquilo que parecia impossível.”

(Charles Chaplin)

RESUMO

PERES, Joana Louise Machado. **Ocorrência de leveduras em conduto auditivo de cães com otite atendidos na Unidade de Vigilância e Controle de Zoonoses do município de Palmas -TO.** 2020. 49 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação)- Curso de Medicina Veterinária, Centro Universitário Luterano de Palmas, Palmas/TO, 2020.

A otite externa é uma doença multifatorial frequente na rotina diária da clínica veterinária, causando uma série de desconfortos prejudiciais ao bem-estar animal. A otite pode ocorrer por diversos fatores entre eles fatores primários, predisponente e perpetuantes. Este estudo teve como objetivo avaliar os sinais clínicos e a frequência em que se apresentam nos cães otopatas, comparando a relação entre os gêneros fúngicos encontrados e o método diagnóstico mais eficiente na identificação das leveduras. Os animais apresentaram sinais de dor, secreção e odor no conduto auditivo durante a coleta, dentre estes o odor foi o mais observado, sendo associado a pacientes otopatas. Deste modo 95% dos animais avaliados no estudo possuem odor fétido nas amostras auriculares. Para avaliar as espécies fúngicas existentes na microbiota do ouvido dos cães otopatas foram realizados análise de exame direto e de meio de cultura. O estudo identificou a presença de três gêneros fúngicos sendo eles *Malassezia sp.*, *Candida sp.* e *Rhodotorula sp.* O estudo constatou que o melhor método diagnóstico para identificação das leveduras é a cultura das colônias. A espécie *Rhodotorula mucilaginosa* apresentou diferença estatística ($p=0.024$) sendo melhor observado no meio de cultura, isto ocorre pela junção da observação das características morfológica micro e macro das colônias. O conhecimento das espécies observadas em cães com otite é importante na escolha do diagnóstico confiável do agente envolvido, resultando na escolha do tratamento ideal e eficaz, impedindo uma futura resistência e cronicidade da doença, evitando um desconforto desnecessário ao paciente.

Palavras-chave: Otite. *Malassezia pachydermatis*. Fungo. Animais.

ABSTRACT

PERES, Joana Louise Machado. **Ocorrência de leveduras em conduto auditivo de cães com otite atendidos na Unidade de Vigilância e Controle de Zoonoses do município de Palmas - TO.** 2020. 49 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Curso de Medicina Veterinária, Centro Universitário Luterano de Palmas, Palmas/TO, 2020.

Otitis externa is a multifactorial disease frequent in the veterinary clinic's daily routine, causing a series of discomforts harmful to animal welfare. Otitis can occur due to several factors, including primary, predisposing and perpetuating factors. This study aimed to evaluate the clinical signs and the frequency in which they are present in dogs with otopathy, comparing the relationship between the fungal genera found and the most efficient diagnostic method in the identification of yeasts. The animals showed signs of pain, secretion and odor in the auditory canal during the collection, among which the odor was the most observed, being associated with otopathic patients. Thus, 95% of the animals evaluated in the study have a foul odor in the ear samples. To evaluate the fungal species existing in the ear microbiota of osteopathic dogs, direct analysis and culture medium analysis were performed. The study identified the presence of three fungal genera, *Malassezia sp.*, *Candida sp.* and *Rhodotorula sp.* The study found that the best diagnostic method for identifying yeasts is colony culture. The *Rhodotorula mucilaginosa* species showed a statistical difference ($p = 0.024$) being better observed in the culture medium, this occurs by joining the observation of the micro and macro morphological characteristics of the colonies. The knowledge of the species observed in dogs with otitis is important in choosing the reliable diagnosis of the agent involved, resulting in the choice of the ideal and effective treatment, preventing future resistance and chronicity of the disease, avoiding unnecessary discomfort to the patient.

Keywords: Otitis. *Malassezia pachydermatis*. Fungus. Animals.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Capacidade de ereção de acordo com o formato auricular de diferentes raças de cães.....	15
Figura 2 – Formato da cartilagem auricular de diferentes raças de cães.....	16
Figura 3 – Tamanho da cartilagem auricular de diferentes raças de cães.....	16
Figura 4 – Espessura da cartilagem auricular de diferentes raças de cães.....	16
Figura 5 - Posição de inserção da cartilagem auricular em diferentes raças de cães.....	17
Figura 6 - Consistência da cartilagem auricular de diferentes raças de cães.....	17
Figura 7 – Visualização esquemática de ouvido canino.....	18
Figura 8 – Visualização esquemática de estruturas do ouvido médio do cão.....	19
Figura 9 – Esquema ilustrativo do labirinto ósseo e membranoso da orelha interna.....	20
Figura 10 - Utilização de otoscópio.....	27
Figura 11 – Realização de vídeo otoscopia em cão.....	28
Figura 12 – Citológico de orelha <i>Malassezia</i> spp. observada microscopicamente, no aumento de 1000X.....	29
Figura 13 – Técnica de cultivo microbiológico.....	31

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Microrganismos encontrados nas amostras de cerúmen de conduto auditivo externo de cães provenientes da UVCZ de Palmas, após realização de exame direto e semeadura em placas ágar sabouraud.....36

Tabela 2 - Resultados de amostras coletadas de conduto auditivo externo direito e esquerdo de cães provenientes da UVCZ de Palmas, semeadas em placas ágar sabouraud com posterior análise microscópica.....36

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Sinal clínico de dor apresentado pelo animal durante a coleta de amostra otológica.....	34
Gráfico 2 - Presença de secreção nas amostras otológicas coletadas de cães da UVCZ.....	34
Gráfico 3 - Característica de odor fétido nas amostras otológicas.....	35

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<i>C. albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
CEUA	Comitê de ética no uso de animais
CEULP	Centro Universitário Luterano de Palmas
<i>M.</i>	<i>Malassezia</i>
MRI	Imagem por Ressonância Magnética
MT	Membrana Timpânica
OE	Otite Externa
OEA	Otite Externa Aguda
OEC	Otite Externa Crônica
OM	Otite Média
<i>R. mucilaginosa</i>	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>
<i>S.</i>	<i>Staphylococcus</i>
TAC	Tomografia Axial Computadorizada
UVCZ	Unidade de Vigilância e Controle de Zoonoses

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.
2. REVISÃO DE LITERATURA	ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.
2.1. ASPECTOS MORFOLÓGICOS DA ORELHA.....	ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.
2.2. ORELHA EXTERNA	ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.
2.3. ORELHA MÉDIA	ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.
2.4. ORELHA INTERNA.....	19
3. MICROAMBIENTE DO CANAL AUDITIVO DE CÃES.....	ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.
4. MICROBIOTA DO CANAL AUDITIVO DE CÃES.....	ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.
4.1. MALASSEZIA	20
4.2. CANDIDA ALBICANS.....	22
4.3. RHODOTORULA MUCILAGINOSA.....	22
5. OTITE CANINA.....	23
6. DIAGNÓSTICO.....	26
6.1 OTOSCOPIA.....	27
6.2. VÍDEO OTOSCOPIA.....	28
6.3. CITOLOGIA.....	39
6.4. CULTURA E ANTIBIOGRAMA.....	30
6.5. OUTROS MÉTODOS DIAGNÓSTICOS.....	31
7. METODOLOGIA.....	33
8. RESULTADOS.....	34
9. DISCUSSÃO.....	37
10. CONCLUSÃO.....	ERRO! INDICADOR NÃO DEFINIDO.
REFERÊNCIAS	43

1. INTRODUÇÃO

A orelha é um órgão do sentido duplo, desempenhando papel como órgão auditivo atuando na percepção do som e como órgão de equilíbrio para a propriocepção do corpo em seu ambiente, ou seja, a relação do corpo com a força da gravidade (BUDRAS *et al.*, 2012). Por ser um órgão de função tão importante e delicada é imprescindível garantir sua higidez com uma boa manutenção da limpeza e consultas regulares ao médico veterinário, resultando assim no aumento do bem-estar do animal e na prevenção de uma possível otite, enfermidade de orelha comum em animais de companhia.

A orelha consiste anatomicamente em orelhas externa, média e interna. A orelha externa tem como função a percepção e condução de ondas sonoras até a membrana timpânica (MT). É composta da aurícula, que possui sua base formada por cartilagem auricular elástica revestida por pele fina do meato acústico externo. Externamente, a orelha é coberta por pelos densos e por pelos relativamente esparsos internamente, no início do meato acústico externo, há pelos protetores mais espessos (BUDRAS *et al.*, 2012).

De acordo com Gaag (1986) na literatura veterinária muitos fatores predisõem a otite externa (OE) tornando-a um problema de etiologia multifatorial, que acomete diversas espécies e é caracterizada pela inflamação do epitélio que reveste o conduto auditivo. A OE canina é uma das doenças mais frequentes na clínica médica, e se estende por vários anos, sendo exposta a vários tratamentos muitas vezes ineficazes, o que reflete em impactos na saúde e no bem estar do animal.

A OE causa uma série de desconfortos ao paciente, podendo evoluir e ter consequências graves como o acometimento de nervos importantes, resultando em efeitos neurológicos nos casos mais graves quando afeta a parte média e interna do ouvido. Sinais como prurido, odor, secreções e agitação da cabeça são constantemente observados (TULESKI, 2007).

Kahn *et al.* (2007) descreve que na otite média (OM) e interna estes sinais também podem estar vinculados assim como sacudidas de cabeça, fricção da orelha acometida contra o solo, rotação de cabeça para o lado afetado. No conduto ocorrem mudanças inflamatórias e presença de exsudato, alterações neurológicas quando atingidos nervos que atravessam o ouvido médio podendo causar paralisia do nervo facial ou síndrome de Horner. O animal também pode se mover em círculos e apresentar perda de equilíbrio. Em casos raros a infecção pode atingir os nervos vestibulococlear e facial expandir-se até o tronco encefálico podendo acarretar meningites, abscessos e em últimos casos morte.

A OM é a inflamação das estruturas do ouvido médio, em geral consequente da extensão de uma inflamação já pré-existente no conduto auditivo externo, a OM pode evoluir para otite interna (OI), resultando na inflamação de estruturas do ouvido interno que são mais delicadas e sensíveis, responsáveis promover a sensação dos sentidos e por conta disso pode ocorrer a perda de equilíbrio e surdez (KAHN *et al.*, 2007).

Bonato *et al.* (1999) demonstram em seu estudo que os microrganismos residentes frequentemente isolados na microbiota do ouvido canino são *Staphylococcus sp.*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Malassezia pachydermatis*, além destes Nobre *et al.* (2001) também isolou a levedura *Candida albicans*, e bactérias como *S. intermedius*, *S. aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus sp.*, *Streptococcus sp.*, *S. epidermidis*, *Actinomyces sp.*

Segundo Oliveira *et al.* (2006) *M. pachydermatis*, *S. intermedius* e *Bacillus sp.* são os microrganismos isolados com mais frequência nas infecções mistas de OE e *C. albicans*, *S. intermedius* e *S. aureus* na OM canina.

Para Tuleski (2007) fatores como a anatomia, as variações climáticas, a limpeza excessiva das orelhas e doenças sistêmicas são fatores predisponentes a OE. Além disso qualquer comprometimento sistêmico que cause uma imunossupressão, como ocorrência de doenças virais normalmente podem predispor a infecções oportunistas gerando a OE.

De acordo com Gotthelf (2005) o principal fator que afeta a microflora do canal auditivo externo é o microambiente, por isso a temperatura, a umidade e o pH são fatores muito importantes para a manutenção de um microclima saudável garantindo um bom funcionamento do ouvido. O cerume também é um componente relevante do microambiente auditivo que serve como barreira protetora contra infecções por microrganismos e protege a pele contra lesões auxiliando na manutenção e equilíbrio otológico (ÖZCAN, 2005).

Alterações devido a inflamação podem modificar a conformação anatômica do canal auditivo como a redução no lúmen. Na forma aguda, isso é causado por edema dérmico promovido pela dilatação e aumento da permeabilidade vascular. Na fase aguda essas alterações ainda são reversíveis com utilização de medicamentos anti-inflamatórios. Entretanto, à medida que a doença progride tornando-se crônica, a reversão fica menos provável. A inflamação crônica leva a alterações dentro do epitélio, tornando estas modificações persistentes (PATERSON; TOBIAS, 2013).

Diante do exposto, os problemas otológicos são razões comuns das queixas nos consultórios veterinários. O que torna importante o isolamento de microrganismos envolvidos em casos de OE, a fim de obter o melhor diagnóstico e o tratamento mais adequado para cada caso. Desta forma, objetiva-se com este trabalho revisar os aspectos anatômicos da orelha dos

cães, conhecer os agentes que compõem a microbiota do conduto auditivo bem como os que estão envolvidos na etiologia da otite, associar os sinais clínicos apresentados com a positividade para esta patologia, identificar as diferenças entre os métodos diagnósticos e para quais situações se tem mais aplicabilidade cada um deles e classificar a relação entre a doença e a forma como ela atua atingindo unilateralmente ou de forma bilateral o ouvido canino.

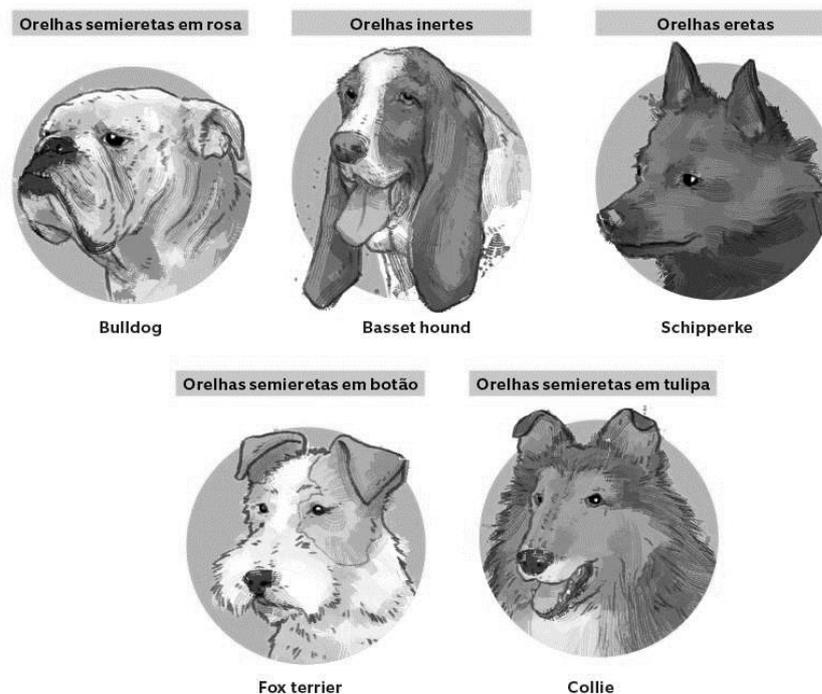
2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. ASPECTOS MORFOLÓGICOS DA ORELHA

O sistema auditivo de cães é segmentado em partes bem definidas que determinam um conjunto de estruturas em sequência formando o ouvido externo, médio e interno. A orelha externa é composta por três cartilagens elásticas, vasos sanguíneos e nervos. A MT separa o ouvido externo do médio, que consiste no espaço entre a bula timpânica óssea, a abertura da tuba auditiva e os três ossículos da orelha com seus músculos e ligamentos associados. O ouvido interno está localizado dentro do labirinto ósseo da parte petrosa do osso temporal (GIUFFRIDA; LUCAS, 2008; GOTTHELF, 2005).

O pavilhão auricular dos mamíferos apresenta grande variedade de tamanho, formato e revestimento entre espécies e raças. Os cães destacam-se por ter uma infinidade de variações anatômicas dentro de uma mesma espécie (figuras 1,2,3,4,5 e 6) cada raça apresenta sua particularidade, apesar destas diferenças externas os componentes internos são os mesmos e desempenham as mesmas funções (KÖNIG; LIEBICH, 2016).

Figura 1 – Capacidade de ereção de acordo com o formato auricular de diferentes raças de cães.



Fonte: Sobreiro Pedro (2017).

Figura 2 – Formato da cartilagem auricular de diferentes raças de cães.



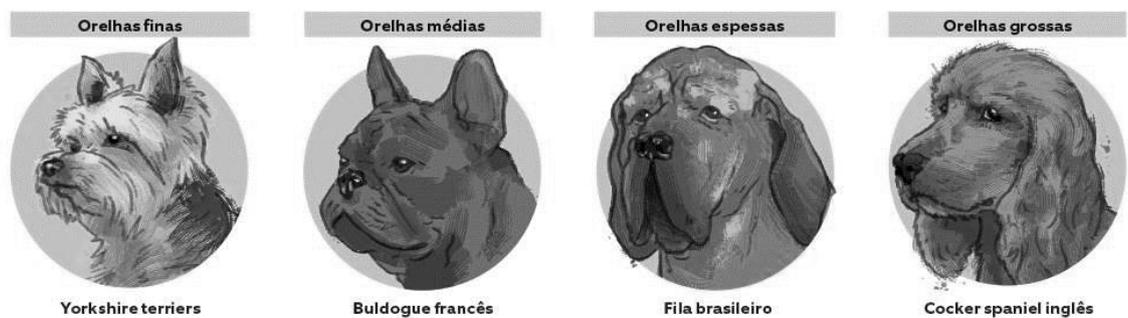
Fonte: Sobreiro Pedro (2017).

Figura 3 – Tamanho da cartilagem auricular de diferentes raças de cães.



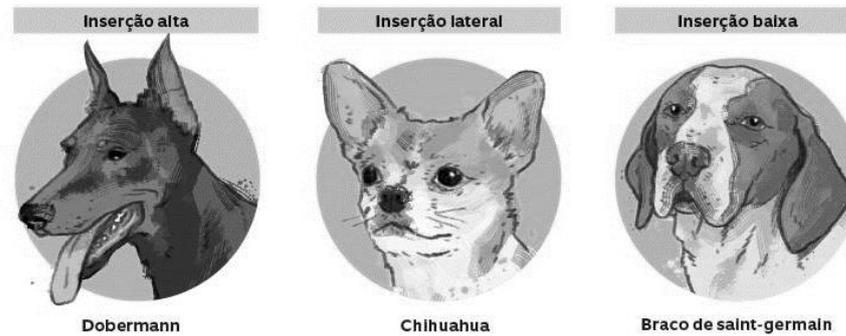
Fonte: Sobreiro Pedro (2017).

Figura 4 – Espessura da cartilagem auricular de diferentes raças de cães.



Fonte: Sobreiro Pedro (2017).

Figura 5 - Posição de inserção da cartilagem auricular em diferentes raças de cães.



Fonte: Sobreiro Pedro (2017).

Figura 6 - Consistência da cartilagem auricular de diferentes raças de cães.



Fonte: Sobreiro Pedro (2017).

2.2. ORELHA EXTERNA

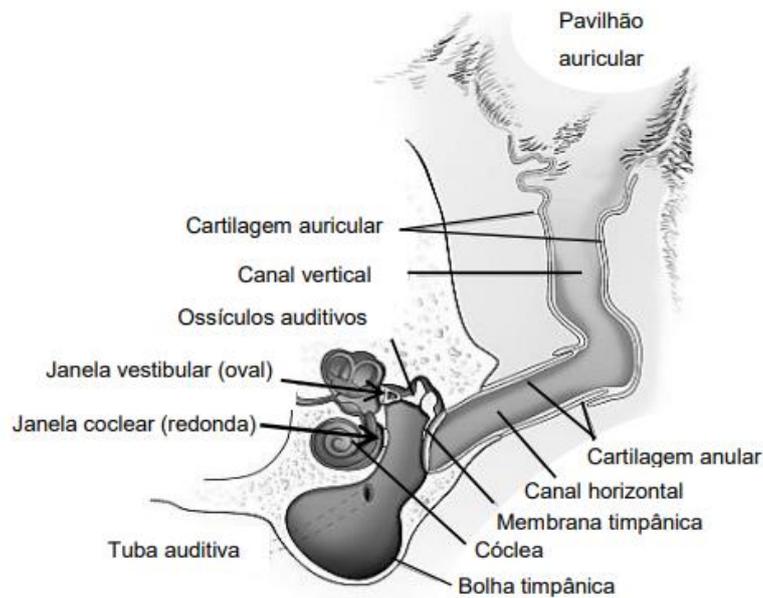
O pavilhão auricular (figura 7) é uma estrutura extremamente móvel e importante na comunicação animal, possui forma característica variável de acordo com as particularidades raciais (KÖNIG; LIEBICH, 2016).

A orelha externa tem formato cônico, semelhante a um “L” sendo a porção inicial e a mais externa do sistema auditivo, se estendendo do pavilhão até a face externa da MT (GIUFFRIDA; LUCAS, 2008).

De acordo com Machadinho (2011) o canal auditivo externo divide-se em canal vertical, que se inicia a partir do pavilhão auricular e se estende em direção rostro ventral até ocorrer a sua flexão medial, formando o canal horizontal, que se prolonga até chegar à MT.

Integrada por três cartilagens elásticas a auricular é um folheto cartilaginoso em forma de tubo posicionada quase verticalmente no crânio, que se conecta com a cartilagem anular que se dobra em formato cilíndrico horizontalmente ligando-se ao crânio dando aí a característica anatômica em formato de “L”. A cartilagem escutiforme localiza-se na parte medial do conduto e é responsável pela estruturação contribuindo para o posicionamento anatômico (GIUFFRIDA; LUCAS, 2008)

Figura 7 – Visualização esquemática de ouvido canino.



Fonte: adaptado de Angus (2004).

2.3. ORELHA MÉDIA

A MT é o órgão que delimita a orelha média da orelha externa. É responsável pela transmissão de ondas sonoras, tornando-as em vibrações mecânicas que alcançam os ossículos no ouvido médio (GIUFFRIDA; LUCAS 2008).

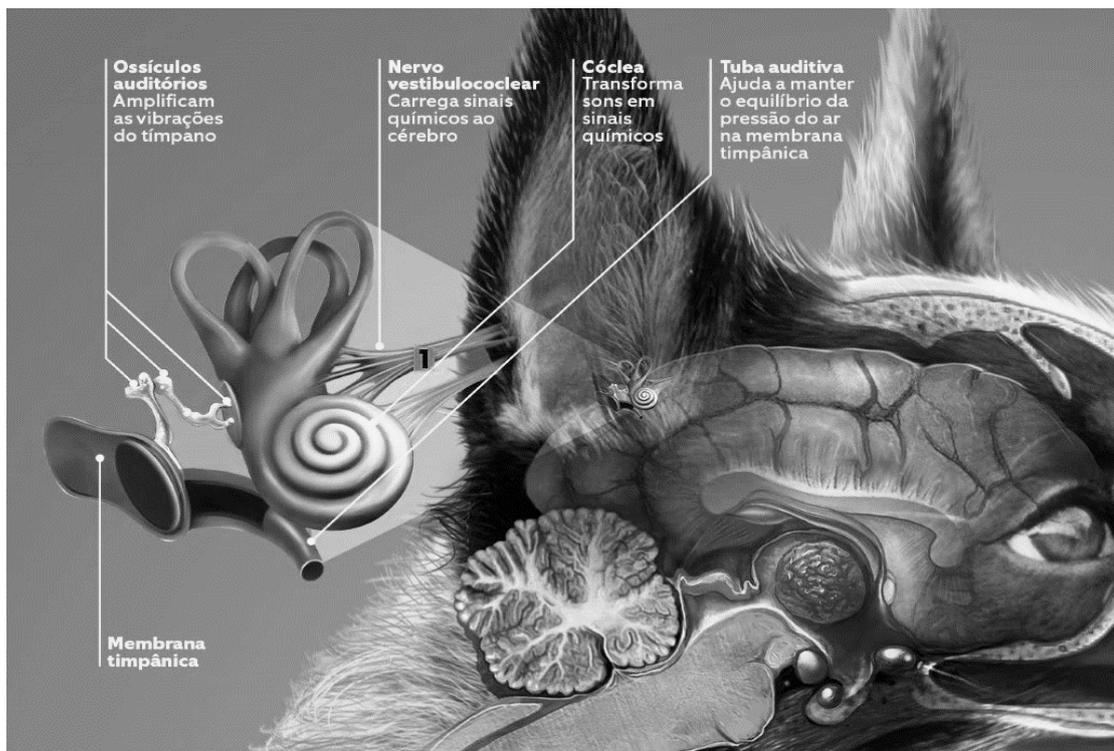
É constituída por três camadas, na face interna é composta pelo epitélio de recobrimento da faringe, camada intermediária contém tecido conjuntivo conectivo e face externa com epitélio queratinizado. Sua face externa tem forma elíptica e côncava e é dividida em duas regiões: *pars flácida*, uma área triangular dorsal vascularizada e brilhante, e *pars tensa*, maior parte da área timpânica pouco vascularizada e translúcida (GIUFFRIDA; LUCAS, 2008).

Orelha média é uma porção limitada pela bula timpânica, uma região cavitária do osso temporal, separada pela MT da orelha externa, possui uma comunicação com a nasofaringe por um sistema tubular denominado tuba auditiva. Em uma repartição dorsal da orelha média

localizam-se três ossículos auditivos (martelo, bigorna e estribo ou estapédio) que são pequenos ossos lamelares móveis que se unem e estendem-se como uma continuação na MT até a janela vestibular (GIUFFRIDA; LUCAS, 2008; KÖNIG; LIEBICH, 2016).

O ossículo estapédio é o último campo da propagação das vibrações timpânicas na orelha média, este se articula com a janela vestibular, a qual refere-se a entrada da orelha interna (GIUFFRIDA; LUCAS, 2008).

Figura 8 – Visualização esquemática de estruturas do ouvido médio do cão.

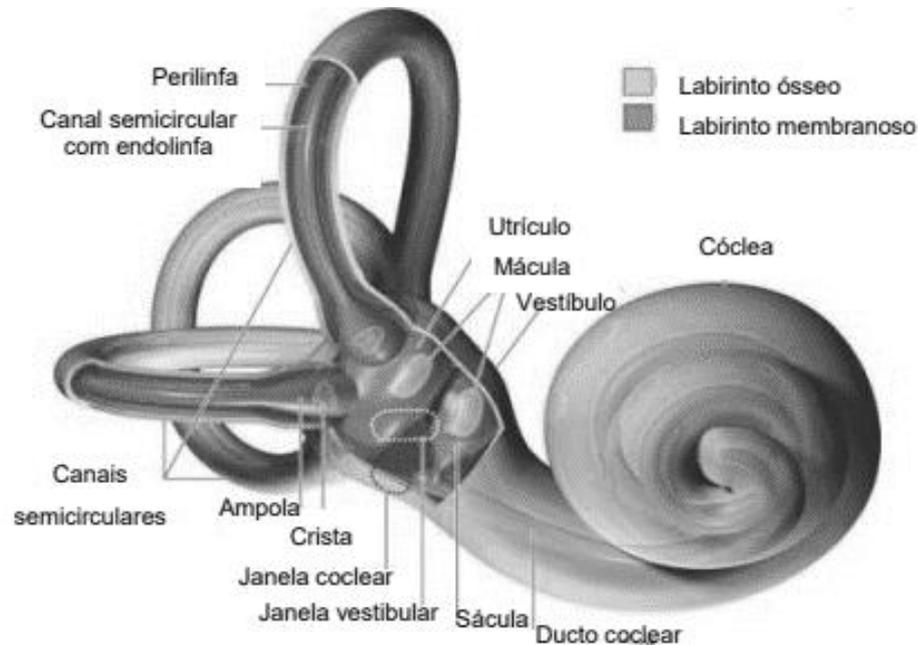


Fonte: Jubran Alexandre (2015).

2.4. ORELHA INTERNA

O ouvido interno consiste em um sistema fechado de vesículas e canais membranáceos de paredes finas que formam o labirinto membranoso, encontra-se na parte petrosa do osso temporal, composto pelo labirinto ósseo que recobre o membranoso. O labirinto ósseo compreende-se em três partes (figura 9) repletas de perilinfa que cerca o labirinto membranoso. O vestíbulo localizado em uma cavidade central é formado pelo utrículo e o sáculo, os canais semicirculares ósseo com ductos semicirculares membranosos e a cóclea. (BUDRAS *et al.*, 2012; GIUFFRIDA; LUCAS, 2008; KÖNIG; LIEBICH, 2016).

Figura 9 – Esquema ilustrativo do labirinto ósseo e membranoso da orelha interna.



Fonte: Adaptado Cole (2009)

3. MICROAMBIENTE DO CANAL AUDITIVO DE CÃES

Gotthelf (2005) descreve que em condições normais a temperatura do canal auditivo externo canino é de 38,2 a 38,4°C. A umidade relativa é de 80,4%. De acordo com Harvey; Paterson (2014) o pH normal do canal auditivo varia entre 6,4 e 7,2.

Os valores de umidade e temperatura do canal auditivo apresentam-se alterados em quadros de OE. A temperatura pode atingir 38,9°C e a umidade pode chegar a 89% (GOTTHELF, 2005). O pH aumenta na otite externa variando entre 5,9 nos casos agudos e 6,8 nos casos crônicos (HARVEY; PATERSON, 2014)

4. MICROBIOTA DO CANAL AUDITIVO DE CÃES

O canal auditivo externo de cães e gatos abriga um número pequeno de bactérias e leveduras residentes formadoras de uma flora que criam um importante barreira protetora contra a multiplicação de outros tipos de microrganismos patogênicos (SAMPAIO, 2014).

4.1 MALASSEZIA

O gênero *Malassezia*, são hospedeiros comensais presentes na pele de animais e de humanos, são leveduras aeróbias, que crescem em temperatura entre 35 e 37°C. A espécie *M. pachydermatis* têm grande importância veterinária, principalmente por ser uma das espécies mais isoladas nos casos de otite. As células de *M. pachydermatis*, possuem uma morfologia característica de fácil identificação, dispõem-se em forma de pegadas (QUINN *et al.*, 2007).

Malassezia caracteriza-se por ser um fungo lipodependente pertencente a microflora natural da maioria dos animais de sangue quente. A espécie *M. pachydermatis* difere das outras espécies do gênero por ser a única lipofílica, ou seja, a única que não necessita de lipídios no meio de crescimento, é um fungo comensal oportunista que pode se tornar um patógeno em casos de alterações do microclima da pele ou em casos de imunossupressão do hospedeiro (GUILLOT; BOND, 1999).

De acordo com Prado *et al.* (2007) as espécies do gênero *Malassezia* constituem parte da microbiota de humanos saudáveis, podendo ser isoladas em áreas ricas em glândulas sebáceas, particularmente peito, costas e couro cabeludo. Existem muito relatos de isolamento de *Malassezia spp.* em humanos saudáveis, porém a espécie isolada e a frequência do isolamento são variáveis, elas podem estar associadas a doenças cutâneas. A literatura relata o isolamento das espécies *M. furfur*, *M. sympodialis*, *M. pachydermatis*, *M. globosa*, *M. restricta*, *M. slooffiae*, *M. japonica* e *M. yamatoensis*, no homem (PRADO *et al.*, 2007).

Apesar das espécies lipodependentes serem majoritariamente no homem e a *M. pachydermatis* ser praticamente exclusiva de carnívoros domésticos e silvestres, existem relatos de ocorrência de *M. pachydermatis* no homem (MORRIS, O'SHEA, SHOFER & RANKIN, 2005).

Bond *et al.* (1995) descreveram o isolamento de *M. pachydermatis* em diferentes espaços anatômicos de cães saudáveis e constataram uma maior existência desta levedura no ânus, ouvido externo, pele, lábios e espaço interdígital dorsal.

Em cães com pele saudável, *M. pachydermatis* coloniza em pequenos números a camada queratinizada. Nos pacientes com problemas alérgicos a colonização por *M. pachydermatis* aumenta radicalmente na pele e no ouvido (GUILLOT; BOND, 1999).

A otite externa relacionada a *Malassezia* é constantemente descrita por apresentar um exsudado marrom ou amarelado (GUILLOT; BOND, 1999).

Girão *et al.* (2006) descrevem uma maior incidência de *M. pachydermatis* no isolamento das amostras de orelhas de pacientes com OE quando comparado ao isolamento de cães saudáveis, o que propõe a este microrganismo um papel patogênico nesta enfermidade.

4.2. CANDIDA ALBICANS

De acordo Quinn *et al.* (2007) as espécies de *Candida* podem ser encontradas em plantas. Atuam como agentes comensais nos tratos digestivo e urogenital de animais e do homem. Pode tornar-se um microrganismo oportunístico em casos de imunossupressão. A espécie *C. albicans* é a principal levedura vinculada a doenças de animais.

Quinn *et al.* (2007) a descreve como células ovais em brotamento. Em tecido animal, *C. albicans* pode apresentar polimorfismo exibindo a forma de pseudohifas ou de hifas.

Segundo Alves (2016) alguns autores relataram o isolamento da espécie *C. albicans* em otites externas de cães pertencentes a locais de clima quente.

Nogueira *et al.* (2008) realizaram um estudo sobre a atividade antimicrobiana *in vitro* de produtos vegetais em otite externa aguda em humanos, neste estudo foram utilizados materiais coletados de vinte e sete pacientes com diagnóstico clínico de otite externa aguda (OEA) sem perfuração de membrana timpânica nem tratamento prévio, foram selecionados aleatoriamente, durante o período de três meses, sendo realizada coleta de material para análise do ouvido comprometido. Nos resultados foram encontrados *S. aureus* em (37%), *Pseudomonas aeruginosa* em (29,6%), *Pseudomonas aeruginosa* e *S. aureus* em associação em (18,5%), e fungos do gênero *Candida* em (14,9%) das culturas.

Costa *et al.* (2010) analisaram pombos, como potencial berço de leveduras patogênicas, coletaram amostras de excrementos e amostras da cloaca de pombos entre os anos de 2006 e 2007. Como resultado das amostras de excrementos dos pombos, a levedura mais repetidamente isolada foi a *C. albicans*, seguida do *Cryptococcus neoformans*, e da *Rhodotorula mucilaginosa*.

4.3. RHODOTORULA MUCILAGINOSA

De acordo com Pinna *et al.* (2001) as espécies de *Rhodotorula* estão presentes em todos os lugares, são aerotransportadas, encontradas em diferentes ecossistemas de variadas condições estas até mesmo desfavoráveis, presentes em alimentos, ar, solo, água, tratos gastrointestinais e pele. *Rhodotorula spp.* alimentam-se geralmente de matéria orgânica.

Isso demonstra sua resistência a ambientes hostis, tornando sua distribuição ampla, sendo comumente encontrado no meio ambiente, no homem e principalmente em animais silvestres, mas com características de agente oportunista, causando infecções principalmente em pacientes imunossuprimidos (WIRTH, 2011).

De acordo com Wirth (2011) alguns autores relataram um caso de dermatite por *R. mucilaginosa* em um gato, que apresentou lesões com crostas avermelhadas na região do nariz.

Em animais domésticos além de cães e gatos, foram relatados a descoberta da presença de *R. mucilaginosa* em um surto de infecções cutâneas de frangos, houve relato de infecção pulmonar de ovino causada pela *R. mucilaginosa*, além ter sido encontrado em amostras de leite de vaca (WIRTH, 2011).

R. mucilaginosa também foi observada e relatada por Amaral *et al.* (1998) em um estudo com objetivo de identificar a frequência de microrganismos no meato acústico externo de gatos saudáveis, foram utilizados 50 animais divididos em dois grupos de 25 cada, onde se observou positivo para 20% do primeiro grupo de gatos domiciliados e 4,1% do segundo grupo de animais errantes. Em semelhante estudo Duarte *et al.* (2001), estudou a presença de fungos no canal auditivo de 45 bovinos adultos com otite parasitária externa e identificou a presença de *R. mucilaginosa* em 4,4%, além de dele foram isolados os gêneros *Malassezia spp.*, *Candida spp.* e *Aspergillus spp.* em suas amostras.

Em 2005, Brotto *et al.* analisaram a microbiota fúngica no conduto auditivo médio de macacos rhesus saudáveis, destinados à pesquisa biomédica, estes animais foram divididos em dois grupos, onde o primeiro grupo eram de animais adultos mantidos em gaiolas individuais que ficavam em containers especiais com condições ambientais controladas, neste grupo foram observados que cerca de 5% possuíam o fungo *R. mucilaginosa*. O segundo grupo de macacos era composto por animais originados da colônia de criação, e foram mantidos em ambientes livres, sem o controle de temperatura e humidade, diferente do primeiro grupo. Este grupo apresentou *R. mucilaginosa* em 15% de suas amostras.

5. OTITE CANINA

As otites caninas podem ser classificadas quanto a sua lateralidade podendo ser uni ou bilateral, quanto a sua evolução como aguda, crônica ou crônica recidivante e de acordo com a localização da inflamação podendo afetar o ouvido externo, médio ou interno. Consideram-se otites agudas ou subagudas as infecções com duração de menos de 30 dias (OLIVEIRA 2004).

De acordo com Kahn (2007) a OE é ocasionada por uma inflamação do conduto auditivo externo, com inúmeros agentes etiológicos envolvidos e fatores predisponentes.

Para Silva (2014) os diversos fatores implicados no desenvolvimento da OE podem ser melhor caracterizados como primários que diretamente induzem a inflamação no canal auditivo, predisponentes que aumentam a possibilidade de o canal gerar inflamação e perpetuantes que se desenvolvem como uma consequência da inflamação.

Segundo Oliveira (2004) a otite externa crônica (OEC) é muito estudada por ser um problema bastante presente na prática diária da clínica veterinária. É considerada uma otite crônica a infecção recorrente ou contínua que persiste por um período maior que seis meses (TULESKI, 2007).

Algumas características anatômicas dificultam a ventilação do canal auditivo como orelhas pendulares, raças com excesso de pelos e canais estenosados auxiliam na perpetuação da alta umidade local, estes são os principais fatores que colaboram para o grande cultivo microbiológico da região, proporcionando aos fungos e bactérias um o ambiente ideal com temperatura, umidade e fonte de alimento para sua multiplicação (TULESKI, 2007).

Para Miller *et al.* (2013) são fatores primários da OE problemas como hipersensibilidade, existência de parasitas, corpos estranhos, traumas, imunopatias, distúrbios de queratinização e glandular.

Problemas alérgicos são os principais responsáveis pelo aparecimento de otite, especialmente a otite crônica, cerca de 43% ocorrem em decorrência de alguma alergia (MILLER *et al.*, 2013). As alergias mais associadas a otite são a atopia, hipersensibilidade alimentar, dermatite alérgica a picada de pulga (DAPP) e a alergia medicamentosa (TULESKI, 2007).

Os parasitas envolvidos na OE em cães e gatos envolvem sarnas, pulgas e carrapatos. Entre estes, a existência do parasita *Otodectes cynotis* atribui-se grande importância em cães pois mesmo havendo a presença de poucos parasitas nos ouvidos estes são capazes de provocar uma grave inflamação (NASCIMENTO, 2007). Segundo Gotthelf (2005) mesmo com a presença de poucos ácaros o conduto auditivo canino pode ocorrer uma reação de hipersensibilidade tornando os sintomas mais graves.

O uso de objetos para limpeza do conduto auditivo pode causar lesões, e a retirada dos pelos pode resultar em inflamação traumática. A forma mais comum para trauma do canal auditivo é a utilização de hastes flexíveis o material sintético possui efeito abrasivo que lesa a camada basal de queratinócitos que é fina resultando na sua irritação, este processo expõe a

derme tornando-se uma porta de entrada para bactérias e leveduras residentes da microbiota auditiva, resultando em uma infecção (SILVA, 2014).

A limpeza com hastas flexíveis pode empurrar a cera do canal auditivo acumulando-a no final do ouvido externo, resultando na diminuição do diâmetro aumentando a pressão e subsequentemente podendo resultar na ruptura do tímpano (GOTTHELF, 2005).

A conformação anatômica, fatores ambientais, traumas iatrogênicos, doenças obstrutivas e doenças sistêmicas são alguns dos fatores predisponentes da OE, eles alteram o microclima natural do canal auditivo, tornando-o propenso a infecções secundárias bacterianas e fúngicas. Estes fatores separadamente não são suficientes para ocasionar uma OE, mas associados às causas primárias aumentam essa possibilidade (SAMPAIO, 2014).

Os pólipos inflamatórios são massas não-neoplásicas que dificultam a drenagem de exsudado, predispondo a infecções secundárias. As neoplasias do canal auditivo externo também são raras em geral são unilaterais encontram-se em sua maioria nas glândulas ceruminosas (SAMPAIO, 2014).

Doenças como o hipotireoidismo e hiperadrenocorticismo enfraquecem o sistema imunológico expondo ao risco de infecção (SAMPAIO, 2014).

Os principais fatores perpetuantes da OE são infecção bacteriana, fúngica, OM e alterações crônicas no canal auditivo como edema, hiperqueratose, hiperplasia, hipertrofia glandular, estenose, fibrose e mineralização. Fatores perpetuantes assim como os fatores predisponentes da OE, não provocam a doença, mas encaminham ao agravamento do quadro. Além disso, dificulta a resolução do problema, mesmo que a causa primária tenha sido identificada e tratada com sucesso (SILVA, 2014).

Segundo Tuleski (2007) qualquer doença que afete a imunidade do paciente pode predispor a infecções oportunistas do canal auditivo. As infecções bacterianas e fúngicas oportunistas acontecem quando estes microrganismos pertencentes a flora natural, se tornam patogênicos em estados de imunossupressão do hospedeiro (MACHADINHO, 2011). Na presença de inflamação ou modificação do canal auditivo ocorre uma alteração da flora bacteriana produzindo um alto crescimento microbiano podendo ter uma colonização de espécies distintas envolvidas (SAMPAIO, 2014).

Portanto, doenças virais como cinomose e parvovirose comumente resultam em otite nos cães, visto que causam uma grande baixa na imunidade do animal (TULESKI, 2007). A leishmaniose visceral tem como manifestação clínica a desigualdade entre o aumento dos parasitos nas células do sistema fagocítico mononuclear, resultando na resposta imunológica do indivíduo e dando início a um processo inflamatório subjacente. Por conta da queda

imunológica ocorrem várias complicações dentre elas a mais frequentemente citada são as otites caninas (BRASÍLIA, 2004).

S. intermedius e *Streptococcus spp.* e bacilus Gram negativos como, *Pseudomonas spp.*, *Proteus spp.* e *Escherichia coli*, são os microrganismos seguidamente isolados em ouvidos portadores de OE (SAMPAIO 2014).

De acordo com Sampaio (2014) a OEA geralmente está relacionada a bactéria *S. intermedius*. A levedura mais frequentemente isolada em casos de otite é a *M. pachydermatis* (SAMPAIO, 2014).

6. DIAGNÓSTICO

Para o diagnóstico de OE em cães é necessário, além da anamnese, do exame clínico geral e específico dermatológicos, otoscopia, exames complementares como citologia, cultura e antibiograma e, em casos recorrentes e graves, a biópsia (JACOBSON, 2002; MUELLER, 2009). Mas para que o diagnóstico seja eficiente deve-se levar em consideração que o objetivo deste é reconhecer qual a causa primária que resultou na OE e OM. Para isso existem algumas etapas que compõem um diagnóstico clínico e laboratorial da OE canina (OLIVEIRA, 2004).

A anamnese deve abordar aspectos relacionados com o estado geral de saúde do paciente, histórico clínico relacionado a problemas metabólicos ou endócrinos, doenças dermatológicas, tratamentos anteriores do conduto auditivo, exposição recente a outros animais, predisposição racial e ocorrência imunossupressão (OLIVEIRA, 2004).

Na inspeção do paciente deve-se observar quanto ao indício de dor, alopecia ao redor da orelha, arranhões ou irritação na área, contínuo balançar da cabeça ou cabeça pendente pode apontar qual a orelha acometida. Orienta-se comparar se uma ou ambas as orelhas têm características de inflamação cutânea demonstrada por edema, hiperemia ou descamação do epitélio e fluxo de secreção ou de sangue pelo canal auditivo externo (MUELLER, 2009).

O canal auditivo externo deve ser examinado cuidadosamente, observando do diâmetro do canal, coloração do epitélio e a presença ou inexistência de pelos ou secreções (SAMPAIO, 2014).

6.1 OTOSCOPIA

Figura 10 - Utilização de otoscópio.



Fonte: internet (2020).

O exame otoscópico consiste na observação do conduto auditivo com o auxílio de um otoscópio (figura 10), este possui uma lanterna e uma lente de aumento que auxilia na visualização das estruturas possibilitando ao médico veterinário um rápido diagnóstico de problemas otológicos. É utilizado para observar o diâmetro do canal auditivo, presença de corpos estranhos, lesões, característica do exsudato, parasitas, úlceras, tumores e a integridade da MT (JACOBSON, 2002; SAMPAIO, 2014).

De acordo com Sampaio (2014) quando se trata de uma otite unilateral, o ouvido saudável deve ser examinado primeiro com o otoscópio, para impedir o desconforto e a contaminação do ouvido saudável.

Durante a otoscopia deve-se julgar anormais características como eritema, edema, alta quantidade de secreção, secreções com coloração alterada, erosões, ulcerações, presenças de ectoparasitas, nódulos, hiperplasia, corpos estranhos e alterações na MT (OLIVEIRA, 2004).

Desta forma a otoscopia possui como vantagem o poder ao médico veterinário de observar todas estas possíveis alterações de forma simples, barata e fácil, utilizando apenas um instrumento e a contenção adequada do animal.

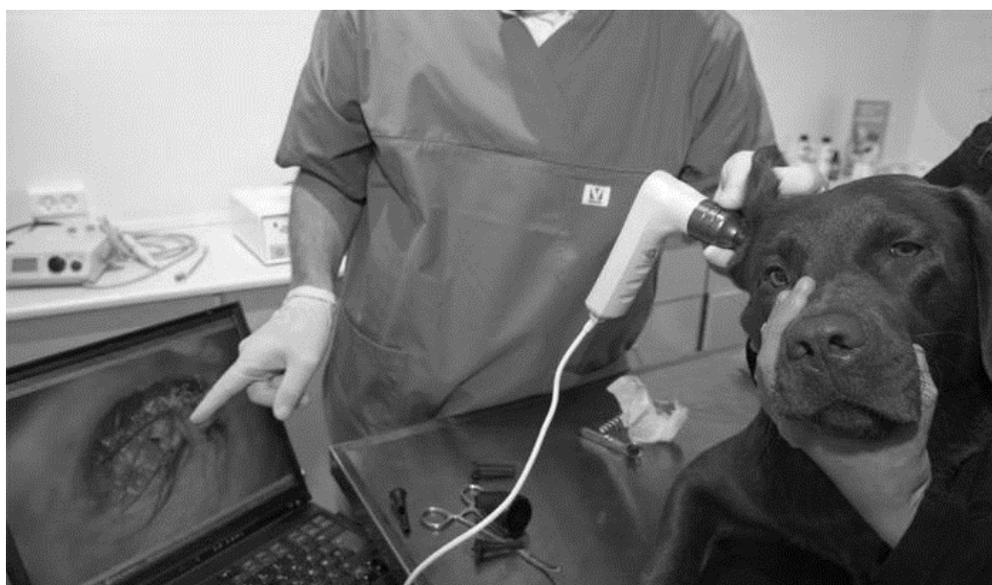
O exame do ouvido externo e a observação por otoscopia da MT são os mais importantes métodos para o diagnóstico da OM canina e embora a ruptura do tímpano seja indicadora deste problema, a conservação da sua integridade não significa necessariamente a não existência de uma OM no paciente (OLIVEIRA, 2004).

A otoscopia é um método muito importante no diagnóstico de OE e OM canina, porém possui algumas desvantagens tornando-se pouco eficiente em algumas situações. Como em casos de estenose do conduto auditivo ou excesso de secreção e pelos, a visualização da MT fica limitada ou inteiramente prejudicada (OLIVEIRA, 2004). Gotthelf (2005) aconselha nestes casos de dificuldade de visualização, realizar uma lavagem do canal auditivo.

As desvantagens do otoscópio consistem no fato da sua luz não ser suficientemente forte para atravessar a MT, e o equipamento usado atrapalhar o campo de visualização. Deve ser realizada a otoscopia antes da coleta de amostras, pois durante a coleta pode acontecer de ser empurrados resíduos para o fundo do canal, encobrindo as suas estruturas (MACHADINHO, 2011).

6.2. VÍDEO OTOSCOPIA

Figura 11 – Realização de vídeo otoscopia em cão.



Fonte: Internet (2020).

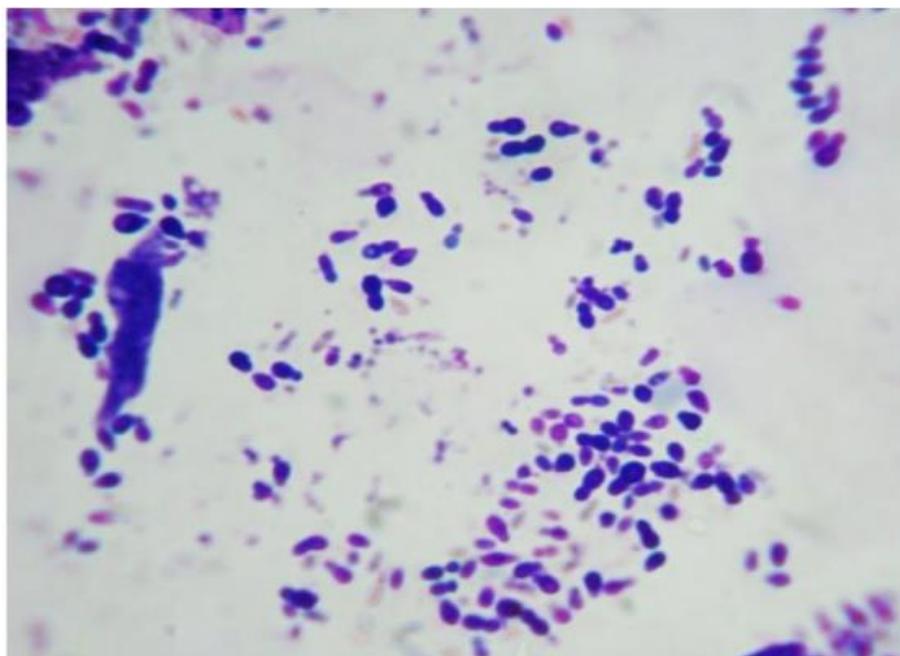
A vídeo otoscopia (figura 11) modernizou a prática veterinária otológica, e demonstrou-se muito mais vantajosa do que a otoscopia convencional (MACHADINHO, 2011). O maior benefício é que a sua óptica superior proporciona um alto grau de ampliação que quando somada à iluminação intensa proporcionada por uma forte fonte de luz resultando em uma

melhor visualização e nitidez das estruturas do ouvido ou das suas alterações patológicas, especialmente na porção profunda do canal horizontal e na MT, o que contribui para o diagnóstico e manejo das lesões do ouvido. Além disso a imagem projetada e ampliada no monitor é excelente quando comparada à observação por otoscopia tradicional (MACHADINHO, 2011).

A vídeo otoscopia também possui capacidade de documentação, sendo possível congelar a imagem para melhor avaliação, ou para deixar salva para comparações ou estudos de casos em futuras consultas. Possibilita a gravação tanto do exame como do procedimento cirúrgico, proporcionando ao médico veterinário uma melhor visualização e estudo para aperfeiçoamento de sua técnica (GOTTHELF 2005).

6.3. CITOLOGIA

Figura 12 – Citológico de orelha *Malassezia spp.* observada microscopicamente, no aumento de 1000X.



Fonte: Magalhães et al. (2017)

A citologia (figura 12) é um importante exame no diagnóstico de OE, e deve estar presente na rotina clínica (GOTTHELF, 2005; SAMPAIO, 2014). É um exame com bom custo benefício, prático, simples de se realizar, porém ainda é muito subestimado na prática clínica (SAMPALIO, 2014).

A observação e o estudo dos elementos celulares do exsudato colhido do paciente como presença de bactérias, leveduras e em alguns casos células inflamatórias tornam-se parte integrante do processo de escolha do tratamento (GOTTHEL, 2005; SAMPAIO, 2014).

As amostras devem ser colhidas antes de realizar qualquer tipo de limpeza no ouvido (SAMPAIO, 2014). Após a colheita, o material é colocado na lâmina, fixado com calor e corado com corante modificados de Wright's como por exemplo, Diff Quik®. Após a preparação da lâmina é feita a visualização ao microscópio procurando por microrganismos ou células que estejam presentes na lâmina (ALVES, 2016; GOTTHELF, 2005).

Na OEA pode ocorrer uma alteração pequena na descamação epitelial do canal, sendo observados geralmente neutrófilos e resíduos proteínaceos. Em quadros de otite mais crônica, a camada epitelial reage a inflamação e pode resultar no aparecimento de neutrófilos e macrófagos (SAMPAIO, 2014).

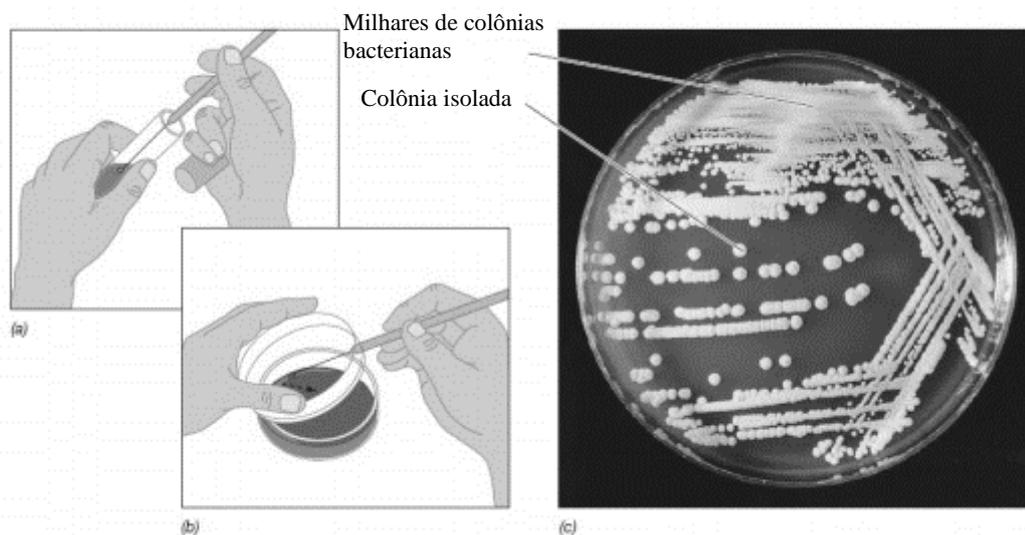
A quantidade de leveduras e bactérias só pode ser apontado como patogênicos se existir sintomatologia de otite, caso contrário na presença de um alto número de bactérias sem alguma resposta inflamatória e fagocitose considera-se apenas que seja uma colonização, e não uma infecção (ALVES, 2016; SAMPAIO, 2014).

6.4. CULTURA E ANTIBIOGRAMA

Através desta opção de diagnóstico é possível identificar a espécie existente e causadora da OE e se existem outros fatores associados a esta patologia (ALVES, 2016).

A escolha de medicamentos otológicos específicos para otite canina tem como base o agente etiológico e o estado da MT (OLIVEIRA, 2004). Desta forma o tratamento eficaz sendo aplicado da forma correta evita tanto a cronicidade como a possibilidade de gerar uma futura resistência bacteriana e ou fúngica ao paciente, demonstrando assim a importância da realização da cultura microbiológica para obtenção do diagnóstico certo e um tratamento adequado.

Figura 13 – Técnica de cultivo microbiológico.



- A- Coleta de material armazenado em tubo de ensaio com alça de platina.
 - B- Realização de estrias com auxílio da alça de platina, no meio de cultura para cultivo bacteriano em placa de Petri.
 - C- Formação de colônias bacterianas em placa de Petri posteriormente a sementeira.
- Fonte: Internet (2020)

6.5. OUTROS MÉTODOS DIAGNÓSTICOS

Outros métodos de diagnósticos podem ser realizados para auxiliar na descoberta da causa de otite, mas geralmente estes são menos utilizados. Podem ser feitos exames de radiografia, biópsia do canal auditivo, tomografia axial computadorizada (TAC) e imagem por ressonância magnética (MRI), canalografia de contraste positivo, triagens alérgicas entre outras (ALVES, 2016).

Indica-se a radiografia em casos de suspeitos de OM, principalmente antes da realização cirurgias (ALVES, 2016).

A biópsia do canal auditivo raramente é feita. Este exame permite diagnosticar doenças autoimunes, neoplasias ou hiperplasia das glândulas ceruminosas (ALVES, 2016).

TAC e MRI estes são exames complementares mais detalhados do que a radiografia, principalmente na identificação de pólipos e neoplasias (ALVES, 2016).

No diagnóstico de OM a TAC é mais sensível do que a radiografia, devido à sua resolução de alto contraste em tecidos moles. Por este motivo torna-se mais cara e menos acessível que a radiografia (AZEVEDO, 2017).

A MRI atua como um complemento da tomografia. Pois a TAC fornece uma melhor definição das alterações ósseas e enquanto a MRI apresenta melhor definição para em alterações de tecidos moles (AZEVEDO, 2017).

A canalografia de contraste positivo é a técnica radiográfica utilizada para avaliar a integridade da membrana timpânica, e a conformação anatômica do canal auditivo externo. Este método é mais aprimorado que a otoscopia na identificação de rupturas iatrogênicas da MT em cães clinicamente saudáveis, e pode ser usada para analisar problemas de estenose do canal auditivo externo (AZEVEDO, 2017).

7. METODOLOGIA

O referente trabalho é uma pesquisa de análises descritivas dos dados de forma exploratória em laboratório através da cultura e da microscopia de swab otológico de cães. O trabalho passou por análise e tem a aprovação do Comitê de ética no uso de animais (CEUA) do CEULP-ULBRA sob registro n° 39.2019/01.

A coleta de material foi realizada no período de 14 a 31 de outubro de 2019, de 75 cães com diferentes raças e idades, sendo 48 machos e 27 fêmeas. Ao todo foram coletadas 150 amostras de swabs otológicos de caninos atendidos na Unidade de Vigilância e Controle de Zoonoses de Palmas- TO.

Durante a coleta foi observado os aspectos clínicos dos pacientes como a reação de dor, o odor do conduto auditivo, e a apresentação de secreção nas amostras no ato da coleta. A coleta do conteúdo otológico foi feita com o auxílio de um swab estéril no conduto auditivo externo dos lados direito e esquerdo de cada animal.

Após a coleta o material foi devidamente acondicionado e transportado para laboratório de Microbiologia do Centro Universitário Luterano de Palmas - CEULP/ULBRA para sua preservação e posterior análise.

No laboratório as amostras foram transferidas do swab direto para uma lâmina pelo método de rolamento, que consistem em rolar o swab sob a superfície da lâmina. O material foi fixado ao calor e em seguida corado com hidróxido de potássio (KOH) a 20% e azul de metileno posteriormente foram observadas em aumento de 1000x com o auxílio do microscópio de luz (EM200/NIKON®).

Ainda com o swab contendo a secreção otológica foi semeado em meio ágar sabouraud dextrose 4% (DSA/HIMEDIA®) acrescentado 50 mg/ml de cloranfenicol antibiótico para inibir o crescimento de bacteriano, as placas foram guardadas por 12 dias em temperatura ambiente.

Após o crescimento das colônias existentes nas placas, estas foram coletadas e examinadas a microscópio. Desta forma procedeu-se a observação individual de 150 lâminas, com a diferenciação das leveduras de acordo com a sua morfologia. Uniu-se as características macroscópicas e microscópicas para a identificação do gênero e espécie de cada fungo.

8. RESULTADOS

Foram recolhidos materiais de 75 cães com diferentes raças e idades, sendo 48 machos e 27 fêmeas, destes 37 já haviam sido eutanasiados antes da coleta. Ao todo foram coletadas 150 amostras de swabs otológicos, durante a coleta foram observados sinais clínicos dos pacientes, como existência de dor na região da orelha, presença de secreção auricular e presença de odor.

Todas as coletas foram feitas em animais com algum sinal de otite. Dos 75 animais avaliados 38 (50,66%) estavam vivos durante a coleta, destes 81,57% (31/38) apresentaram sinal clínico de dor para coleta, e 18,42% (7/38) não apresentaram este sinal (gráfico 1).

Gráfico 1 - Sinal clínico de dor apresentado pelo animal durante a coleta de amostra otológica.



Fonte: Autor (2020).

Das 150 amostras analisadas foi possível verificar algum tipo de secreção auricular em 62,67% (94/150), e em 37,33% (56/150) não foram identificadas secreções (gráfico 2).

Gráfico 2 - Presença de secreção nas amostras otológicas coletadas de cães da UVCZ.



Rate Ratio de Fisher (IC 95%) = 1.679 (1.193 a 2.381)

Fonte: Autor (2020).

Em relação a odor foram percebidos que em 65,33% (98/150) das amostras havia a característica de mau odor e em 34,67% (52/150) não apresentava este odor (gráfico 3), ou seja aproximadamente 19 de cada 29 amostras coletadas animais com sinais de otite apresentaram odor fétido.

Gráfico 3 - Característica de odor fétido nas amostras otológicas



Fonte: Autor (2020)

Com o material otológico colhido foram realizados testes microbiológicos, como o exame citológico auricular, que consiste em transferir o material do swab diretamente para lâmina, com posterior coloração e visualização em campo microscópico. No teste direto foram detectadas 36 (24%) amostras positivas, todas para o fungo *Malassezia pachydermatis* (tabela 1).

Realizou-se também o cultivo microbiológico em meio de cultura de Ágar Sabouraud, que é extremamente seletivo favorecendo o crescimento de fungos. Destes meios de cultura foram obtidas 129 amostras positivas (tabela 1), e em 18 (12%) não houve crescimento fúngico, e 3 (2%) placas se perderam. Foi possível identificar três gêneros diferentes sendo eles 13 (8,66%) placas positivas para *Candida albicans*, 18 (12%) para *Rhodotorula mucilaginosa* e 98 (65,33%) sendo *Malassezia pachydermatis*. Alguns animais foram positivos nos dois testes.

Tabela 1 - Microrganismos encontrados nas amostras de cerúmen de conduto auditivo externo de cães provenientes da UVCZ de Palmas, após realização de exame direto e semeadura em placas ágar sabouraud.

Fungos encontrados	Positividade no exame	Positividade no meio de
	direto	cultura
<i>Candida albicans</i>	0	13
<i>Malassezia pachydermatis</i>	36	98
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	0	18
Total de fungos	36	129

Fonte: Autor (2020)

As 150 amostras eram divididas onde metade correspondiam a orelha esquerda e a outra metade em orelha direita, desta forma foi possível avaliar individualmente cada orelha de cada paciente. Do total de 75 placas cultivadas da orelha esquerda e da orelha direita, foi possível notar a presença dos três gêneros de leveduras. A espécie *M. pachydermatis* apresentou-se com maior frequência em ambas orelhas, conforme demonstrado (tabela 2). Foi realizado o estudo relacionando as espécies fúngicas com orelha esquerda e direita, contudo não foi constatada diferença significativa pelo teste de Fisher ($p < 0,05$).

Tabela 2 - Resultados de amostras coletadas de conduto auditivo externo direito e esquerdo de cães provenientes da UVCZ de Palmas, semeadas em placas ágar sabouraud com posterior análise microscópica.

Fungos encontrados	Orelha Esquerda	Orelha Direita
<i>Candida albicans</i>	7	6
<i>Malassezia pachydermatis</i>	50	51
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	9	9
Negativo para fungos	9	9
Total de fungos	75	75

Fonte: Autor (2020).

9. DISCUSSÕES

Almeida *et al.* (2016) relatam que de 41 cães avaliados clinicamente quanto a presença ou ausência de sinais clínicos de OE, apenas 11 demonstraram algum tipo de sinal clínico. Sendo prurido o sinal mais presente entre os otopatas, seguido de 90,9% de excesso de cerúmen, dos 11 animais somente 7 (63,3%) apresentaram dor durante a manipulação para avaliação e coleta de amostras.

Oliveira (2004) demonstra em seu estudo que de um total de 114 animais avaliados ontologicamente, 12% apresentou dor, o que foi demonstrado novamente em um novo estudo de Oliveira *et al.* (2006) que de 64 cães com otite média e externa, apenas 12% apresentaram otalgia. Baptista *et al.* (2010) após analisarem 60 orelhas de cães, observou-se que 49 (81,67%) dos condutos auditivos apresentavam pelo menos um sinal de otite clínica incluindo dor. Leite, Abreu e Costa (2003) relataram durante um estudo que todos os animais examinados apresentavam sintomatologia de OE sendo a hiperalgia o principal sinal. Caracterizando-se assim a otalgia como um sinal recorrente na clínica de OE, o que foi demonstrado nos dados do presente estudo.

Leite, Abreu e Costa (2003) notaram que o aspecto clínico predominante em seus pacientes e amostras foi a presença de exsudato em 42 (84%) de seus 50 cães. Almeida *et al.* (2016) obteve em sua pesquisa a presença de exsudato purulento (27,3%) e exsudato enegrecido (18,2%) em suas amostras. Marinho *et al.* (2009) descreveram em seu relato de caso a avaliação do paciente com exame clínico, onde constatou secreção amarelo escura abundante com odor forte e dor à palpação, sintomatologia clássica de otite. Fernández *et al.* (2006) encontrou em 60,4% de seus pacientes secreções purulentas, e em 35,8% secreções de cera.

De acordo com Quinn *et al.* (2007) a *M. pachydermatis* produz enzimas proteolíticas, que lesionam a mucosa auditiva causando uma produção excessiva de cera e sua retenção, o que contribui para inflações. Levando o exsudato inflamatório a se acumular no canal auditivo.

Desta maneira fica evidente que a presença de secreção em ouvido de cães com OE é comum, sendo uma das principais características notada e relatada pelos tutores destes animais. Assim, este também é o material utilizado para exames laboratoriais diagnósticos de OE.

Fusson *et al.* (2008) caracteriza os tipos de secreção auricular de acordo com o agente causador da OE, deste modo descreve o exsudato purulento como causador da afecção, bactérias gram-negativas, secreções sanguinolentas podem sugerir uma neoplasia local e aquelas com coloração enegrecida geralmente estão associadas a infecções fúngicas ou presença de *Staphylococcus spp.* e *Streptococcus spp.*

Oliveira *et al.* (2006) destacam sinais considerados fundamentais no direcionamento de um paciente otopata. Durante o estudo verificaram que a afecção de ouvido é caracterizada quando o animal apresenta dois ou mais sinais, dentre eles, alteração na cor, no odor, no aspecto e na quantidade da secreção auricular.

Marinho *et al.* (2009) em seu relato descreveram pacientes com OE apresentando odor fétido. Almeida *et al.* (2016) aponta que 81,8% dos cães apresentavam mau cheiro no conduto auditivo. Tuleski (2007) caracteriza a infecção por *M. pachydermatis* como composta geralmente por uma secreção espessa, marrom escura, com odor adocicado, estas são características típicas deste gênero. Já nos casos de condutos auditivos mau cheirosos, são decorrentes de altas taxas de tecido inflamatório, necrótico e acúmulo de exsudato tornando o ambiente propício ao crescimento e proliferação bacteriana que causam o odor pútrido. Assim, é este sinal comum entre os pacientes otopatas.

No presente estudo a relação entre a presença de odor fétido nas amostras e a positividade para OE foi avaliada pelo Teste de Fisher ($p > 0,05$), demonstrando que houve diferença estatística entre amostras com odor e amostras sem odor ($p = 1.885$), ou seja, 95% das amostras auriculares com odor fétido são provenientes de animais positivos para OE.

Leite, Abreu e Costa (2003) fizeram uma pesquisa semelhante onde o intuito era avaliar a frequência de isolamento de *M. pachydermatis* em otite canina, para isso foram utilizados 50 cães atendidos no Hospital Veterinário da UFMG e na Clínica São Francisco de Assis em Belo Horizonte. Semelhante ao presente estudo os pesquisadores utilizaram dois métodos diferentes de exames com positividade em ambos, o da lâmina direto com posterior avaliação microscópica, com 39 animais (78%) de positividade para o fungo *Malassezia*.

Leite, Abreu e Costa (2003) também fizeram a cultura do material colhido, o meio de cultura utilizado foi sabouraud dextrose, complementado de cloranfenicol e azeite de oliva, deste método obtiveram 44 animais (88%) com amostras positivas para *M. pachydermatis*.

Almeida *et al.* (2016) realizaram o isolamento microbiológico do canal auditivo de 41 cães, totalizando 82 amostras de conteúdo otológico. Estes animais foram divididos em dois grupos, onde 11 apresentavam sinais clínicos de otite externa bilateral e 30 não tinham sinais da doença. Almeida *et al.* (2016) utilizaram três métodos distintos de análise e cultura destas amostras, foram utilizados o exame direto, a semeadura em meio de cultura com ágar sangue e a cultura em placa com ágar fungobiótico enriquecido com azeite a 2%.

O ágar sangue utilizado por Almeida *et al.* (2016) é um meio de cultura enriquecido que proporciona melhores condições de crescimento aos microrganismos sendo um meio responsável pelo crescimento de bactérias gram positivas, gram negativas e fungos na mesma

placa. Os autores observaram que 80% (48/60) de positividade para OE sendo entre cães sem sinais clínicos 63,3% apresentavam nas amostras mais de um microrganismo, resultado normal visto que a microbiota auditiva é composta por variados gêneros de bactérias e fungos residentes naturais deste ambiente. No grupo de pacientes com sintomatologia clínica de OE 95% (21/22) das amostras continham a presença de microrganismos, destes 77,3% (17/22) com infecção polimicrobiana. Almeida *et al.* (2016) observaram a presença de *Bacillus sp.*, *Malassezia sp.*, *Staphylococcus sp.* e *Streptococcus sp.* em suas amostras.

O segundo método de isolamento microbiológico utilizado por Almeida *et al.* (2016) foi a citologia, neste exame o grupo com OE apresentou 81,81% (18/22), e o grupo sem sinais clínicos de OE 31,6% (19/60) de positividade quando analisada a lâmina em microscópio. A última forma de avaliação utilizada por Almeida *et al.* (2016) na pesquisa foi o cultivo em ágar seletivo para fungos, que tinha como intuito o crescimento de *Malassezia sp.*, neste meio obtiveram resultados de positividade para este gênero em 86,63% (19/60) no grupo com OE, e 53,3% (32/60) nos animais sem OE, este fungo também é observado na ausência de otite por compor a microbiota auditiva.

Nos três casos foi possível perceber a presença de um microrganismo em comum, tanto no método citológico quanto na observação do meio de cultura. O fungo do gênero *Malassezia sp.* esteve presente em todos os estudos, o que Nobre *et al.* (1998) demonstrara em seu trabalho que de todos os agentes isolados nos casos de otite a prevalência era de *M. pachydermatis*.

No presente trabalho a relação entre as espécies de fungo e o melhor teste para observação da espécie foi avaliada pelo Teste de Fisher ($p > 0.05$) sendo que não houve diferença estatística entre o exame direto e meio de cultura para *M. pachydermatis* ($p = 0.082$) e *C. albicans* ($p = 0.194$), contudo a espécie *R. mucilaginosa* apresentou diferença estatística ($p = 0.024$) sendo melhor observado no meio de cultura.

A morfologia das leveduras, não exhibe muita diversidade, deste modo nem sempre é um parâmetro satisfatório, tornando difícil sua identificação no exame direto. Provas fisiológicas fazem-se necessárias, por exemplo para identificação de *C. albicans* e *Candida spp.* é preciso a realização de testes como o tubo germinativo. O cultivo em placas visa a obtenção de culturas puras bem desenvolvidas, facilitando a visualização macroscópica da colônia, que se torna importante para a identificação quando aliada a avaliação morfológica de cada célula, como no caso do gênero *Rhodotorula* que possui como característica macroscópica uma coloração vermelho alaranjado, mas que microscopicamente possui morfologia semelhante a várias outras leveduras (ANVISA, 2004; MORAES; PAES; HOLANDA, 2009).

Segundo Quinn *et al.* (2007) a *M. pachydermatis* pode ser encontrada na pele de mamíferos e de aves, especialmente próximo a áreas com grande número de glândulas sebáceas. A colonização e o crescimento do microrganismo neste local podem estar associados à imunossupressão do paciente. O fungo deve estar presente neste local mesmo sem que o paciente apresente nenhum tipo de sintomatologia clínica para a OE, o que justifica ser um dos principais agentes patológicos envolvidos nestes casos.

Bentubo *et al.* (2010) realizaram um estudo de isolamento de leveduras no pelo de cães hígidos domiciliados. Dentre os microrganismos isolados observaram *R. mucilaginosa* e *C. albicans*, registrando-os como residentes na microbiota destes animais.

R. mucilaginosa não é comumente relatada em casos de OE de cães, mas já foi descrita no conduto auditivo de alguns mamíferos como por Duarte *et al.* (2001) estudaram a presença de fungos no conduto auditivo de bovinos com otite parasitária, de 45 animais 11,1% (5/45) apresentaram *R. mucilaginosa*, além deste gênero também isolou o fungo *C. albicans* em 15,5% (7/45) dos ruminantes. Brotto *et al.* (2005) realizaram um estudo científico em que avaliou a microbiota auditiva de macacos *rhesus* (*Macaca mulatta*) mantidos em cativeiro. Neste estudo foram utilizados 40 animais divididos dois grupos. Os gêneros fúngicos de *C. albicans* e *R. mucilaginosa* foram registrados nos dois grupos de 20 animais cada, onde o grupo I teve 60% (12/20) e o grupo II 95% (19/20) positivos para *C. albicans*. A taxa de positividade para *R. mucilaginosa* foi um pouco menor nos dois grupos, o I obteve-se 5% (1/20) e o II 15% (3/20) na microflora otológica.

Deste modo percebe-se que este fungo não é tão comum em casos de otites, principalmente em cães, entretanto já foram relatados anteriormente em bovinos e macacos, e podem ser encontrados esporadicamente como um dos agentes envolvidos nesta patologia. Porém visto que estão presentes na microbiota natural podem tornar-se patógenos oportunistas, nos casos em que já se tenha fatores predisponentes principalmente de imunossupressão (BROTTO *et al.*, 2005).

C. albicans é encontrada no isolamento de contudo otológico de pacientes com OE, não como *M. pachydermatis*, mas está entre os fungos mais citados no isolamento de amostras otológicas. Fernández *et al.* (2006) de 53 cães diagnosticados com OE *M. pachydermatis* foi o fungo mais encontrado, em 69,85% dos casos seguida por *Candida spp.* em 20,76% dos otopatas, Tuleski (2007) confirma este resultado em seu trabalho onde também teve a maior porcentagem de positivos para *M. pachydermatis* 99,3% (150/151), seguida de positivos *C. albicans* 0,7%.

Almeida *et al.* (2016) em amostras otológicas de ambos os ouvidos de 41 animais, destes 11 eram diagnosticados com otite bilateral e os demais não apresentavam sinais clínicos de OE em nenhum dos ouvidos. Oliveira (2004) realizou um estudo comparativo em cães com OM e OE, 50 cães apresentavam OE bilateral, ao realizarem cultura de amostras do lado esquerdo e direito dos pacientes, foram isoladas leveduras de *M. pachydermatis* em 35 (24%) orelhas esquerdas e 38 (25,9%) orelhas direitas. *C. albicans* foi isolada em 1 (0,7%) orelhas esquerdas e 2 (1,4%) orelhas direitas. Oliveira (2004) não descreveu a presença de *R. mucilaginosa* em suas amostras.

Segundo Almeida *et al.* (2016) de 82 amostras coletadas 22 correspondiam a pacientes com otite bilateral. Marinho *et al.* (2009) descreveram que seu paciente foi diagnosticado com otite bilateral crônica recidivante média e externa associada.

Marinho *et al.* (2009) descreveram a bilateralidade de uma otite como sendo consequência de uma otite crônica tratada incorretamente, causando recorrentes episódios de piora, afetando assim integridade otológica e a imunidade do animal. Desta forma é muito comum animais otopatas bilaterais.

Tanto no trabalho de Oliveira (2004) quanto neste foi possível observar que a porcentagem de infecção de uma orelha para outra do mesmo paciente não tem diferença estatística, sendo os valores muito aproximados, também pode-se afirmar que cães podem ser acometidos por mais de um microrganismo em sua OE, não sendo necessariamente obrigatório que os causadores sejam os mesmos tanto no ouvido esquerdo como no ouvido direito. Como observado nesta pesquisa, alguns animais continham um gênero fúngico em um ouvido o mesmo não foi encontrado no outro.

10. CONCLUSÃO

O presente estudo promoveu a identificação de leveduras presentes na microbiota natural do ouvido externo de cães. Foram feitas associações entre estes fungos e a existência de sinais clínicos de otite, concluindo-se que estes microrganismos agem como agentes patogênicos oportunistas e que a *Malassezia pachydermatis* é o mais encontrado nestes casos.

O estudo demonstrou que a dor, secreção otológica e o mau odor são os sinais clínicos apresentados com maior frequência em cães portadores de otite externa. Sendo estes corriqueiramente observados no dia a dia da clínica médica.

O trabalho avaliou a relação entre a presença da doença e o método diagnóstico mais confiável para identificação do agente etiológico da otite externa demonstrou-se ser o meio cultura, onde é possível observar as características morfológicas micro e macro das colônias, tornando-se assim um diagnóstico confiável e resultando na escolha do tratamento ideal e eficaz, evitando-se recidiva. Contudo, o outro método de exame direto mostrou-se eficiente para diagnóstico das espécies *M. pachydermatis* e *C. albicans*. Por ser um método simples é importante que seja utilizado associado ao meio de cultura.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, M. de S.; SANTOS S. B.; MOTA A. da R.; SILVA L. T. R. da; 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.*, Rio de Janeiro, v. 36, n. 1, p. 29-32, jan. 2016.
- ALVES, S. V. G. *Identificação de Otite Externa em Cães Apresentados à Consulta Vacinal*. 2016. 70 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Lisboa, 2016. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10437/7095>. Acesso em: 20 mar. 2020.
- AMARAL, R. C.; IBANEZ, J. F.; MAMIZUKA, E. M.; GAMBALE, W.; DE PAULA, C. R.; LARSSON, C. E. Microbiota indígena do meato acústico externo de gatos hígidos. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 28, n. 3, p. 441-445, jul./set. 1998. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/cr/v28n3/a15v28n3.pdf>. Acesso em: 26 jun. 2020.
- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Detecção e Identificação dos Fungos de Importância Médica*. Módulo VII. 2004. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/microbiologia/mod_7_2004.pdf. Acesso em: 29 jun. 2020.
- AZEVEDO, R. S. de. *Semiologia do canal auditivo em cães e gatos revisão de literatura*. 2017. 33 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) - Universidade Faculdade de Medicina Veterinária, Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/156569>. Acesso em: 13 jun. 2020.
- BAPTISTA, T. C. de C.; REIS, C. R.; TEIXEIRA, D. R.; MOURA, M. Diagnóstico de *Malassezia sp* em ouvidos de cães e sua correlação clínica. *Rev. Eletr. Nov. Enfoq.*, Rio de Janeiro, v. 09, n. 09, p. 48-55, ago. 2010.
- BENTUBO, H. D. L.; GAMBALE, W.; FISCHMAN, O. Leveduras isoladas do pelame de cães sadios que vivem em regime domiciliar. *Arq. Bras. de Med. Vet. e Zootec.*, Belo Horizonte, v. 62, n. 4, p. 1018-1021, ago. 2010. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352010000400039. Acesso em: 21 jun. 2020.
- BONATTO, D. da C.; BRUSTEIN, R.; ARAÚJO, P. C. C. de; DAHER, G. de A.; SILVA, K. de P. Microbiota de secreções auriculares de cães isolada no Laboratório de Bacteriologia e Micologia do Instituto de Medicina Veterinária Jorge Vaitsman – Rio de Janeiro, RJ. *Ver. Bras. de Ciênc. Vet.*, Rio de Janeiro, v. 6, n. 1, p. 44-46, jan./abr. 1999. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4322/rbcv.2015.132>. Acesso em: 24 jun. 2020.
- BOND, R.; SAIJONMAA-KOULUMIES, L. E.; LLOYD, D. H. Population sizes and frequency of *Malassezia pachydermatis* at skin and mucosal sites on healthy dogs. *JSAP*, v. 36, n. 4, p. 147-150, abr. 1995.

BROTTO T. L.; ANDRADE M. C. R.; GONÇALVES M. A. B.; GIMENIS F.; PINA A. Identification of fungi microflora in the ear conducts of rhesus macaques (*Macaca mulatta*) kept in captivity. *Braz. J. vet. Res. Anim. Sc.*, São Paulo, v.42, n.6, p.459-464, mar. 2005. Disponível em: <http://www.revistas.usp.br/bjvras/article/view/26405/28188>. Acesso em: 21 jun. 2020.

BUDRAS, K. D. *et al.* Órgãos do sentido: Orelha. In: BUDRAS, K. D.; MCCARTHY, P. H.; FRICKE, W.; RICHTER, R.; HOROWITZ, A.; BERG, R. *Anatomia do cão: Texto e atlas*. 5. ed. São Paulo: Manole, 2012. p. 120.

COSTA, A. K. F.; SIDRIM, J. J. C.; CORDEIRO, R. A.; BRILHANTE, R. S. N.; MONTEIRO, A. J.; ROCHA, M. F. G. Urban pigeons (*Columba livia*) as a potential source of pathogenic yeasts: a focus on antifungal susceptibility of *Cryptococcus* strains in Northeast Brazil. *Mycopathologia*. p. 207-213, mar. 2010.

DUARTE, E. R.; RESENDE, J. C. P.; ROSA, C. A.; HAMDAN, J. S. Prevalence of yeasts and mycelial fungi in bovine parasitic otitis in the State of Minas Gerais, Brazil. *J. vet. Med.*, v. 48, n. 8, p. 631-635, out. 2001.

FERNANDEZ, G.; BARBOZA, G.; VILLALOBOS, A.; PARRA, O.; FINOL, G.; RAMIREZ, R. A. Isolation and identification of microorganisms present in 53 dogs suffering otitis externa. *Ver. Cient.*, v. 16, n. 1, p. 23-30, 2006.

FOSSUM, T. W. Cirurgias de Orelha. In: FOSSUM, T. W.; HEDLUND, C. S.; JOHNSON, A. L.; SCHULZ, K. S.; SEIM, H. B.; WILLARD, M. D.; BAHR, A.; CAROLL, G. *L. Cirurgia de Pequenos Animais*. 3. ed. Rio de Janeiro: Elsevier Editora, 2008. Cap. 17, p. 300, 302.

GAAG, I. V. D. The pathology of the external ear canal in dogs and cats. *Vet. Quart.* v. 8, n. 4, p. 307-317. 1986

GIRÃO M. D.; PRADO, M. R.; BRILHANTE, R. S. N.; CORDEIRO, R. A.; MONTEIRO, A. J.; SIDRIM, J. J. C.; ROCHA, M. F. G. *Malassezia pachydermatis* isolated from normal and diseased external ear canals in dogs: A comparative analysis. *Vet. J.*, v. 172, n. 3, p. 544-548, nov. 2006.

GIUFFRIDA, L.; LUCAS, R. Semiologia do Sistema Auditivo. In: FEITOSA.F.L. *Semiologia Veterinária A Arte do Diagnóstico*. 2. ed. São Paulo: Roca. Cap. 13, p.677-687, 2008.

GOTTHELF, L. N. *Small Animal Ears Disease: an illustrated guide*. 2. ed. Missouri: Elsevier Saunders, 2005.

GUILLOT, J.; BOND, R. *Malassezia pachydermatis*: a review. *Medical Mycology*, v. 37, n. 5, p. 295 - 306, jan. 1999. Disponível em: <https://academic.oup.com/mmy/article/37/5/295/983425>. Acesso em: 24 jun. 2020.

HARVEY, G. R.; PATERSON, S. *Otitis Externa - An Essential Guide to Diagnosis and Treatment*. CRC Press: Taylor & Francis Group. 2014. 141 p.

JACOBSON, L. S. Diagnosis and medical treatment of otitis externa in the dog and cat. *J. of the South African Vet.*, South Africa, v. 73, n. 4, p. 162-170, 2002. Disponível em: <https://jsava.co.za/index.php/jsava/article/view/581/557>. Acesso em: 27 jun. 2020.

KAHN, C. M. *et.al.* (ed.). *Manual merck de veterinaria*. 6. ed. Barcelona/Espanha: Oceano. 2007. v.1. p. 407-415

KÖNIG, H. E.; LIEBICH, H. G. Orelha (Auris). In: KÖNIG, H. E.; LIEBICH, H. G. *Anatomia dos Animais Domésticos* - Texto e Atlas Colorido. Tradução: Pizzato R. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016. Cap. 17, p. 601- 614.

LEITE, C. A. L.; ABREU, V. L. V.; COSTA, G. M. Frequência de *Malassezia pachydermatis* em otite externa de cães. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, Belo Horizonte, v. 55, n. 1, p. 102-104, fev. 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0102-09352003000100016>. Acesso em: 21 jun. 2020.

MACHADINHO, R. F. L. *Estudo comparativo de ressonância magnética e tomografia computadorizada associadas a vídeo-otoscopia na avaliação do ouvido*. 2011. 90 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Técnica de Lisboa Faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa, 2011. Disponível em: <https://www.repository.utl.pt/handle/10400.5/3698>. Acesso em: 21 abr. 2020.

MARINHO, P. V. T.; NUNES G. D. L.; FILGUEIRA F. G. F.; TAVARES T. H.; SILVA C. M. DE A.; LEITE A. R. DE A.; CARNEIRO R. DOS S.; GARINO JÚNIOR F. Multirresistência bacteriana em cão com otite bilateral crônica recidivante (Relato de caso). 2009. 3 f. Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Patos PB, 2009. Disponível em: <http://www.eventosufrpe.com.br/jepex2009/cd/resumos/R1053-1.pdf>. Acesso em: 22 jun. 2020.

MILLER Jr, W. H.; GRIFFIN, C. E.; CAMPBELL, K. L. *Muller and Kirk's Small Animal Dermatology*. 7th ed.: Elsevier, 2013. p. 948

MORAES, A. M. L. de; PAES, R. de A.; HOLANDA, V. L. de. Micologia. In: MOLINARO, E. M.; CAPUTO, L. F. G.; AMENDOEIRA, M. R. R. (org.). *Conceitos e Métodos para a Formação de Profissionais em Laboratórios de Saúde*. 4. ed. Rio de Janeiro: Epsjv; Ioc, 2009. Cap. 4, p. 399 - 446. Disponível em: <http://www.epsjv.fiocruz.br/sites/default/files/cap4.pdf>. Acesso em: 29 jun. 2020.

MORRIS, D. O.; O'SHEA, K.; SHOFER, F. S.; RANKIN, S. *Malassezia pachydermatis* carriage in dog owners. *Emerging Infect. Diseases*, v. 11, n. 1, p. 83-88, jan. 2005. Disponível em: https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/11/1/04-0882_article. Acesso em: 24 jun. 2020.

MUELLER, E. N. Avaliação e tratamento da otite externa canina. 2009. 86 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2009. Disponível em: http://repositorio.ufpel.edu.br:8080/bitstream/123456789/2538/1/dissertacao_eduardo_negri.pdf. Acesso em: 08 abr. 2020.

NASCIMENTO, M. J. *Epidemiologia de Otodectes cynotis (Acari: Sarcoptiformes) e sua associação com a infecção por Malassezia pachydermatis (Cryptococcales: Cryptococcaceae) no canal auditivo externo de cães naturalmente infestados*. 2007. 36 f. Dissertação (Mestrado em Biologia) – Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2007.

Disponível em:

https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/87551/nascimento_mj_me_botib.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acesso em: 04 jun. 2020.

NOBRE, M. de O.; CASTRO, Â. P. de; NASCENTE, P. da S.; FERREIRO, L.; MEIRELES, M. C. A. 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.*, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 245-249. ago./out. 2001. Disponível em:

<https://www.scielo.br/pdf/bjm/v32n3/7747.pdf>. Acesso em: 24 jun. 2020.

NOBRE, M.; MEIRELES, M.; GASPAR, L. F.; PEREIRA, D.; SCHRAMM, R.; SCHUCH, L. F.; SOUZA L.; SOUZA LORENA. *Malassezia pachydermatis* e outros agentes infecciosos nas otites externas e dermatites em cães. *Ciênc. Rural*, Santa Maria, v. 28, n. 3, p. 447-452, jul. 1998. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-84781998000300016&script=sci_arttext. Acesso em: 22 jun. 2020.

OLIVEIRA, L. C. de. *Otite Média e Externa Bilateral em Cães: estudo comparativo do perfil microbiológico e susceptibilidade a antimicrobianos das espécies prevalentes*. 2004. 114 f.

Dissertação (Mestrado em Microbiologia Médica) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2004. Disponível em: http://repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/1902/1/2004_dis_lcoliveira.pdf. Acesso em: 08 mar. 2020.

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. de Med. Vet. e Zootec.*, Fortaleza, v. 58, n. 6, p. 1009-1017, dez. 2006. Disponível em:

<https://www.scielo.br/pdf/abmvz/v58n6/06.pdf>. Acesso em: 08 mar. 2020.

ÖZCAN, Z. Some histochemical properties of the ceruminous glands in the meatus acusticus externus in cats and dogs. *Turk. J. Vet. And Anim. Sci.* Ankara - Turkey, v. 29, p. 917-921. mar. 2005. Disponível em: <https://dergipark.org.tr/en/download/article-file/132754>. Acesso em: 22 jun. 2020.

PATERSON, S.; TOBIAS, K. *Atlas of Ear Diseases of the Dog and Cat*. Ames, Iowa: Wiley-blackwell, 2013. p. 184.

PINNA, A.; CARTA F.; ZANETTI, S.; SANNA, S.; SECHI, L. A. Endogenous *Rhodotorula minuta* and *Candida albicans* endophthalmitis in an injecting drug user. *Br. J. Ophthalmol.*, v. 85, p. 754-760, jun. 2001. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1136/bjo.85.6.754-f>. Acesso em: 26 jun. 2020.

PRADO, M. R. do; BRILHANTE, R. S. N.; SIDRIM, J. J. C.; ROCHA, M. F. G. *Malassezia spp.* em humanos e pequenos animais: uma abordagem teórica. *Ver. Port. Ciênc. Vet.*, Lisboa, p. 207-214, dez. 2007. Disponível em: http://www.fmv.ulisboa.pt/spcv/PDF/pdf12_2007/207-214.pdf. Acesso em: 03 jun. 2020.

QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; CARTER, M. E.; DONNELLY, W. J. C.; LEONARD F. C. Leveduras e produção de doenças. In: *Microbiologia veterinária e doenças infecciosas*. Tradução: Lúcia H. N. W., Rita D. N. W. Porto Alegre: Artmed, 2007. Cap. 40, p. 233 - 239.

SAMPAIO, M. S. de. *Ocorrência de otite externa em cães apresentados à consulta de rotina*. 2014. 64 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Lisboa, 2014. Disponível em: <http://recil.grupolusofona.pt/bitstream/handle/10437/5285/Disserta%C3%A7%C3%A3o%20MS%20.pdf?sequence=1>. Acesso em: 27 mar. 2020.

SILVA, C. Z. da. *Identificação e susceptibilidade de bactérias isoladas de otite externa em cães aos antimicrobianos*. 2014. 35 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/108195>. Acesso em: 08 abr. 2020.

BRASÍLIA. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Leishmaniose Visceral. In: *Doenças Infecciosas e Parasitárias: guia de bolso*. 4. ed. Brasília: Editora MS, 2004. Cap. 44, p. 211-215. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_bolso_4ed.pdf. Acesso em: 15 jun. 2020.

TULESKI, G. L. R. *Avaliação da prevalência infecciosa e da sensibilidade in vitro aos antimicrobianos em otites de cães*. 2007. 167 f. Dissertação (Mestrado em Patologia Veterinária) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007. Disponível em: <https://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/8073/tese%20Giovana%20corrig%20Fa;jsessionid=490DFDB5B5581F1F2092C0DFF8F3D279?sequence=1>. Acesso em: 08 mar. 2020.

WIRTH, F. *Infecção disseminada por Rhodotorula em um modelo experimental em ratos*. 2011. 140 f. Tese (Doutorado em Medicina) - Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/37499/000822531.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 04 jun. 2020.