

# OTITE INTERNA CAUSADA POR *Corynebacterium* sp. EM CANINO: RELATO DE CASO

*Data de submissão: 07/07/2023*

*Data de aceite: 01/09/2023*

### **Fran Erley Sousa Oliveira**

Universidade Federal Rural do Semiárido  
Quixeré – Ceará  
<http://lattes.cnpq.br/7685951313212816>

### **Francisco Marlon Carneiro Feijó**

Universidade Federal Rural do Semiárido;  
Departamento de Ciências Animais  
Mossoró – Rio Grande do Norte  
<http://lattes.cnpq.br/7436750766676260>

### **Nilza Dutra Alves**

Universidade Federal Rural do Semiárido;  
Departamento de Ciências Animais  
Mossoró – Rio Grande do Norte  
<http://lattes.cnpq.br/5897477356455243>

### **Caio Sérgio Santos**

Universidade Federal Rural do Semiárido;  
Departamento de Ciências Animais  
Mossoró – Rio Grande do Norte  
<http://lattes.cnpq.br/2423647931730326>

**RESUMO:** A otite interna é a inflamação do ouvido interno que normalmente causa a doença vestibular nos cães, uma vez que um processo inflamatório no ouvido interno pode levar a lesão no nervo vestibulococlear. Muitos casos de otite não respondem ao tratamento instituído pelo médico

veterinário, diante disso, há a necessidade da identificação do agente microbiano desencadeador da patologia para a escolha de um medicamento eficaz. Um canino, fêmea, SRD, 16 anos, 17,6kg, deu entrada no Hospital Veterinário (HOVET/UFERSA) apresentando histórico de otite crônica e os seguintes sinais clínicos: andar em círculo, inclinação de cabeça, secreção escurecida, perda de equilíbrio e dificuldade de deglutição. Após determinado o diagnóstico clínico de otite interna, foi realizada a coleta da secreção do meato acústico externo e em seguida a amostra foi encaminhada para o laboratório de microbiologia veterinária onde foram realizados os procedimentos de semeadura em meios de cultura e isolamento bacteriano. As colônias isoladas foram submetidas à coloração de Gram e às provas bioquímicas correspondentes aos resultados da citologia com o objetivo de determinar o gênero da bactéria estudada. Após identificada, a bactéria foi submetida ao teste de susceptibilidade antimicrobiana utilizando um inócuo recente semeado em Ágar Müeller-Hinton, em seguida foram posicionados sobre a placa, discos contendo antimicrobianos. As colônias que cresceram em Ágar Sangue foram identificadas pela citologia como

bacilos Gram-positivos; os resultados das provas bioquímicas foram correspondentes a bactérias do gênero *Corynebacterium*. A cepa de *Corynebacterium* sp. foi sensível a 5 de 16 antimicrobianos testados: ciprofloxacina, tetraciclina, gentamicina, amicacina e cefepime. O tratamento instituído foi solução otológica em gotas a base de ciprofloxacina 3,5 mg/ml, 7 gotas por via otológica a cada 12 horas durante 21 dias. O animal não regressou para um retorno, não sendo possível realizar um perfil microbiológico para confirmar a regressão da infecção bacteriana.

**PALAVRAS-CHAVE:** Canino; Otite; *Corynebacterium* sp.

## OTITIS INTERNAL CAUSED BY CORYNEBACTERIUM SP. IN CANINE: CASE REPORT

**ABSTRACT:** Otitis internus is the inflammation of the inner ear that usually causes vestibular disease in dogs, since an inflammatory process in the inner ear can lead to lesion in the vestibulocochlear nerve. Many cases of otitis do not respond to the treatment instituted by the veterinarian; therefore, there is a need to identify the microbial agent that triggers the pathology in order to choose an effective medication. A canine, female, SRD, 16 years old, 17.6 kg, was admitted to the Veterinary Hospital (HOVET/UFERSA) with a history of chronic otitis and the following clinical signs: walking in circles, head tilting, dark secretion, loss of balance and difficulty swallowing. After determining the clinical diagnosis of otitis interna, a sample of secretion from the external acoustic meatus was collected and then it was sent to the laboratory of veterinary microbiology, where the procedures of seeding in culture media and bacterial isolation were performed. The isolated colonies were submitted to Gram staining and biochemical tests corresponding to the cytology results in order to determine the genus of the bacteria studied. After identification, the bacteria were submitted to the antimicrobial susceptibility test using a fresh inoculum seeded on Müeller-Hinton Agar, then discs containing antimicrobials were placed on the plate. Colonies that grew on Blood Agar were identified by cytology as Gram-positive bacilli; the results of biochemical tests corresponded to bacteria of the genus *Corynebacterium*. The *Corynebacterium* sp. strain was sensitive to 5 of 16 antimicrobials tested: ciprofloxacin, tetracycline, gentamicin, amikacin and cefepime. The treatment instituted was ciprofloxacin 3.5 mg/ml based otologic solution in drops, 7 drops by otologic route every 12 hours for 21 days. The animal did not return for a return visit, and it was not possible to perform a microbiological profile to confirm the regression of the bacterial infection.

**KEYWORDS:** Canine; Otitis; *Corynebacterium* sp.

## 1 | INTRODUÇÃO

A microbiologia é o ramo da ciência que estuda os seres vivos microscópicos, ou seja, cujo todos os processos metabólicos relacionados a vida são exercidos por apenas uma célula. “Esta compreende o estudo da morfologia, citologia, reprodução, características fisiológicas e bioquímicas dos microrganismos, especialmente as bactérias, um grupo de células que apresentam grande importância básica e prática (MADIGAN, 2016; CAMPOS, 2016).”

Uma vez que a célula é a unidade básica da vida, os microrganismos unicelulares são dotados dos parâmetros biológicos necessários para serem classificados seres vivos assim como os organismos multicelulares sendo estes: “capacidade de reprodução, ingestão, biotransformação e assimilação de substâncias para o desenvolvimento de reações metabólicas; excreção de resíduos do metabolismo e desenvolvimento de respostas a alterações ambientais (NOGUEIRA; MIGUEL, 2012)”. “Apesar de apenas uma minoria dos microrganismos ser patogênica, o conhecimento prático é necessário para a medicina e as ciências relacionadas à saúde (TORTORA, 2011)”.

Microrganismos patogênicos são responsáveis por diversas enfermidades em animais, entre essas, dermatites, piometra e otites. “A otite constitui um dos problemas mais comuns e frustrantes encontrados na clínica médica de pequenos animais. (BIRCHARD; SHERDING, 2003)”. “Representando cerca de 5 a 12% das consultas de otites em canídeos, é bastante caracterizada pelo ato do animal coçar ou esfregar o ouvido no chão, pender ou balançar a cabeça (JACKSON; MARSELLA, 2012)”.

A otite pode ser classificada de acordo com o local da conduto auditivo acometido em otite externa, otite média e otite interna. A otite externa é a inflamação do canal auditivo horizontal, vertical ou de ambos; a otite média é a inflamação da membrana timpânica. A otite interna é a inflamação da orelha interna dos cães, e uma vez que no seu interior está localizado o VIII par de nervo craniano, o nervo vestibulococlear, responsável pela audição e pelo equilíbrio, esta inflamação está associada a doença vestibular dos cães caracterizada por lesões neurológicas tais como inclinação de cabeça, nistagmo, incoordenação motora e perda de audição parcial ou total em casos mais graves ou crônicos. “Em casos de suspeita de cepas bacterianas resistentes, recomenda-se a execução de testes microbiológicos de cultura e antibiograma para a identificação do(s) agente (s) microbiológico (s) envolvido(s) e determinação de uma droga antimicrobiana a ser instituída na terapia (ETTINGER, 2004).”

## 2 | DESCRIÇÃO DO CASO

Deu entrada no Hospital Veterinário (HOVET) da Universidade Federal Rural do Semiárido, um canino, fêmea, sem raça definida (SRD), 16 anos de idade, pesando 17,6kg. (Figura 1) O animal fazia parte de um estudo de uma série de animais estudados no período entre 07 de outubro de 2019 até 14 de janeiro de 2020. O animal apresentou histórico de otite crônica e foi atendido no hospital veterinário com queixa principal por parte da tutora: otite interna; andar em círculo, cabeça inclinada, secreção escurecida, perda de equilíbrio e dificuldade de deglutição. Além disso, foram relatados ao exame físico linfonodos submandibular direito e poplíteo direito reativos; hiperqueratose de coxins e nistagmo. Após o exame físico e a determinação do diagnóstico clínico de otite, o clínico responsável instituiu terapia antimicrobiana na forma de solução otológica em gotas a base de ciprofloxacina 3,5 mg/ml, 7 gotas por via otológica a cada 12 horas durante 21 dias.

Após o diagnóstico clínico de otite foi coletada uma amostra do meato acústico externo a qual foi encaminhada para o Laboratório de Microbiologia Veterinária (LAMIV), aonde foram executados os procedimentos de isolamento, cultura e identificação bacteriana.

A amostra foi cultivada em Ágar Sangue, Ágar MacConkey e Ágar Saboroud, para avaliar respectivamente o crescimento de bactérias gram-positivas, bactérias gram-negativas e leveduras (Figura 2). Em seguida as placas contendo Ágar Sangue e Ágar MacConkey foram armazenadas em estufa bacteriológica a 37°C e a placa contendo ágar Saboroud foi armazenada em incubadora BOD a 28°C. A cultura foi negativa para o crescimento em Ágar Saboroud e Ágar Mac Conkey. Por outro lado foi observado crescimento bacteriano em Ágar Sangue cuja macroscopia se apresentava através de colônias friáveis, de coloração amarelo-marrom, convexas e aderidas ao meio de cultura.

Após o crescimento das colônias, estas foram submetidas a identificação por meio da coloração de Gram para serem classificadas conforme sua morfologia (Figura 3) e posteriormente serem submetidas as provas bioquímicas de acordo com sua conformação morfológica. Desenvolvida em 1884 pelo bacteriologista Hans Christian Gram, é a coloração diferencial mais utilizada em bacteriologia. Permite a distinção das bactérias em Gram-positivas e Gram-negativas. “As bactérias Gram-positivas apresentam uma espessa camada de peptidoglicano em sua parede celular, enquanto as Gram-negativas possuem a parede celular composta de uma delgada camada de peptidoglicano a qual é recoberta por uma camada externa lipídica (VIEIRA; FERNANDES, 2012).”

São utilizados quatro reagentes para a coloração: Cristal Violeta, Lugol, Solução descorante e Fucsina. O cristal violeta adere a parede celular tanto das bactérias gram-positivas quanto das gram-negativas, conferindo coloração arroxeada as bactérias; O lugol, atua como mordente formando um complexo insolúvel ao cristal violeta (VIEIRA; FERNANDES, 2012).

A solução descorante é de suma importância para a distinção das bactérias, pois o álcool, dissolve a membrana lipídica das bactérias Gram-negativas e remove o complexo cristal violeta-lugol da parede celular, tornando-as incolores. Já as bactérias Gram-positivas, ao sofrerem a ação do álcool, fecham os poros da parede celular para evitar a desidratação celular, conseqüentemente retendo os corantes, portanto as Gram-positivas mantêm a cor roxa advinda do corante primário. As bactérias Gram-negativas após tornarem-se incolores, necessitam da utilização de um contra-corante, a fucsina, para permitir sua visualização em microscópio (p, 2013; VERMELHO, 2011).

Uma vez que a solução descorante não remove o cristal violeta das Gram-positivas, estas são visualizadas com a cor roxa. Enquanto as Gram-negativas, coradas pela fucsina, apresentam coloração rósea.

Foram observadas na microscopia bacilos e cocobacilos gram-positivos os quais foram submetidos as provas bioquímicas propostas por MacFaddin (2006) para que de acordo com suas propriedades bioquímicas, seu gênero pudesse ser identificado. Foram utilizadas

as seguintes provas bioquímicas: Prova de caldo O/F, Catalase, Esculina, crescimento em NaCl a 6,5%. Esta bactéria foi definida como catalase positiva, fermentadora, positiva para esculina e intolerante ao NaCl a 6,5%. Tais características compõem o perfil bioquímico das bactérias do gênero *Corynebacterium* sp.

Após a identificação, um inócuo recente das bactérias foi semeado em Ágar Müller-Hilton com o objetivo de executar o teste de sensibilidade antimicrobiana, para isso foram utilizados discos impregnados com 16 amostras de diferentes antimicrobianos. Posteriormente as placas foram armazenadas em estufa bacteriológica durante 24 horas a temperatura de 37°C. A sensibilidade das bactérias aos antimicrobianos foi avaliada de acordo com o diâmetro do halo de inibição formado em volta dos discos utilizados no teste (Figura 4). *Corynebacterium* sp. foi sensível a 5 de 16 antimicrobianos testados, os quais foram a ciprofloxacina, a tetraciclina, a gentamicina, a amicacina e cefepime.

Após a instituição do tratamento, o animal não apareceu para um retorno, portanto não foi executado um perfil microbiológico constatando a regressão da infecção após o tratamento antimicrobiano.



Figura 1: Paciente canino no momento do atendimento clínico, observar a inclinação de cabeça.

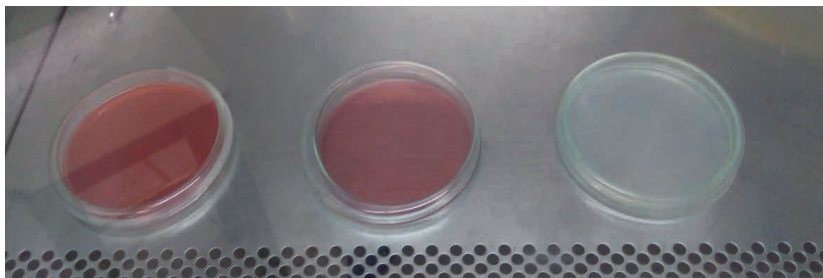


Figura 2: Meios de cultura utilizados no cultivo da amostra colhida. Da esquerda para a direita: Ágar-Sangue, Ágar MacConkey e Ágar Saboroud.



Figura 3: Kit de corantes utilizados na coloração de Gram. Da esquerda para a direita: Violeta Genciana, Lugol, Solução descorante e Fucsina.

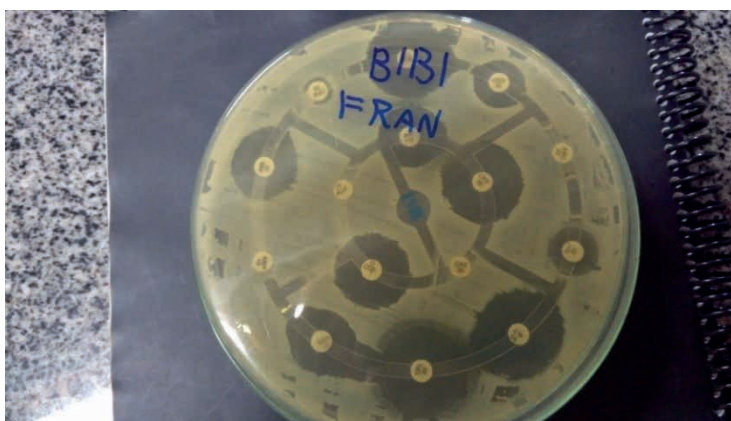


Figura 4: Placa contendo disco de antibiograma.

### 3 | DISCUSSÃO

Após a coleta de secreção otológica por meio de swab estéril, Tuleski et al. (2007) realizaram a semeadura em ágar sangue e inoculação em caldo BHI para o crescimento de colônias bacterianas em estufa bacteriológica a 37°C durante 24 horas; e para o crescimento de leveduras, realizou a semeadura da amostra em ágar Saboroud com Mycosel a 28°C durante 7 dias. O protocolo sugerido pelo autor é diferente do utilizado nesse trabalho, pois “a ausência da semeadura em ágar MacConkey dificulta a identificação das bactérias gram negativas, uma vez que o meio de cultura em questão inibe bactérias gram positivas devido a presença de cristal violeta (Menezes e Neufeud, 2006)”.

Dentre as bactérias isoladas por Silva et. al (2014) do conduto auditivo de cães acometidos por otite externa, 54% apresentavam conformação de cocos gram-positivos (*Staphylococcus* sp., *Streptococcus* sp. e *Enterococcus* sp.); 43% bacilos gram-negativos (*Escherichia* sp. *Proteus* sp., *Pseudomonas* sp., *Enterobacter* sp. e *Serratia* sp.) e 3%, bacilos gram-positivos (*Corynebacterium* sp.).

Foi observado que a bactéria observada no presente estudo apresentou resistência aos seguintes antimicrobianos: ampicilina, amicacina, sulfametoxazol com trimetoprim, cefalotina, ceftazidima, piperaciclina com tazobactam, cefoxitina, aztreonam, ceftriaxona, e penicilina, provavelmente devido a participação de elementos genéticos extracromossômicos na transmissão de genes de resistência de cepas de *Corynebacterium* spp. Estes genes de resistência a antimicrobianos em espécies de *Corynebacterium* spp. são frequentemente localizados em grandes plasmídeos, os quais também oferecem resistência à tetraciclina, cloranfenicol e eritromicina no plasmídeo pTP10. “Em espécies do gênero *Corynebacterium* sp., a resistência também tem sido observada para fluoroquinolonas, estando associada a mutações pontuais dentro da região genética estrutural da subunidade A gyrase, que é definida como a região que determina resistência a quinolonas (QRDR - região determinante da resistência de quinolone) (OLLENDER, 2012).”

A cepa de *Corynebacterium* sp. testada no presente trabalho apresentou sensibilidade a ciprofloxacina, cefepime, tetraciclina, gentamicina e amicacina Henneveld et al. (2012) realizou um estudo com cepas de *Corynebacterium* sp isoladas do conduto auditivo de 61 cães e 4 (quatro) gatos acometidos por otite externa e/ou média, totalizando 81 cepas, e pôde relatar que esta bactéria apresentou maior sensibilidade a amicacina, cloranfenicol, tetraciclina, sulfametoxazol associado a trimetoprim e gentamicina; resultado semelhante ao do teste de susceptibilidade da cepa de *Corynebacterium* sp. utilizado no presente trabalho.

O antimicrobiano prescrito pelo médico veterinário clínico, a ciprofloxacina, foi um dos antimicrobianos aos quais a bactéria apresentou sensibilidade, sugerindo uma opção terapêutica indicada no tratamento. O paciente se tratava de um animal idoso com histórico de otite recidivante e sinais neurológicos indicando lesão de nervo vestibulococlear. Fato

este que ressalta a importância da solicitação de exames microbiológicos precocemente em caso de infecções recidivantes como forma de prevenir a evolução da enfermidade, e oferecer melhor qualidade de vida ao animal.

## 4 | CONCLUSÃO

Os exames complementares de cultivo e antibiograma representam importantes ferramentas de diagnósticos em infecções, tendo a necessidade de ser solicitado caso a terapia com antimicrobiano de amplo espectro demonstre-se ineficaz como consequência da resistência microbiana.

A resistência aos antimicrobianos representa uma adversidade tanto no que concerne à saúde humana quanto animal, logo recomenda-se que sejam solicitados exames microbiológicos para avaliar resistência bacteriana e definir o antimicrobiano de melhor eficiência a ser utilizado na terapia.

Muitas enfermidades bacterianas como a otite podem tornar-se graves considerando a cronicidade e a resistência bacteriana, logo exames microbiológicos como identificação, cultivo e antibiograma, devem ser considerados pelo médico veterinário clínico sempre que o paciente demonstrar histórico de infecções recorrentes, ou em casos de suspeita de infecções bacterianas resistentes nas quais antimicrobianos de largo espectro não demonstram eficiência. Tais exames promovem um diagnóstico mais assertivo, um tratamento mais eficiente e melhor qualidade de vida para o paciente.

## REFERÊNCIAS

BIRCHARD, S. J.; SHERDING, R. G. **Manual saunders: clínica de pequenos animais**. 3.ed. São Paulo: Roca, 2003. 1783 p.

CAMPOS, Mario Julio Avila. **Introdução à Microbiologia**. [S. l.], 2016. Disponível em: [http://www.icb.usp.br/bmm/mariojac/arquivos/Aulas/Introducao\\_Microbiologia\\_Texto.pdf](http://www.icb.usp.br/bmm/mariojac/arquivos/Aulas/Introducao_Microbiologia_Texto.pdf). Acesso em: 19 dez. 2019.

ETTINGER, S.J; Feldman,E.C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária**. 5 ed.Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 2156p. 2v.

JACKSON, H.; MARSELLA, R. 2012. **BSAVA manual of canine and feline dermatology**. (3rd Edition, pp.110-120), England.

MADIGAN, Michael T. *et al.* **Microbiologia de Brock**. 14. ed. Porto Alegre-RS: Artmed, 2016. 960 p. ISBN 978-85-8271-298-6.

MENEZES, C.H.P, NEUFELD PM. **Bacteriologia e Micologia para o laboratório clínico**. Rio de Janeiro: Ed. Revinter, 1a ed., 2006.

NOGUEIRA, Joseli Maria da Rocha; MIGUEL, Lucieny de Faria Souza. **Bacteriologia: Conceitos e Métodos para a Formação de Profissionais em Laboratórios de Saúde**. 2012.



OLLENDER, Alina. Mechanisms of Antibiotic Resistance in *Corynebacterium* spp. Causing Infections in People. *In*: PANA, Marina. **Antibiotic Resistant Bacteria**—: A Continuous Challenge in the New Millennium. [S. l.: s. n.], 2012. cap. 15, p. 387-402. Disponível em: <https://www.intechopen.com/books/antibiotic-resistant-bacteria-a-continuous-challenge-in-the-new-millennium/mechanisms-of-antibiotic-resistance-in-corynebacterium-spp-causing-infections-in-people>. Acesso em: 1 fev. 2020.

TORTORA, Gerard J. **Microbiologia**. 10. ed. Porto Alegre-RS: Artmed, 2012. 934 p. ISBN 9780321550071.

TULESKI, Giovana Laís Ruviaro. **AVALIAÇÃO DA PREVALÊNCIA INFECCIOSA E DA SENSIBILIDADE IN VITRO AOS ANTIMICROBIANOS EM OTITES DE CÃES**. Orientador: Prof. Dr. Fabiano Montiani-Ferreira. 2007. 150 p. Dissertação (Mestre em Patologia Veterinária) - UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ, Curitiba, 2007. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/26977947\\_Avaliacao\\_da\\_prevalencia\\_infecciosa\\_e\\_da\\_sensibilidade\\_in\\_vitro\\_aos\\_antimicrobianos\\_em\\_otites\\_de\\_caes](https://www.researchgate.net/publication/26977947_Avaliacao_da_prevalencia_infecciosa_e_da_sensibilidade_in_vitro_aos_antimicrobianos_em_otites_de_caes). Acesso em: 3 fev. 2020.

VERMELHO, Alane Beatriz. **Práticas de Microbiologia**. Rio de Janeiro-RJ: Guanabara Koogan, 2011. 239 p. ISBN 978-85-277-1165-4.

VIEIRA, Darlene Ana de Paula; FERNANDES, Nayara Cláudia de Assunção Queiroz. **Microbiologia Aplicada**. Inhumas-GO: [s. n.], 2012. 89 p. Disponível em: <https://www.passeidireto.com/arquivo/56290995/microbiologia-aplicada-vieira-e-fernandes-2012>. Acesso em: 15 jan. 2020.