



INSTITUTO DE DESENVOLVIMENTO
EDUCACIONAL DE BAGÉ
FACULDADES IDEAU DE BAGÉ



ISOLAMENTO MICROBIOLÓGICO DO CONDUTO AUDITIVO DE CÃES SEM E COM OTITE EXTERNA

DOS SANTOS, Natália Rodrigues¹
LEITZKE, Lucas Silva¹
RODRIGUES, Oscar Rodrigo Moreles^{1*}
ROSSATO, Andressa Dutra Piovesan²
BIANCHI, Eloisa²
CORADINI, Marcia Goulart Lopes²
OTTE, Marina Vianna²
SIMÕES, Michele da Rosa Scholant²
TEIXEIRA, Bruno Borges Machado²

RESUMO:

Este projeto tem como objetivo o isolamento e a identificação da microbiota residente no conduto auditivo de cães, abrangendo ainda as técnicas de cultura e a técnica de Gram. O uso da técnica de cultura tem como objetivo, a multiplicação de microrganismos e a coloração em gram objetivando o tingimento das bactérias sendo empregado para facilitar a identificação destas. Para o segmento prático, realizou-se coleta de microbiota residente em três animais distintos, consistindo-se em dois cachorros com histórico clínico de otite e um cão sem histórico. Primeiramente realizou-se a coleta bacteriana depositando o material em tubos de ensaio devidamente esterilizados, seguido da aplicação dos meios de cultura e tingimento. Os resultados obtidos revelam a presença de estafilococos, bacilos e coliformes, destaca-se ênfase na aplicação da técnica de cultura em Ágar e coloração de Gram sendo estes procedimentos de grande valia para o segmento prático. Este trabalho apresenta grande importância para os acadêmicos de medicina veterinária, visto que através deste projeto os mesmos buscaram e aprofundaram-se nas técnicas de gram e cultura microbiológica.

Palavras-chave: Otopatias, Bactéria, Cachorro, Técnica de Gram

ABSTRACT: This project aims to isolate and identify the resident microbiota in the auditory canal of dogs, also covering the culture techniques and the Gram technique. The use of the culture technique has as objective, the multiplication of microorganisms and the staining in gram aiming the dyeing of the bacteria being used to facilitate the identification of these. For the practical segment, a microbiota was collected in three distinct animals, consisting of two dogs with a clinical history of otitis and a dog with no history. Bacterial collection was first performed by depositing the material in properly sterilized test tubes, followed by the application of culture and dyeing media. The results obtained show the presence of staphylococci, bacilli and coliforms, emphasizing the application of the culture technique in Agar and Gram staining and these procedures are of great value for the practical segment. This work presents great importance for the veterinary medicine scholars, since through this project they sought and deepened in the techniques of gram and microbiological culture

Keywords: Ear diseases, Bacteria, Dog, Gram Technique

¹ Discentes do Curso Medicina Veterinária, Nível VII 2021/1- Faculdade IDEAU – Bagé/RS.

² Docentes do Curso Medicina Veterinária, Nível VII 2021/1 - Faculdade IDEAU – Bagé/RS.

*E-mail para contato: rodrigooscarmr@live.com



1 INTRODUÇÃO

O ouvido é considerado o órgão do apuro e da audição, tendo como incumbência o suporte ao equilíbrio e a assimilação de ruídos e sons, constituindo-se de orelha externa, média e interna.

O ouvido externo canino é sítio de microrganismo tendo como exemplo: cocos Gram-positivos, bastonetes Gram-positivos e leveduras da espécie *M. pachydermatis*. Acerca do ouvido médio, em virtude da dificuldade de acesso a esse local, existem limitadas pesquisas na área de microbiologia

A técnica de Gram é um procedimento bacterioscópico mais utilizado atualmente na bacteriologia e sua função é a classificação de microrganismos com base em suas características tintoriais, tamanho, forma e arranjo celular. As bactérias reveladas neste método são classificadas principalmente em dois grupos: Gram-positivas e Gram-negativas. Com relação às propriedades tintoriais, as bactérias Gram-positivas tingem-se de roxo e as bactérias Gram-negativas tingem-se de vermelho.

No ouvido há a presença de agentes como bactérias ou fungos, que fazem parte da microbiota do conduto auditivo, estes microrganismos podem tornar-se patógenos oportunistas quando há um desequilíbrio no microambiente auricular.

Neste trabalho serão descritos os métodos e as etapas, aplicadas para a análise microbiológica do conduto auditivo externo de cães, bem como a aplicação da técnica de gram e os agentes patógenos regularmente encontrados em otite canina, tendo como finalidade a didática de aprendizagem para o curso de medicina veterinária.

2 DESENVOLVIMENTO

Dentre as patologias auditivas que acometem os cães, a otite externa representa uma das mais importantes, atingindo uma prevalência de até 20% na população canina (MCKEEVER & TORRES, 1988).

2.1 Referencial Teórico

2.1.1 Anatomia do ouvido

O ouvido é considerado o órgão do equilíbrio e da audição, assumindo funções de manutenção do equilíbrio, orientação da posição do corpo no espaço e para a percepção de ruídos e sons, respectivamente (KONIG.H. E & LIEBICH H.G, 2004).

Segundo Budras *et al.* (2012), a orelha consiste nas orelhas externas, média e interna (Figura1).

- Orelha Externa

A orelha externa serve para receber e conduzir as ondas sonoras até a membrana timpânica (Tímpano). Essa orelha é composta da aurícula e do meato acústico externo. A base da aurícula é formada por cartilagem auricular elástica revestida por pele fina.

- Orelha média

Consiste na cavidade timpânica, nos ossículos da orelha localizados dentro da cavidade e nas tubas auditivas. As paredes da cavidade timpânica e a superfície dos ossículos da orelha estão cobertos por mucosa com única camada de epitélio escamoso e, em parte, por epitélio ciliado.

- Orelha interna

Consiste em um sistema fechado de vesículas e canais membranáceos de parede delgada, o labirinto membranáceo. Essa orelha interna é circundada por cápsula óssea. O labirinto ósseo consiste no vestíbulo, nos canais semicirculares ósseos e na cóclea.

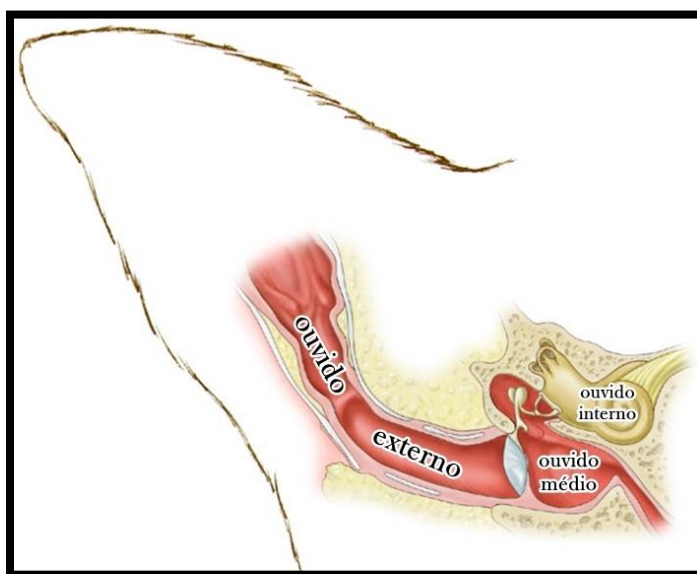


Figura 1- Anatomia do ouvido canino³.

³ FIGURA 1 - disponível em: <https://divaveterinario.com.br/entendendo-as-otites/>



2.1.2 Microbiota residente do ouvido canino

Segundo BONATES (2003), a microbiota residente no ouvido externo canino é constituída por cocos Gram-positivos, bastonetes Gram-positivos e leveduras da espécie *M. pachydermatis*. Quanto ao ouvido médio canino, poucos estudos têm sido realizados na área de microbiologia devido à dificuldade de acesso a esse local (Oliveira *et al.*, 2006). Matsuda *et al* (1984) sugerem a presença de uma microbiota normal no ouvido médio, derivada da faríngea, que ascende à tuba auditiva, a qual seria constituída por enterobactérias, estafilococos e leveduras.

2.1.3 Técnica de Gram

A técnica de Gram ou coloração de Gram é o método bacterioscópico mais importante e mais utilizado atualmente na bacteriologia e sua finalidade é a classificação de microrganismos com base em suas características tintoriais, tamanho, forma e arranjo celular. (FREITAS & PICOLI, 2007)

Ainda de acordo com Freitas & Picoli (2007), as bactérias são classificadas basicamente em dois grandes grupos: Gram-positivas e Gram-negativas (Figura 2). No que diz respeito às características tintoriais, as bactérias Gram-positivas coram-se de roxo e as bactérias Gram-negativas coram-se de rosa. A detecção de microrganismos na amostra é de suma importância, uma vez que pode indicar uma terapia antimicrobiana direcionada a um determinado grupo de patógenos e, também, a necessidade da realização de cultura com finalidade diagnóstica e/ou epidemiológica. A técnica de coloração de Gram geralmente respeita um protocolo de ações que a padroniza.

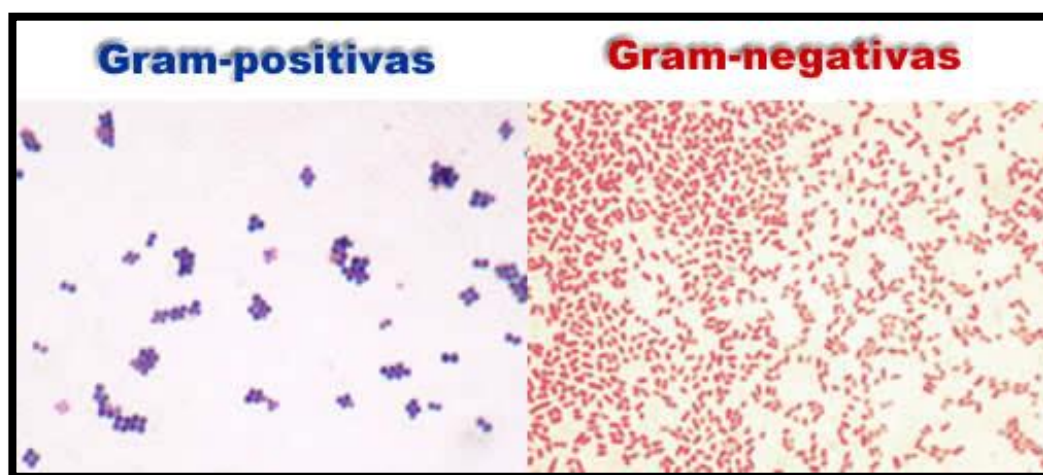


Figura 2- Bactérias gram-positivas e gram-negativas, após a coloração de Gram⁴.

Segundo Kayser (2017), a técnica de coloração de Gram obedece à seguinte sucessão de procedimentos:

- 1) Cobrir toda a lâmina com solução cristal violeta (corante roxo), aguardar um minuto;
- 2) Lavar rapidamente em água destilada ou escorrer o corante;
- 3) Cobrir a lâmina com solução de Lugol (mordente) por um minuto;
- 4) Lavar em água destilada ou escorrer o Lugol;
- 5) Inclinar a lâmina e gotejar álcool-acetona ou álcool absoluto (cerca de 30 segundos). Lavar a lâmina rapidamente em água corrente ou escorrer o álcool;
- 6) Cobrir com fucsina de gram e aguardar 30 segundos;
- 7) Lavar a lâmina em água destilada e secar (sem esfregar);
- 8) Colocar uma gota de óleo de imersão sobre a lâmina e observar em objetiva de imersão (100X).

2.1.4 Patologias otológicas

- Otite Externa

A otite externa (OE) é uma doença de etiologia multifatorial, acomete diversas espécies e é caracterizada pela inflamação do epitélio que reveste o conduto auditivo. A OE canina é uma das doenças mais frequentes e problemáticas da clínica médica (RYCROFT &

⁴ FIGURA 2 disponível em: <https://www.bioorbis.org/2017/11/christian-gram-coloracao-das-bacterias.html>



SABEN, 1977). As infecções bacterianas e fúngicas, especialmente por espécies de *Malassezia* são apontadas como perpetuadoras da OE em cães. Esses agentes comumente fazem parte da microbiota residente do conduto auditivo, tornando-se patógenos oportunistas quando há desequilíbrio no microambiente auricular (MERCHANT, 2007).

- Otite Crônica

A otite externa crônica é bastante frequente, acometendo cerca de 63-76,6% dos pacientes caninos com otite externa e, portanto, apresentando alta relevância na prática da clínica veterinária (DIECKMANN *et al.*, 1996). O processo inflamatório gerado pela otite aguda resulta em mudança no microclima, no pH e na umidade do conduto auditivo, criando um ambiente propício para a proliferação de bactérias e leveduras, como a *Malassezia* sp. (WHITE, 2005).

Dentre as bactérias isoladas de cães com otite o *Staphylococcus intermedius* é referido como o agente mais frequente, contudo, um estudo demonstrou que nas otites crônicas, o isolamento de *Staphylococcus coagulase negativo* predominou (72%) sobre o *Staphylococcus intermedius* (12,3%) (SILVA, 2001). Outro estudo relata alta frequência de *Staphylococcus aureus* isolado nos casos avaliados de otite externa crônica, assim como predominância da levedura do gênero *Candida* (48%) em relação à *Malassezia* (3%) (BLANCO *et al.*, 1996).

2.1.5 Infecções

- Bacteriana

À infecção por bactérias gram-negativas é caracterizada por descargas mucóides malcheirosas de coloração verde-amarelada. A parede do canal apresenta-se eritematosa, frequentemente ulcerada e dolorida. Em infecções crônicas é incomum o tímpano permanecer intacto (PATERSON, 2013). Lesões postulares no pavilhão auricular são causadas por bactérias gram-positivas e negativas, Paterson (2013) relata que o patógeno mais envolvido neste tipo de lesão é o *Staphylococcus pseudintermedius* embora outras bactérias gram-positivas também possam estar relacionadas a este tipo de lesão. A otite externa aguda está relacionada a bactérias gram-positivas, porém à medida que a otite se torna crônica aumenta a incidência de bactérias gram-negativas (ROSYCHUK *et al.*, 1997). O tratamento inadequado pode ser a principal razão para o fracasso da solução do problema (GHOTTHELF, 2007).



- Fúngica

A infecção pelo gênero *Malassezia* caracteriza-se por secreção escura, prurido intenso, meneio da cabeça e fricção das orelhas. O pavilhão auricular pode apresentar *otohematoma*, o epitélio apresenta-se dolorido e com aumento de volume. Dentre os fatores que predis põem à infecção por *Malassezia sp.* estão a conformação das orelhas, retenção de cera e imunossupressão. Em decorrência disto, a *Malassezia pachidermatis* que está presente em baixo número no canal auditivo de cães pode proliferar (QUINN *et al.*, 2007).

2.2 Metodologia

Este Projeto de Aperfeiçoamento Teórico Prático (PATP) desenvolveu-se fundamentado conforme instruções de professores coordenadores, e todas as atividades realizadas foram devidamente registradas em atas.

2.2.1 Coleta de material

Inicializou-se com um levantamento teórico, exemplificando desde o conhecimento básico do conduto auditivo canino até o aprofundamento microbiológico da técnica de gram. Para o segmento prático, foi coletado material microbiológico, do ouvido de três cães, sendo respectivamente: uma cadela sem raça definida (SRD), com cerca de 3 anos, denominada neste trabalho com P, sendo este um canino sem histórico clínico encontrado de otite; um cachorro, poodle, com aproximadamente 8 anos, designado como 1, o qual é diagnosticado como portador de otite crônica; e um cachorro, mestiço/SRD, com 8 meses de idade, titulado como 2 cujo já apresentou histórico clínico de otite.

Primeiramente foi realizado a coleta do cachorro 1, e posteriormente o 2 sendo coletado material de ambos os ouvidos (direito e esquerdo); e por último foi coletado o cachorro P, sendo coletado deste apenas matéria da orelha esquerda. Para este procedimento fez-se a utilização de swab e tubos de ensaio devidamente esterilizados e todos alunos envolvidos utilizaram luvas e jalecos.

2.2.2 Técnica de Cultura

Logo após a coleta de material (Figura 3), prosseguiu-se com a realização da técnica de cultura, sendo este um procedimento objetivando melhor desempenho para os processos



seguintes de determinação e diferenciação de organismos, que consiste em promover a multiplicação de colônias microbianas in vitro. Esta etapa foi realizada de dois modos, cultura microbiana em Ágar e Cultura microbiana Petrifilm, sendo este último para verificação de microrganismos coliformes.

Cultura Microbiana em Ágar: foi preparado de acordo com a formulação pela ISO 4833, diluindo-se 23,5g de Ágar em pó em 1 litro de água destilada, seguido de um aquecimento e dissolução. O produto resultante deste procedimento foi esterilizado em autoclave a 120°C, por 20 minutos em continuação aguardou-se a solução chegar à temperatura ambiente e foi distribuído uma camada fina de gel Ágar em cinco placas de Petri estéreis, sendo que em cada placa foi inserido os microrganismos para isolamento e cultivo (Figura 4).

Cultura em Petrifilm – De modo que este tipo de meio se apresenta pronto para o cultivo microbiano, apenas foi realizado a inserção dos microrganismos coletados individualmente em cada placa Petrifilm (Figura 5).

Ambos procedimentos foram mantidos em estufa microbiológica em uma temperatura constante de 35,2°C (Figura 6). Dessa forma, a cultura em Petrifilm permaneceu na estufa por 24 horas; e a cultura em Ágar por 96 horas, sendo examinado em 48 horas e 96 horas respectivamente.

2.2.3 Técnica de Gram

Após a realização da cultura, deu-se início a técnica de gram. Com o auxílio de uma alça de platina foi coletado as bactérias das placas de Ágar, e fixou-se uma camada fina destes microrganismos (esfregação) em uma lâmina estéril para serem coradas e analisadas seguindo a técnica. Primeiramente as lâminas foram cobertas com algumas gotas de solução Cristal Violeta, e deixou-se agir por um minuto, após elas foram lavadas com água destilada. Em seguida, cobriu-se as lâminas com Lugol por um minuto, e higienizou-se com água destilada, depois foi realizado um gotejamento de álcool-acetona nas lâminas e inclinou-se as mesmas para que o álcool-acetona escorresse, logo após, as lâminas foram lavadas com água destilada. No final, as lâminas foram cobertas com Fucsina por um minuto sendo novamente lavadas com água destilada e secas em temperatura ambiente. A seguir as lâminas foram analisadas em microscópio óptico, em objetiva de imersão x40, x100.

Para estas técnicas foram utilizados os seguintes materiais: alça de platina, lâminas estéreis, tubos de ensaio, Agar, swab, pipeta, placa de Petrifilm, água peptonada, geladeira, estufa microscópio e todos os alunos envolvidos fizeram a utilização de luvas e jalecos.



Figura 3- Swab: material microbiológico de ouvido canino. Foto: CORADINI, M. G. L., 2019, Bagé/RS



Figura 4 - Cultura microbiana em gel Ágar. Foto: Rodrigues, O.R.M. 2019, Bagé/RS



Figura 5 - Cultura em Petrifilm. Foto: Rodrigues, O.R.M. 2019, Bagé/RS



Figura 6 - Culturas em estufa microbiológica. Foto: Rodrigues, O.R.M. 2019, Bagé/RS



2.3 Resultados e Discussão

Neste contexto, o objetivo deste trabalho é descrever a microbiota residente no conduto auditivo de cães saudáveis e com otite, abrangendo desde a anatomia do canal auditivo canino, as patologias oncológicas, os meios de cultura até a técnica de gram. Os resultados deste levantamento foram alcançados, após a aplicação das técnicas de cultura e de Gram para a identificação microbiológica.

2.3.1 Técnica de cultura em Ágar

A técnica de cultura em Ágar gerou um melhor desempenho na identificação bacteriana uma vez que realizou a multiplicação dos microrganismos, deste modo permitiu visualizar as características morfológicas e arranjo das mesmas, após a realização deste procedimento em 96 horas as placas apresentavam colônias de bactérias distintas por toda área (Figura 7,8,9), constatou-se que este procedimento por ser um meio mais elaborado, exige mais atenção e tempo, uma vez que, necessita de um período para que os microrganismo cresçam nas placas com Ágar. Observou-se que em ambos meios de cultura por ágar após 96 horas havia a presença de fungos, já em relação ao crescimento bacteriano, notou-se que a placa do cachorro 1 demonstrava um número maior de colônias, em comparação com o cachorro 2 (ambos animais com histórico clínico de otite) e o cachorro P demonstrou um número razoável de colônias, ressalta-se que em ambas as placas apresentaram um número incontável de colônias.

2.3.2 Técnica de cultura em Petrífilm

A técnica com Petrífilm mostrou-se de fácil e rápida aplicação, demonstrando resultados precisos em análise bacteriana específica para *E. coli* e *Coliformes*, sendo este resultado negativo para os cachorros 1 e 2 não havendo crescimento bacteriano, e positivo para o cachorro P apresentando uma colônias apenas, ressalta-se que para este procedimento as culturas foram mantidas em estufa por um período de 24 horas.

2.3.4 Técnica de gram

A técnica de gram propiciou através da aplicação de coloração a diferenciação dos tipo de microrganismos presentes nas colônias reproduzida através da coleta, como descrito na



metodologia, observou-se que este procedimento é de fácil e rápida execução, ressalta-se que esta técnica necessita de concentração, para que no passo seguinte de análise em microscópio as lâminas estejam claras para a visualização. Após a coloração, avaliou-se as placas em microscópio (Figura 10,11,12), e elas demonstraram-se compatíveis com *Estafilococos*, *Streptococos* e Bacilos sugestivos de *Pseudomonas*. Para esta técnica utilizou-se microrganismos cultivados em placas com Ágar por 96 horas, porém a placa de cultura da orelha esquerda do cachorro 2 neste período encontrava-se ressecada, ficando impossível prosseguir com a realização da técnica de Gram, realizou-se então uma nova cultura desta coleta, sendo a coloração de Gram realizada após um período de 48 horas, demais placas de colônias apresentava-se levemente ressecadas, ainda assim em condições para prosseguir com a coloração de Gram.

Realizou-se então a comparação entre os microrganismos encontrados nos procedimentos realizados neste levantamento, sendo estes representados na tabela abaixo.

Tabela 1 – Comparação de microrganismos encontrados após coloração de gram e Petrifilm.

Microbiota	Cachorro 1 OD ¹	Cachorro 1 OE ²	Cachorro 2 OD ¹	Cachorro 2 OE ²	Cachorro P OE ²
<i>Cocos</i>	X	X	X	X	X
<i>Estafilococos</i> Gram+	X	X	X		
<i>Streptococos</i> Gram+				X	X
Bacilo Gram- Negativo (<i>Pseudomonas</i>)	X	X			
<i>E. Coli e Coliformes</i>					X

¹OD – Ouvido Direito; ²OE – Ouvido Esquerdo.

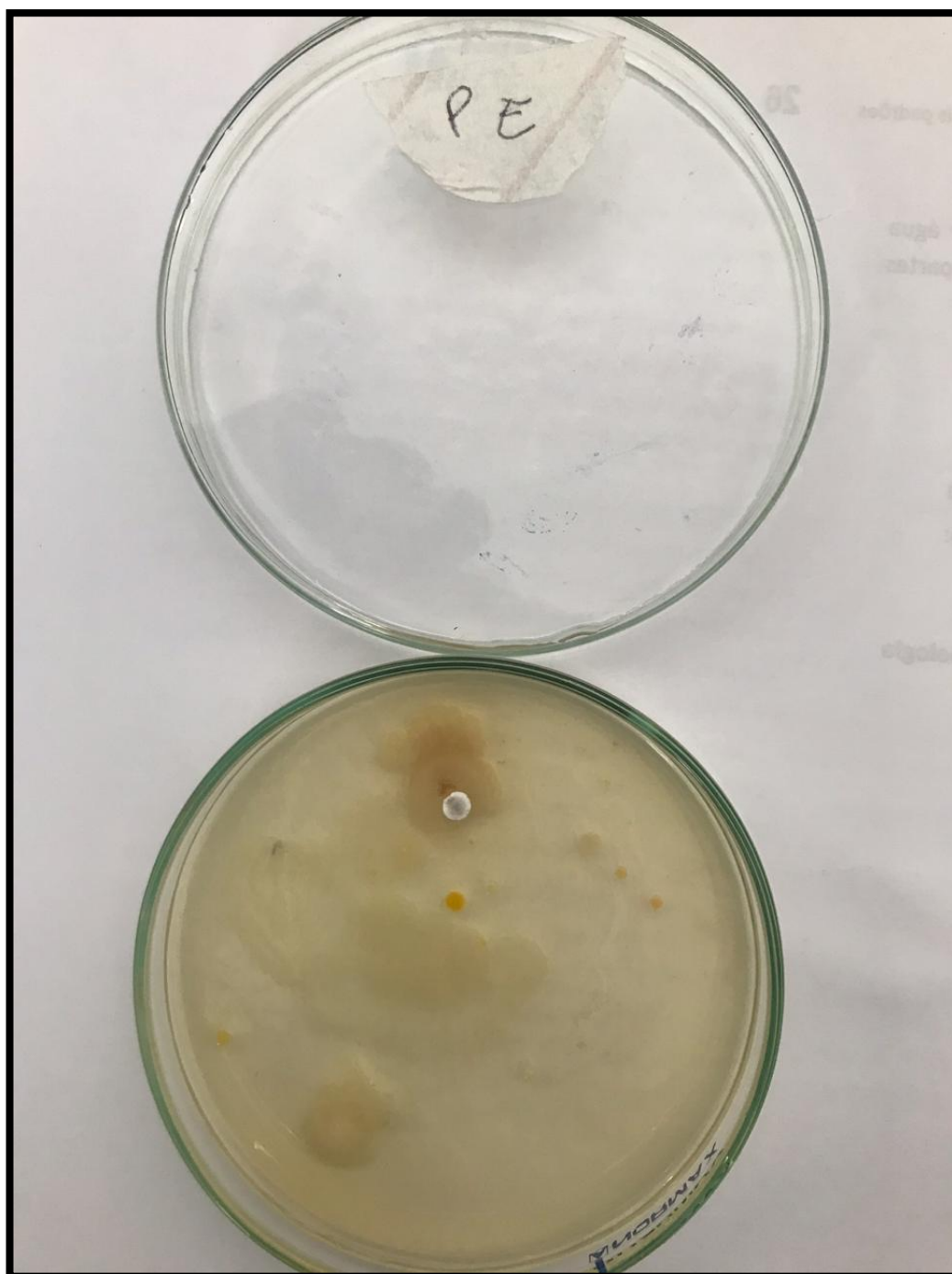


Figura 7 - Placa com Ágar após 48 horas. Cachorro P. Foto: Rodrigues, O.R.M. 2019, Bagé/RS.

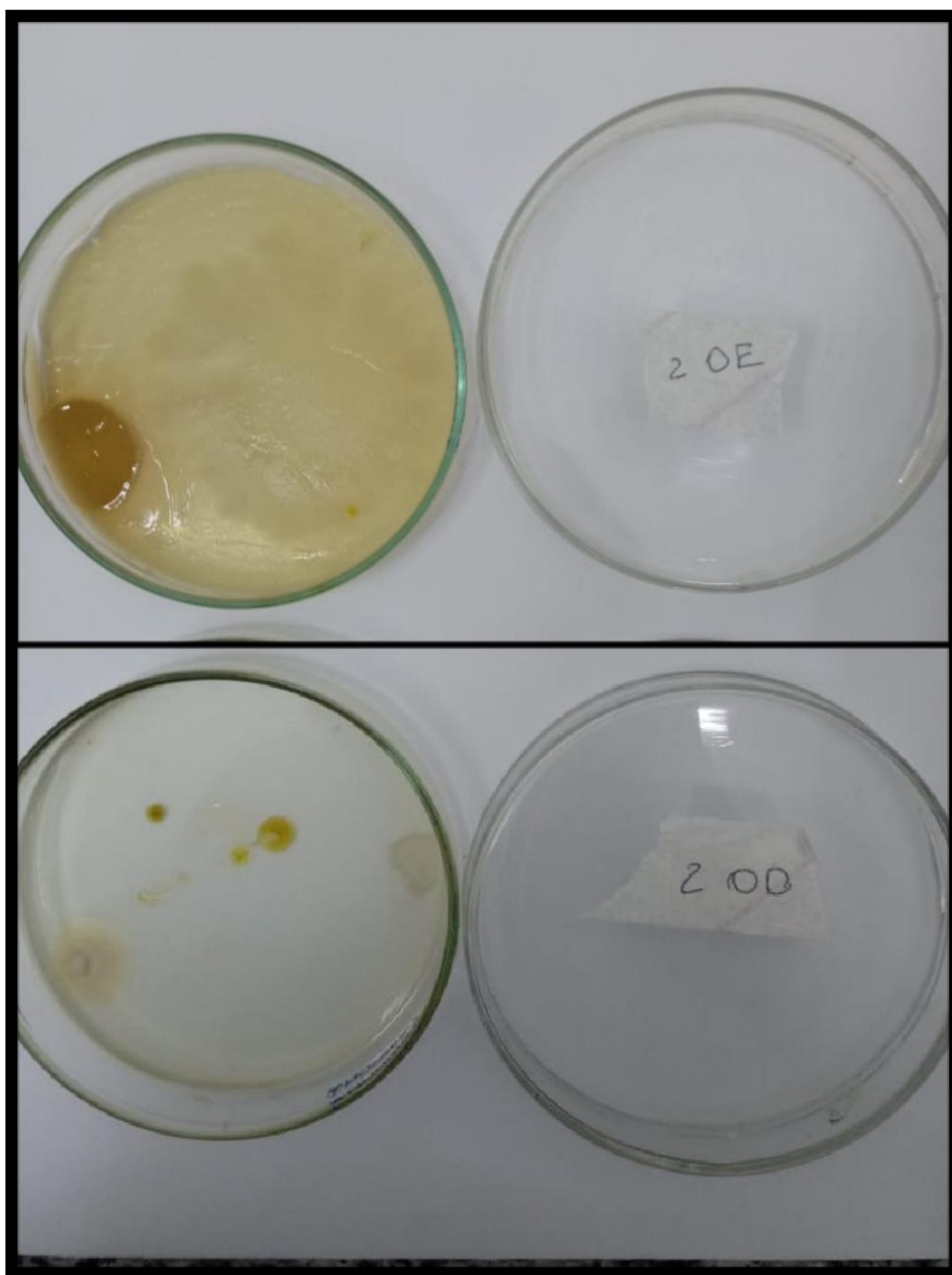


Figura 8 - Placas com Ágar após 48 horas. Cachorro 2. Foto: Foto: Leitzkel. L.S.,2019, Bagé, RS.

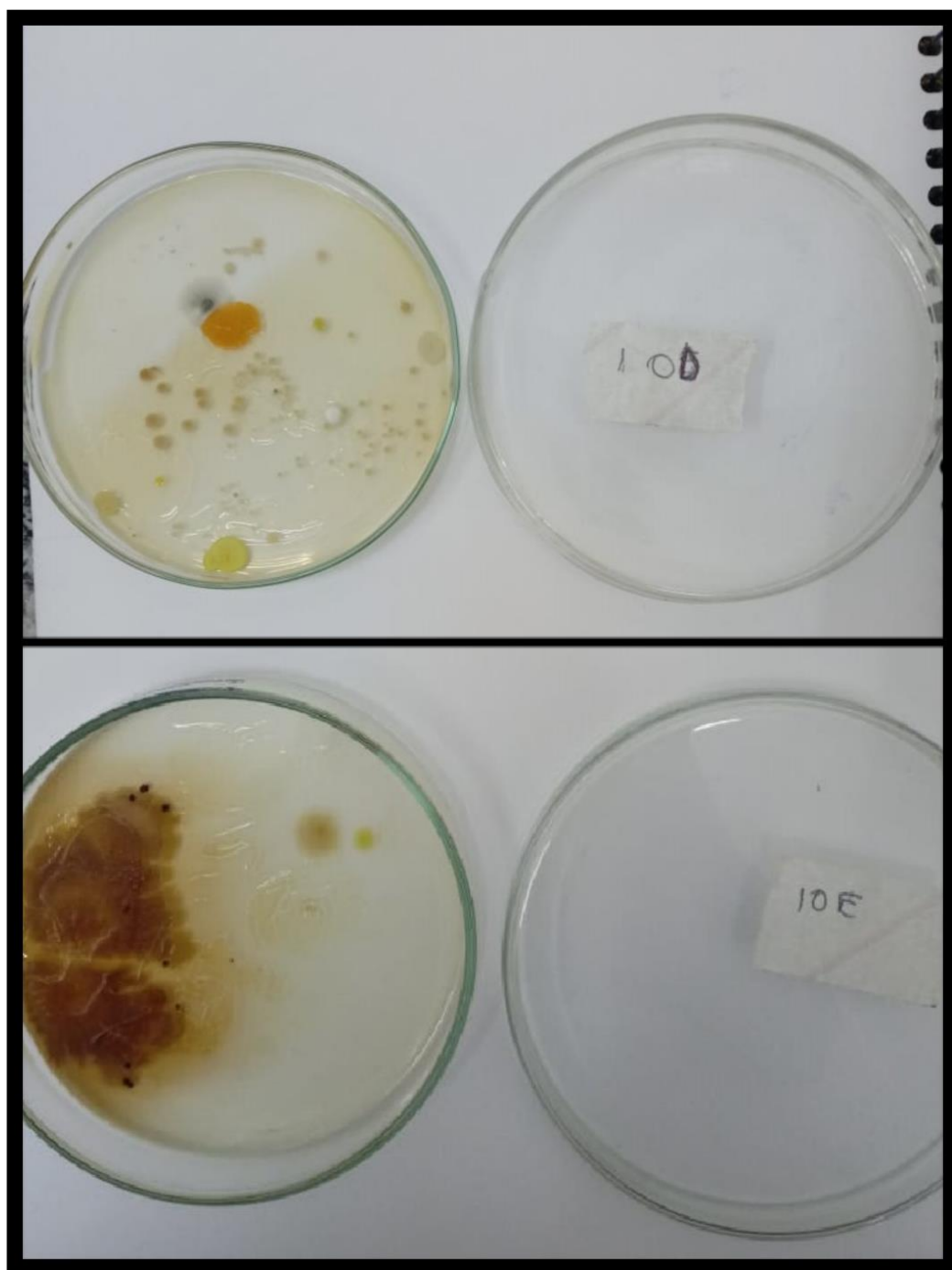


Figura 9 - Placas em Ágar após 48 horas. Cachorro 1. Foto: Rodrigues, O.R.M. 2019, Bagé/RS

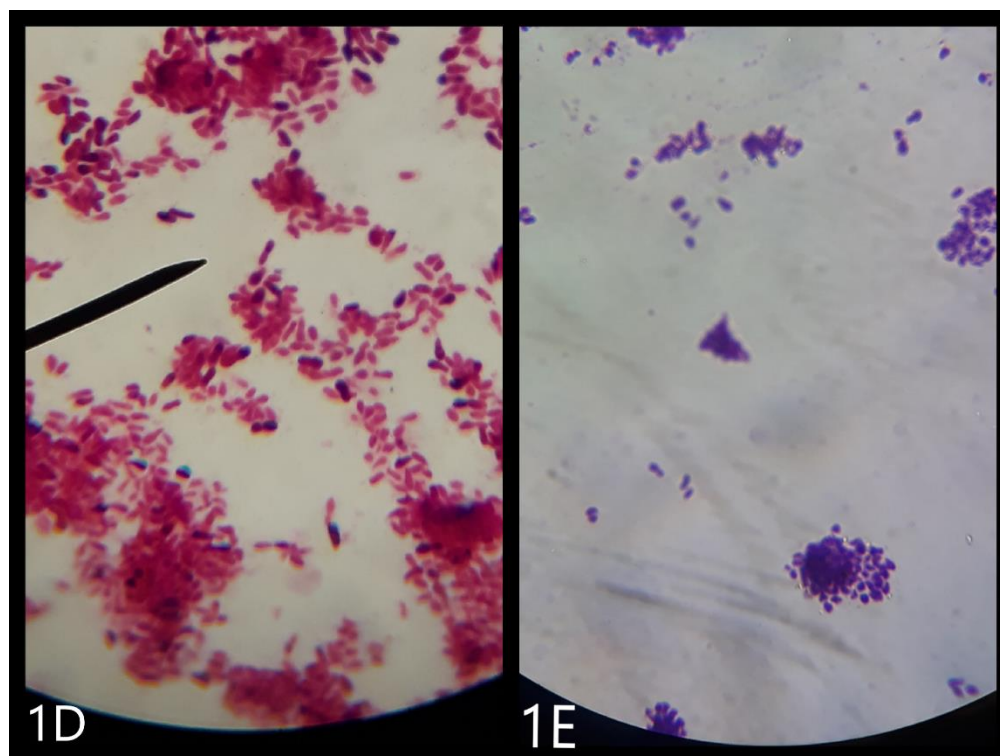


Figura 10 - Coloração de Gram: Cachorro 1. Foto: Rodrigues, O.R.M. 2019, Bagé/RS

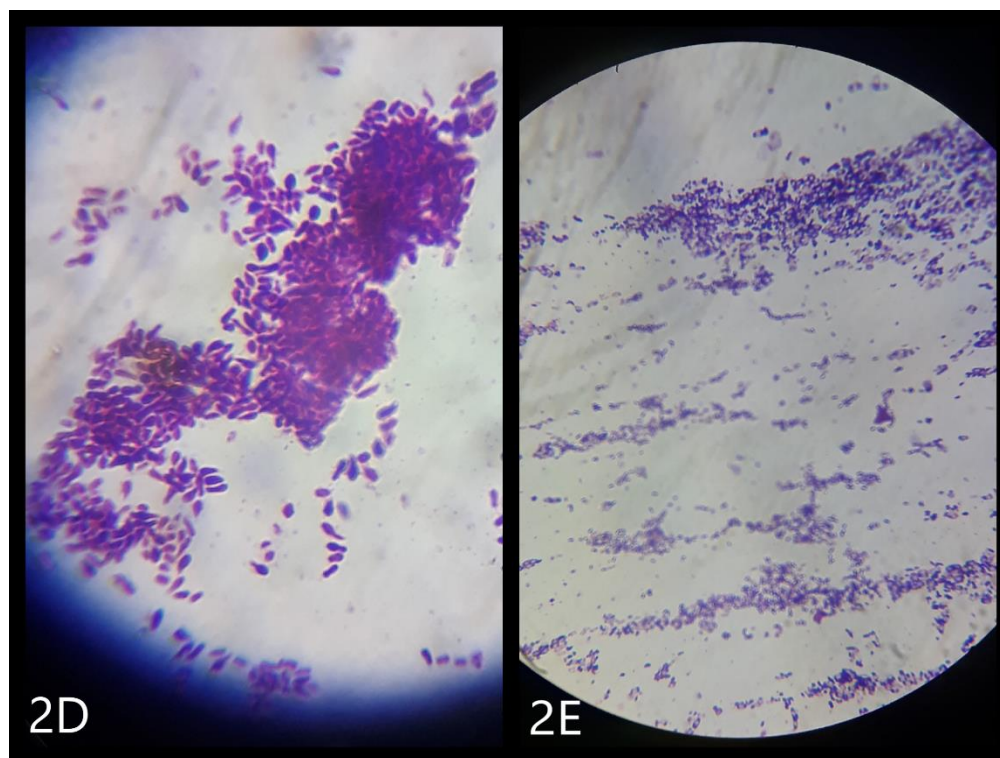


Figura 11 - Coloração em Gram: Cachorro 2. Foto: Leitzkel, L.S., 2019, Bagé, RS.

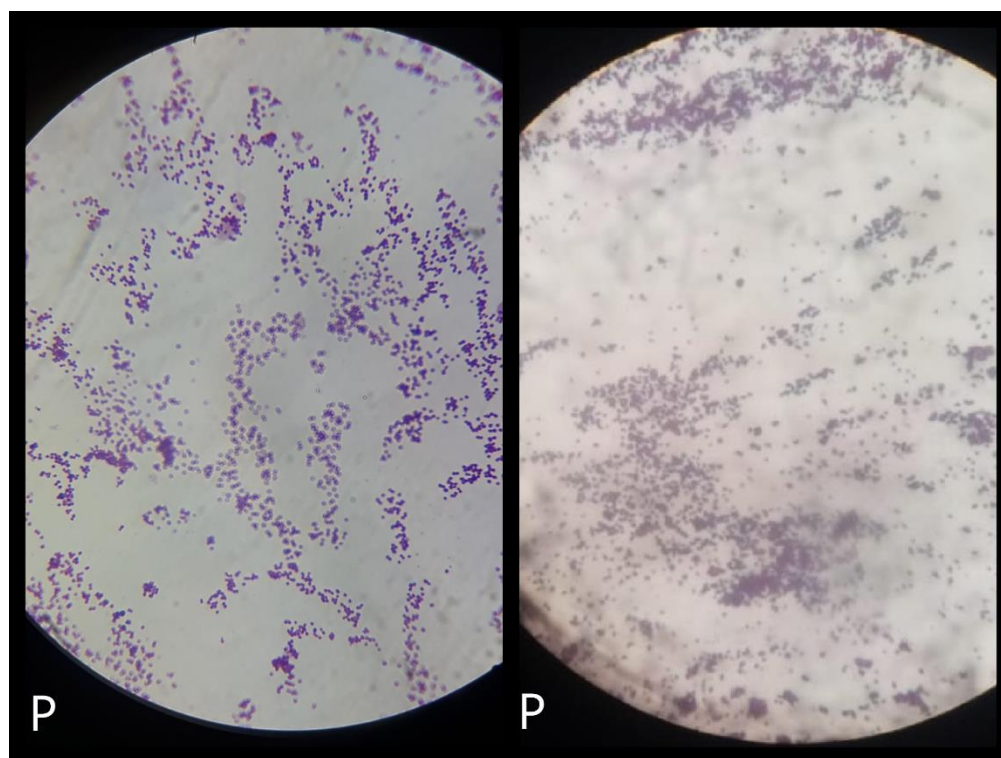


Figura 12 - Coloração de Gram: Cachorro P. Foto: Rodrigues, O.R.M. 2019, Bagé/RS.

Diante do crescimento bacteriano a partir das amostras coletadas, observa-se que há uma relação entre o microrganismo *Estafilococos gram positivo* e a ocorrência de otite do conduto externo canino, sendo esta afirmação também proferida por (ROSYCHUK *et al.*, 1997), visto que, nos animais analisados neste projeto e que apresentavam histórico clínico para esta patologia, ambos animais expunham esta microbiota em seus canais auditivos. Constata-se, assim como BONNATES (2003), que todo animal apresenta em cada um de seus condutos auditivos microrganismos distintos, podendo desenvolver, portanto, otite em apenas uma orelha, sendo esta afirmação observada uma vez que o cachorro 2 apresenta *estafilococos* positivo apenas na orelha direita. Além disso deduz-se que o *coccus*, não se correlaciona com otite do conduto externo auditivo canino, visto que, esta bactéria foi encontrada em ambos animais analisados neste projeto.

Com referência, as técnicas empregadas, destaca-se ênfase para a técnica de cultura em Ágar, visto que este procedimento trouxe resultados satisfatórios, provendo a multiplicação e formação de colônias bacterianas e facilitando a realização da técnica seguinte, porém a sua desvantagem tornar-se-á, o tempo, visto que para resultados mais



proveitosos necessita-se no máximo 48 horas, já que as placas deixadas até 98 horas, encontravam-se levemente ou totalmente ressecadas, não sendo possível prosseguir a análise.

A técnica com Petrifilm, torna-se favorável por seu fácil manuseio, rápidos resultados, porém é uma técnica de custo benefício mais elevado quando comparado com outros métodos. Quanto a técnica de Gram, enfatiza-se a sua fácil execução, sua aplicabilidade rápida e simples, sendo este procedimento excepcionalmente vantajoso na análise em microscópio, disponibilizando microrganismos convenientemente pigmentados, favorecendo e facilitando a identificação deles.

3 CONCLUSÃO

Conclui-se que o isolamento da microbiota do conduto auditivo canino é importante para a identificação dos agentes causadores de otites nesta espécie, assim como coopera para que o tratamento seja mais eficaz já que após a realização das técnicas apresentadas neste projeto propicia ao médico veterinário realizar o tratamento de acordo com os resultados descobertos durante a análise microbiana.

Os perfis de isolamento de gêneros microbianos entre cães com otite crônica o com orelhas saudáveis se mostraram idênticos, porém observou-se presença marcante de bactérias *Estafilococos* gram positiva e bacilo gram negativa nos cães com histórico clínico de otite.

Este levantamento prático/ teórico se fez importante para o ampliamiento do conhecimento dos métodos de cultura e análise bacteriana, assim como as vantagens e desvantagens de cada procedimento, o conhecimento mais aprofundado nas causas de otites caninas e os microrganismos presentes no canal auditivo.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, R. D' A.; ALMEIDA, N. A. M. **Remoção de coliformes do esgoto por meio de espécies vegetais.** *Revista Eletrônica de Enfermagem*, v. 07, n. 03, p. 308 - 318, 2005. Disponível em <http://www.revistas.ufg.br/index.php/fen>. Acesso em 15/04/2019.

BLANCO, J.L.; GUEDEJA-MARRON, J.; HONTECILLAS, R.; SUAREZ, G., GARCIA, M.E. **Microbiological diagnoses of chronic otitis externa in the dog.** *Zentralbl Veterinarmed B*. Oct; 43 (8): 475-82, 1996.

BONATES, A. **Otite: conhecimento detalhado permite diagnósticos precisos e sucesso no tratamento.** *Vet. News*, v.62, p.6-8, 2003.



BUDRAS K.D; MCCARTHY P.H.; FRICKE W.; RICHTER R.; HOROWITZ A.; BERG R.
Anatomia do cão: Texto e atlas. Manole LTDA, São Paulo, ED. 5, 2012.

DE FREITAS, A. **Estafilococos: Como se pega? sintomas, tratamento e causas.**
Disponível em: < https://www.gentside.com.br/estafilococos/estafilococos-como-se-pegar-sintomas-tratamento-e-causas_art5261.html >. Acesso em: 12/04/2019.

DIECKMANN, A. M.; TORRES, H.M.; FERREIRA, T.; AQUINO, M.H.C. **Aspectos clínicos e avaliação antibacteriana terapêutica da otite externa em cães.** Revista Brasileira de Medicina Veterinária. v.18, n.6, p.242-245, 1996.

FREITAS V.R; PICOLI S.U., 2007. **Coloração de Gram e as variações na sua execução.**
Disponível em: < <https://docs.ufpr.br/~microgeral/arquivos/pdf/pdf/Gram.pdf> >. Acesso em: 03/04/2019.

GHOTTHELF, L.N. **Doenças do ouvido: em pequenos animais.** 2. Ed. São Paulo: Roca, 2007, 356p.

KAYSER, M., 2017. **Coloração de Gram.** Disponível em:
<<http://docente.ifsc.edu.br/melissa.kayser/MaterialDidatico/Microbiologia/2.%20Coloração%20GRAM.pdf>>. Acesso em: 27/03/2019.

KONIG, H.E. & LIEBICH, H.G. **Órgão do equilíbrio e órgão da audição – órgão vestibulococlear. In: Anatomia dos Animais Domésticos. Texto e atlas colorido.** (pp. 309-312 Volume 2, órgãos e sistemas). Artmed, Alemanha, (2004).

MATSUDA, H.; TOJO, M.; FUKUI, K. et al. **The aerobic bacterial flora of the middle and external ears in normal dogs.** J. Small Anim. Pract., v.25, p.269-274, 1984.

MERCHANT S.R. Microbiology of the ear of the dog and cat, p.188-200. In: GOTTHELF L.N. (Ed.), **Small Animal Ear Diseases: an illustrated guide.** 2nd ed. W.B. Saunders, Philadelphia. 2007.

MCKEEVER, P.J.; TORRES, S. **Otitis externa.** Companion animal Practice, 2. 1988.

OLIVEIRA L.C.; BRILHANTE R.S.N.; CUNHA A.M.S.; CARVALHO C. B. M. **Perfil de isolamento em cães com otite média e externa associadas.** Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v.58, n.6, p.1009-1017, 2006.

PATERSON, S.; TOBIAS, K. **Atlas of ears disease of the dog and cat.** Yowa: Willey Blackwell, 505p. 2013.

QUINN, P. J. et al. **Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas.** Porto Alegre, Brasil: Artmed, 2007.



INSTITUTO DE DESENVOLVIMENTO
EDUCACIONAL DE BAGÉ
FACULDADES IDEAU DE BAGÉ



ROSYCHUK, R.A. W; LUTTGEN, P. Afecções do ouvido. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Tratado de medicina veterinária. Moléstias do cão e do gato.** São Paulo; Manole, Cap. 79, p. 761 – 785. 1997.

RYCROFT A.K.; SABEN H.S. **A clinical study of otitis externa in the dog.** Can. Vet. J. 18(3):64-70. 1977.

SILVA, N. **Identification and antimicrobial susceptibility patterns of Staphylococcus spp isolated from canine chronic otitis externa.** Arq Bras Med Vet Zootec, v.53, p.141-145, 2001.

WHITE, P.D. **Chronic Proliferative Otitis – Now What! Proceeding of the NAVC North American Veterinary Conference.** Orlando, Florida. Jan 8-12, 2005.