

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**

**INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS**

**CAMPUS DE BOTUCATU**

**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**

**MARTHA JULIANI NASCIMENTO**

**Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biologia Geral e Aplicada do Instituto de Biociências, *Campus* de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Mestre em Biologia Geral e Aplicada.**

**BOTUCATU - SP**

**2007**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**

**INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS**

**CAMPUS DE BOTUCATU**

**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**

**Mestranda: MARTHA JULIANI NASCIMENTO**

**Orientadora: LUCIA HELENA O'DWYER**

**Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biologia Geral e Aplicada do Instituto de Biociências, *Campus* de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Mestre em Biologia Geral e Aplicada.**

**BOTUCATU - SP**

**2007**

## **Dedicatória**

*“O filho que encontra no lar uma escola de amor e trabalho, de disciplina e compreensão, jamais esquecerá as lições ali aprendidas. Além das palavras de orientação, é muito importante o exemplo da boa conduta. Por mais duros que sejam os embates da vida, ele saberá sempre escolher e trilhar os melhores caminhos, agradecendo aos pais, que souberam educá-lo com amor”.*

Obrigada mãe, dedico esse trabalho à senhora. Vencemos  
mais uma vez, te amo!

À professora Dra. Tereza Cristina:

*“A gratidão nunca é suficiente para se retribuir algo; é  
melhor oferecer gentilezas e estar à disposição ao longo da  
vida”.*

Muito obrigada pela idealização desse trabalho.

## **AGRADECIMENTOS**

Em primeiro lugar agradeço ao Nosso Senhor Jesus Cristo que através da minha fé, pequena como um grão de mostarda, me proporcionou sabedoria e coragem para vencer todos os obstáculos na minha chegada até aqui.

À minha orientadora, Dra. Lucia Helena por esses anos de convívio, pelo aprendizado, por acreditar no meu potencial.

Às minhas irmãs, Cláudia, Paula e ao meu sobrinho João Marcelo, pelo apoio e incentivo para conquistar esse título.

Em especial à minha irmã Paula, que é um grande exemplo de vida pra mim. Obrigada pelos conselhos, incentivos e opiniões. Amo muito você.

À Professora Dra. Tereza, que foi minha “luz no fim do túnel”, num momento de desespero, me ajudando a elaborar esse projeto.

À professora Dra. Lídia Raquel, do departamento de Bioestatística, que elaborou as tabelas.

À professora Dra. Luciene Mascarini, pelas opiniões muito úteis na conclusão dessa dissertação.

Ao meu namorado Waltencir, por ter suportado com paciência todas as minhas ausências, meu mau humor, e mesmo assim ainda torcer por mim, ficar sempre ao meu lado e acreditar que eu poderia chegar lá. Muito obrigado amo você!

Ao meu professor Marcelo Sávio Paiva do Amaral: *“Há pessoas que surgem em nossa vida, e reconhecemos imediatamente o sentido de sua presença; elas servem a algum tipo de propósito: ensinam-nos uma lição ou nos ajudam a compreender quem somos”*. Tenha certeza que você, em muitos momentos da minha vida, já fez as duas coisas.

Aos meus amigos Adriana e Mires que me apoiaram nessa conquista.

A todos os professores, funcionários e colegas do Departamento de Parasitologia deste Instituto, por toda a amizade e ajuda prestada nesses anos de convivência.

Agradeço também as minhas amigas de casa Giovana e Olga, por terem me consolado e me incentivado continuar, apesar das dificuldades encontradas nesses anos que estive em Botucatu.

A todas as pessoas que direta ou indiretamente me ajudaram na realização desse trabalho, meus sinceros agradecimentos.



## **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**

### **1) Introdução**

Na clínica médica de pequenos animais, a otite externa é um diagnóstico comum em cães (FOSSUM, 1997; MASUDA et al., 2000).

As otites externas aparecem pela ação de fatores primários que são capazes de iniciarem a inflamação do ouvido normal. Dentre esses fatores podemos destacar: hipersensibilidades, atopias, corpos estranhos no interior do ouvido, distúrbio da glândula sebácea (queratinização), doenças auto-imunes e a presença do ácaro *O. cynotis* (ROSYCHUK et al., 2000).

Ácaros do gênero *Otodectes* são parasitas encontrados freqüentemente no ouvido de cães e gatos. Eles são reconhecidos como os principais causadores de otite externa nesses animais e são desta forma, de importância considerável na clínica médica de pequenos animais (LOHSE et al., 2002; SIX et al., 2000).

Os ácaros *O. cynotis* pertencem à subordem Sarcoptiformes (Astigmata) e à família Psoroptidae e são importantes causadores de otite externa em cães e gatos. Ácaros dessa família caracterizam-se por não cavarem galerias dentro da pele do hospedeiro, sendo considerados, então, como causadores de sarna não penetrante (RODRIGUEZ et al., 2003).

As infestações por *O. cynotis*, quando presentes, usualmente ocorrem no meato acústico externo de cães e gatos, embora todos os estágios do ciclo de vida tenham sido encontrados na superfície corporal de ambas as espécies; então é aceitável que o ciclo de vida possa se completar fora do canal auditivo (SHANKS et al., 2000). Todos os estágios do ácaro, particularmente as deutoninfas e adultos, foram observados na

pele da cabeça dos hospedeiros, especialmente na região entre a orelha e o olho, que em muitos gatos é uma região com pouco pelo (TONN, 1960).

O ciclo de vida dessa espécie se divide em ovo, larva, protoninfa, deutoninfa e adulto. A fêmea coloca os ovos no canal auditivo e após uma incubação de quatro dias, eclodem as larvas que possuem três pares de patas. As larvas alimentam-se ativamente por três a dez dias e mudam para protoninfas, que possuem quatro pares de patas. Após um período de 4 a 5 dias, as protoninfas mudam para deutoninfas. As deutoninfas possuem um par de ventosas na posição dorso-posterior. Logo após o macho emergir, ele se une por meio de sua ventosa adanal copuladora na ventosa posterior da deutoninfa e ficam unidos. Essa união é mais ou menos permanente; o macho arrasta a fêmea para onde ele for; e a união persiste por alguns dias, dependendo do estágio de desenvolvimento da deutoninfa. Quando a deutoninfa completa seu desenvolvimento, o adulto emerge. Algumas vezes, o adulto que emerge é uma fêmea, mas outras vezes é outro macho adulto. O macho adulto é incapaz de determinar o sexo da ninfa. Se um macho adulto é produzido a partir de uma deutoninfa, a união não possui significado fisiológico, mas se uma fêmea é produzida, a cópula ocorre e a fêmea torna-se portadora de ovos. A secreção que sai da vulva no momento da colocação dos ovos, se solidifica em contato com o ar, e une firmemente os ovos no substrato. O ciclo completo de ovo a ovo, dura em média três semanas (SWEATMAN, 1958; TONN, 1960; SCOTT et al., 1995). Os ácaros de ouvido são prolíficos; em um curto espaço de tempo a infestação pelo ácaro pode se tornar grave (GOTTHELF, 2000).

O macho adulto e a fêmea podem ser diferenciados morfológicamente, mas nenhum estágio imaturo mostra dimorfismo sexual. As deutoninfas não possuem o quarto par de patas e possuem na região dorso-posterior, um par de ventosas utilizadas para se fixarem no macho adulto. No macho adulto, aparece na região ventral um par de ventosas copuladoras perto do ânus. As fêmeas não são diferentes dos estágios imaturos, mas o quarto par de patas reaparece, há uma vulva ventralmente e as ventosas das deutoninfas não aparecem neste estágio (SWEATMAN, 1958).

LOHSE et al. (2002) compararam 16 isolados originados de cão, gato, raposa (*Alopex lagopus*) e furão (*Mustela putorius furo*) naturalmente infestados. Os dados do sequenciamento molecular, associados às características morfológicas dos ácaros de gatos originados de quatro continentes (Europa, América, África e Ásia), indicaram a ocorrência de uma única espécie, *O. cynotis*, em diferentes hospedeiros por todo o mundo.

Os ácaros alimentam-se de células epiteliais, linfa e sangue, e em cães e gatos podem causar uma otite parasitária altamente pruriginosa que é comumente complicada por infecção bacteriana secundária, causando otite média. Em gatos podem provocar uma reação de hipersensibilidade sistêmica (GOTTHELF, 2000). Técnicas de imunodifusão, realizadas em gatos infestados naturalmente por *O. cynotis*, mostraram que o ácaro se alimenta por linfa e sangue total, e esse modo de alimentação faz com que o hospedeiro se torne exposto e reaja contra os antígenos da sarna (POWELL et al., 1980). Essa pode ser a explicação pela qual os ácaros de ouvido são mais comuns em animais jovens.

WEISBROTH et al. (1974) usando extrato de ácaro como antígeno para injeções intradérmicas em gatos com otoacaríases, induziram reação de hipersensibilidade imediata e tipo Arthus (imunocomplexos), mas não hipersensibilidade tardia. Foram observadas, no mesmo estudo, algumas alterações histológicas no tecido dos ouvidos infestados pelo ácaro, tais como: hiperemia; hiperplasia das glândulas sebáceas e ceruminosas; leve infiltração na derme por células da série mononuclear, principalmente macrófagos e linfócitos e hiperplasia de mastócitos. A presença dessas células inflamatórias também foi observada no ouvido de gatos sem estímulo pelo ácaro, assim como hiperplasia do epitélio e glândulas sebáceas e ceruminosas podem ocorrer em outros tipos de otites, mas hiperplasia de mastócitos, edema e hiperemia são respostas típicas de reações alérgicas. Estas observações e a presença de prurido sugerem que o ácaro provoca reação alérgica nos animais infestados e faz com que esses animais desenvolvam imunidade.

Os sinais comuns das otoacaríases incluem irritação, prurido intenso, formação de crosta espessa marrom-avermelhada e devido ao autotraumatismo infecções

secundárias por bactérias ou fungos (RODRIGUEZ et al., 2003; SIX et al., 2000; BLOT et al., 2002).

Em cães, a presença de uma pequena quantidade de *O. cynotis* nos ouvidos já pode provocar uma grave inflamação fazendo com que os ácaros deixem os canais auditivos ou sejam destruídos pelo exudato. A gravidade dos sintomas associados com *Otodectes* podem ser devido à reação de hipersensibilidade do tipo Arthus induzida pela presença de poucos ácaros (GOTTHELF, 2000).

Estudos mostram que a quantidade de cerúmen presente no ouvido influencia no grau de infestação pelo ácaro, quanto maior a quantidade de cerúmen, menor a quantidade de ácaro nos ouvidos. Animais com condição corpórea ruim, quando infestados, possuem uma maior quantidade de *O. cynotis*, isto pode ser atribuído ao sistema imune superior dos animais com condição corpórea boa e maior resistência da pele desses animais contra a sarna (RODRIGUES et al., 2003).

TONN (1960) realizou um estudo com cães de canil e encontrou uma ampla variação na taxa de ocorrência de infestação por *O. cynotis*, atribuindo isso às diferenças nas condições nutricionais e grau de salubridade mantido nos canis. Desse modo, os cães que tinham um maior número de ácaros e maior frequência de infestação viviam em canis pequenos, com péssimas condições higiênicas e estavam magros. O autor concluiu, então, que o meio ambiente tem influência sobre o número de ácaros nos hospedeiros.

Os ácaros de orelha são altamente contagiosos e não apresentam preferência por sexo, idade e espécie, de forma que todos os animais em contato devem, presumivelmente, estarem infestados (SCOTT et al., 1995; SOTIRAKI et al., 2001; RODRIGUES et al., 2003).

SWEATMAN (1958) conseguiu, em duas semanas, completar “in vitro” o ciclo de vida do ácaro *O. cynotis* em material epidérmico do ouvido de animais de diferentes espécies: cão doméstico, gato doméstico, furão semidomesticado (*Mustela putorius furo*) e uma raposa (*Vulpes fulva*). Os ácaros retirados do ouvido de cada espécie animal foram cultivados não somente no material epidérmico do seu próprio hospedeiro, mas também no das outras espécies. Como em todos os casos o ciclo de

vida foi completado, demonstrou-se assim a possibilidade de transmissão do ácaro entre animais de espécies diferentes.

Embora os ácaros da orelha possam permanecer no ambiente, a transmissão direta de *Otodectes* de animal para animal é o modo mais aceito de transmissão. Os ácaros podem passar para alguma parte do corpo do animal e migrarem para dentro do canal auditivo. Em situações de alta densidade animal, tais como abrigos, “pet shops”, e canis, os ácaros de ouvido podem afetar toda a população (GOTTHELF, 2000; SHANKS et al., 2000).

As infecções secundárias estabelecidas nos ouvidos infestados pelo ácaro *O. cynotis* fazem com que este deixe o ouvido ou sejam destruídos. Portanto, os ácaros podem ser mais difíceis de serem encontrados quando o ouvido se torna inflamado e infectado por bactérias ou fungos (SOTIKARI et al., 2001; AKUCEWICH et al., 2002).

Infecção bacteriana e colonização por *Malassezia pachydermatis* são fatores que perpetuam as otites externas. Bactérias e fungos são agentes oportunistas, que se tornam patogênicos devido às alterações provocadas pela inflamação, fazendo com que esses agentes se multipliquem exageradamente, agravando o quadro de otite (ROSYCHUK et al., 2000; NOXON, 1998).

*Malassezia pachydermatis*, que é uma levedura comumente encontrada nos condutos auditivos normais ou anormais contribui para a perpetuação da otite (SCOTT et al., 1995).

Leveduras do gênero *Malassezia* pertencem à família *Cryptococcaceae*, ordem *Cryptococcales*, classe dos *Blastomycetes*, divisão *Deuteromycotina*. Possuem membrana celular espessa, com múltiplas camadas. A reprodução é assexuada, com produção de blastoconidia, formando uma célula redonda, cilíndrica ou ovóide quando ela se separa da célula mãe. *Malassezia pachydermatis* é a única espécie do gênero não dependente de lipídio (NOBRE et al., 2001).

*Malassezia pachydermatis* é o organismo mais encontrado nas amostras colhidas de ouvidos, até mesmo em cães saudáveis, por esse motivo foi reconhecido como um patógeno oportunista (MASUDA et al., 2001). É um broto de levedura com forma de

amendoim ou de garrafa e pode ser encontrado em até 36% dos ouvidos caninos normais (SCOTT et al., 1995).

Maior quantidade de leveduras de *Malassezia* são encontradas em animais com otite comparados a animais saudáveis, indicando que as leveduras do gênero *Malassezia* crescem mais nos locais com infecção e têm um papel importante na indução da doença. Os fatores vinculados à transição das leveduras do gênero *Malassezia* de um organismo comensal para um patogênico são pouco entendidos, mas supõe-se que sejam distúrbios nos mecanismos físicos, químicos e imunológicos da pele que limitem a colonização microbiana (CAFARCHIA et al., 2005).

Essa levedura tem natureza oportunista, e pode tornar-se patogênica quando há uma alteração no ambiente microbiológico da superfície da pele ou na defesa do hospedeiro, produção excessiva de cerúmen no ouvido, alteração de pH, depois de terapia com antibiótico e em casos de alergia, levando a um aumento na colonização por *M. pachydermatis* (CRESPO et al., 2000; FARVER et al., 2005; NOBRE et al., 2001).

Embora *M. pachydermatis* seja parte da microflora comensal da pele canina, tem sido reconhecida como um patógeno secundário na pele de cães e gatos afetados por dermatite seborréica e otite externa ceruminosa (NARDONI et al., 2004; CASTELLÁ et al., 2005). Esta espécie pode ter um papel importante nas dermatites crônicas e otite externa, especialmente em carnívoros. É a levedura que mais comumente contribui como um fator perpetuante para otite externa em cães e gatos (CRESPO et al., 2000).

As otites externas associadas à proliferação de *Malassezia* são bilaterais e apresentam uma forma eritemato-ceruminosa com prurido e, eventualmente, dor, nas quais *M. pachydermatis* é o agente mais prevalente (NOBRE et al., 2001; MACHADO et al., 2003). Em cães, o tipo de orelha foi um fator predisponente importante para o crescimento da levedura, mais do que idade e sexo, provavelmente porque as orelhas pendulares criam um ambiente favorável para o crescimento desta levedura (CAFARCHIA et al., 2005).

MASUDA et al. (2000), relataram que a densidade das glândulas apócrinas distribuídas no canal auditivo canino varia de raça para raça, observaram também, que embora a incidência de otite externa em cães se relacione com o formato da pina, ela

depende preferencialmente da quantidade de lipídio secretado por essas glândulas. Observaram também que a maioria das espécies de *M. pachydermatis* prefere ácidos graxos para se multiplicarem, embora esta espécie seja classificada como não dependente de lipídio. Este pode ser o mecanismo responsável pela maior ocorrência de otite nos animais que possuem orelhas pendulares, além do excesso de umidade presente neste tipo de orelha.

Recentemente, além de *M. pachydermatis*, que não depende da suplementação de lipídio para crescimento *in vitro*, outras 10 espécies foram descritas, baseadas em características moleculares, e todas dependentes de lipídio (*M. dermatis*, *M. equi*, *M. furfur*, *M. globosa*, *M. japonica*, *M. nana*, *M. obtusa*, *M. restricta*, *M. slooffiae*, *M. sympodialis*) (CAFARCHIA et al., 2005).

As espécies dependentes de lipídio são isoladas, comumente, somente da pele de humanos, mas foi observado que a pele de diferentes animais também pode ser colonizada por espécies dependentes de lipídio. *Malassezia sympodialis*, *M. globosa* e *M. furfur* foram isoladas da pele e mucosa de gatos saudáveis, associadas com *M. pachydermatis* (CRESPO et al., 2000). Embora *M. pachydermatis* seja encontrada principalmente em animais, também foi relatada como agente causador de infecções nosocomiais em humanos (CAFARCHIA et al., 2005).

*Malassezia sympodialis* foi isolada da pele e canal auditivo de cães saudáveis e foi relatada como a espécie dependente de lipídio mais encontrada em gato saudável, ao contrário do que tem sido dito que espécies dependentes de lipídio são isoladas somente em ouvidos com otite externa. Os fatores responsáveis pela variabilidade de espécies de *Malassezia* na pele dos diferentes hospedeiros não estão claramente entendidos, embora diferenças na composição lipídica da pele sejam sugeridas como um possível fator, como também ruptura do extrato córneo, aumento de umidade, seborréia e produção excessiva de cerúmen (NARDONI et al., 2004). No canal auditivo externo de gatos também foi encontrado *M. globosa* (CAFARCHIA et al., 2005).

O propósito deste estudo foi:

1- Verificar os fatores epidemiológicos envolvidos na infestação pelo ácaro de ouvido *O. cynotis*, incluindo as condições higiênico-sanitárias em que os animais são criados, idade, sexo, tipo de orelha e lotação.

2- Relacionar a ocorrência do ácaro *O. cynotis* com a presença e a quantidade de leveduras de *M. pachydermatis*, verificando assim a importância deste ácaro como um fator primário causador de otite externa em cães.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKUCEWICH, L.H.; PHILMAN, K.; CLARK, A.; GILLESPIE, J.; KUNKLE, G.; NICKLIN, C.F.; GREINER, E.C. Prevalence of ectoparasites in a population of feral cats from north central Florida during the summer. **Vet. Parasitol.**, v.109, p.129-139, 2002.

BLOT, C.; KODJO, A.; REYNAUD, M.-C.; BOURDOISEAU, G. Efficacy of selamectin administered topically in the treatment of feline otoacariosis. **Vet. Parasitol.**, v.112, p.241-247, 2003.

CAFARCHIA, C.; GALLO, S.; CAPELLI, G.; OTRANTO, D. Occurrence and population size of *Malassezia* spp. in the external ear canal of dogs and cats both healthy and with otitis. **Mycopathologia**, v.160, p.143-149, 2005.

CASTELLÁ, G.; HERNÁNDEZ, J.J.; CABAÑES, F.J. Genetic typing of *Malassezia pachydermatis* from different domestic animals. **Veterinary Microbiology**, v.108, p.291-296, 2005.

CRESPO, M.J.; ABARCA, M.L.; CABANES, F.J. Atypical lipid-dependent *Malassezia* species isolated from dogs with otitis externa. **J. Clin Microbiol.**, v.38, p.2383-2385, 2000.

CRESPO, M.J.; ABARCA, M.L.; CABANES, F.J. Otitis externa associated with *Malassezia sympodialis* in two cats. **J. Clin Microbiol.**, v.38, p.1263-1266, 2000.

FARVER, K.; MORRIS, D.O.; SHOFER, F.; ESCH, B. Humoral measurement of type-1 hypersensitivity reactions to a commercial *Malassezia* allergen. **Vet. Dermatol.**, v.16, p.261-268, 2005.

FOSSUM, T.W. Surgery of the ear. In: FOSSUM, T.W. (1.ed.). **Small animal surgery**. St. Louis: Mosby, 1997. p.153-178.

GOTTHELF, L.N. Primary causes of ear disease. In: GOTTHELF, L.N. **Small animal ear diseases: an illustrated guide**. Philadelphia: Saunders, 2000. p.87-97.

LOHSE, J.; RINDER, H.; GOTHE, R.; ZÄHLER, M. Validity of species status of the parasitic mite *Otodectes cynotis*. **Med. Vet. Entomol.**, v.16, p.133-138, 2002.

MACHADO, M.L.S.; APPELT, C.E.; FERREIRO, L.; GUILLOT, J. Otites e dermatites por *Malassezia* spp. em cães e gatos. **Clín. Vet.**, v.44, p.27-34, 2003.

MASUDA, A.; SUKEGAWA, T.; MIZUMOTO, N.; TANI, H.; MIYAMOTO, T.; SASAI, K.; BABA, E. Study of lipid in the ear canal in canine otitis externa with *Malassezia pachydermatis*. **J. Vet. Med. Sci.**, v.62, p.1177-1182, 2000.

MASUDA, A.; SUKEGAWA, T.; MIZUMOTO, N.; TANI, H.; MIYAMOTO, T.; SASAI, K.; BABA, E. Attachment of *Malassezia pachydermatis* to the ear dermal cells in canine otitis externa. **J. Vet. Med. Sci.**, v. 63, p.667-669, 2001.

NARDONI, S.; MANCIANTI, F.; CORAZZA, M.; RUM, A. Occurrence of *Malassezia* species in healthy and dermatologically diseased dogs. **Mycopathologia**, v.157, p.383-388, 2004.

NOBRE, M.O.; CASTRO, A.P.; NASCENTE, P.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). **Bras. J. Microbiol.**, v.32, p.245-249, 2001.

NOXON, J.O. Otite externa. In: BIRCHARD, S.J.; SHERDING, R.G. (1.ed.). **Manual saunders: clínica de pequenos animais.** São Paulo: Roca, 1998. p.424-429.

POWELL, M.B.; WEISBROTH, S.H.; ROTH, L.; WILHELMSSEN, C. Reaginic hypersensitivity in *Otodectes cynotis* infestation of cats and mode of mite feeding. **Am. J. Vet. Res.**, v.41, p.877-882, 1980.

RODRIGUEZ, V.R.I.; ORTEGA, A.; ROSADO, J.A.; BOLIO, G.M.E. Factors affecting the prevalence of mange-mite infestation in stray dogs of Yucatán, Mexico. **Vet. Parasitol.**, v.115, p.61-65, 2003.

ROSYCHUK, R.A.W.; LUTTGEN, P. Diseases of the ear. In: ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. (5.ed). **Textbook of veterinary internal medicine.** Philadelphia: Saunders, 2000. p.992-1002.

SCOTT, D.W.; MILLER, W.H.; GRIFFIN, C.E. Doenças parasitárias da pele. In: SCOTT, D.W.; MILLER, W.H.; GRIFFIN, C.E. (5.ed.). **Muller e Kirk's Dermatologia de pequenos animais.** Philadelphia: Saunders, 1995. p. 392-468.

SHANKS, D.J.; McTIER, T.L.; ROWAN, T.G.; WATSON, P.; THOMAS, C.A.; BOWMAN, D.D.; HAIR, J.A.; PENGO, G.; GENCHI, C.; SMOTHERS, C.D.; SMITH, D.G.; JERNIGAN, A.D. The efficacy of selamectin in the treatment of naturally acquired aural infestations of *Otodectes cynotis* on dogs and cats. **Vet. Parasitol.**, v.91, p.283-290, 2000.

SIX, R.H.; CLEMENCE, R.G.; THOMAS, C.A.; BEHAN, S.; BOY, M.G.; WATSON, P.; BENCHAOUI, H.A.; CLEMENTS, P.J.M.; ROWAN, T.G.;

JERNIGAN, A.D. Efficacy and safety of selamectin against *Sarcoptes scabiei* on dogs and *Otodectes cynotis* on dogs and cats presented as veterinary patients. **Vet. Parasitol.**, v.91, p. 291-309, 2000.

SOTIRAKI, S.T.; KOUTINAS, A.F.; LEONTINES, L.S.; ADAMAMA, K.K.; HIMONAS, C.A. Factors affecting the frequency of ear canal and face infestation by *Otodectes cynotis* in the cat. **Vet. Parasitol.**, v.96, p.309-315, 2001.

SWEATMAN, G.K. Biology of *Otodectes cynotis*, the ear canker mite of carnivores. **Canadian Journal Of Zoology**, v.36, p.849-862, 1958.

TONN, R.J. Studies on the ear mite *Otodectes cynotis*, including life cycle. **Annals of the entomological society of america**, v.54, p.416-421, 1960.

WEISBROTH, S.H.; POWELL, M.B.; ROTH, L.; SCHER, S. Immunopathology of naturally occurring otodectic otoacariasis in the domestic cat. **JAVMA**, v.165, p.1088-1093, 1974.

**ARTIGO I**

**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**

Martha Juliani Nascimento<sup>1</sup>, Tereza Cristina Goulart de Oliveira-Sequeira<sup>2</sup>, Lídia Raquel de Carvalho<sup>3</sup>, Lucia Helena O'Dwyer<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mestranda do Programa de Pós-graduação em Biologia Geral e Aplicada, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Distrito de Rubião Jr., 18.618-000, Botucatu, São Paulo, Brasil. E-mail: [martha\\_juliani@yahoo.com.br](mailto:martha_juliani@yahoo.com.br)

<sup>2</sup>Departamento de Parasitologia, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Distrito de Rubião Jr., Botucatu, São Paulo, Brasil.

<sup>3</sup>Departamento de Bioestatística, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Distrito de Rubião Jr., Botucatu, São Paulo, Brasil.

## Resumo

Foi realizada uma investigação epidemiológica na cidade de Presidente Prudente-SP, para avaliar a prevalência das infestações pelo ácaro *Otodectes cynotis* no ouvido de cães naturalmente infestados. Os animais utilizados neste estudo foram divididos em dois grupos: um grupo com animais criados em condições higiênico-sanitárias ruins e outro grupo com animais criados em boas condições higiênicas. Foram visitadas 170 casas onde em 85 casas os animais eram criados em boas condições higiênico-sanitárias e em 85 casas os animais eram criados em condições higiênicas ruins. Foi examinado um total de 233 cães. Os ouvidos de todos os cães foram examinados com o uso de um otoscópio para verificar a presença do ácaro. Cento e trinta e nove cães criados em condição higiênico-sanitária ruim foram examinados e 81 deles (57,9%), estavam infestados pelo ácaro. O total de cães examinados que viviam em boas condições higiênicas, foi de 94 e apenas nove animais (9,6%) tinham o ácaro *O. cynotis* nos ouvidos. Os resultados mostraram que as condições higiênicas em que os cães são criados influenciam na prevalência do ácaro *O. cynotis* ( $p \leq 0,0001$ ). Foram realizados esfregaços do cerúmen coletado de ambos os ouvidos de todos os cães. As lâminas foram coradas e examinadas para verificar a quantidade de levedura de *Malassezia pachydermatis* por campo. Foi encontrada levedura de *Malassezia* no esfregaço de ouvido de 113 cães (48,5%), sendo que em 87 havia mais do que dez células por campo examinado. A quantidade de levedura presente nos esfregaços das amostras de cerúmen, coletadas dos ouvidos dos cães infestados pelo ácaro, foi comparada com as amostras de cerúmen dos cães sem infestação. Os esfregaços de cerúmen revelaram que há associação do ácaro com a infecção por *M. pachydermatis*, pois 74,4% dos animais que apresentaram infestação pelo ácaro apresentaram, também, grande quantidade de levedura (mais do que 10 células por campo).

## Abstract

An epidemiological investigation was done in dogs of Presidente Prudente, São Paulo to determine the prevalence of ear infestation by *Otodectes cynotis* in dogs naturally infested. The animals used in the study were separated in two groups: in one group the animals were raised in bad sanitary hygienic conditions and in other group the animals were raised in good sanitary hygienic conditions. One hundred seventy houses were visited, in 85/170 of the houses the dogs were raised in good hygienic conditions and in other 85 houses the dogs were raised in bad hygienic conditions. A total of 233 dogs were examined with otoscopic. Otoscopic examination of both ears was carried out to assess the presence of mite. The presence of *O. cynotis* was met in 81/139 (57.9%) of the dogs raised in bad hygienic conditions. In 9/94 (9.6%) of the dogs raised in good hygienic condition were positive for ear mites. There was a significant difference ( $p < 0.0001$ ) in the average number of dogs positive for *O. cynotis* raised in different hygienic conditions. In the houses which animals lived in bad hygienic condition the number of dogs with ear mites was greater. Deep ear swab specimens were obtained from both ears from all dogs. Each swab was rolled on a clean glass slide and stained with Giemsa for microscopic examination. The number of *Malassezia pachydermatis* yeasts found in glass was assessed. *Malassezia* yeasts were found in 113 (48.5%) of dogs. Of 113 dogs positive on ear swab for *M. pachydermatis* yeast, 87 (77.0%) showed more than 10 cells per field. The amount of *M. pachydermatis* yeast present in the swabs obtained from ears from dogs infested with ear mite *O. cynotis* was compared with swabs obtained from ears from dogs without infestation. The results showed that there was association between the ear mite and the infection with *M. pachydermatis*. Of 67/90 (74.4%) of dogs were infested by *O. cynotis* and showed more than 10 cells per field.



## 1. Introdução

Ácaros do gênero *Otodectes* são parasitas encontrados freqüentemente no ouvido de cães e gatos. Eles são reconhecidos como os principais causadores de otite externa nesses animais e são, desta forma, de importância considerável na clínica médica de pequenos animais (Lohse et al., 2002; Six et al., 2000).

Em um estudo molecular do ácaro isolado do ouvido de cão, gato, raposa (*Alopex lagopus*) e furão (*Mustela putorius furo*) originados de quatro continentes diferentes (Europa, América, África e Ásia), foi revelado a existência de uma única espécie, *Otodectes cynotis* em todo o mundo (Lohse et al., 2002).

Os sinais comuns das otoacariases incluem irritação, prurido intenso, formação de crosta espessa marrom-avermelhada e devido ao autotraumatismo pode ocorrer infecções secundárias por bactérias ou fungos (Rodrigues et al., 2003; Six et al., 2000).

Em cães, a presença de uma pequena quantidade de *O. cynotis* nos ouvidos já pode causar uma grave inflamação, fazendo com que os ácaros deixem o ouvido ou sejam destruídos pelo exudato. A gravidade dos sintomas associados com *Otodectes* podem ser devido à reação de hipersensibilidade do tipo Arthus provocada pela presença de poucos ácaros (Gotthelf, 2000).

As infecções secundárias estabelecidas nos ouvidos infestados pelo ácaro *O. cynotis* fazem com que este deixe o ouvido ou sejam destruídos. Portanto, os ácaros podem ser mais difíceis de serem encontrados quando o ouvido se torna inflamado e infectado por bactérias ou fungos (Sotikari et al., 2001; Akucewich et al., 2002).

Em um estudo realizado com cães de canil, foi verificado que as condições nutricionais dos animais e o grau de salubridade mantido nos canis são fatores que influenciam a taxa de ocorrência de infestação pelo ácaro. Os cães que estavam magros e viviam nos canis com péssimas condições higiênicas, tinham um maior número de ácaros e

maior ocorrência de infestação, concluindo assim, que o meio ambiente tem influência sobre o número de ácaros nos hospedeiros (Tonn, 1960).

Infecção bacteriana e colonização por *Malassezia pachydermatis* são fatores que perpetuam as otites externas. Bactérias e fungos são agentes oportunistas, que se tornam patogênicos devido às alterações provocadas pela inflamação, fazendo com que esses agentes se multipliquem exageradamente, agravando o quadro de otite (Rosychuk et al., 2000; Noxon, 1998).

*Malassezia pachydermatis* é o organismo mais encontrado nas amostras de ouvido, até em cães saudáveis, por esse motivo foi reconhecido como um patógeno oportunista (Masuda et al., 2001). É um broto de levedura com forma de amendoim ou de garrafa e pode ser encontrado em até 36% dos ouvidos caninos normais (Scott et al., 1995).

Embora *M. pachydermatis* seja parte da microflora comensal da pele canina, foi relatado seu papel patogênico secundário na pele de cães e gatos afetados por dermatite seborréica e otite externa ceruminosa (Nardoni et al., 2003; Castellá et al., 2005). Esta espécie pode ter um papel importante nas dermatites crônicas e otite externa, especialmente em carnívoros. É a levedura que mais comumente contribui para otite externa como um fator perpetuante em cães e gatos (Crespo et al., 2000).

Esta levedura tem uma natureza oportunista, e pode tornar-se patogênica quando há uma alteração no microambiente da superfície da pele ou na defesa do hospedeiro, produção excessiva de cerúmen no ouvido, alteração de pH, depois de terapia com antibiótico e em casos de alergia, aumentando a colonização por *M. pachydermatis* (Crespo et al., 2000; Farver et al., 2005; Nobre et al., 2001).

As otites externas associadas à proliferação de *Malassezia* são bilaterais e apresenta uma forma eritemato-ceruminosa com prurido e, eventualmente, dor, nas quais *M. pachydermatis* é o agente mais prevalente (Nobre et al., 2001; Machado et al., 2003). Em cães, o tipo de orelha é um fator predisponente importante para o crescimento da levedura, mais do que idade e sexo, provavelmente porque as orelhas pendulares criam um ambiente favorável para o crescimento desta levedura (Cafarchia et al., 2005).

Não foi encontrado na literatura nenhum artigo relacionando a infestação por *O. cynotis* com a infecção por *M. pachydermatis*.

Assim, o propósito deste estudo foi:

1- Verificar os fatores epidemiológicos envolvidos na infestação pelo ácaro de ouvido *O. cynotis*, incluindo as condições higiênico-sanitárias em que os animais eram criados, idade, sexo, tipo de orelha e lotação (número de animais por casa).

2- Relacionar a ocorrência do ácaro *O. cynotis* com a presença e a quantidade de leveduras de *M. pachydermatis*, verificando assim a importância deste ácaro como um fator primário causador de otite externa em cães.

## 2. Material e métodos

### 2.1) Animais

Foram visitadas 170 casas na cidade de Presidente Prudente-SP, onde em 85 casas os cães eram criados em condições higiênicas ruins e em 85 casas os cães viviam em boas condições higiênico-sanitárias. Todos os cães existentes nessas casas tiveram os ouvidos examinados, com o auxílio de um otoscópio, para observar a presença ou não do ácaro *O. cynotis* no canal auditivo externo.

Nas casas classificadas como sendo de condição higiênico-sanitária ruim os cães tinham acesso à rua, não recebiam tratamento veterinário, viviam em quintais sem higienização. Nas casas classificadas como sendo de boa condição higiênica, os cães tinham acesso à rua somente com seu proprietário, visitavam habitualmente clínica veterinária, viviam em quintais que recebiam cuidados sanitários diários ou ficavam somente dentro de casa.

Os cães foram escolhidos aleatoriamente, sem distinção de raça, idade, sexo, tipo de orelha, em diferentes bairros na cidade de Presidente Prudente.

Todos os cães foram examinados quanto à presença ou não do parasita no conduto auditivo externo.

Posteriormente, a presença deste ácaro foi associada com a presença e crescimento da levedura *Malassezia pachydermatis*.

### 2.2) Amostras do canal auditivo

Após a verificação da presença do ácaro *O. cynotis* nos ouvidos dos cães, as amostras foram coletadas de ambos os ouvidos de todos esses cães, com a utilização de um

“swab” de algodão estéril esfregado no canal auditivo anterior. A detecção de *M. pachydermatis* no cerúmen foi feita pela realização de um esfregaço. As lâminas foram coradas com Giemsa para exame citológico.

De acordo com a quantidade de células de levedura encontradas por campo microscópico foi aplicado o seguinte “score”: - negativo; + de uma a cinco células; ++ de seis a dez células e +++ mais do que dez células (Nobre et al., 2001).

Sexo, idade, tipo de orelha, lotação (quantidade de cães que vivem na mesma casa), condições higiênico-sanitárias que estes cães vivem, quantidade de cerúmen, aparência dos ouvidos e outras alterações relacionadas à otite, também foram observados.

Os cães foram considerados filhotes quando tinham até um ano de idade e adultos quando tinham acima de um ano de idade.

### 2.3) Análise estatística

O tamanho da amostra foi determinado considerando-se uma diferença esperada entre as proporções de presença de sarna entre as casas com boas condições higiênico-sanitárias e as de más condições higiênico-sanitárias em torno de 20%, com poder do teste de 80%, ao nível de 5% de significância, ficando determinado em 85 casas por grupo.

Para comparação das proporções foi utilizado o teste qui-quadrado.

Para estudo da associação entre presença de sarna e o fungo *Malassezia*, foram utilizados os testes de qui-quadrado e de Goodman.

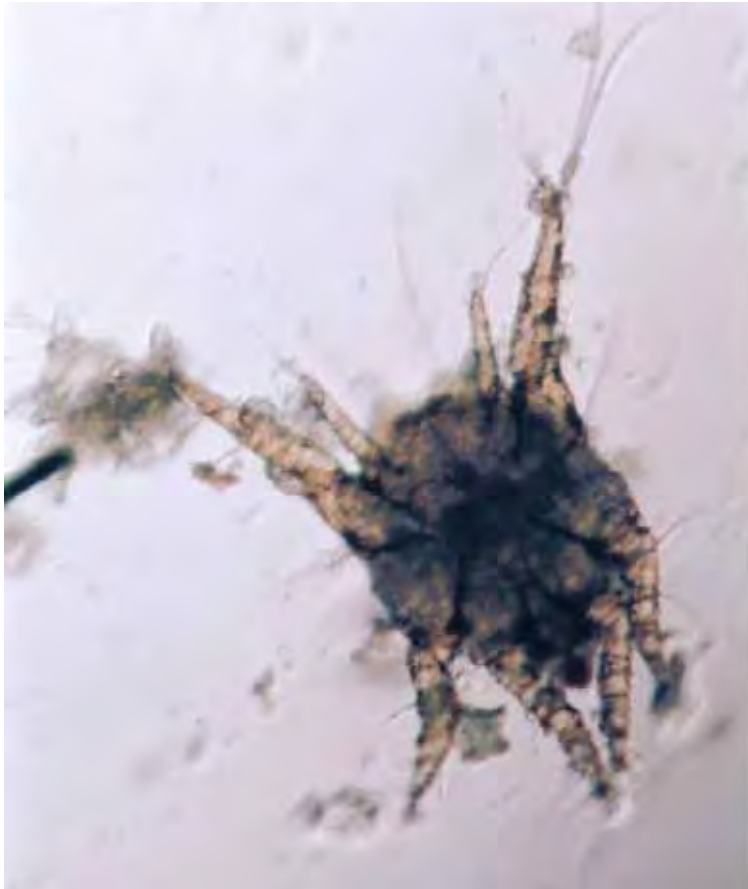


Figura 1. Ácaro *Otodectes cynotis*, presente no esfregaço de cerúmen de cão naturalmente infestado.

(Foto: Martha Juliani Nascimento)

### 3. Resultados

Um total de duzentos e trinta e três cães foi examinado quanto à presença do ácaro *O.cynotis* nos ouvidos, onde 94 cães viviam em boas condições higiênicas e 139 cães viviam em condições higiênicas ruins. Do total de animais, 90 (38,6%) apresentavam ácaro (Figura 1). Os cães parasitados apresentavam sinais clínicos consistentes com infestação por *O. cynotis*, tais como, sacudir a cabeça, prurido/coceira no ouvido, trauma ou alopecia na pina, eritema e ulceração no canal auditivo, e excesso de cerúmen com aspecto de crosta espessa.

Oitenta e um cães (57,9%) criados em condições higiênicas ruins tinham o ácaro *O. cynotis* nos ouvidos. Nos cães criados em boas condições higiênicas, somente nove (9,6%) animais eram positivos para a presença do ácaro nos ouvidos (Tabela 1).

Tabela 1- Distribuição de frequências de cães de Presidente Prudente, São Paulo, examinados quanto à presença do ácaro *Otodectes cynotis*, segundo a condição higiênica e a presença ou não de sarna.

| <b>Condição higiênica da casa</b> | <b>Presença do ácaro<br/>N (%)</b> | <b>Ausência do ácaro<br/>N (%)</b> | <b>Total<br/>N (%)</b> |
|-----------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|------------------------|
| <b>Ruim</b>                       | 81 (57,9)                          | 59 (42,1)                          | 140 (100)              |
| <b>Boa</b>                        | 9 (9,6)                            | 85 (90,4)                          | 94 (100)               |

$\chi^2 = 55,4$                        $p < 0,0001$

Verificou-se maior taxa de ocorrência de infestação em cães com orelhas pendulares (70,1%) quando comparados aos cães com orelhas eretas (29,9%) (Tabela 2).

Tabela 2- Distribuição de frequências de cães de Presidente Prudente, São Paulo, examinados quanto à presença do ácaro *Otodectes cynotis*, segundo o tipo de orelha e presença ou não de sarna no ouvido.

| <b>Ácaro</b>    | <b>Orelha ereta</b><br>N (%) | <b>Orelha pendular</b><br>N (%) | <b>Total</b><br>N (%) |
|-----------------|------------------------------|---------------------------------|-----------------------|
| <b>Presença</b> | 23 (29,9)                    | 54 (70,1)                       | 77 (100,0)            |
| <b>Ausência</b> | 68 (43,3)                    | 89 (56,7)                       | 157 (100,0)           |

$\chi^2 = 3,9$

$p = 0,047$

A idade dos cães influenciou na taxa de ocorrência de infestação, independente da condição higiênica que o animal era criado (Tabelas 3 e 4). A porcentagem de filhotes infestados foi maior do que os adultos, tanto nos animais criados em boas condições higiênicas (22,2%), quanto os criados em condições higiênicas ruins (73,5%).

Tabela 3 – Distribuição de frequências de cães de Presidente Prudente, São Paulo, criados em condição higiênica ruim, examinados quanto à presença do ácaro, segundo a idade do animal e presença ou não do ácaro no ouvido.

| <b>ÁCARO</b>    | <b>FILHOTE</b><br>N (%) | <b>ADULTO</b><br>N (%) |
|-----------------|-------------------------|------------------------|
| <b>Presença</b> | 36 (73,5)               | 45 (50,0)              |
| <b>Ausência</b> | 13 (26,5)               | 45 (50,0)              |
| <b>Total</b>    | 49 (100,0)              | 90 (100,0)             |

$\chi^2 = 7,19$

$p = 0,0073$

Tabela 4 – Distribuição de frequências de cães de Presidente Prudente, São Paulo, criados em condição higiênica boa, examinados quanto à presença do ácaro, segundo a idade do animal e presença ou não do ácaro no ouvido.

| <b>ÁCARO</b>    | <b>FILHOTE</b><br>N (%) | <b>ADULTO</b><br>N (%) |
|-----------------|-------------------------|------------------------|
| <b>Presença</b> | 8 (22,2)                | 1 (1,7)                |
| <b>Ausência</b> | 28 (77,8)               | 57 (98,3)              |
| <b>Total</b>    | 36 (100,0)              | 58 (100,0)             |

$\chi^2 = 10,78$

$p = 0,001$

A lotação das casas, ou seja, o número de cães que vivem no mesmo ambiente é um fator importante que determina a quantidade de animais positivos, assim como a sanidade do ambiente no qual o animal é criado. Verificou-se maior taxa de ocorrência de infestação nos cães que viviam nas casas com lotação maior e condições higiênicas ruins comparados com os cães criados sozinhos e em boas condições higiênicas (Tabelas 5 e 6).

Tabela 5- Distribuição de frequências de cães de Presidente Prudente, São Paulo, criados em condição higiênica ruim, examinados quanto à presença do ácaro, segundo a lotação da casa e presença ou não do ácaro no ouvido.

| <b>ÁCARO</b>    | <b>Cão criado sozinho</b> | <b>Cães criados em grupo</b> |
|-----------------|---------------------------|------------------------------|
|                 | <b>N (%)</b>              | <b>N (%)</b>                 |
| <b>Presença</b> | 17 (28,3)                 | 64 (81,0)                    |
| <b>Ausência</b> | 43 (71,7)                 | 15 (19,0)                    |
| <b>Total</b>    | 60 (100,0)                | 79 (100,0)                   |

$\chi^2 = 38,92$

$p = 0,0001$

Tabela 6- Distribuição de frequências de cães de Presidente Prudente, São Paulo, criados em condição higiênica boa, examinados quanto à presença do ácaro, segundo a lotação da casa e presença ou não do ácaro no ouvido.

| <b>ÁCARO</b>    | <b>Cão criado sozinho</b> | <b>Cães criados em grupo</b> |
|-----------------|---------------------------|------------------------------|
|                 | <b>N (%)</b>              | <b>N (%)</b>                 |
| <b>Presença</b> | 9 (11,5)                  | 0 (0,0)                      |
| <b>Ausência</b> | 69 (88,5)                 | 16 (100,0)                   |
| <b>Total</b>    | 78 (100,0)                | 16 (100,0)                   |

$\chi^2 = 2,04$

$p = 0,15$



A quantidade de cerúmen associou-se à presença do ácaro, nos ouvidos infestados pelo ácaro a quantidade de cerúmen encontrada foi maior do que nos ouvidos sem infestação, independente da condição higiênica na qual o animal era criado (Tabelas 7 e 8).

Tabela 7- Distribuição de freqüências de cães de Presidente Prudente, São Paulo, criados em condições higiênicas ruins, examinados quanto à presença do ácaro, segundo a quantidade de cerúmen e presença ou não do ácaro no ouvido.

| <b>ÁCARO</b>    | <b>Muito cerúmen</b> |            | <b>Pouco cerúmen</b> |            |
|-----------------|----------------------|------------|----------------------|------------|
|                 | <b>N</b>             | <b>(%)</b> | <b>N</b>             | <b>(%)</b> |
| <b>Presença</b> | 61                   | (87,1)     | 7                    | (10,1)     |
| <b>Ausência</b> | 9                    | (12,9)     | 62                   | (89,9)     |
| <b>Total</b>    | 70                   | (100,0)    | 69                   | (100,0)    |

$\chi^2= 82,44$

$p < 0,0001$

Tabela 8 - Distribuição de freqüências de cães de Presidente Prudente, São Paulo, criados em boas condições higiênicas, examinados quanto à presença do ácaro, segundo a quantidade de cerúmen e presença ou não do ácaro no ouvido.

| <b>ÁCARO</b>    | <b>Muito cerúmen</b> |            | <b>Pouco cerúmen</b> |            |
|-----------------|----------------------|------------|----------------------|------------|
|                 | <b>N</b>             | <b>(%)</b> | <b>N</b>             | <b>(%)</b> |
| <b>Presença</b> | 5                    | (19,2)     | 4                    | (5,9)      |
| <b>Ausência</b> | 21                   | (80,2)     | 64                   | (94,1)     |
| <b>Total</b>    | 26                   | (100,0)    | 68                   | (100,0)    |

$\chi^2= 3,87$

$p = 0,049$

Dos duzentos e trinta e três cães examinados, duzentos e treze (91,4%) apresentaram levedura no esfregaço de cerúmen. Nos ouvidos infestados pelo ácaro foi encontrada uma maior quantidade de levedura por campo; sessenta e sete cães (74,4%) com sarna de ouvido tinham o score +++, ou seja, mais do que dez leveduras por campo examinado (Figura 2). Enquanto que nos cães sem a presença do ácaro nos ouvidos, apenas vinte animais (13,9%) obtiveram o mesmo score (Tabela 9).

Não houve associação do tipo de orelha dos animais com aumento na quantidade de levedura por campo observado (Tabela 10).

Tabela 9- Distribuição de freqüências de cães de Presidente Prudente, São Paulo, examinados quanto à presença do ácaro *Otodectes cynotis*, segundo a quantidade de leveduras de *M. pachydermatis* observadas por campo e presença ou não de sarna, independente da condição higiênica do ambiente.

| Ácaro           | - (1) |        | +(2) |        | ++ (3) |        | +++ (4) |        | Total |         |
|-----------------|-------|--------|------|--------|--------|--------|---------|--------|-------|---------|
|                 | N     | (%)    | N    | (%)    | N      | (%)    | N       | (%)    | N     | (%)     |
| <b>Presença</b> | 0     | (0,0)  | 9    | (10,0) | 14     | (15,6) | 67      | (74,4) | 90    | (100,0) |
| <b>Ausência</b> | 21    | (14,6) | 82   | (56,9) | 21     | (14,6) | 20      | (13,9) | 144   | (100,0) |

$\chi^2= 99,2$

$p < 0,0001$

- (1) – ausência de levedura de *M. pachydermatis* na lâmina.
- (2) + de 1 a 5 células de levedura de *M. pachydermatis* por campo
- (3) ++ de 6 a 10 células de levedura por campo
- (4) +++ mais do que 10 células de levedura por campo.

Tabela 10-Distribuição de freqüências de cães de Presidente Prudente, São Paulo, examinados quanto ao tipo de orelha e quantidade de leveduras *Malassezia pachydermatis* observadas por campo.

| Tipo de Orelha  | -  |       | +  |        | ++ |        | +++ |        | Total |         |
|-----------------|----|-------|----|--------|----|--------|-----|--------|-------|---------|
|                 | N  | (%)   | N  | (%)    | N  | (%)    | N   | (%)    | N     | (%)     |
| <b>Ereta</b>    | 4  | (7,7) | 23 | (44,2) | 5  | (9,6)  | 20  | (38,5) | 52    | (100,0) |
| <b>Pendular</b> | 18 | (9,4) | 68 | (37,2) | 30 | (16,7) | 66  | (36,7) | 182   | (100,0) |

$\chi^2= 2,0$

$p= 0,57$

- (1) – ausência de levedura de *M. pachydermatis* na lâmina.
- (2) + de 1 a 5 células de levedura de *M. pachydermatis* por campo
- (3) ++ de 6 a 10 células de levedura por campo
- (4) +++ mais do que 10 células de levedura por campo – ausência de levedura de *M. pachydermatis* na lâmina.

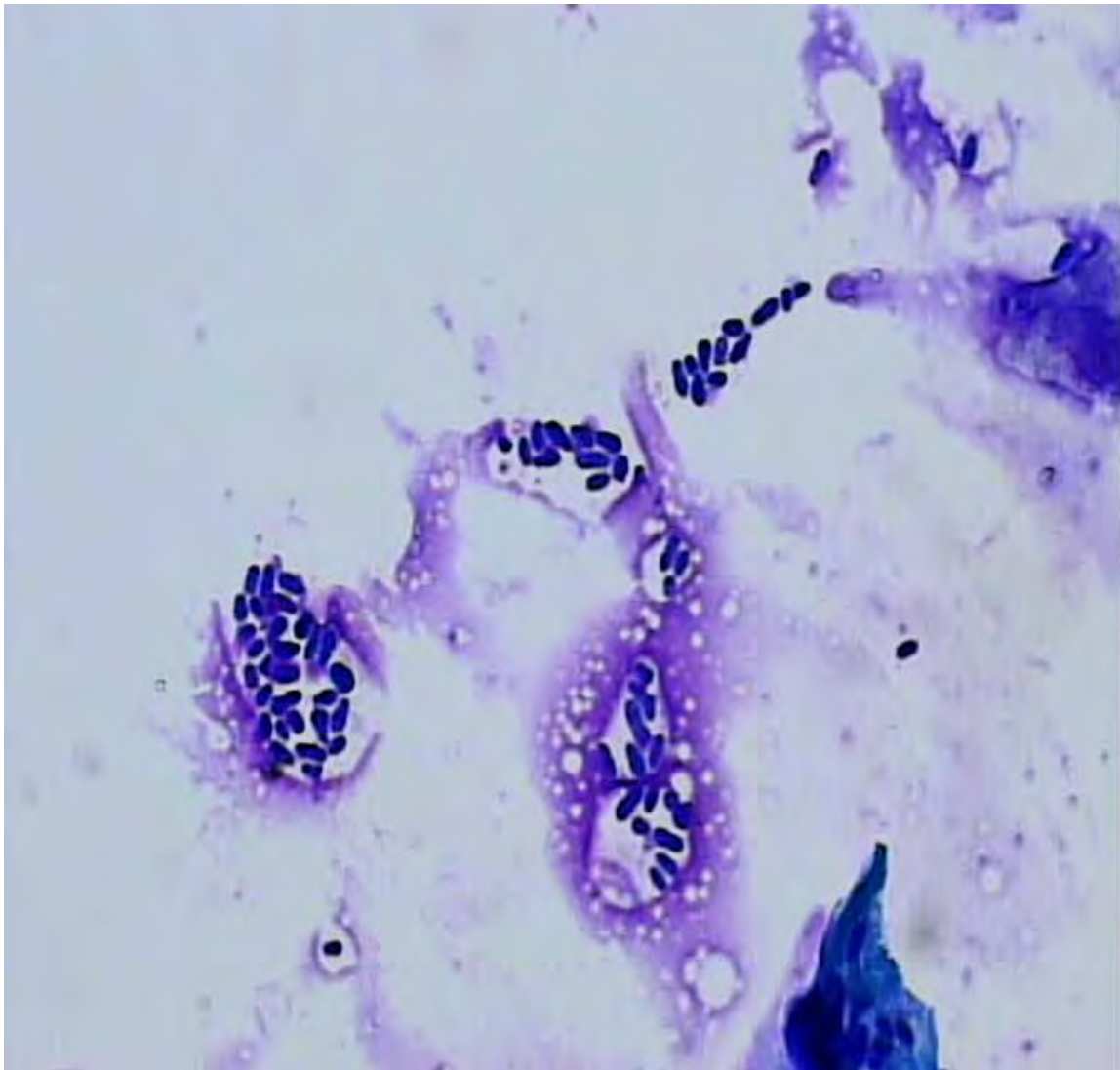


Figura 2. Leveduras de *Malassezia pachydermatis* presentes no esfregaço de cerúmen de cão com *Otodectes cynotis*.

(Foto: Martha Juliani Nascimento)

#### 4. Discussão

A prevalência da infestação de cães pelo ácaro *O. cynotis* verificada no presente estudo foi alta (38,6%). Six et al. (2000) observaram que a prevalência deste ácaro em cães pode variar de 2 a 29%. Em um estudo realizado em cães da cidade de Araguaína, Tocantins a prevalência da infestação foi de 4,3% (Santos et al., 2006).

Os cães desse estudo, que estavam parasitados, apresentavam sinais clínicos consistentes com infestação por *O. cynotis*, tais como, sacudir a cabeça, prurido/coceira no ouvido, trauma ou alopecia na pina, eritema e ulceração no canal auditivo, e excesso de cerúmen com aspecto de crosta espessa, como foi verificado em estudos anteriores (Gotthelf, 2000; Six et al., 2000).

Os resultados evidenciados neste estudo mostraram que na população estudada, a condição higiênica no ambiente em que o animal vive causa influência na ocorrência de infecção pelo ácaro *O. cynotis*, estando de acordo com relatos anteriores (Tonn, 1960). Os cães criados num ambiente com condição higiênico-sanitária ruim tiveram uma maior prevalência de infestação (57,9%) do que os cães criados em boas condições higiênicas (9,6%).

Foi observado que a quantidade de cerúmen não influenciou significativamente no grau de infestação pelo ácaro nos ouvidos, de modo que muitos ouvidos com excesso de cerúmen também apresentavam uma grande quantidade de ácaro no exame com otoscópio. Estes dados diferem dos resultados de outros autores que afirmam que quanto maior a quantidade de cerúmen, menor a quantidade de ácaros nos ouvidos (Rodrigues et al., 2003).

Scott et al. (1995) afirmaram que quando os ouvidos se tornam inflamados ou infectados por bactérias ou fungos, o ácaro deixa o canal auditivo resultando em infecções em outras partes do corpo. Isso não foi observado em nossos resultados, sendo que cães parasitados com o ácaro apresentavam lesões somente nos ouvidos.

Em nosso estudo, os ouvidos foram examinados somente com otoscópio para diagnóstico da sarna de ouvido, ao contrário de outros estudos onde foram realizados também “swab” profundo para visualizar o ácaro nas amostras de cerúmen (Akucewich et

al., 2002). Consideramos que o exame com otoscópio foi suficiente para o diagnóstico, não influenciando nos resultados encontrados.

Os ácaros foram vistos facilmente se movimentando dentro do canal auditivo externo dos cães, mesmo nos ouvidos inflamados e infectados secundariamente por bactéria ou fungo, ao contrário de relatos anteriores em que os autores afirmaram que o ácaro deixa o ouvido quando ocorre infecção secundária dificultando sua visualização (Scott et al., 1995; Sotikari et al., 2001; Akucewich et al., 2002). Quando o ouvido apresentava sinais clínicos típicos de otoacaríase, o exame com otoscópio revelava a presença do ácaro. A maioria dos ouvidos parasitados tinha excesso de cerúmen. Nas casas em que os cães eram criados em grupo, quando um dos cães era positivo ao exame com otoscópio, no exame dos outros animais o ácaro era encontrado com facilidade.

Nos ouvidos parasitados com uma pequena quantidade de ácaro já era possível observar sinais de inflamação, como já relatado anteriormente por Gotthelf (2000).

No presente estudo, foi observado que o tipo de orelha (reta ou pendular) influenciou na frequência da infestação, sendo que cães com orelha pendular apresentaram maior infestação pelo ácaro. Apesar de não ter sido encontrado na literatura a relação entre o tipo de orelha e a infestação por *O. cynotis*, este foi um resultado esperado já que cães com orelha pendular apresentam maior quantidade de cerúmen e umidade, propiciando um ambiente adequado para o ácaro. A associação entre tipo de orelha e infecções por fungos já foi estabelecida (Cafarchia et al., 2005).

Em um estudo anterior, cães com idade inferior a um ano foram mais susceptíveis a infestação pelo ácaro (Weisbroth et al., 1974) devido a constante exposição às mães portadoras. Em nosso estudo também houve associação entre idade e presença de infestação pelo ácaro, independente da condição higiênica na qual o animal vive. Os cães jovens parasitados que viviam em boas condições higiênicas eram na maioria filhotes adquiridos de canis, e então, provavelmente se infectaram pelo contato com as mães e foram adquiridos já infestados. Nos cães criados em péssimas condições higiênicas, a porcentagem de filhotes positivos foi maior (73,5 %) em relação aos animais adultos (50,0 %) e os filhotes, na sua maioria nasceram no mesmo local em que eram criados.

Weisbroth et al (1974) também verificaram que em gatos, o ácaro pode induzir uma reação de hipersensibilidade logo após a infestação, e nos casos crônicos pode resultar

em hipersensibilidade do tipo Arthus. Essas reações de hipersensibilidade fazem com que os gatos desenvolvam imunidade contra os antígenos do ácaro; isto explica a maior incidência de otoacaríase em gatos jovens. Nos cães do nosso estudo, por ter sido encontrado uma maior prevalência de infestação nos filhotes, podemos sugerir que os animais desenvolvam imunidade contra os antígenos do ácaro ao longo da vida. Algumas respostas típicas de reação alérgica, tais como hiperemia, edema e prurido, foram vistas nos ouvidos de alguns cães parasitados, podendo sugerir que a injúria mecânica provocada pelo modo de alimentação do ácaro pode desencadear reação alérgica em cães com otoacaríase (Powell et al., 1980; Gotthelf, 2000).

Tonn (1960) observou em um estudo que cães criados em canis com condições sanitárias ruins tinham um maior número de ácaros nos ouvidos; em nosso estudo também observamos uma maior quantidade de animais positivos nas casas onde a lotação era maior, ou seja, onde tinha mais de um cão criado juntos e o ambiente não tinha boas condições sanitárias ( $\rho = 0,0001$ ).

Podemos observar que a condição higiênica da casa, muitas vezes, não tem relação com a condição sócio-econômica do morador, já que em muitas casas com condição higiênico-sanitária boa os moradores tinham uma condição sócio-econômica média ou até baixa. Em muitas casas situadas em bairros considerados nobres, os proprietários dos cães não realizavam práticas adequadas de sanidade tanto no ambiente quanto no animal.

Em relação à lotação, foi observada associação entre animais criados em grupo e a presença do ácaro quando estes eram criados em condições higiênicas ruins ( $\rho = 0,0001$ ), entretanto, não foi encontrada associação significativa quando os cães eram criados em condições higiênicas boas ( $\rho = 0,15$ ). Este resultado demonstra que a condição higiênica é um fator primordial na infestação pelo ácaro.

Apesar de não termos observado ácaros em cães criados em grupo quando viviam em condições higiênicas boas, os ácaros de orelha são altamente contagiosos, não possuem preferência por sexo, idade e raça, de modo que todos os animais que vivem no mesmo ambiente se infectam (Scott et al., 1995; Sotikari et al., 2001; Rodrigues et al., 2003). O sexo do hospedeiro não foi um fator importante na susceptibilidade ao ácaro.

Houve associação entre a quantidade de cerúmen no ouvido dos cães e a presença do ácaro, independente das condições higiênicas do ambiente ( $\rho < 0,0001$  e  $\rho = 0,049$ ). Tonn

(1960) relatou também que a condição geral dos ouvidos tem um papel importante na susceptibilidade de infestação pelo ácaro de ouvido, pois as infestações foram mais prevalentes nos ouvidos com muita sujidade, com excesso de cerúmen e crostas. No presente estudo isso também foi observado, mas não podemos descartar a hipótese de que a presença do ácaro seja o fator que predispõe os ouvidos a apresentarem sujidades.

Muitos animais examinados (48,5%) apresentavam infecção por *M. pachydermatis*, demonstrando que este fungo é um habitante normal da flora do ouvido dos cães. Nossos estudos evidenciaram o aumento na quantidade de levedura de *M. pachydermatis* nos esfregaços de cerúmen dos ouvidos infestados pelo ácaro (74,4%), mostrando que a infecção por esse fungo tem associação com a presença de *O. cynotis* no ouvido dos cães ( $p < 0,0001$ ). O ácaro provoca alterações na pele do ouvido que levam a um aumento na colonização por essa levedura (Cafarchia et al., 2005; Crespo et al., 2000; Farver et al., 2005). Os ouvidos infestados pelo ácaro apresentavam sinais de otite externa, confirmando desta forma, a importância de *O. cynotis* como fator primário causador de otite externa em cães e o fungo *M. pachydermatis*, como fator perpetuante das otites nos cães.

Maior população de *Malassezia* foi encontrada nos ouvidos com otite do que nos ouvidos normais, indicando que essa levedura cresce mais em locais com infecção e tem um papel na patogenia das otites externas (Cafarchia et al., 2005). Nossos estudos mostraram que a presença de *O. cynotis* nos ouvidos dos cães influenciou na quantidade de levedura, mais do que o tipo de orelha. Tanto os cães com orelhas eretas quanto os cães com orelhas pendulares, quando não infestados pelo ácaro, não demonstraram diferença na quantidade de levedura de *M. pachydermatis* nos esfregaços de cerúmen, ao contrário do que já foi dito em outros trabalhos (Masuda et al., 2000; Cafarchia et al., 2005).

Leveduras de *M. pachydermatis* foram encontradas nos esfregaços de cerúmen de cães com ouvidos normais, confirmando assim sua natureza oportunista. Nos ouvidos com otite foi encontrada uma maior quantidade dessa levedura, mostrando assim, sua importância na perpetuação das otites externas. Essa levedura sempre é isolada nos casos de otite externa e é um importante fator complicante dessa enfermidade (Scott et al., 1995; Masuda et al., 2001; Crespo et al., 2000).

O ácaro *O. cynotis* é um importante causador de otite externa em cães, iniciando a inflamação do ouvido e, conseqüentemente, levando a infecção secundária pelo fungo *M. pachydermatis*, que é um dos principais organismos perpetuadores de otite externa em cães e gatos.

## 5. Conclusões

O estudo realizado em cães da cidade de Presidente Prudente permitiu que fossem tiradas as seguintes conclusões gerais:

1- O ácaro *Otodectes cynotis* teve uma prevalência alta na cidade de Presidente Prudente.

2- O principal fator epidemiológico determinante da infestação por *O. cynotis* é a condição higiênica precária do ambiente em que o animal vive.

3- A idade, o tipo de orelha e a lotação das casas são fatores epidemiológicos relevantes que influenciam na infestação por *O. cynotis* nos cães.

4- *Malassezia pachydermatis* é um fungo habitual do ouvido dos cães.

5- O tipo de orelha dos cães não influencia na quantidade de *M. pachydermatis*.

6- A presença de *O. cynotis* está fortemente associada à quantidade do fungo *M. pachydermatis* nos ouvidos dos cães.



## 6) REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS<sup>1</sup>

Akucewich, L.H., Philman, K., Clark, A., Gillespie, J., Kunkle, G., Nicklin, C.F., Greiner, E.C., 2002. Prevalence of ectoparasites in a population of feral cats from north central Florida during the summer. *Vet. Parasitol.* 109, 129-139.

Cafarchia, C., Gallo, S., Capelli, G., Otranto, D., 2005. Occurrence and population size of *Malassezia* spp. in the external ear canal of dogs and cats both healthy and with otitis. *Mycopathologia.* 160, 143-149.

Castellá, G., Hernández, J.J., Cabañes, F.J., 2005. Genetic typing of *Malassezia pachydermatis* from different domestic animals. *Veterinary Microbiology.* 108, 291-296.

Crespo, M.J., Abarca, M.L., Cabanes, F.J., 2000. Atypical lipid-dependent *Malassezia* species isolated from dogs with otitis externa. *J. Clin Microbiol.* 38, 2383-2385.

Crespo, M.J., Abarca, M.L., Cabanes, F.J., 2000. Otitis externa associated with *Malassezia sympodialis* in two cats. *J. Clin Microbiol.* 38, 1263-1266.

Farver, K., Morris, D.O., Shofer, F., Esch, B., 2005. Humoral measurement of type-1 hypersensitivity reactions to a commercial *Malassezia* allergen. *Vet. Dermatol.* 16, 261-268.

Gotthelf, L.N., 2000. Primary causes of ear disease. In: Gotthelf, L.N. *Small animal ear diseases: an illustrated guide.* Saunders, Philadelphia, pp.87-97.

- Lohse, J., Rinder, H., Gothe, R., Zahler, M., 2002. Validity of species status of the parasitic mite *Otodectes cynotis*. *Med. Vet. Entomol.* 16, 133-138.
- Machado, M.L.S., Appelt, C.E., Ferreiro, L., Guillot, J., 2003. Otites e dermatites por *Malassezia* spp. em cães e gatos. *Clín. Vet.* 44, 27-34.
- Masuda, A., Sukegawa, T., Mizumoto, N., Tani, H., Miyamoto, T., Sasai, K., Baba, E., 2000. Study of lipid in the ear canal in canine otitis externa with *Malassezia pachydermatis*. *J. Vet. Med. Sci.* 62, 1177-1182.
- Masuda, A., Sukegawa, T., Mizumoto, N., Tani, H., Miyamoto, T., Sasai, K., Baba, E., 2001. Attachment of *Malassezia pachydermatis* to the ear dermal cells in canine otitis externa. *J. Vet. Med. Sci.* 63, 667-669.
- Nardoni, S., Mancianti, F., Corazza, M., Rum, A., 2004. Occurrence of *Malassezia* species in healthy and dermatologically diseased dogs. *Mycopathologia.* 157, 383-388.
- Nobre, M.O., Castro, A.P., Nascente, P.S., Ferreiro, L., Meireles, M.C.A., 2001. Occurrence of *Malassezia pachydermatis* and other infectious agents as cause of external otitis in dogs from Rio Grande do Sul state, Brazil (1996/1997). *Bras. J. Microbiol.* 32, 245-249.
- Noxon, J.O., 1998. Otite externa. *Manual Saunders: clínica de pequenos animais*, 1ª ed. Roca, São Paulo, pp.424-429.
- Powell, M.B., Weisbroth, S.H., Roth, L., Wilhelmsen, C., 1980. Reaginic hypersensitivity in *Otodectes cynotis* infestation of cats and mode of mite feeding. *Am. J. Vet. Res.* 41, 877-882.

- Rodriguez, V.R.I., Ortega, A., Rosado, J.A., Bolio, G.M.E., 2003. Factors affecting the prevalence of mange-mite infestation in stray dogs of Yucatán, Mexico. *Vet. Parasitol.* 115, 61-65.
- Rosychuk, R.A.W., Luttgen, P., 2000. Diseases of the ear. In: Ettinger, S.J., Feldman, E.C. (5<sup>a</sup> ed.). *Textbook of veterinary internal medicine*. Saunders, Philadelphia, pp.992-1002.
- Santos, H.D., Nascimento, M.B., Sousa, W.K.S., Nascimento-Rocha, J.M.N., Castro, S.V., 2006. Prevalência de *Otodectes cynotis* em cães domiciliares da cidade de Araguaína-TO, Brasil. In: Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 14. Ribeirão Preto, 2006, p.241.
- Scott, D.W., Miller, W.H., Griffin, C.E., 1995. Doenças parasitárias da pele. In: Scott, D.W., Miller, W.H., Griffin, C.E. (5<sup>a</sup>ed.). *Muller e Kirk's Dermatologia de pequenos animais*. Saunders, Philadelphia, pp. 392-468.
- Six, R.H., Clemence, R.G., Thomas, C.A., Behan, S., Boy, M.G., Watson, P., Benchaoui, H.A., Clements, P.J.M., Rowan, T.G., Jernigan, A.D., 2000. Efficacy and safety of selamectin against *Sarcoptes scabiei* on dogs and *Otodectes cynotis* on dogs and cats presented as veterinary patients. *Vet. Parasitol.* 91, 291-309.
- Sotiraki, S.T., Koutinas, A.F., Leontines, L.S., Adamama, K.K., Himonas, C.A., 2001. Factors affecting the frequency of ear canal and face infestation by *Otodectes cynotis* in the cat. *Vet. Parasitol.* 96, 309-315.
- Tonn, R.J., 1960. Studies on the ear mite *Otodectes cynotis*, including life cycle. *Annals of the entomological society of america.* 54, 416-421.

Weisbroth, S.H., Powell, M.B., Roth, L., Scher, S., 1974. Immunopathology of naturally occurring otodectic otoacariasis in the domestic cat. *JAVMA*. 165, 1088-1093.

<sup>1</sup>Referências apresentadas segundo as normas da revista *Veterinary Parasitology*.