

MATILDE RODRIGUES ESPIGA

**AVALIAÇÃO E COMPARAÇÃO DA EFICÁCIA DO
TRATAMENTO INTEGRATIVO COM
OZONOTERAPIA E O TRATAMENTO
CONVENCIONAL NA RESOLUÇÃO DE OTITE
POR *MALASSEZIA PACHYDERMATIS* EM CÃES**

Orientador: Professor Doutor Vinicius Ricardo Cuña de Souza

**Universidade Lusófona
Faculdade de Medicina Veterinária**

Lisboa

2023

MATILDE RODRIGUES ESPIGA

**AVALIAÇÃO E COMPARAÇÃO DA EFICÁCIA DO
TRATAMENTO INTEGRATIVO COM
OZONOTERAPIA E O TRATAMENTO
CONVENCIONAL NA RESOLUÇÃO DE OTITE
POR *MALASSEZIA PACHYDERMATIS* EM CÃES**

Dissertação defendida em provas públicas para a obtenção do Grau de Mestre em Medicina Veterinária no curso de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, conferido pela Universidade Lusófona, no dia 2 de novembro de 2023, com o Despacho de Nomeação Nº 387/2023, de 17 de outubro de 2023, com a seguinte composição de júri:

Presidente: Prof.^a Doutora Margarida Alves

Arguente: Prof. Doutor André Meneses

Orientador: Prof. Doutor Vinicius Ricardo Cuña de Souza

Universidade Lusófona

Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa

2023

Agradecimentos

Quero agradecer, em primeiro lugar, à Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona, a todos os docentes e todos os colegas que me acompanharam durante estes seis anos.

Ao CascaisVet, por toda a confiança que depositou em mim durante o período de estágio curricular. A todas as médicas, enfermeiras e auxiliares veterinárias por me fazerem sentir parte da equipa e em especial, à Doutora Rita Vicente por me ter passado todo o seu conhecimento e pela amizade que surgiu.

Ao Hospital Veterinário de Cascais – OneVet Group, pela oportunidade que me deu que nunca irei esquecer. À Doutora Rita Cunha e ao Doutor Rui Onça pela ajuda e pela disponibilidade que tiveram em ensinar-me. À Doutora, colega e amiga, Rita Santos pela paciência e pela amizade que sempre teve ao longo de todo o meu percurso na faculdade.

Ao meu orientador, Professor Doutor Vinicius Cuña, que me abriu ‘as portas’ da Medicina Integrativa e por ter sido fundamental para que eu seguisse este caminho, pela inspiração, partilha de conhecimentos, paciência, ajuda e disponibilidade na realização desta dissertação.

Aos meus pais, irmã e família, por acreditarem sempre em mim, pelo apoio incondicional e por todas as oportunidades que me deram ao longo da vida.

Aos meus amigos da faculdade, que vão ser sempre mais que colegas, pelo companheirismo, amizade e apoio incondicional. O curso não se faz sozinho e não se fez mesmo, obrigada por serem os amigos de todas as horas e de todos os momentos.

Aos meus amigos de Alcochete, por tudo. Estão comigo desde pequena e vão continuar até ser velhinha.

Ao João, por todo o amor, companheirismo, paciência, amizade e apoio.

Ao Matias, por me ensinar o que é responsabilidade e amor incondicional pelos animais.

Resumo

A otite canina é uma patologia que apresenta uma etiologia multifatorial, pelo que o seu diagnóstico deve ser o mais completo e preciso possível. Os principais sinais clínicos podem ser identificados, precocemente, pelos tutores. Estes afirmam que viram o seu animal a abanar a cabeça e/ ou as orelhas e a coçar a região peri-auricular, correspondendo à presença de sinais como inflamação (edema), eritema, desconforto/dor, otorreia ou secreções com odor fétido. O tratamento convencional é administrado de forma empírica recorrendo a soluções tópicas compostas por corticosteroides, antibióticos e antifúngicos. Nos últimos anos, o aumento da resistência bacteriana tornou-se cada vez mais um problema para a saúde a nível global e isto levou à necessidade de procurar outras alternativas terapêuticas que pudessem ser utilizadas como substituto aos fármacos antimicrobianos, que fossem iguais ou mais eficazes. Esta dissertação foi realizada no âmbito da conclusão do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária da Universidade Lusófona e pretendeu-se com este trabalho avaliar e comparar a eficácia entre o tratamento integrativo, com solução tópica auricular comercial de óleo de ozono, e o tratamento convencional, com uma solução tópica auricular comercial composta por corticosteroide, antifúngico e antibiótico, aceites eticamente e realizados em diversos CAMVs, para a resolução de otite por *Malassezia pachydermatis* em cães. Para tal, através de uma amostra de 30 indivíduos, perfazendo um total de 60 orelhas em estudo, foram formados dois grupos cada um composto por 15 animais. O grupo A foi submetido ao tratamento otológico convencional e o grupo B foi submetido ao tratamento otológico integrativo com ozonoterapia. Todos os animais foram avaliados, tendo em conta a presença de sinais clínicos e citologia auricular, nos dias 0, 7 e 14 de tratamento de forma perceber a sua evolução. Foi demonstrado que o tratamento integrativo com ozonoterapia usado neste trabalho foi mais eficaz em comparação com o tratamento convencional nas otites por *Malassezia pachydermatis* após 14 dias de tratamento, provando ser uma alternativa segura devido ao facto de, até agora, nenhuma resistência bacteriana ao ozono ter ocorrido.

Palavras-chave: ouvido; *Malassezia pachydermatis*; resistência bacteriana; terapêutica integrativa; ozono.

Abstract

Canine otitis is a pathology that has a multifactorial etiology, so its diagnosis should be as complete and accurate as possible. The main clinical signs can be identified early by the owners. They claim that their animal is shaking its head and/or ears and scratching the peri-auricular region, corresponding to the presence of signs as inflammation (edema), erythema, discomfort/pain, otorrhea or secretions with a foul odor. Conventional treatment is administered empirically using topical solutions composed of corticosteroids, antibiotics and antifungals. In recent years, the increase in bacterial resistance has become a global health problem and this has led to the need to look for other therapeutic alternatives that could be used as a substitute for antimicrobial drugs that are equal to or more effective. This dissertation was carried out within the scope of the conclusion of the Integrated Master's Degree in Veterinary Medicine at University Lusófona and the aim of this work was to evaluate and compare the effectiveness of integrative treatment, with a commercial topical ear solution of ozone oil, and conventional treatment, with a commercial topical ear solution composed of corticosteroids, antifungal and antibiotic, ethically accepted and performed in several CAMVs, for the resolution of otitis due to *Malassezia pachydermatis* in dogs. To this end, two groups of 15 animals each were formed from a sample of 30 individuals, totalling 60 ears under study. Group A underwent conventional otological treatment and group B underwent integrative otological treatment with ozone therapy. All animals were evaluated for clinical signs and ear cytology on days 0, 7 and 14 of treatment to understand their evolution. It was shown that the integrative treatment with ozone therapy used in this work was more effective compared to conventional treatment in otitis media caused by *Malassezia pachydermatis* after 14 days of treatment, proving to be a safe alternative because, so far, no bacterial resistance to ozone has occurred.

Keywords: ear; *Malassezia pachydermatis*; bacterial resistance; integrative therapy; ozone

Lista de abreviaturas, siglas e símbolos

% – Percentagem

® – Símbolo de marca registada

< – Menor

= – Igual

> – Maior

AVMA – *American Veterinary Medical Association*

BID – Duas vezes ao dia, do latim (*Bis in die*)

CAMV – Centro de Atendimento Médico Veterinário

DAC – Dermatite Atópica Canina

Et al. – E outros, do latim (*et alli*)

FAO – *Food and Agriculture Organization of the United Nations*

HVC – Hospital Veterinário de Cascais, OneVet Group

IgA – Imunoglobulina A

IgG – Imunoglobulina G

IgM – Imunoglobulina M

IP – Índice de Peróxido

ISCO3 – *International Scientific Committe of Ozone Therapy*

kg – Quilograma

mEq/kg – Miliequivalente por quilograma

mL – Mililitro

mm – Milímetro

O₂ – Oxigénio

O₃ – Ozono

°C – Centígrado ou Grau Celsius

OD – Orelha direita

OE – Orelha esquerda

PDGF – Fator de crescimento derivado de plaquetas

PUFA – Ácidos gordos polinsaturados

SID – Uma vez ao dia, do latim (*Semel in die*)

TGF- beta – Fator de crescimento transformante beta

TSA – Teste de sensibilidade aos antibióticos

VEGF – Fator de crescimento endotelial vascular

Índice Geral

Índice de Gráficos	9
Índice de Figuras	10
Índice de Tabelas	11
Casuística de estágio	12
Introdução	18
1. Anatomia e fisiologia do ouvido	19
1.1. Ouvido externo	20
1.2. Ouvido médio	20
1.3. Ouvido interno	21
1.4. Microambiente fisiológico do ouvido	21
2. Otite canina	22
2.1. Fatores predisponentes	23
2.2. Agentes etiológicos primários	23
2.3. Agentes etiológicos secundários	24
2.4. Fatores perpetuantes	24
3. Diagnóstico	24
3.1. Sinais Clínicos	25
3.2. Exame auricular	25
3.3. Exames complementares	26
4. Tratamento convencional	26
5. Tratamento Integrativo	27
5.1. Ozonoterapia	28
5.1.1. Óleos ozonizados	29
6. Objetivos do estudo	29
Materiais e Métodos	31
1. Período e local do estudo	31
2. Tipo de estudo	31
3. Amostragem	31
4. Critérios de inclusão	32
5. Critérios de exclusão	32
6. Variáveis em estudo	33
6.1. Anamnese e Historial clínico	33
6.2. Avaliação otológica	33
6.2.1. Presença de sinais clínicos macroscópicos compatíveis com otite	33

6.2.2. Otoscopia	34
6.2.3. Citologia auricular	34
6.3. Protocolo terapêutico convencional aplicado	35
6.4. Protocolo terapêutico integrativo com ozonoterapia aplicado	36
6.5. Consultas de reavaliação	37
6.6. SCORE - OTITE	38
7- Análise estatística	38
Resultados	39
1. Caracterização da amostra	39
2. Análise estatística descritiva	39
2.1. Presença de sinais clínicos macroscópicos compatíveis com otite	39
2.2. Otoscopia	45
2.3. Citologia auricular	46
3. Análise estatística inferencial	49
Discussão	51
Conclusão	54
Referências bibliográficas	55
Apêndice I	64
Apêndice II	66

Índice de Gráficos

Gráfico 1 – Distribuição da participação total nos diferentes locais de estágio	12
Gráfico 2 – Distribuição de consultas acompanhadas, por especialidade, no âmbito da medicina convencional no CascaisVet durante o período de estágio	14
Gráfico 3 – Distribuição de consultas acompanhadas, por especialidade, no âmbito da medicina integrativa no CascaisVet durante o período de estágio	14
Gráfico 4 – Distribuição de cirurgias acompanhadas, por especialidade, na CascaisVet durante o período de estágio	15
Gráfico 5 – Distribuição de exames complementares de diagnóstico realizados, por área, na CascaisVet durante o período de estágio	15
Gráfico 6 – Distribuição de cirurgias acompanhadas, por especialidade, no HVC durante o período de estágio	17
Gráfico 7 – Distribuição de exames complementares de diagnóstico realizados, por área, no HVC durante o período de estágio	17
Gráfico 8 – Evolução de sinais clínicos macroscópicos compatíveis com otite ao longo do tratamento no Grupo A	42
Gráfico 9 – Evolução de sinais clínicos macroscópicos compatíveis com otite ao longo do tratamento no Grupo B	45
Gráfico 10 – Evolução da presença de <i>Malassezia pachydermatis</i> ao longo do tratamento no Grupo A	47
Gráfico 11 – Evolução da presença de <i>Malassezia pachydermatis</i> ao longo do tratamento no Grupo B	48
Gráfico 12 – <i>Box-plot</i> dos valores medianos da variável SCORE-OTITE para o grupo A e grupo B, ao longo do período de tratamento, no dia 0 (primeira consulta antes do início da terapêutica), 7 (primeira reavaliação após início da terapêutica) e 14 (última reavaliação após início da terapêutica)	50

Índice de Figuras

Figura 1 – Representação esquemática da constituição do ouvido externo, médio e interno. Adaptado de König & Liebich, 2016	19
Figura 2 – Método de coloração de lâminas de microscópio, Diff-quick®. 1) Reagente primário (solução fixadora); 2) Reagente secundário (solução eosinofílica); 3) Reagente terciário (solução basofílica). Fonte: arquivo pessoal	35
Figura 3 – Materiais utilizados para a realização do protocolo terapêutico integrativo. Fonte: arquivo pessoal.....	37
Figura 4 – Figuras ilustrativas do pavilhão auricular com presença de sinais clínicos macroscópicos compatíveis com otite. A) Pavilhão auricular direito com presença de inflamação de grau 2 e exsudado de grau 2. B) Pavilhão auricular direito com presença de inflamação grau 3 (severo), descamação de grau 1 (ligeiro), alopecia de grau 1 (ligeiro) e exsudado de grau 1 (ligeiro); Fonte: arquivo pessoal.....	44
Figura 5 – Figuras ilustrativas de citologias auriculares observadas ao microscópio ótico sobre objetiva 40x no grupo B, com presença de levedura <i>Malassezia pachydermatis</i> ao longo do período de tratamento. A) Presença de leveduras <i>Malassezia pachydermatis</i> numa contagem = ou > 10 células/ campo; B) Presença de células de escamação do ouvido com presença de leveduras <i>Malassezia pachydermatis</i> numa contagem < 10 células/ campo (Método de coloração Diff-Quick®). Fonte: arquivo pessoal.....	49

Índice de Tabelas

Tabela 1 – Sinais clínicos macroscópicos compatíveis com otite observadas ao longo do período de tratamento convencional no grupo A: prurido, dor, inflamação, descamação, alopecia, ulceração, otohematoma, exsudado e cheiro fétido em cães submetidos a consulta no dia 0 (antes do início da terapêutica), 7 (primeira reavaliação após início da terapêutica) e 14 (última reavaliação após início da terapêutica)	40
Tabela 2 – Sinais clínicos macroscópicos compatíveis com otite observadas ao longo do período do tratamento integrativo com ozonoterapia no grupo B: prurido, dor, inflamação, descamação, alopecia, ulceração, otohematoma, exsudado e cheiro fétido em cães submetidos a consulta no dia 0 (antes do início da terapêutica), 7 (primeira reavaliação após início da terapêutica) e 14 (última reavaliação após início da terapêutica)	43
Tabela 3 – Parâmetros avaliados através de otoscopia observadas ao longo do período do tratamento convencional aplicado no Grupo A em cães submetidos a consulta no dia 0 (antes do início da terapêutica)	46
Tabela 4 – Parâmetros avaliados através de otoscopia observadas ao longo do período do tratamento integrativo aplicado no grupo B em cães submetidos a consulta no dia 0 (antes do início da terapêutica)	46
Tabela 5 – Presença e contagem de leveduras <i>Malassezia pachydermatis</i> avaliados através de citologia auricular observadas, com objetiva de 40x para contagem de células perante uma média de 5 campos, ao longo do período do tratamento convencional aplicado no grupo A em cães submetidos a consulta no dia 0 (antes do início da terapêutica) e 7 (após o início da terapêutica)	47
Tabela 6 – Presença e contagem de leveduras <i>Malassezia pachydermatis</i> avaliados através de citologia auricular observadas, com objetiva de 40x para contagem de células perante uma média de 5 campos, ao longo do período do tratamento integrativo aplicado no grupo B em cães submetidos a consulta no dia 0 (antes do início da terapêutica) e 7 (após o início da terapêutica)	48
Tabela 7 – Comparações múltiplas realizadas pelo Teste T entre os vários grupos para o estudo da variável SCORE- OTITE ao longo do tratamento, dia 0, 7 e 14	50

Casuística de estágio

O estágio curricular da autora foi realizado num período total de 6 meses, entre outubro de 2022 e março de 2023, em dois centros de atendimento médico veterinário (CAMV) diferentes. A primeira parte decorreu entre 3 de outubro de 2022 e 30 de dezembro de 2022 no CAMV CascaisVet – O meu veterinário para sempre (CascaisVet), sob orientação da Doutora Rita Vicente, tendo como principal objetivo o acompanhamento de consultas de medicina integrativa e cirurgias de animais de companhia. Durante este período o horário foi fixo - segunda a sábado, das 9 às 17 horas.

A segunda parte decorreu entre 9 de janeiro de 2023 a 17 março de 2023 no Hospital Veterinário de Cascais – OneVetGroup (HVC), sob orientação da Doutora Rita Cunha, tendo como principal objetivo o acompanhamento de cirurgias de animais de companhia no âmbito de ortopedia e tecidos moles. Durante este período o horário também foi fixo - segunda a sexta, das 8 às 18 horas. A distribuição da participação total nos diferentes locais de estágio encontra-se representada no gráfico 1.

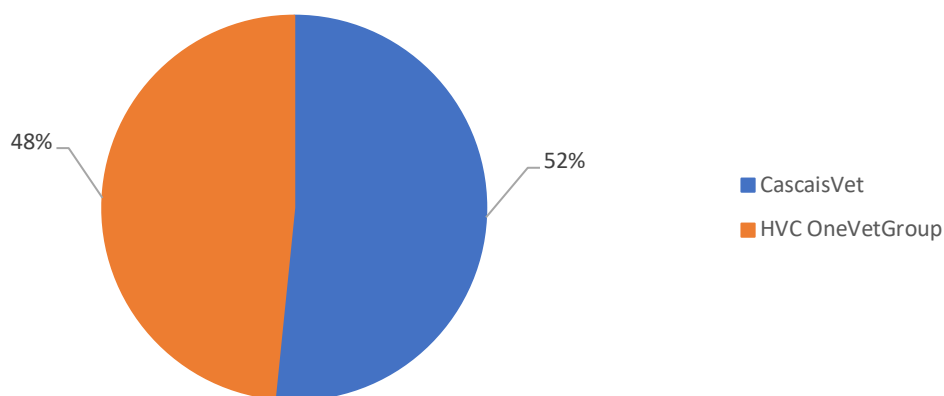


Gráfico 1- Distribuição da participação total nos diferentes locais de estágio

Tendo em conta a diversidade de atividades desenvolvidas dentro de cada local de estágio, a casuística dos mesmos irá ser apresentada de forma individual.

CascaisVet – O meu veterinário para sempre

A CascaisVet é um CAMV que possui uma receção, sala de espera com ambientes individuais para cães e gatos, ambos enriquecimentos ambientalmente conforme as necessidades de cada espécie, dois consultórios em que um se destina à realização de consultas de gatos e outro a consultas de cães, uma sala de internamento

mista com boxes separadas entre cães e gatos, um laboratório equipado para a realização de análises clínicas, microscópio ótico e máquinas especializadas para tratamentos integrativos, como ozonoterapia, laserterapia e eletroacupuntura, uma sala de imagiologia que engloba o equipamento de radiografia e ecografia, uma sala de preparação pré-cirúrgica, uma sala de cirurgia, uma farmácia e uma sala de banhos e *grooming*.

Durante o período de estágio foi possível assistir a uma grande diversidade de consultas de diversas especialidades, auxiliar na realização de vários serviços como exames complementares de diagnóstico, procedimentos cirúrgicos e prestar cuidados a todos os animais que se encontravam hospitalizados.

No âmbito da medicina convencional, a autora assistiu a um total de 324 consultas de diversas especialidades, como: cardiologia, dermatologia, endocrinologia, fisioterapia e reabilitação, gastroenterologia, medicina preventiva, neurologia, oftalmologia, oncologia, ortopedia, pneumologia, urologia/ nefrologia e urgências.

No âmbito da medicina integrativa, a autora assistiu a um total de 229 consultas de diversas especialidades, como: acupuntura/ eletroacupuntura, autohemoterapia, cromoterapia/ reiki, dietoterapia, fitoterapia, laserterapia e ozonoterapia. No final de cada consulta eram discutidos todos os casos clínicos com o Médico Veterinário responsável de forma a autora puder estruturar um raciocínio clínico, desde possíveis diagnósticos diferenciais, exames complementares de diagnóstico a possíveis tratamentos. A frequência relativa da distribuição de consultas acompanhadas por especialidade, no âmbito da medicina convencional encontra-se representada no gráfico 2 e a de consultas acompanhadas no âmbito da medicina integrativa encontra-se representada no gráfico 3.

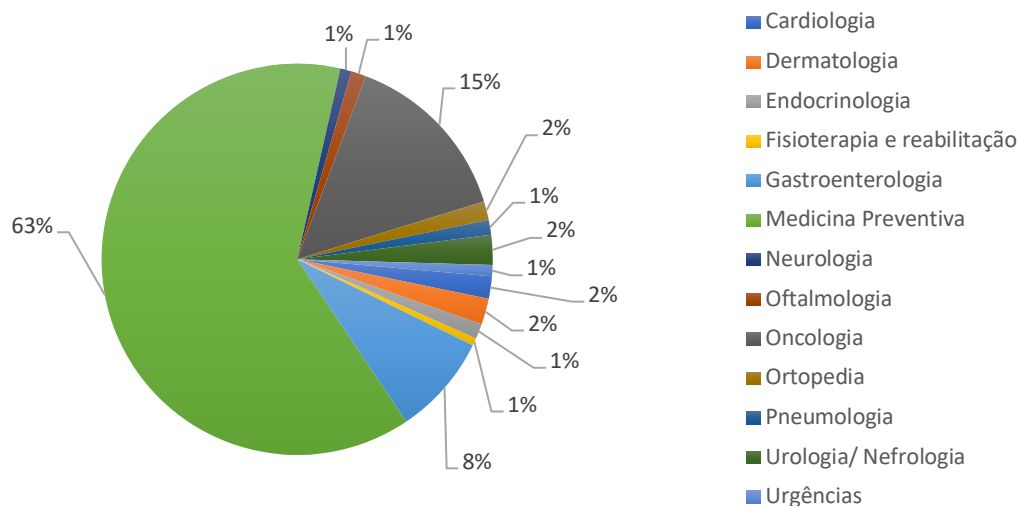


Gráfico 2 - Distribuição de consultas acompanhadas, por especialidade, no âmbito da medicina convencional na CascaisVet durante o período de estágio.

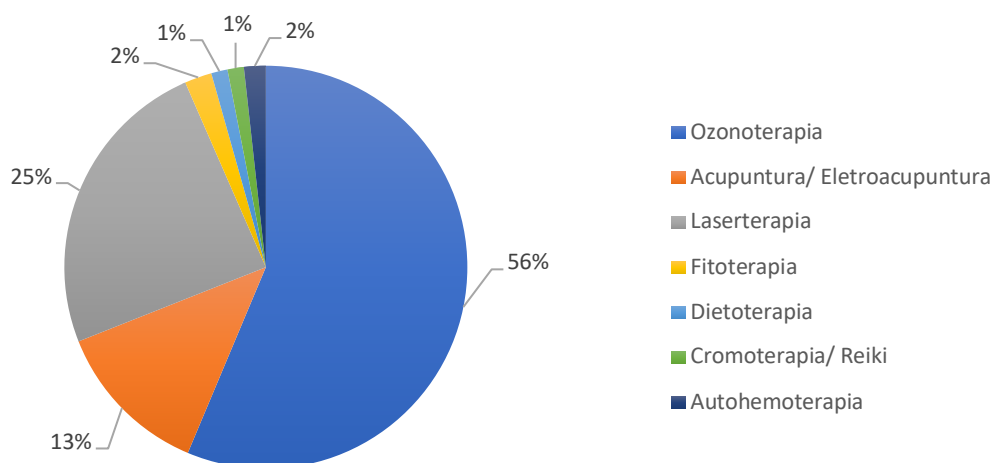


Gráfico 3 - Distribuição de consultas acompanhadas, por especialidade, no âmbito da medicina integrativa na CascaisVet durante o período de estágio.

No serviço de cirurgia a autora teve uma participação ativa em todos os procedimentos anestésicos e cirúrgicos realizados tendo ficado responsável por atividades como: receção do animal para intervenção cirúrgica, discussão do protocolo anestésico com o médico cirurgião responsável, administração de pré-medicação, escolha e colocação de cateter endovenoso, entubação endotraqueal, tricotomia, assepsia pré-cirúrgica, monitorização anestésica, controlo de dor intra e pós-cirúrgico e ainda, auxiliar durante o recobro do animal. Também foi possível assistir e participar como instrumentista e ajudante de cirurgião em 70 procedimentos cirúrgicos como: cirurgias de tecidos moles, cirurgias odontológicas e cirurgias oftalmológicas, tendo ainda feito de forma autónoma, mas sobre orientação e supervisão do cirurgião

responsável, procedimentos cirúrgicos como orquiectomia e ovariectomia. A distribuição de cirurgias acompanhadas por especialidade durante este período de estágio encontra-se representada no gráfico 4.

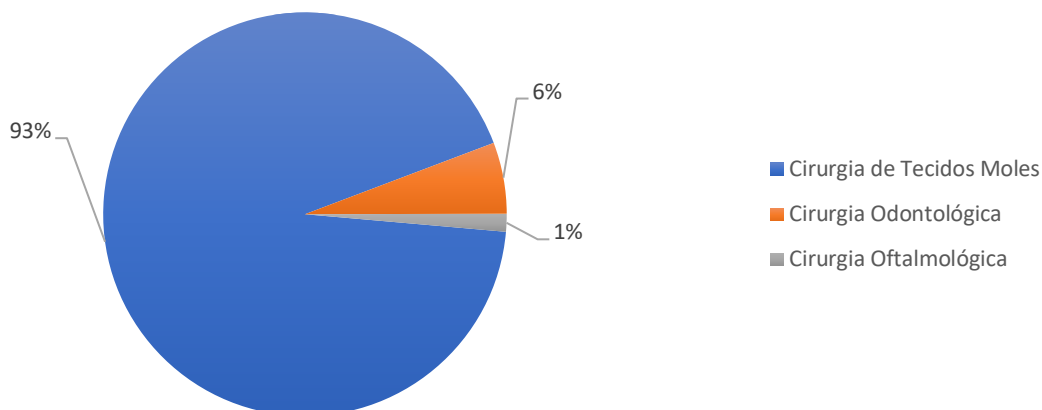


Gráfico 4 - Distribuição de cirurgias acompanhadas, por especialidade, na CascaisVet durante o período de estágio

Para além destas atividades, tanto no âmbito de consultas como no de cirurgia, a autora realizou diversos procedimentos como exames de estado geral, recolha de sangue para análises laboratoriais como hemograma, bioquímicas, ionograma, hematócrito, recolha de urina por cistocentese, recolha de amostras para observação de lâminas ao microscópio ótico, nomeadamente citologias auriculares e ainda exames complementares de diagnóstico como radiografia e ecografia. A distribuição de exames complementares de diagnóstico realizados durante este período de estágio encontra-se representada no gráfico 5.

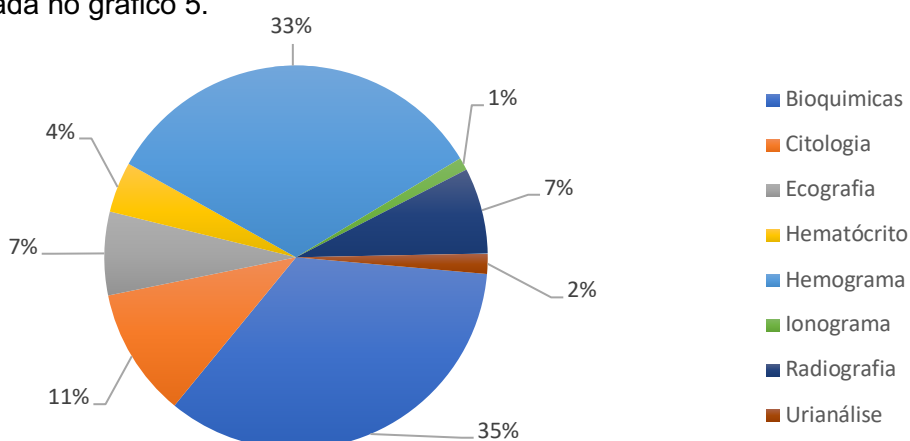


Gráfico 5 - Distribuição de exames complementares de diagnóstico realizados, por área, na CascaisVet durante o período de estágio

Em suma, a autora considerou que o período de estágio realizado na CascaisVet foi desafiante e possibilitou contactar com diversas áreas científicas diferentes e pôr em prática todo o seu conhecimento e capacidades técnicas adquiridas durante todo o percurso académico, bem como, adquirir novos conhecimentos e experiência na prática clínica, o que foi uma mais-valia para o seu crescimento profissional e pessoal.

Hospital Veterinário de Cascais – OneVetGroup (HVC)

O HVC é constituído por três pisos devidamente organizados de acordo as várias atividades clínicas realizadas. O piso zero possui uma receção, sala de espera de cães, dois consultórios destinados à realização de consultas de cães, uma farmácia e uma *pet-boutique*. O piso um possui uma sala de espera e um consultório de gatos, uma sala de internamento geral, uma sala de internamento para cães, uma sala de internamento para gatos, uma sala de internamento para animais com doenças infetocontagiosas, um laboratório equipado para a realização de diversas análises clínicas, um escritório e uma sala de banhos e *grooming*. O piso menos um possui uma sala de preparação pré-cirúrgica, uma sala de cirurgia, uma sala de limpeza e armazenamento do material de cirurgia, uma sala de radiografia, uma sala de ecografia, uma sala de reuniões, um escritório e um armazém.

Neste CAMV, a autora acompanhou um total de 129 cirurgias de diversas especialidades, como: cirurgia de tecidos moles, cirurgia odontológica, cirurgia oftalmológica, cirurgia ortopédica e traumatologia e cirurgia neurológica, tendo participado de forma ativa em todos os procedimentos anestésicos e cirúrgicos realizados. Após a receção do animal para realização de cirurgia, a autora teve a hipótese de participar na decisão do protocolo anestésico através de discussão com o médico cirurgião responsável, administrar pré-medicação, colocar o cateter endovenoso mais indicado, realizar a entubação endotraqueal, tricotomia e assepsia pré-cirúrgica, fazer toda a monitorização anestésica pré, intra e pós-cirúrgica, bem como o controlo de dor intra e pós-cirúrgico e auxiliar todos os animais que se encontravam em recobro pós-cirúrgico no serviço de internamento. Também foi possível realizar de forma autónoma procedimentos cirúrgicos como orquiectomias e ovariectomias, sempre sob supervisão do cirurgião responsável. A distribuição de cirurgias acompanhadas por especialidade durante este período de estágio encontra-se representada no gráfico 6.

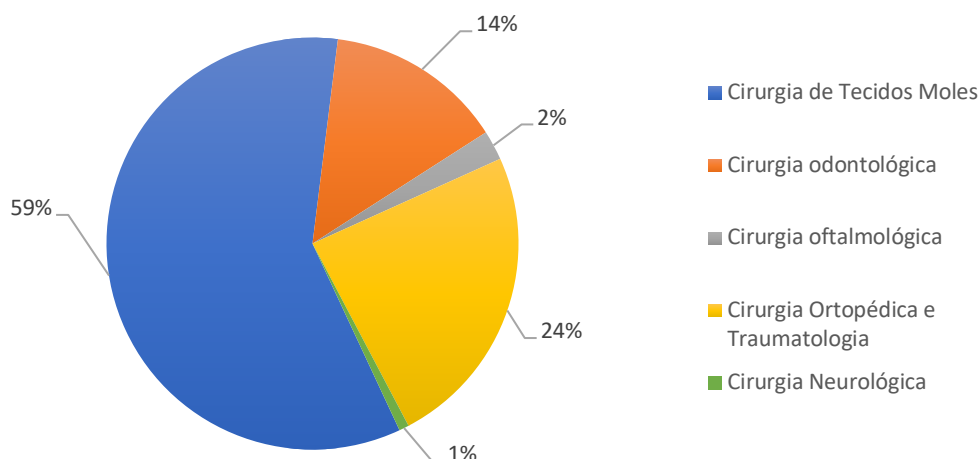


Gráfico 6 - Distribuição de cirurgias acompanhadas, por especialidade, no HVC durante o período de estágio

Para além destas atividades, e sempre associado a cada cirurgia, a autora realizou exames de estado geral, recolha de sangue para análises laboratoriais como hemograma, bioquímicas, ionograma, hematócrito e ainda exames complementares de diagnóstico como radiografia e ecografia. A distribuição de exames complementares de diagnóstico realizados durante este período de estágio encontra-se representada no gráfico 7

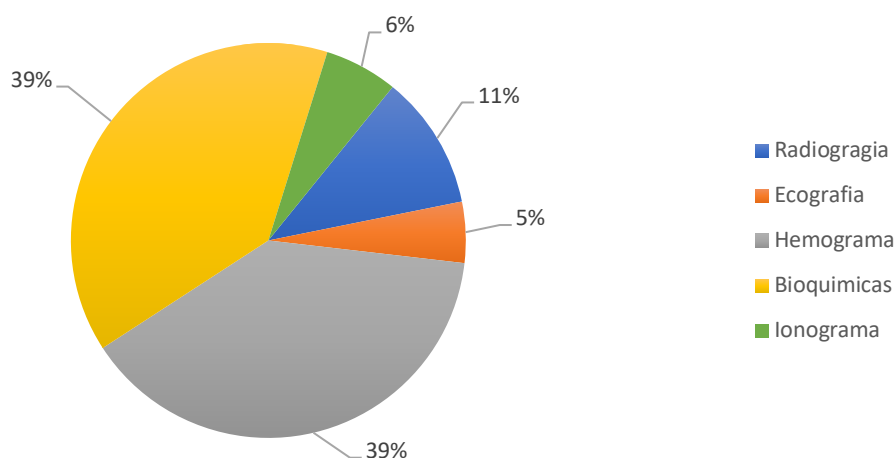


Gráfico 7 - Distribuição de exames complementares de diagnóstico realizados, por área, no HVC durante o período de estágio

Em suma, a autora considerou que o período de estágio realizado no HVC foi muito enriquecedor pois ao trabalhar com uma equipa multidisciplinar numa grande superfície conseguiu adquirir experiência e novos conhecimentos na área de cirurgia e contactar com equipamentos inovadores na área que lhe permitiram crescer a nível profissional.

Introdução

A otite externa é uma patologia auricular que ocorre frequentemente em cães (Gotthelf, 2004), podendo apresentar uma etiologia multifatorial (Angus, 2005). Esta caracteriza-se pela inflamação, aguda ou crónica, do ouvido externo que pode ter extensão para o ouvido médio (otite média) (Gotthelf, 2005).

Devido à sua complexa patogénese, a abordagem diagnóstica deve ser muito detalhada e incluir a recolha de anamnese e historial clínico do animal, exame físico completo com exame auricular através de otoscopia, e sempre que possível, recorrer a exames de diagnóstico complementares como citologia auricular usando uma amostra de cerúmen proveniente do ouvido médio, cultura auricular com teste de sensibilidade a antibióticos (TSA) e, em casos específicos, tomografia computadorizada (TC) (Lusa & Amaral, 2010; Martins *et al.*, 2011; Oliveira *et al.*, 2012).

Muitas das vezes a presença de uma otite externa pode ser diagnosticada precocemente pelos tutores. Isto acontece porque um dos principais sinais clínicos associados à otite é o abanar a cabeça e/ou coçar as orelhas, que é detetado em casa pelos tutores e faz com que os mesmos se dirijam ao centro de atendimento médico veterinário (CAMV) e o interpretem como queixa de prurido auricular (Scott *et al.*, 2001; Hnilica, 2011).

Uma prática ainda comum na Medicina Veterinária é a aplicação de tratamentos empíricos sem realização de exames de diagnóstico complementares. Isto acontece muito associado à otite em que o seu tratamento convencional, composto por uma solução tópica de corticosteroides, antifúngico e antibiótico, é aplicado de forma prática e experimental (empírica), o que pode levar ao aparecimento de resistências bacterianas e nem sempre os animais apresentam melhorias significativas (Bensignor, 2003; Radlinsky & Mason, 2010; Paterson, 2017). Atualmente, a preocupação com as resistências a fármacos antimicrobianos é um assunto muito falado porque a utilização de antibióticos, de forma indiscriminada, tem vindo a aumentar de forma exponencial que nem a introdução de novos fármacos no mercado conseguem impedir este crescimento (Silva *et al.*, 2013; FAO, 2021).

Esta preocupação levou ao desenvolvimento de novas diretrizes para o uso de fármacos antimicrobianos na Medicina Veterinária (FAO, 2021) e à procura de novas formas terapêuticas. A Medicina Integrativa tem vindo a ser uma opção cada vez mais usada que visa a aplicação de terapêuticas integrativas e naturais em substituição das terapêuticas que recorrem a químicos (Hillier *et al.*, 2014), sendo considerada uma

abordagem mais viável tanto para os animais como para os humanos (Hillier *et al.*, 2014; Maruhashi *et al.*, 2016).

Um dos exemplos dessas terapias, é a ozonoterapia que utiliza um gás denominado de ozono (O_3). Este possui propriedades antibacterianas, antivirais, antifúngicas, anti-inflamatórias, analgésicas, imunomoduladoras e imunoestimuladoras dos tecidos (Ajamieh *et al.*, 2005; Menendez, 2008). O O_3 pode ser utilizado de diversas formas, mas, em situações de otite externa e/ ou média, a maneira mais eficaz é a sua aplicação tópica através de óleos, cremes ou até mesmo o uso direto do gás dentro do canal auditivo (Murray *et al.*, 2008; Matos *et al.*, 2012), tendo vindo a ser cada vez mais utilizado neste tipo de enfermidade que até ao dia de hoje ainda não lhe foi descrito nenhuma resistência microbiana (Peralta *et al.*, 2000; Ajamieh *et al.*, 2005; Menendez, 2008).

1. Anatomia e fisiologia do ouvido

O ouvido é classificado como um órgão vestibulo-coclear por conter estruturas responsáveis pela manutenção do equilíbrio e pela audição (Konig & Liebich, 2016). Anatomicamente, pode ser dividido em três regiões: o ouvido externo, ouvido médio e ouvido interno (Figura 1) (Konig & Liebich, 2016; Harvey *et al.*, 2001).

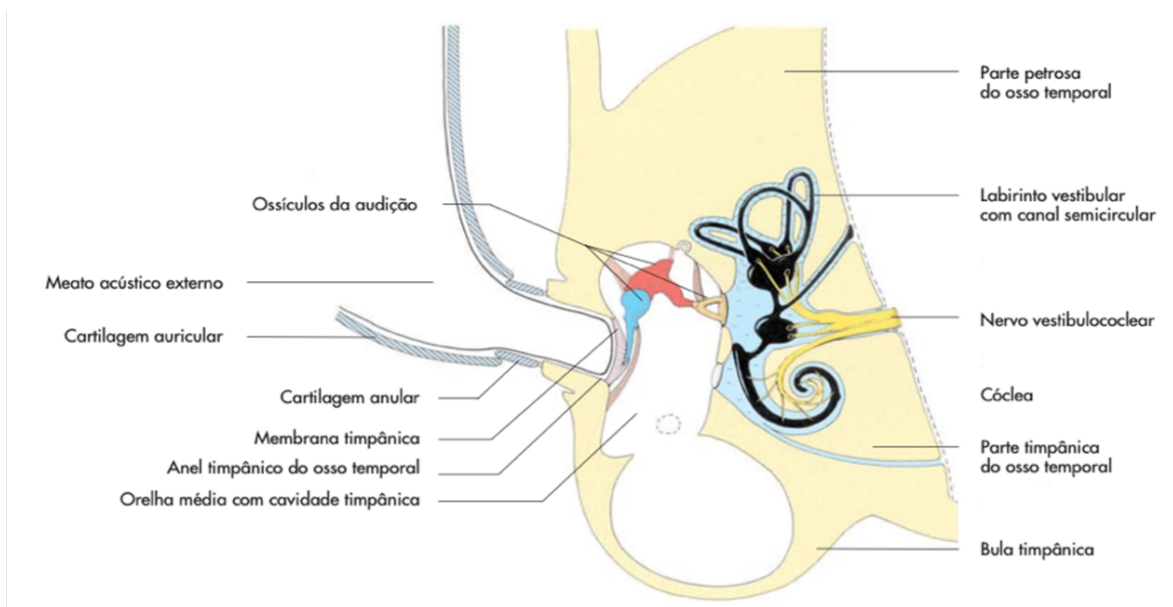


Figura 1 - Representação esquemática da constituição do ouvido externo, médio e interno. Adaptado de Konig & Liebich, 2016

1.1. Ouvido externo

O ouvido externo (*auris externa*) é constituído pelo pavilhão auricular e pelo canal auditivo externo (Konig & Liebich, 2016; Harvey & Ter Haar, 2017). Tendo em conta as diferentes espécies e raças de mamíferos domésticos este pode apresentar variações de formato e tamanho, mas, independentemente de variações anatómicas, é sempre composto por músculos auriculares, cartilagem auricular, cartilagem escutiforme, meato acústico externo e membrana timpânica (Angus, 2004a; Cole, 2009; Randlinsky & Mason, 2010; Konig & Liebich, 2016).

A sua principal função é a captação de sons (Konig & Liebich, 2016). As estruturas envolvidas neste processo são os músculos auriculares, que rodeiam o ouvido, e o permitem movimentar-se de forma a localizar e captar diversos sons e, a sua estrutura anatómica em forma de funil, permite direcionar e transmitir as ondas sonoras de forma mais eficaz do ouvido externo para o ouvido médio (Angus, 2004a; Konig & Liebich, 2016).

O meato acústico externo é formado por três componentes principais, uma porção óssea proximal e uma cartilagem distal, que permitem ao ouvido ter maior flexibilidade, e um epitélio escamoso estratificado constituído por glândulas sebáceas e ceruminosas tubulares, que secretam cerúmen. A membrana timpânica faz a separação física do ouvido externo (meato acústico externo) com o ouvido médio e a transmissão de ondas sonoras para o mesmo (Angus, 2004a; Cole, 2009; Konig & Liebich, 2016).

1.2. Ouvido médio

O ouvido médio (*auris media*) é constituído pela cavidade timpânica, três ossículos de audição, com os seus respetivos músculos e ligamentos, e pela tuba auditiva (Harvey & Paterson, 2014; Konig & Liebich, 2016).

A cavidade timpânica encontra-se dividida em três porções que fazem ligação ao ouvido interno: dorsal (epitímpano), média (mesotímpano) e ventral (hipotímpano). Esta está inserida dentro do osso petroso temporal e é revestida por epitélio simples e por tecido mole adjacente muito vascularizado e innervado (Konig & Liebich, 2016; Harvey & Ter Haar, 2017). As vibrações provenientes do ouvido externo (membrana timpânica) atravessam o ouvido médio (cavidade timpânica) e são captadas pelos ossículos de audição, três pequenas estruturas que são responsáveis pela sua transmissão e

ampliação para o ouvido interno. A tuba auditiva possui um formato tubular e é responsável por estabelecer a ligação entre a cavidade timpânica e a porção nasal da faringe e equilibrar a pressão atmosférica da membrana timpânica (Cole, 2009; König & Liebich, 2016; Harvey & Ter Haar, 2017).

1.3. Ouvido interno

O ouvido interno (*auris interna*) é constituído pelos órgãos sensoriais da audição e do equilíbrio, tornando-se assim, a porção mais complexa de todo o ouvido. Este é composto por várias estruturas designadas de labirinto membranoso e labirinto ósseo, que estão envolvidos por um líquido, designado de endolinfa (König & Liebich, 2016).

O labirinto membranoso encontra-se dividido em duas porções: a porção vestibular, responsável pela transmissão de impulsos do equilíbrio através do nervo vestibular e uma porção coclear, responsável pela proteção do órgão de audição presente no seu interior. Entre estas duas porções existe um ducto de união responsável pela comunicação entre estas (Cole, 2009; Paterson & Tobias, 2013; König & Liebich, 2016). O labirinto ósseo é composto pelo vestíbulo, canais semicirculares e a cóclea (König & Liebich, 2016).

1.4. Microambiente do ouvido canino normal

Dentro do ouvido existe um microclima próprio constituído por diversos fatores que influenciam a sua dinâmica. Entre esses fatores, a temperatura, humidade, pH, flora comensal e cerúmen constituem os mais importantes para a preservação de um microambiente estável e saudável (Machado, 2013; Harvey & Ter Haar, 2017).

A temperatura no interior do ouvido não apresenta variações entre raças ou conformações anatómicas, como orelhas eretas ou pendulares. Vários estudos afirmam que esta se encontra entre os 38,2 °C e 38,8 °C (Harvey *et al.*, 2001; Machado, 2013) e pode sofrer alterações com a presença de patologias auriculares, como uma otite, chegando a aumentar em média 0,5 °C (Harvey *et al.*, 2001).

A humidade relativa no ouvido é bastante estável ao longo do dia, atingindo um valor médio de 80,4%, e tal como a temperatura, numa situação de otite, pode sofrer variações e atingir valores mais altos, como 89% (Harvey *et al.*, 2001; Machado, 2013).

Ao contrário dos outros dois fatores referido acima, o valor médio normal do pH dentro do ouvido de um cão encontra-se entre 4,6 e 7,2 e apresenta variações entre género, tendo as fêmeas um valor médio de pH mais elevado, de 6,2, em comparação com os machos, de 6,1 (Harvey *et al.*, 2001; Machado, 2013). Segundo vários estudos, o pH numa situação de otite sofre alterações, consoante se trata de uma situação aguda ou crónica (Harvey *et al.*, 2001).

O ouvido saudável canino apresenta uma flora comensal normal, que não se encontra em sobrecrecimento, constituída por várias bactérias (p. ex., *Staphylococcus spp.*, *Bacillus spp.*, *Escherichia coli*; *Corinebacterium spp.*, *Streptococcus spp.* e *Micrococcus spp.*), leveduras (p. ex., *Malassezia pachydermatis*, amplamente identificada como a levedura comensal do cão) e por vezes fungos (p. ex., *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.* e *Rhizopus spp.*) (Harvey *et al.*, 2001; Angus, 2005; Gotthelf, 2007; Cole, 2009). Esta é considerada bastante estável e quando existe equilíbrio não se altera, mas, quando a homeostasia é perturbada, pode sofrer alterações tornando-se assim patológica (Machado, 2013; Harvey & Ter Haar, 2017).

O cerúmen é fundamental para a manutenção do equilíbrio do ouvido (Harvey *et al.*, 2001; Cole, 2009) pois a sua presença no interior do mesmo confere-lhe proteção contra detritos, microrganismos e parasitas. Este é composto por secreções lipídicas de glândulas sebáceas ou ceruminosas, células de descamação e imunoglobulinas IgG, IgA e IgM que contribuem para a imunidade passiva local e permitem manter o tímpano húmido e maleável (Angus, 2004a; Miller *et al.*, 2013).

2. Otite Canina

A otite (externa e/ ou média) é considerada a patologia auditiva mais comum que envolve o ouvido dos cães. Esta é definida por um conjunto de processos inflamatórios que podem ir desde uma simples inflamação até a uma otorreia crónica (Rosser, 2004; Gotthelf, 2005).

Tendo em conta a região do ouvido afetada podemos classificar as otites como: otite externa, quando a inflamação se localiza na periferia da membrana timpânica; otite média, quando ocorrem alterações na cavidade timpânica e otite interna, quando estas se estendem do ouvido médio até ao vestíbulo, cóclea e canais semicirculares do ouvido interno (Nelson & Couto, 2010).

A otite canina apresenta uma etiologia multifatorial (Angus, 2005; Oliveira *et al.*, 2012). Os principais fatores que contribuem para o seu desenvolvimento são a existência de fatores predisponentes, agentes etiológicos primários, agentes etiológicos secundários e fatores perpetuantes (Gotthelf, 2007; Machado, 2013).

2.1. Fatores Predisponentes

Os fatores predisponentes não induzem diretamente o aparecimento de otite (Gotthelf, 2005), mas podem influenciar o microambiente normal do ouvido levando a que este fique mais vulnerável e suscetível de desenvolver otites e infecções secundárias associadas à mesma (Morgan, 2003; Angus, 2005; Randall, 2006; Kathleen, 2007; Machado, 2013).

De entre os vários fatores, os principais que podem levar ao aumento da incidência de otite são: condições ambientais e sazonais favoráveis, como o aumento da temperatura, humidade e precipitação (Harvey *et al.*, 2001; Radlinsky & Mason, 2005; Morgan, 2007; Muller, 2007); variações anatómicas, como pavilhões auriculares pendulares, estenose do canal auditivo, obstruções anatómicas como neoplasias luminais e extraluminais, alterações proliferativas como a hiperplasia das glândulas ceruminosas, o excesso de pelos na entrada do canal auditivo (Harvey *et al.*, 2001; Morgan, 2003; Muller, 2007) e ainda presença de doenças sistémicas, como hipotireoidismo, hiperadrenocorticism, parvovirose e esgana (Gotthelf, 2005; Joselyn, 2007; Radlinsky & Mason, 2010).

2.2. Agentes etiológicos primários

São considerados agentes primários todos os fatores que causem diretamente a doença (Mueller & Jackson, 2003; Rosser, 2004). Uma vez instalados no ouvido, provocam inflamação e alteram o equilíbrio do microambiente interno predispondo ao aparecimento de infecções secundárias (Miller *et al.*, 2013). Ao início até podem passar despercebidos, tanto que o tutor e o médico veterinário não se apercebem da sua presença até terem detetado a causa secundária (Radlinsky & Mason, 2010; Miller *et al.*, 2013).

De entre os vários agentes primários, os principais identificados são: parasitas (p.ex., *Otodectes cynotis*, *Demodex* e *Sarcoptes*) (Gotthelf, 2005; Radlinsky & Mason, 2010), corpos estranhos (p.ex., praganas, detritos, cerúmen preso ou pelos) (Coatesworth, 2011), reações de hipersensibilidade (p.ex., dermatite atópica canina por reação adversa ao alimento, atopia, alterações de queratinização, doenças endócrinas como o hipotireoidismo ou hiperadrenocorticism), neoplasias e traumatismos (p.ex., otiohematoma) (Mueller & Jackson, 2003; Gotthelf, 2005; Coatesworth, 2011).

2.3. Agentes etiológicos secundários

Algumas bactérias comensais e patogénicas do género *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Corynebacterium*, *Enterococcus*, coliformes e leveduras do género *Malassezia* são dos agentes secundários mais identificados no ouvido canino, capazes de provocar uma infeção (Angus, 2004b; Gotthelf, 2005; Cole, 2009; Radlinsky & Mason, 2010).

Uma vez identificados, estes conseguem ser muito facilmente eliminados e apresentam um prognóstico e tratamento mais favorável. Em muitos casos, quando se consegue eliminar o agente primário ou o fator predisponente, o agente secundário acaba também por desaparecer (Miller *et al.*, 2013).

2.4. Fatores perpetuantes

Todos os fatores que pioram o estado do processo inflamatório instalado no ouvido e contribuem para a manutenção da otite, impedindo a mesma de ser revertida, são considerados fatores perpetuantes (Lusa & Amaral, 2010; Radlinsky & Mason, 2010; Machado, 2013). Estes podem até influenciar o tratamento da otite fazendo com que o mesmo não seja eficaz e podem levar ao desenvolvimento de alterações patológicas permanentes no canal auditivo (Machado, 2013).

3. Diagnóstico

O diagnóstico da otite canina deve ser o mais completo e preciso possível (Lusa & Amaral, 2010; Oliveira *et al.*, 2012). Este deve incluir a recolha de uma boa anamnese e historial clínico do animal, um exame físico completo com exame auricular detalhado através de otoscopia, exames complementares de diagnóstico como exames citológicos

e microbiológicos auriculares e, caso se justifique, podemos ainda recorrer a exames imagiológicos, como radiografia, tomografia computadorizada ou ressonância magnética (Cunha *et al.*, 2003; Lusa & Amaral, 2010; Martins *et al.*, 2011; Oliveira *et al.*, 2012; Ferreira, 2019).

3.1. Sinais clínicos

Os principais sinais clínicos identificados numa otite são: prurido auricular, podendo os cães sacudirem a cabeça e/ ou coçarem a região peri-auricular, inflamação do canal auditivo, edema, desconforto/ dor durante a manipulação da orelha (Besignor, 2003; Miller *et al.*, 2013), crostas, otorreia ou secreções com odor fétido (Nelson & Couto, 2010). Em casos mais graves, numa situação de otite média ou interna, os animais podem desenvolver sinais neurológicos como *head tilt* (Miller *et al.*, 2013) ou comprometimento da articulação temporomandibular, demonstrada por dor durante o processo de alimentação (Scott *et al.*, 2001; Ferreira, 2019).

3.2. Exame auricular

Um exame auricular detalhado é fundamental para o diagnóstico de otite (Cole, 2004). Primeiramente, deve ser avaliada a abertura externa do canal auditivo, o tipo de conteúdo presente e se existe inflamação (Machado, 2013). Para se conseguir visualizar todas as estruturas internas que envolvem o ouvido, deve ser realizado um exame com um otoscópio, que é aplicado diretamente dentro do canal auditivo com recurso de uma cânula (Scott *et al.*, 2001; Ferreira, 2019).

Em casos de otite mais severos deve ser realizada uma limpeza superficial prévia do canal auditivo e, se necessário, a aplicação de terapêutica local ou sistémica com corticosteroides durante alguns dias para reduzir a inflamação (Besignor, 2003; Cole, 2004; Gotthelf, 2004).

O principal objetivo do exame otoscópico é avaliar e identificar a presença de alterações patológicas como: processos inflamatórios, hiperqueratose, estenose, edema, erosões ou úlceras, corpos estranhos, parasitas, neoplasias ou outros sinais indicativos de patologias auditivas crónicas e avaliar o tipo de secreção auricular presente (Scott *et al.*, 2001; Jacobson, 2002; Besignor, 2003; Cole, 2004; Miller *et al.*, 2013).

3.3. Exames complementares

Um dos exames laboratoriais mais utilizados na avaliação de uma otite é a citologia auricular das secreções ou exsudados presentes no canal auditivo. É um exame de extrema importância e deveria ser considerado obrigatório aquando da presença de um animal com sinais clínicos compatíveis com otite, pois permite a confirmação que o microambiente do ouvido está comprometido e a identificação de alguns agentes etiológicos secundários, principalmente agentes infecciosos (Jacobson, 2002; Angus, 2004b; Gotthelf, 2005; Radlinsky & Mason, 2010; Miller *et al.*, 2013).

Deve ser recolhida uma amostra das secreções auriculares através de uma zaragatoa estéril flexível e não é recomendada qualquer limpeza prévia ao canal auditivo (Cunha *et al.*, 2003; Gotthelf, 2005; Radlinsky & Mason, 2010; Custódio, 2019). Estas devem ser recolhidas, preferencialmente, do canal horizontal e posteriormente observadas diretamente através de microscopia para identificação de bactérias, leveduras, cerúmen e detritos, células inflamatórias ou células neoplásicas (Jacobson, 2002; Gotthelf, 2005; Radlinsky & Mason, 2010; Cole, 2012; Miller *et al.*, 2013; Custódio, 2019).

Quando existe suspeita de otite bacteriana crónica ou persistente, é recomendado realizar cultura e teste de sensibilidade a antimicrobianos (TSA) porque, embora tenha existido nos últimos tempos uma evolução no tratamento de otites, muitos animais acabam por ficar resistentes a fármacos devido à resistência própria de determinados microrganismos (Jacobson, 2002; Bensignor, 2003; Radlinsky & Mason, 2010; Martins *et al.*, 2011; Cole, 2012). Nestes casos, a amostra tem de ser recolhida introduzindo-se uma zaragatoa flexível estéril através de um cone estéril de um otoscópio, para evitar contaminações da amostra (Bensignor, 2003).

4. Tratamento convencional

O tratamento convencional para a resolução de uma otite é muito completo e engloba um conjunto de etapas como: identificação dos agentes etiológicos primários e predisponentes, realização de limpezas ao canal auditivo para remoção de detritos e exsudados, aplicação de tratamento tópico ou sistémico quando justificável, controlo de fatores perpetuantes, avaliação da resposta individual de cada paciente ao tratamento administrado através de consultas de reavaliação regulares e reversão de patologias

crônicas (Jacobson, 2002; Bensignor, 2003; Radlinsky & Mason, 2010; Miller *et al.*, 2013; Nutall, 2016).

As soluções tópicas que contêm corticosteroides, antibióticos, antifúngicos ou princípios ativos antiparasitários são considerados os de eleição no tratamento de otites caninas (Bensignor, 2003; Radlinsky & Mason, 2010). Os corticosteroides tópicos apresentam efeitos benéficos como a diminuição do prurido, diminuição da dor e auxiliam na limpeza do canal auditivo. Estes devem ser usados no início do tratamento, a curto-prazo, associados a medicamentos concomitantes direcionados aos agentes etiológicos primários e perpetuantes. Podem vir a ser necessários a longo-prazo em situações de estenose do canal auditivo, fibrose extensa ou mineralização e nestes casos têm de ser administrados de forma sistêmica (Jacobson, 2002; Bensignor, 2003; Radlinsky & Mason, 2010; Cole, 2012; Nutall, 2016).

Sempre que for confirmado, através de exame citológico, a presença de uma infecção bacteriana secundária ou o desenvolvimento de leveduras deve ser aplicado uma terapêutica recorrendo a antimicrobianos tópicos (Bensignor, 2003; Radlinsky & Mason, 2010; Miller *et al.*, 2013). A escolha do agente antimicrobiano deve ser feita sempre tendo em conta os agentes etiológicos primários presentes na citologia e no TSA (Bensignor, 2003). Estes devem ser aplicados segundo uma terapêutica consciente, pois não queremos aumentar qualquer resistência aos mesmos e só devemos recorrer a essa opção quando for estritamente necessário (Paterson, 2017).

A correção cirúrgica só é considerada em casos de otites severas, crônicas, reincidivantes ou não responsivas ao tratamento medicamentoso, podendo existir proliferação e estenose do canal auditivo que não são solucionáveis através do manejo médico (Jacobson, 2002; Gomes, 2015).

5. Tratamento integrativo

A Medicina Integrativa Veterinária tem vindo a ocupar um papel importante na prática veterinária. Esta consiste na junção de vários componentes da Medicina Ocidental com a Medicina Holística (Conway, 2019), e segundo a AMVA – *American Veterinary Medicine Association* (2023), na prática da Medicina Integrativa devem ser mantidos os padrões referentes a todas as outras terapêuticas já utilizadas na medicina veterinária, respeitando assim a saúde e o bem-estar animal.

Todos os médicos veterinários que decidam optar por um tratamento integrativo veterinário devem ter conhecimentos e competências para a modalidade de tratamento que querem aplicar, não excluindo o consentimento do proprietário ou a documentação através de registos médicos ao longo de todo o tratamento. As terapêuticas integrativas devem, se possível, ser combinadas com as terapêuticas convencionais de forma a potenciar os efeitos de ambas e a selecionar um tratamento menos invasivo para o animal (Broadfoot *et al.*, 2008; Shmalberg, 2016; AVMA, 2023).

Nos últimos anos, o aumento das resistências bacterianas tornou-se cada vez mais um problema para a saúde global (FAO, 2021). Isto levou à necessidade de procurar outras formas terapêuticas que pudessem ser utilizadas como substituto aos fármacos antimicrobianos, que fossem iguais ou mais eficazes (Machado & Navarro, 2021).

A terapêutica integrativa utilizando a ozonoterapia provou ser uma alternativa cada vez mais utilizada devido ao facto de, até agora, nenhuma resistência bacteriana ao ozono ter sido relatada (Peralta *et al.*, 2000; Ajamieh *et al.*, 2005; Menendez, 2008; Machado & Navarro, 2021).

5.1. Ozonoterapia

O ozono (O_3) é uma molécula constituída por três átomos de oxigénio que pode ser produzido por um gerador médico especializado utilizando um processo de descargas elétricas de alta tensão e alta frequência, que pela incidência de radiação UV sobre moléculas de oxigénio (O_2), consegue dissociá-las e fazer com que fiquem com carga suficiente para se juntarem em moléculas de O_3 (Peralta *et al.*, 2000; Ajamieh *et al.*, 2005; Menendez, 2008; Korad, 2020). Este gás pode ser produzido segundo diferentes concentrações dependendo o tipo de tratamento em que irá ser utilizado (Korad, 2020) e deve ser produzido imediatamente a sua utilização, pois apresenta uma alta instabilidade em condições atmosféricas normais (Viebahn- Haensler, 2002; Bocci, 2005).

A ozonoterapia tem sido usada como um poderoso oxidante há mais de 150 anos (Elvis & Ekta, 2011) por apresentar propriedades antibacterianas, antivirais, antifúngicas, anti-inflamatórias, analgésicas, imunomoduladoras e imunoestimuladoras de tecidos (Ajamieh *et al.*, 2005; Menendez, 2008). Num ambiente aquoso o O_3 consegue reagir instantaneamente com as ligações duplas dos ácidos gordos polinsaturados (PUFA), formando-se oxigénio livre em circulação e produtos bioativos

que induzem à síntese dos fatores de crescimento e aceleram o ciclo celular, potencializando a cicatrização através do aumento do suprimento de oxigénio nos tecidos (Valacchi *et al.*, 2012; Kozart & Okman, 2019; Sciorsci *et al.*, 2020). Para além disso, através da peroxidação de lípidos e proteínas consegue destruir a integridade do envelope celular das bactérias (Murray *et al.*, 2008) e interfere com a produção de mediadores inflamatórios e provoca a oxidação de metabólitos mediadores da dor (Steppan *et al.*, 2010).

As principais três formas de administração de O₃ são: a aplicação tópica, através do uso de óleos e cremes ozonizados; a infiltrativa, pela via subcutânea e intramuscular; e a sistémica, através do sangue (auto-hemoterapia), via retal, oral, vaginal, pleural e peritoneal (Sciorsci *et al.*, 2020). Porém, a sua administração através da via inalatória não é recomendada por ser considerado tóxico para as vias aéreas (Mozart & Okman, 2019; Sciorsci *et al.*, 2020).

5.1.1. Óleos ozonizados

Os óleos ozonizados têm várias vantagens: permitem obter formulações de O₃ com melhor estabilidade, o que possibilita uma utilização mais fácil do gás pois evita a sua degradação rápida, permite o uso extra-hospitalar e reduz o risco de sobredosagens (Sadowska *et al.*, 2008). Estes são preparados através da reação direta do O₃ com qualquer tipo de óleo vegetal rico em PUFA. O O₃ reage com as ligações duplas dos PUFA formando, maioritariamente, ozonídeos (1,2,4-trioxolanos) e peróxidos, que ao contactarem com o tecido cutâneo vão libertando o O₃ gradualmente (Sadowska *et al.*, 2008; Patel *et al.*, 2011). Estas características fazem com que haja um maior número de células envolvidas no processo de cicatrização, quando utilizado em feridas cutâneas, levando a uma resposta precoce na produção de fatores de crescimento endotelial vascular (VEGF) (Valacchi *et al.*, 2012) sendo muito eficazes no tratamento tópico de dermatite atópica, psoríase, infeções bacterianas superficiais e infeções fúngicas (Ouf *et al.*, 2016; Song *et al.*, 2018; Zeng *et al.*, 2020a; Zeng *et al.*, 2020b).

6. Objetivo do estudo

O principal objetivo deste estudo consiste na avaliação e comparação da eficácia de dois tratamentos, já aceites eticamente e realizados em diversos CAMVs, para a resolução de otite por *Malassezia pachydermatis* em cães.

Os tratamentos avaliados e comparados neste estudo dizem respeito ao tratamento convencional, com uma solução tópica auricular comercial composta por corticosteroides, antifúngico e antibiótico, e ao tratamento integrativo, com uma solução tópica comercial composta por óleo de ozono.

Materiais e Métodos

1. Período e local do estudo

A recolha da casuística para a elaboração deste estudo foi realizada no período de outubro a dezembro de 2022 no centro de atendimento médico veterinário CascaisVet – O meu veterinário para sempre e, de janeiro a março de 2023 no Hospital Veterinário de Cascais – Onevet Group, ambos localizados em Cascais – Portugal.

2. Tipo de estudo

Este estudo é do tipo sistemático de abordagem quantitativa.

3. Amostragem

Todos os indivíduos que constituem a amostra, apesar de terem sido provenientes de dois CAMV diferentes, foram selecionados de forma a habitarem a mesma área geográfica (Cascais) para os resultados não serem influenciados por fatores geográficos ou hábitos de manejo diferentes.

A amostra não foi recolhida de forma aleatória e todos os animais foram selecionados por conveniência.

A seleção dos indivíduos foi feita de acordo o seu historial clínico e sintomatologia apresentada no dia da consulta, num quadro compatível com otite.

Todos os cães com diagnóstico médico confirmado de otite durante o período de estágio foram considerados elegíveis para a integração da amostra.

Dimensão da amostra: 30 indivíduos, perfazendo um total de 60 orelhas em estudo.

Os 30 indivíduos foram distribuídos em dois grupos de estudo, cada um composto por 15 indivíduos, perfazendo um total de 30 orelhas em estudo por cada grupo de tratamento.

O grupo A, corresponde ao grupo de indivíduos no qual se realizou um tratamento de otite convencional, que foram provenientes do HVC (15 indivíduos; 30 orelhas).

O grupo B, corresponde ao grupo de indivíduos no qual se realizou um tratamento de otite integrativo com ozonoterapia, que foram provenientes do CAMV CascaisVet (15 indivíduos; 30 orelhas).

4. Critérios de inclusão

Os critérios de inclusão para a escolha da amostra foram os seguintes:

- Cães provenientes da área geográfica de Cascais sem predileção de gênero, raça, idade ou peso;
- Cães que se apresentaram a consulta com queixa de pelo menos, um dos seguintes sinais clínicos compatíveis com otite: prurido, dor auricular, inflamação, descamação do pavilhão auricular, alopecia, ulceração, otohematoma, exsudado e cheiro fétido;
- Cães com diagnóstico clínico confirmado de otite externa/ média por *Malassezia pachydermatis*, na primeira consulta, através de citologia auricular com contagem de células < 10 e $=$ ou > 10 perante uma média de 5 campos visualizados sobre microscopia ótica (40x);
- Consentimento por parte dos tutores para a utilização de dados, bem como a recolha de relatos fotográficos durante todo o processo de tratamento.

5. Critérios de exclusão

Os critérios de exclusão aplicados durante este estudo foram os seguintes:

- Cães que apresentaram um quadro clínico instável, com presença de uma patologia que pudesse levar ao óbito durante o prazo estabelecido para a conclusão do tratamento;
- Cães com diagnóstico clínico confirmado de otite externa/ média por *Malassezia pachydermatis* juntamente com outro agente etiológico primário ou secundário, na primeira consulta através de citologia auricular;
- O incumprimento de alguma etapa do protocolo terapêutico, convencional ou integrativo, em estudo;
- Não consentimento por parte dos tutores para a utilização de dados.

6. Variáveis em estudo

Durante a realização deste estudo foram consideradas 3 consultas de avaliação obrigatórias para todos indivíduos correspondentes ao dia 0, 7 e 14 de tratamento.

Todos os indivíduos, durante essas consultas, foram submetidos a um questionário, sobre as variáveis em estudo, preenchido conforme a avaliação subjetiva do médico veterinário responsável e do tutor, presente no Apêndice I (Figura 1 e Figura 2).

6.1. Anamnese e história clínica

Durante a consulta do dia 0, foi questionado aos tutores qual o motivo da consulta, se o animal apresenta historial de otites (sim / não), se o tutor tem o hábito de realizar limpeza dos ouvidos (diariamente / semanalmente / mensalmente / não), ou se existe alguma doença concomitante (sim, qual? / não) que possa ou não interferir com o presente estudo.

6.2. Avaliação otológica

Todos os indivíduos na consulta do dia 0, foram submetidos a um exame de estado geral completo e a uma avaliação otológica detalhada, tanto do ouvido esquerdo (OE) como do ouvido direito (OD), que incluía a detecção da presença de sinais clínicos macroscópicos compatíveis com otite, otoscopia e realização de citologia auricular.

6.2.1. Presença de sinais clínicos macroscópicos compatíveis com otite

Foram considerados como sinais clínicos macroscópicos: prurido, dor auricular, inflamação (eritema), descamação do pavilhão auricular, alopecia do pavilhão auricular, ulceração, otohematoma, exsudado e cheiro fétido.

Cada sinal clínico foi quantificado relativamente ao seu grau de intensidade usando uma escala de 0 a 3, considerando 0- Ausente; 1- Ligeiro; 2- Moderado; 3- Severo.

6.2.2. Otoscopia

A otoscopia foi realizada através de um otoscópio de mão (WelchAllyn®) com o auxílio de uma cânula de 4 mm que foi introduzida dentro do canal auditivo externo, do OE e OD, de forma a avaliar os seguintes parâmetros: excesso de pelos no canal auditivo, massa/ corpo estranho, estenose do canal auditivo, otite média (extensão para ouvido médio) e rutura de tímpano.

Cada parâmetro foi avaliado tendo em conta se estavam presentes ou ausentes considerando, S- Presença e N- Ausência.

6.2.3. Citologia auricular

Para avaliação citológica, a amostra de cerúmen auricular foi recolhida através de uma zaragatoa estéril flexível que foi inserida cuidadosamente dentro do canal auditivo externo e rodada para se conseguir uma quantidade suficiente para análise, tanto do OE como do OD. A amostra foi espalhada, de forma a obter uma fina camada de cerúmen, sobre uma lâmina de microscópio, anteriormente identificada com lápis de grafite contendo o nome do animal, ouvido do qual a amostra foi proveniente (OE e OD) e data da colheita.

Com a ajuda de um isqueiro portátil, a amostra foi fixada incidindo a chama (calor) sobre o lado oposto da lâmina que continha o material da amostra durante, aproximadamente, 3 segundos. O método de coloração utilizado foi o Diff-quick® que é constituído por 3 reagentes que deve ser realizado segundo a seguinte sequência: mergulhar lentamente a lâmina, num movimento vertical, no reagente número 1 (solução fixadora) durante 1 segundo e repetir o processo mergulhando a lâmina num total de 5 vezes; drenar o excesso de líquido num papel absorvente; mergulhar lentamente a lâmina, num movimento vertical, no reagente número 2 (solução eosinofílica) durante 1 segundo e repetir o processo mergulhando a lâmina num total de 5 vezes; drenar o excesso de líquido num papel absorvente; mergulhar lentamente a lâmina, num movimento vertical, no reagente número 3 (solução basofílica) durante 1 segundo e repetir o processo mergulhando a lâmina num total de 5 vezes; drenar o excesso de líquido num papel absorvente; enxaguar a lâmina debaixo de água corrente da torneira, de forma suave, até a água escorrer limpa; deixar a lâmina secar 'ao ar', numa posição vertical, sobre um papel absorvente.

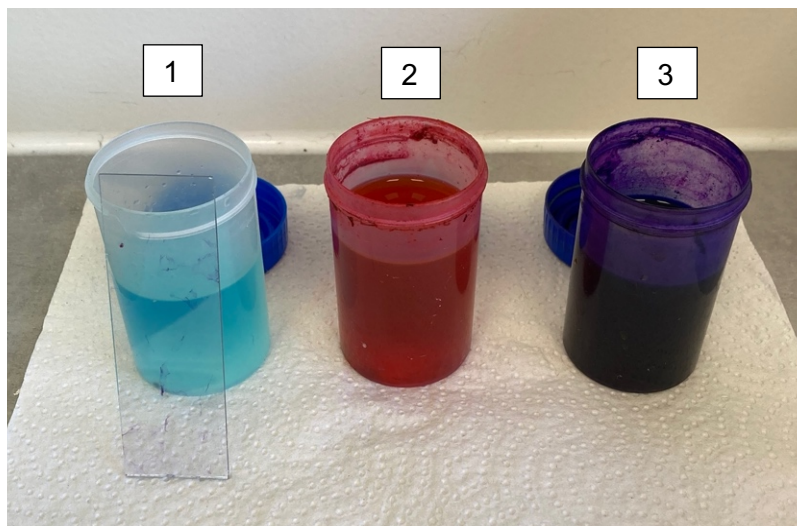


Figura 2 – Método de coloração de lâminas de microscópio, Diff-quick®. 1) Reagente primário (solução fixadora); 2) Reagente secundário (solução eosinofílica); 3) Reagente terciário (solução basofílica). Fonte: arquivo pessoal.

De seguida, as lâminas foram observadas ao microscópio ótico utilizando, inicialmente, uma objetiva de 4x e 10x para identificação de 5 campos com a presença de material compatível com leveduras do género *Malassezia pachidermatis*, que têm uma forma comumente conhecida de amendoim, e posteriormente, foi utilizada uma objetiva de 40x para contagem de células semelhantes a *Malassezia pachidermatis* por campo, perante uma média de 5 campos. Nessa contagem foram considerados dois parâmetros de avaliação: '< 10 células/campo' e '= ou > 10 células/campo'.

6.3. Protocolo terapêutico convencional aplicado

Todos os animais do grupo A foram submetidos a um protocolo terapêutico convencional de resolução de otite.

Esse protocolo foi realizado apenas no ouvido afetado e é constituído por 2 etapas de tratamento que incluem: Etapa 1 – Limpeza do canal auditivo externo e médio com solução de limpeza auricular (Abelia Glycozoo®) segundo a dose 1,0 mililitro (mL), duas vezes ao dia (BID), durante 6 dias consecutivos; Etapa 2 – Aplicação de solução tópica comercial de gotas auriculares com corticosteroide, antifúngico e antibiótico (Easotic®) segundo a dose de 1,0 mL, uma vez ao dia (SID), durante 6 dias consecutivos.

Estas etapas foram aplicadas segundo os seguintes critérios:

- Se o animal apresentar sinais clínicos compatíveis com otite e contagem de *Malassezia pachydermatis* <10 células/campo:
 - Etapa 1: Aplicável
 - Etapa 2: Não aplicável
- Se o animal apresentar sinais clínicos compatíveis com otite e contagem de *Malassezia pachydermatis* = ou > 10 células/campo:
 - Etapa 1: Aplicável
 - Etapa 2: Aplicável

6.4. Protocolo terapêutico integrativo com ozonoterapia aplicado

Todos os animais do grupo B foram submetidos a um protocolo terapêutico integrativo com ozonoterapia de resolução de otite.

Esse protocolo foi realizado apenas no ouvido afetado e é constituído por 2 etapas de tratamento que incluem: Etapa 1 – Limpeza do canal auditivo externo e médio com solução de limpeza auricular (Omniotic®) segundo a dose 1,0 mL, BID, durante 6 dias consecutivos; Etapa 2 – Aplicação de solução tópica comercial de gotas auriculares de óleo de ozono, com 600 de índice de peróxidos (IPs), (ActivOzone® Ozone Oil) segundo a dose de 0,2 mL, BID, durante 6 dias consecutivos para raças mini e pequenas (< 10 kg); 0,4 mL, BID, durante 6 dias consecutivos para raças médias (11 a 25 kg); 0,8 mL, BID, durante 6 dias consecutivos para raças grandes (26 a 45 kg); 1,0 mL, BID, durante 6 dias consecutivos para raças gigantes (> 45 kg).

Estas etapas foram aplicadas segundo os seguintes critérios:

- Se o animal apresentar sinais clínicos compatíveis com otite e contagem de *Malassezia pachydermatis* <10 células/campo e = ou > 10 células/campo:
 - Etapa 1: Aplicável
 - Etapa 2: Aplicável



Figura 3 – Materiais utilizados para a realização do protocolo terapêutico integrativo. Fonte: arquivo pessoal.

6.5. Consultas de reavaliação

Todos os indivíduos, tanto do grupo A como do grupo B, foram submetidos a duas consultas de reavaliação, tendo a primeira sido realizada 7 dias após o início do tratamento e a segunda realizada 14 dias após o início do tratamento.

Na consulta de dia 7, foi novamente avaliado a presença de sinais clínicos macroscópicos compatíveis com otite [p. ex., prurido, dor auricular, inflamação (eritema), descamação do pavilhão auricular, alopecia do pavilhão auricular, ulceração, otohematoma, exsudado e cheiro fétido] e realizada uma nova colheita de amostra de cerúmen para realização de citologia auricular, onde foi também avaliado a presença e contagem (< 10 células/campo; $=$ ou > 10 células/ campo) de leveduras do tipo *Malassezia pachydermatis*, com objetiva de 40x para contagem de células por campo, perante uma média de 5 campos.

No final desta consulta, os indivíduos que apresentassem uma melhoria dos sinais clínicos macroscópicos e a ausência ou uma contagem < 10 células/campo de *Malassezia pachydermartis*, já não eram submetidos a qualquer tipo de tratamento. Os indivíduos que não apresentassem melhorias ou um agravamento dos sinais clínicos macroscópicos e a presença numa contagem $=$ ou > 10 células/campo de *Malassezia pachydermartis*, continuavam a ser submetidos ao mesmo tratamento por mais um período de 6 dias.

Na consulta de dia 14, foi apenas avaliado a presença de sinais clínicos macroscópicos compatíveis com otite [p. ex., prurido, dor auricular, inflamação (eritema),

descamação do pavilhão auricular, alopecia do pavilhão auricular, ulceração, otomastoidite, exsudado e cheiro fétido] e todos os indivíduos, quer apresentassem melhora ou agravamento dos sinais clínicos, terminaram o tratamento experimental anteriormente prescrito nesta consulta de reavaliação.

6.6. SCORE – OTITE

De forma a ser possível avaliar e comparar a eficácia entre as duas abordagens terapêuticas, estabeleceu-se um SCORE – OTITE quantitativo para avaliar o grau de otite em cada orelha (OE; OD) afetada. Esse SCORE foi obtido tendo em conta a média dos parâmetros de avaliação (1- ligeiro; 2- moderado; 3- severo) de cada sinal clínico macroscópicos compatíveis com otite em cada orelha.

7. Análise estatística

De forma a caracterizar a amostra em estudo procedeu-se à realização de uma estatística descritiva através do programa Microsoft® Excel 2023. Todos os dados recolhidos durante este estudo foram organizados e posteriormente analisados através de um teste de comparações (Teste T) para comparar a eficácia do tratamento aplicado no grupo A e do grupo B, utilizando também o programa Microsoft® Excel 2023. Considerou-se diferenças estatísticas significativas quando $p < 0,05$.

Resultados

1. Caracterização da amostra

Dos 30 animais utilizados no estudo, 16 (53,3%) eram machos e 14 (46,7%) eram fêmeas, com faixa etária compreendida entre 1 e 15 anos de idade, sendo a média aritmética das idades $4,97 \pm 3,45$ anos. O peso corporal variou entre 2,10 e 41,80 kg, sendo a média aritmética dos pesos $17,53 \pm 12,85$ kg.

As raças que fizeram parte deste estudo foram Beagle (3,3%), Borzoi (3,3%), Braco Alemão (3,3%), Golden Doodle (3,3%), Pastor Alemão (3,3%), Shih-Tzu (3,3%), Terrier Brasileiro (3,3%), West High White Terrier (3,3%), American Bully (6,7%), Bull Dog Francês (6,7%), Caniche (6,7%), Cocker Spaniel (6,7%), Spitz Alemão (6,7%), Teckel (6,7%), Yorkshire Terrier (6,7%), Indeterminada (10,0%) e Labrador Retriever (16,7%).

Os 30 indivíduos (100%) foram separados por 2 grupos, em que 15 (50%) faziam parte do grupo A, no qual se realizou um tratamento de otite convencional, e os outros 15 (50%) faziam parte do grupo B, no qual se realizou um tratamento de otite integrativo.

Ao todo existia um total de 60 orelhas (100%) em estudo, sendo que 30 orelhas (50%) estavam distribuídas pelo grupo A e outras 30 (50%) pelo grupo B.

2. Análise estatística descritiva

2.1. Presença de sinais clínicos macroscópicos compatíveis com otite

Os sinais clínicos macroscópicos compatíveis com otite observados, no grupo A durante todo o período de tratamento convencional aplicado, desde o dia 0, 7 e 14, encontram-se demonstrados na Tabela 1 e representados esquematicamente pelo Gráfico 8.

Tabela 1 – Sinais clínicos macroscópicos compatíveis com otite observadas ao longo do período de tratamento convencional no grupo A: prurido, dor, inflamação, descamação, alopecia, ulceração, otohematoma, exsudado e cheiro fétido em cães submetidos a consulta no dia 0 (antes do início da terapêutica), 7 (primeira reavaliação após início da terapêutica) e 14 (última reavaliação após início da terapêutica):

Dia 0										
Grupo A (n=30 orelhas)										
	Nº de orelhas afetadas			Percentagem	Nº de orelhas afetadas			Percentagem		
	OE	OD	Total	%	Ligeiro	Moderado	Severo	%		
Prurido	11	10	21	70%	2	12	7	10%	57%	33%
Dor	6	10	16	53%	7	5	4	44%	31%	25%
Inflamação	11	11	22	73%	4	10	8	18%	45%	36%
Descamação	5	10	15	50%	9	4	2	60%	27%	13%
Alopecia	4	7	11	37%	8	3	0	73%	27%	0%
Ulceração	1	0	1	3%	0	1	0	0%	100%	0%
Otohematoma	0	1	1	3%	0	0	1	0%	0%	100%
Exsudado	11	11	22	73%	4	12	6	18%	55%	27%
Cheiro fétido	10	10	20	67%	10	9	1	50%	45%	5%
Dia 7										
Grupo A (n=30 orelhas)										
	Nº de orelhas afetadas			Percentagem	Nº de orelhas afetadas			Percentagem		
	OE	OD	Total	%	Ligeiro	Moderado	Severo	%		
Prurido	9	8	17	57%	13	4	0	76%	24%	0%
Dor	3	7	10	33%	5	4	1	50%	40%	10%
Inflamação	11	9	20	67%	13	7	0	65%	35%	0%
Descamação	4	6	10	33%	9	1	0	90%	10%	0%
Alopecia	4	5	9	30%	9	0	0	100%	0%	0%
Ulceração	1	0	1	3%	1	0	0	100%	0%	0%
Otohematoma	0	1	1	3%	0	1	0	0%	100%	0%
Exsudado	10	7	17	57%	12	4	1	71%	24%	6%
Cheiro fétido	4	4	8	27%	8	0	0	100%	0%	0%
Dia 14										
Grupo A (n=30 orelhas)										
	Nº de orelhas afetadas			Percentagem	Nº de orelhas afetadas			Percentagem		
	OE	OD	Total	%	Ligeiro	Moderado	Severo	%		
Prurido	3	4	7	23%	7	0	0	100%	0%	0%
Dor	2	2	4	13%	4	0	0	100%	0%	0%
Inflamação	6	5	11	37%	10	1	0	91%	9%	0%
Descamação	1	2	3	10%	3	0	0	100%	0%	0%
Alopecia	3	4	7	23%	7	0	0	100%	0%	0%
Ulceração	0	0	0	0%	0	0	0	—	—	—
Otohematoma	0	1	1	3%	0	1	0	0%	100%	0%
Exsudado	4	5	9	30%	9	0	0	100%	0%	0%
Cheiro fétido	0	1	1	3%	1	0	0	100%	0%	0%

n – número de amostras em estudo, Nº – número, OE – orelha esquerda, OD – orelha direita.

Antes do início do tratamento no grupo A (dia 0), os sinais clínicos mais observados foram, de igual forma, a inflamação, que estava presente em 73% das orelhas com grau de intensidade em 45% das orelhas afetadas moderado, 36% severo e 18% ligeiro, e o exsudado, que estava presente em 73% das orelhas com grau de intensidade em 55% das orelhas afetadas moderado, 27% severo e 18% ligeiro. De

seguida, o prurido estava presente em 70% das orelhas com um grau de intensidade em 57% das orelhas afetadas moderado, 33% severo e 10% ligeiro. Os sinais clínicos menos observados foram, a ulceração, que estava presente em 3% das orelhas com um grau de intensidade moderado (100%) afetando apenas o OE, e o otohematoma, que estava presente em 3% das orelhas com grau de intensidade severo (100%) afetando apenas o OD (Tabela 1).

Após o início do tratamento no grupo A, durante a primeira consulta de reavaliação (dia 7), o sinal clínico macroscópico compatível com otite mais observado continuou a ser a inflamação, que diminuiu para 67% das orelhas com um grau de intensidade em 65% das orelhas afetadas ligeiro e 35% moderado. O exsudado que estava presente em 57% das orelhas com grau de intensidade em 71% das orelhas afetadas ligeiro, 24% moderado e 6% severo, e de igual forma, o prurido que estava presente em 57% das orelhas com grau de intensidade em 76% das orelhas afetadas ligeiro e 24% moderado, mantiveram-se bastante evidentes. O cheiro fétido apresentou uma diminuição acentuada passando a estar presente em 27% das orelhas com grau de intensidade ligeiro em todas (100%). Tanto a ulceração como o otohematoma não apresentaram diminuições, mantendo-se presentes em 3% das orelhas, mas com melhorias no grau de intensidade, passando para ligeiro e moderado, respetivamente (Tabela 1).

Após o início do tratamento no grupo A, durante a última consulta de reavaliação (dia 14), a inflamação diminuiu para 37% das orelhas com um grau de intensidade em 91% das orelhas afetadas ligeiro e 9% moderado. De seguida, o exsudado diminuiu para 30% das orelhas com um grau de intensidade em 100% das orelhas afetadas ligeiro. O otohematoma manteve-se sempre presente durante todo o período de tratamento, em 3% das orelhas, apesar de ter melhorado significativamente quanto ao grau de intensidade, passando para ligeiro, ao contrário da ulceração que desapareceu após o final do tratamento (Tabela 1).

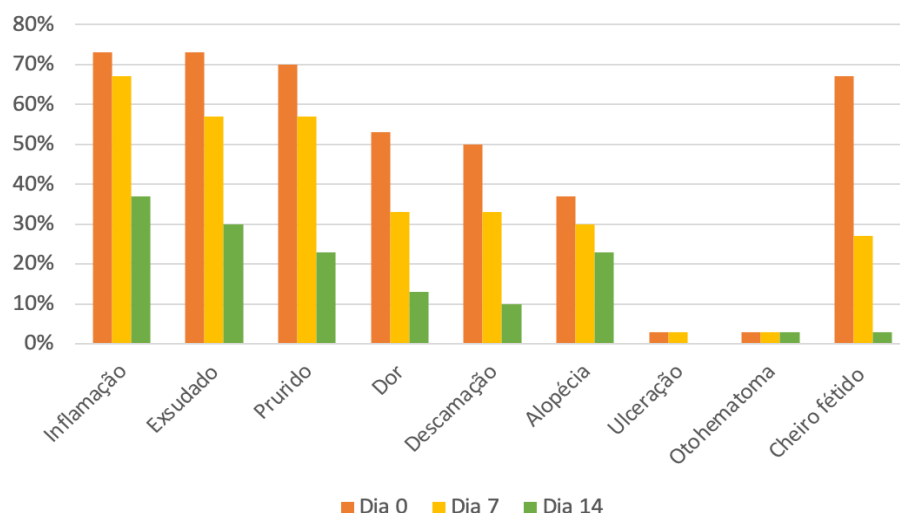


Gráfico 8 – Evolução de sinais clínicos macroscópicos compatíveis com otite ao longo do tratamento no Grupo A.

Para o grupo B, os sinais clínicos macroscópicos compatíveis com otite observados durante todo o período de tratamento integrativo aplicado, desde o dia 0, 7 e 14, encontram-se demonstrados na Tabela 2 e representados esquematicamente pelo Gráfico 9.

Tabela 2 – Sinais clínicos macroscópicos compatíveis com otite observadas ao longo do período do tratamento integrativo com ozonoterapia no grupo B: prurido, dor, inflamação, descamação, alopecia, ulceração, otohematoma, exsudado e cheiro fétido em cães submetidos a consulta no dia 0 (antes do início da terapêutica), 7 (primeira reavaliação após início da terapêutica) e 14 (última reavaliação após início da terapêutica):

Dia 0										
Grupo B (n=30 orelhas)										
	Nº de orelhas afetadas			Percentagem	Nº de orelhas afetadas			Percentagem		
	OE	OD	Total	%	Ligeiro	Moderado	Severo	%		
Prurido	6	13	19	63%	4	12	3	21%	63%	16%
Dor	2	7	9	30%	5	4	0	56%	44%	0%
Inflamação	7	13	20	67%	6	9	5	30%	45%	25%
Descamação	4	10	14	47%	7	7	0	50%	50%	0%
Alopecia	1	3	4	13%	2	2	0	50%	50%	0%
Ulceração	0	0	0	0%	0	0	0	—	—	—
Otohematoma	0	0	0	0%	0	0	0	—	—	—
Exsudado	7	13	20	67%	4	12	4	20%	60%	20%
Cheiro fétido	4	13	17	57%	6	8	3	35%	47%	18%
Dia 7										
Grupo B (n=30 orelhas)										
	Nº de orelhas afetadas			Percentagem	Nº de orelhas afetadas			Percentagem		
	OE	OD	Total	%	Ligeiro	Moderado	Severo	%		
Prurido	4	6	10	33%	9	1	0	90%	10%	0%
Dor	1	1	2	7%	2	0	0	100%	0%	0%
Inflamação	4	7	11	37%	9	2	0	82%	18%	0%
Descamação	2	6	8	27%	8	0	0	100%	0%	0%
Alopecia	0	0	0	0%	0	0	0	—	—	—
Ulceração	0	0	0	0%	0	0	0	—	—	—
Otohematoma	0	0	0	0%	0	0	0	—	—	—
Exsudado	3	8	11	37%	11	0	0	100%	0%	0%
Cheiro fétido	1	1	2	7%	2	0	0	100%	0%	0%
Dia 14										
Grupo B (n=30 orelhas)										
	Nº de orelhas afetadas			Percentagem	Nº de orelhas afetadas			Percentagem		
	OE	OD	Total	%	Ligeiro	Moderado	Severo	%		
Prurido	0	1	1	3%	1	0	0	100%	0%	0%
Dor	0	0	0	0%	0	0	0	—	—	—
Inflamação	1	1	2	7%	2	0	0	100%	0%	0%
Descamação	0	0	0	0%	0	0	0	—	—	—
Alopecia	0	0	0	0%	0	0	0	—	—	—
Ulceração	0	0	0	0%	0	0	0	—	—	—
Otohematoma	0	0	0	0%	0	0	0	—	—	—
Exsudado	1	1	2	7%	2	0	0	100%	0%	0%
Cheiro fétido	0	0	0	0%	0	0	0	—	—	—

n – número de amostras em estudo, Nº – número, OE – orelha esquerda, OD – orelha direita.

Antes do início do tratamento no grupo B (dia 0), os sinais clínicos mais observados foram também a inflamação, que estava presente em 67% das orelhas com

um grau de intensidade em 45% das orelhas afetadas moderado, 30% ligeiro e 25% severo e o exsudado, que estava presente em 67% das orelhas com grau de intensidade em 60% das orelhas afetadas moderado, 20% ligeiro e 20% severo. De seguida, o prurido estava presente em 63% das orelhas com um grau de intensidade em 63% das orelhas afetadas moderado, 21% ligeiro e 16% severo. O sinal clínico menos observados foi a alopecia, que estava presente em 13% das orelhas com um grau de intensidade em 50% das orelhas afetadas ligeiro e 50% moderado. Nenhuma orelhas revelou a presença de ulceração (0%) ou otohematoma (0%) (Tabela 2; Figura 4).

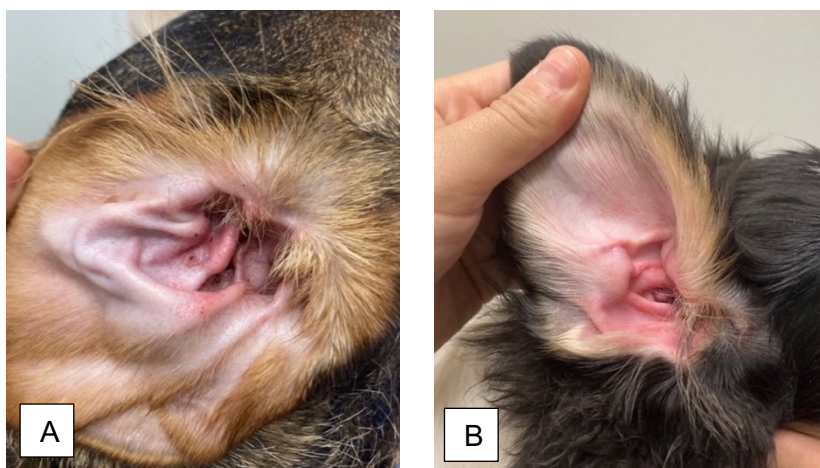


Figura 4 – Figuras ilustrativas do pavilhão auricular com presença de sinais clínicos macroscópicos compatíveis com otite. A) Pavilhão auricular direito com presença de inflamação de grau 2 e exsudado de grau 2. B) Pavilhão auricular direito com presença de inflamação grau 3 (severo), descamação de grau 1 (ligeiro), alopecia de grau 1 (ligeiro) e exsudado de grau 1 (ligeiro); Fonte: arquivo pessoal.

Após o início do tratamento no grupo B, durante a primeira consulta de reavaliação (dia 7), os sinais clínicos mais observados continuaram a ser a inflamação, que diminuiu para 37% das orelhas com um grau de intensidade em 82% das orelhas afetadas ligeiro e 18% moderado. De igual forma, o exsudado que estava presente em 37% das orelhas com grau de intensidade em 100% das orelhas afetadas ligeiro. O prurido apresentou uma diminuição acentuada passando a estar presente em 33% das orelhas com grau de intensidade em 90% das orelhas afetadas ligeiros e 10% moderado. Tanto a dor como o cheiro fétido estavam presentes em 7% das orelhas com grau de intensidade em 100% das orelhas afetadas ligeiro. A alopecia desapareceu após o início do tratamento nas orelhas afetadas (Tabela 2).

Após o início do tratamento no Grupo B, durante a última consulta de reavaliação (dia 14), tanto a Inflamação como o exsudado diminuíram para 7% das orelhas com um grau de intensidade ligeiro em 100% das orelhas afetadas. O prurido também apresentou uma diminuição acentuada passado a estar presente em 3% das orelhas com grau de intensidade em 100% ligeira nas orelhas afetadas. Todos os restantes sinais clínicos desapareceram no final do tratamento (Tabela 2).

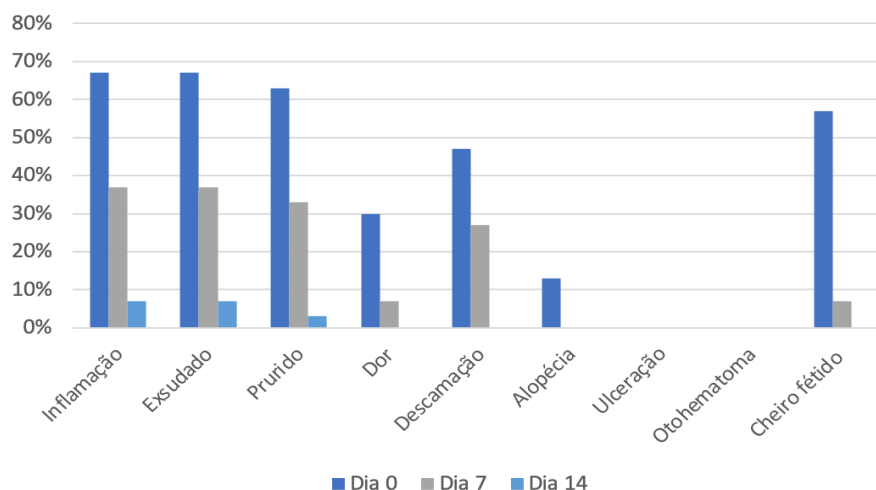


Gráfico 9 – Evolução de sinais clínicos macroscópicos compatíveis com otite ao longo do tratamento no Grupo B.

2.2. Otoscopia

No grupo A, ao dia 0, 53% das orelhas observadas por otoscopia apresentavam otite média. Dentro do pavilhão auricular, 40% das orelhas apresentavam excesso de pelos, a estenose estava presente em 33% das orelhas, apenas 1% das orelhas apresentava rutura de tímpano e nenhum apresentava presença de massa/ corpo estranho, tal como é demonstrado na Tabela 3.

Tabela 3 – Parâmetros avaliados através de otoscopia observadas ao longo do período do tratamento convencional aplicado no Grupo A em cães submetidos a consulta no dia 0 (antes do início da terapêutica):

Dia 0				
Grupo A (n=30)				
	Nº de orelhas afetadas			Percentagem
	OE	OD	Total	%
Excesso de pelos	6	6	12	40%
Massa/ Corpo estranho	0	0	0	0%
Estenose	3	7	10	33%
Otite média	8	8	16	53%
Rutura de tímpano	0	1	1	3%

n – número de amostras em estudo, Nº – número, OE – orelha esquerda, OD – orelha direita.

No grupo B, ao dia 0, 40% das orelhas observadas por otoscopia apresentavam otite média. Dentro do pavilhão auricular, 53% das orelhas apresentavam excesso de pelos, aestenose estava presente em 23% das orelhas e nenhuma das orelhas apresentava presença de massa/ corpo estranho ou rutura de tímpano, tal como é demonstrado na Tabela 4.

Tabela 4 – Parâmetros avaliados através de otoscopia observadas ao longo do período do tratamento integrativo aplicado no Grupo B em cães submetidos a consulta no dia 0 (antes do início da terapêutica):

Dia 0				
Grupo B (n=30)				
	Nº de orelhas afetadas			Percentagem
	OE	OD	Total	%
Excesso de pelos	8	8	16	53%
Massa/ Corpo estranho	0	0	0	0%
Estenose	1	6	7	23%
Otite média	2	10	12	40%
Rutura de tímpano	0	0	0	0%

n – número de amostras em estudo, Nº – número, OE – orelha esquerda, OD – orelha direita.

2.3. Citologia auricular

Antes do início do tratamento no grupo A (dia 0), 73% das orelhas apresentaram a presença de *Malassezia pachydermatis*, afetando de igual forma o OE e o OD (50%).

Das orelhas afetadas, 59% apresentaram uma contagem de = ou > 10 *Malassezia pachydermatis* e 41% apresentaram uma contagem <10 *Malassezia pachydermatis*.

Após o início do tratamento no grupo A, durante a primeira consulta de reavaliação (Dia 7), a presença de *Malassezia pachydermatis* diminuiu para 53% das orelhas, onde 81% apresentaram uma contagem de < 10 *Malassezia pachydermatis* e 19% apresentaram uma contagem de = ou >10 *Malassezia pachydermatis*, tal como é demonstrado na Tabela 5 e representado esquematicamente pelo Gráfico 10.

Tabela 5 – Presença e contagem de leveduras *Malassezia pachydermatis* avaliados através de citologia auricular observadas, com objetiva de 40x para contagem de células perante uma média de 5 campos, ao longo do período do tratamento convencional aplicado no grupo A em cães submetidos a consulta no dia 0 (antes do início da terapêutica) e 7 (após o início da terapêutica):

Dia 0								
Grupo A (n=30)								
	Nº de orelhas afetadas			Percentagem	Contagem		Percentagem	
	OE	OD	Total	%	< 10	= ou > 10	%	
Presença de <i>Malassezia pachydermatis</i>	11	11	22	73%	9	13	41%	59%
Dia 7								
Grupo A (n=30)								
	Nº de orelhas afetadas			Percentagem	Contagem		Percentagem	
	OE	OD	Total	%	< 10	= ou > 10	%	
Presença de <i>Malassezia pachydermatis</i>	8	8	16	53%	13	3	81%	19%

n – número de amostras em estudo, Nº – número, OE – orelha esquerda, OD – orelha direita.

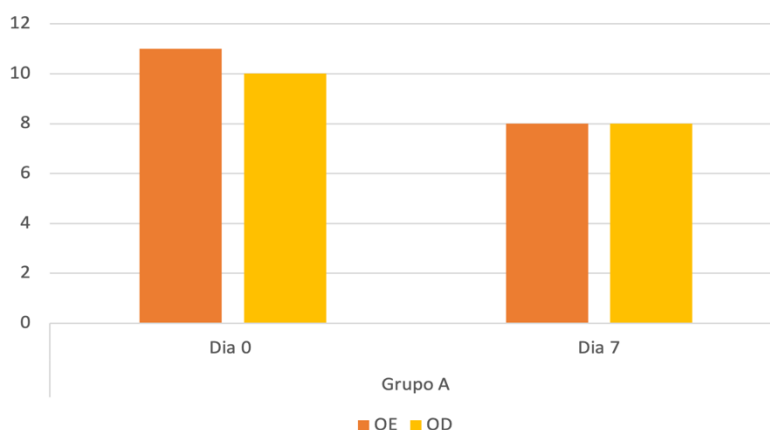


Gráfico 10 – Evolução da presença de *Malassezia pachydermatis* ao longo do tratamento no Grupo A.

Antes do início do tratamento no grupo B (dia 0), 67% das orelhas apresentaram a presença de *Malassezia pachydermatis*, onde 35% correspondiam ao OE e 65% ao OD. Das orelhas afetadas, 70% apresentaram uma contagem de = ou > 10 *Malassezia pachydermatis* e 30% apresentaram uma contagem de <10 *Malassezia pachydermatis*.

Após o início do tratamento no grupo B, durante a primeira consulta de reavaliação (dia 7) a presença de *Malassezia pachydermatis* diminuiu para 23% das orelhas, onde 100% apresentaram uma contagem de < 10 *Malassezia pachydermatis*, tal como é demonstrado na Tabela 6 e representado esquematicamente pelo Gráfico 11.

Tabela 6 – Presença e contagem de leveduras *Malassezia pachydermatis* avaliados através de citologia auricular observadas, com objetiva de 40x para contagem de células perante uma média de 5 campos, ao longo do período do tratamento integrativo aplicado no grupo B em cães submetidos a consulta no dia 0 (antes do início da terapêutica) e 7 (após o início da terapêutica):

Dia 0								
Grupo B (n=30)								
	Nº de orelhas afetadas			Percentagem	Contagem		Percentagem	
	OE	OD	Total	%	< 10	= ou > 10	%	%
Presença de <i>Malassezia pachydermatis</i>	7	13	20	67%	6	14	30%	70%
Dia 7								
Grupo B (n=30)								
	Nº de orelhas afetadas			Percentagem	Contagem		Percentagem	
	OE	OD	Total	%	< 10	= ou > 10	%	%
Presença de <i>Malassezia pachydermatis</i>	2	5	7	23%	7	0	100%	0%

n – número de amostras em estudo, Nº – número, OE – orelha esquerda, OD – orelha direita.

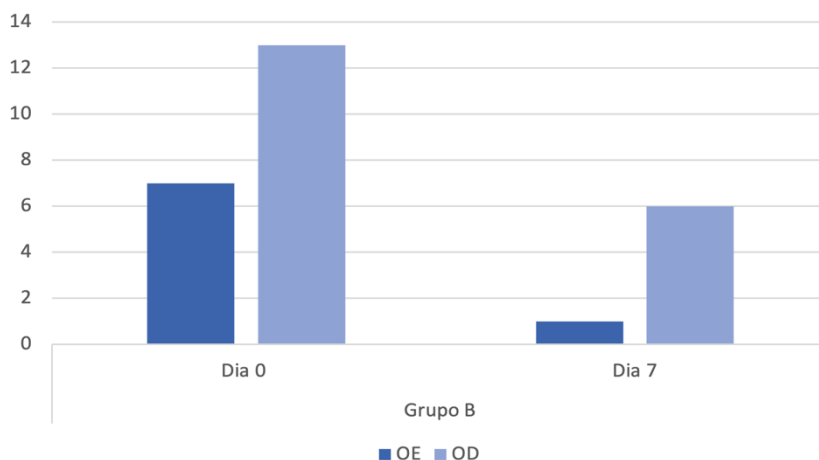


Gráfico 11 – Evolução da presença de *Malassezia pachydermatis* ao longo do tratamento no Grupo B.

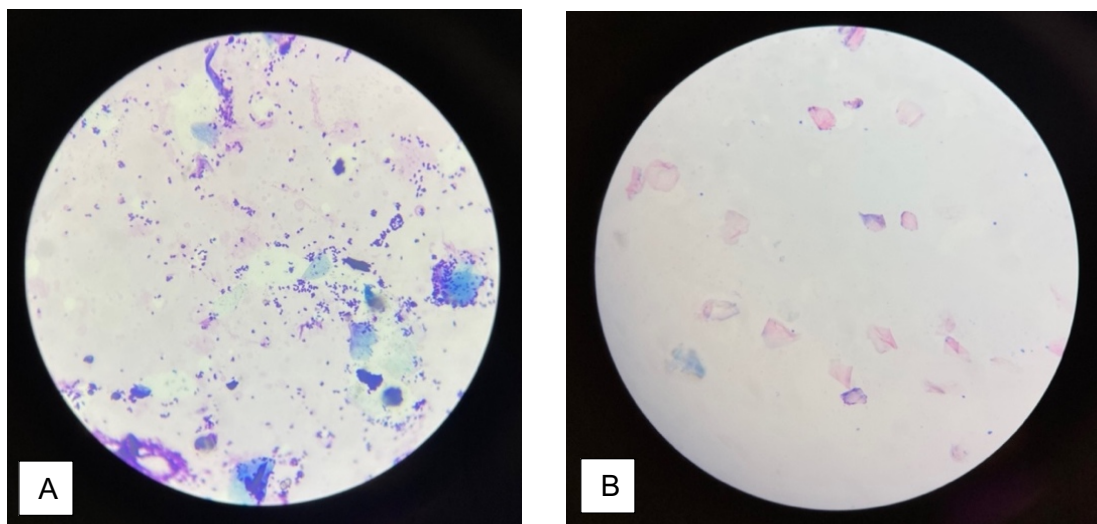


Figura 5 – Figuras ilustrativas de citologias auriculares observadas ao microscópio ótico (objetiva 40x) no grupo B, com presença de levedura *Malassezia pachydermatis* ao longo do período de tratamento. A) Presença de leveduras *Malassezia pachydermatis* numa contagem = ou > 10 células/ campo; B) Presença de células de escamação do ouvido com presença de leveduras *Malassezia pachydermatis* numa contagem < 10 células/ campo (Método de coloração Diff-Quick®). Fonte: arquivo pessoal.

3. Análise estatística inferencial

De forma a avaliar e comparar a eficácia da terapêutica convencional aplicada no grupo A com a terapêutica integrativa aplicada no grupo B, tendo em conta a média dos parâmetros de avaliação (1 - ligeiro; 2 - moderado; 3 - severo) de cada sinal clínico macroscópicos compatíveis com otite, foi determinado um *SCORE* – OTITE para cada orelha afetada, tanto no dia 0, 7 e 14, tal como se encontra demonstrado no Apêndice II (Tabela 1 e Tabela 2).

Neste estudo, só foi considerado que ocorreram diferenças estatísticas significativas entre grupos quando ($p < 0,05$) para a variável *SCORE* – OTITE.

Tal como podemos observar através da análise da Tabela 7 e do Gráfico 12, ao dia 0, não houve uma diferença significativa estatisticamente ($p < 0,05$) no *SCORE*-OTITE entre o grupo A e o grupo B, o que nos indica que apesar das amostras terem sido retiradas de dois CAMV diferentes estas são homogêneas, em comparação uma com a outra, o que diminui a probabilidade de alguma variável externa ter influenciado

os resultados. Ao dia 7, podemos observar pela Tabela 7 e no Gráfico 12, que o SCORE – OTITE no grupo B foi mais baixo do que no grupo A, havendo uma diferença significativa estatisticamente ($p < 0,05$) entre os dois grupos. O mesmo pode ser observado também para o dia 14, em que o SCORE – OTITE no grupo B foi mais baixo do que no grupo A, havendo uma diferença significativa estatisticamente ($p < 0,05$).

Tabela 7 - Comparações múltiplas realizadas pelo Teste T entre os vários grupos para o estudo da variável SCORE – OTITE ao longo do tratamento, dia 0, 7 e 14:

	Grupo	Dia 0	Dia 7	Dia 14
Tamanho da amostra	A	22	22	22
	B	20	20	20
Média	A	1,23	0,60	0,23
	B	1,04	0,26	0,03
Desvio padrão	A	$\pm 0,53$	$\pm 0,42$	$\pm 0,26$
	B	$\pm 0,42$	$\pm 0,17$	$\pm 0,05$
Teste T	Comparação entre grupo A e B	0,1070	0,0010*	0,0007*

* valor estatisticamente significativo para $p < 0,05$

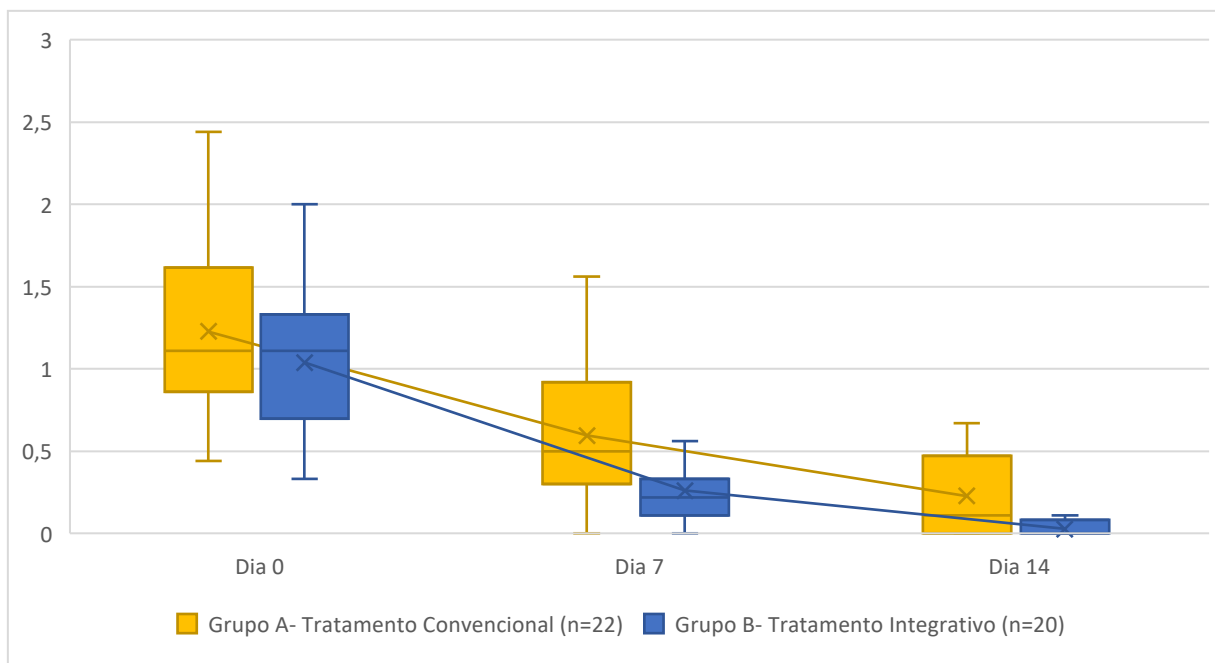


Gráfico 12 – Box-plot dos valores medianos da variável SCORE – OTITE para o grupo A e grupo B, ao longo do período de tratamento, no dia 0 (primeira consulta antes do início da terapêutica), 7 (primeira reavaliação após início da terapêutica) e 14 (última reavaliação após início da terapêutica).

Discussão

Na presente dissertação, pretendeu-se comparar a eficácia entre duas abordagens terapêuticas, convencional e integrativa, no tratamento de otite por levedura do género *Malassezia pachydermatis* em cães, através da avaliação e comparação de variáveis fisiológicas, em diferentes momentos ao longo do período de tratamento. Foi possível observar que existiram diferenças estatísticas significativas na variável final de quantificação de SCORE – OTITE entre os dois tratamentos.

Segundo Angus (2005), as otites afetam cerca de 10 a 20 % de todos os canídeos apresentados rotineiramente a consulta, tendo uma maior prevalência para animais com dermatite atópica canina (DAC), sendo que cerca de 40 a 80 % apresentam otite externa como sintomatologia associada à doença. O mesmo autor e Scott *et al.*, (2001), afirmam ainda que as principais raças afetadas são o Golden Retriever, Labrador Retriever, Schnauzer miniatura, West Highland White Terrier, Shih Tzu, Cocker Spaniel, Teckel, Yorkshire Terrier, Bulldog Inglês e Francês. Neste estudo, isso verificou-se uma vez que as principais raças identificadas foram o Labrador Retriever, Yorkshire Terrier, Teckel, Cocker Spaniel, Caniche e Bulldog Francês.

As otites caninas são mais comuns em animais entre os 5 a 8 anos de idade (Miller *et al.*, 2001). Neste estudo, a média das idades foi de, aproximadamente, 5 anos pelo que se encontra dentro do intervalo atribuído pelo autor. Quanto à predisposição sexual, o mesmo autor afirma que não existe predisposição, e o mesmo foi comprovado neste estudo tendo em conta que 53% dos animais observados eram machos e 47% eram fêmeas, não havendo uma grande diferença de percentagem entre géneros.

Segundo Scott *et al.*, (2001), a principal queixa associada a otite é o prurido auricular. Neste estudo, a grande maioria dos animais quando se apresentavam a consulta com queixa de otite, os tutores referiam que os viam a abanar e/ ou coçar as orelhas. Para além disso, a presença de exsudado auricular em excesso é altamente sugestiva de otite (Hnilica, 2011) e o mesmo observou-se, uma vez que, foi possível recolher amostras do conteúdo ceruminoso que se encontrava em excesso nos animais diagnosticados com otite.

Um exame auricular completo, associado à detecção da presença sinais clínicos macroscópicos compatíveis com otite, citologia auricular e otoscopia, é considerado fundamental para auxiliar o clínico a compreender melhor as causas de otites, mas estudos referem que a otite está sempre associada a um quadro inflamatório e que o resto das lesões associadas é que podem variar conforme a complexidade do quadro (Radlinsky & Mason, 2011). Neste estudo, foi possível observar que a inflamação estava sempre presente em cães com diagnóstico de otite e que pode estar associada tanto a casos de otite aguda como crónicos.

Através da realização de citologia auricular neste estudo, foi possível concluir que a maioria dos animais diagnosticados com otite apresentam conteúdo ceruminoso não infeccioso. Segundo Angus (2004a), o microrganismo mais frequentemente identificado nos ouvidos de cães é a *Malassezia spp.*, sendo os restantes agentes infecciosos isolados com menos frequência. Os resultados obtidos neste estudo vão de acordo com Angus (2004a) e Cole (2009) que afirmam que o aumento do crescimento desta levedura é muito comum e pode ocorrer em 65% a 80% dos cães com otites crónicas.

Segundo Silva (2001) a utilização indiscriminada de fármacos antimicrobianos e antifúngicos na resolução de otites sem identificação do agente primário leva ao desenvolvimento de resistência microbiana, agravamento da sintomatologia, podendo passar para cronicidade, e mais episódios de recidiva.

Segundo Valacchi *et al.*, (2012) os óleos ozonizados têm a capacidade de estabilizar o O₃ numa forma química adequada, sendo considerados ferramentas funcionais muito utilizadas no processo de cicatrização de feridas crónicas, e tanto o valor de peroxidação como a composição do óleo que escolhermos para a terapêutica irão influenciar o tratamento. Desta forma, podem ser utilizados no tratamento de otites externas/ médias persistentes e infecciosas favorecendo o processo de cicatrização das mesmas e podem ser considerados uma opção de baixo custo e fácil aplicação no tratamento contra bactérias multirresistentes (Murray *et al.*, 2008; Matos *et al.*, 2012).

Num estudo realizado por Delgado (2015), com objetivo de avaliar a eficácia do tratamento com óleo de girassol ozonizado sobre casos de dermatite por *Malassezia pachydermatis* em cães e gatos, verificou-se que ao fim de 15 dias houve uma melhoria na sintomatologia de 84%. Outros estudos clínicos também afirmam que a introdução

da ozonoterapia em veterinária tem sido realizada com sucesso, sendo mais eficaz no tratamento de doenças de pele, otites, infecções de feridas pós-traumáticas ou crônicas.

Foi demonstrado que através da terapia com óleos e/ ou cremes ozonizados, verificou-se um aumento da síntese de fibroblastos, proliferação de fibras de colagénio, estimulação da produção de citocinas e interleucinas-8, as quais são responsáveis pelo processo de cicatrização e um aumento da expressão de fatores de crescimento VEGF, TGF-beta e PDGF, em apenas 7 dias após a exposição ao tratamento (Kim *et al*, 2009; Almeida *et al*, 2012).

O óleo de O₃ utilizado no tratamento integrativo neste estudo, foi uma solução comercial composta tanto por óleo de azeite (óleo vegetal) como de girassol, que são posteriormente ozonizados. O azeite possui na sua constituição ácido oleico, formado por uma ligação dupla, e o óleo de girassol possui ácido linoleico, formado por duas ligações duplas. O O₃ mistura-se com as ligações duplas dos PUFA presentes nos óleos vegetais originando uma complexa mistura de peróxidos e ozonídeos (1,2,4-trioxolanos), responsáveis pelas ações terapêuticas dos óleos ozonizados (Valacchi *et al*, 2012; Kozart & Okman, 2019; Sciorsci *et al*, 2020). O ácido oleico apresenta uma capacidade de ozonização mais baixa que o ácido linoleico, mas quando este é aplicado sobre feridas na pele/ mucosas, os ozonídeos libertam-se lentamente proporcionando atividade antioxidante estimuladora conferindo-lhe uma potente ação bactericida, antiviral e antifúngica. O ácido linoleico é ideal para tratamento de feridas profundas, processos fúngicos e infecciosos, este é superior ao azeite ozonizado em termos de resistência (capacidade de ozonização superior, IPs mais elevados) e apresenta um odor menos intenso (Valacchi *et al*, 2012).

Segundo *International Scientific Committee of Ozone Therapy* (ISCO3) os óleos ozonizados com índices de peróxidos (IPs) 400 (mEq/kg) apresentam um nível baixo e são recomendados em casos de cicatrização de feridas não contaminadas, os com IPs 600 (mEq/kg) apresentam um nível médio e são recomendados em casos de erradicação de infeção e os com IPs 1200 (mEq/kg) apresentam um nível elevado e são recomendados em casos de infeção severa.

Mesmo, ainda, sendo considerada uma terapia pouco estudada, o óleo de ozono demonstrou ser muito eficaz no tratamento de otites (Delgado, 2015; Conceição, 2022). Ao compararmos as duas abordagens terapêuticas aplicadas neste estudo, após 7 dias de tratamento, a terapêutica convencional proposta foi eficaz em 81% das orelhas na

redução da contagem de levedura *Malassezia pachydermatis* para valores sem relevância clínica (<10 células/ campo) e, após os 14 dias de tratamento, em 40% das orelhas na eliminação total dos sinais clínicos macroscópicos compatíveis com otite, enquanto que a terapêutica integrativa com ozonoterapia proposta, após 7 dias de tratamento, foi eficaz em 100% das orelhas na redução da contagem de levedura *Malassezia pachydermatis* para valores sem relevância clínica (<10 células/ campo) e, após os 14 dias de tratamento, em 75% das orelhas na eliminação total dos sinais clínicos macroscópicos compatíveis com otite.

Este estudo apresenta algumas limitações que podem ter influenciado os resultados, e por sua vez, a eficácia das abordagens terapêuticas convencional e integrativa realizadas. Apesar das amostras que integram o grupo A e o grupo B terem sido recolhidas em dois CAMVs diferentes, ambas foram retiradas do concelho de Cascais de forma a reduzir os impactos de variáveis externas como fatores geográficos (temperatura, humidade, etc) ou hábitos de manejo diferentes. É importante referir ainda que a deteção da presença de sinais clínicos macroscópicos compatíveis com otite foi feita pela autora e pelo médico veterinário responsável de forma subjetiva e o tratamento foi realizado em casa pelos tutores, ao longo dos 14 dias, o que não permite afirmar com certeza se foi realizado nas devidas condições, de forma a obter um resultado satisfatório, demonstrando assim a sua verdade eficácia.

Conclusão

Todos os objetivos deste estudo foram cumpridos e segundo os resultados obtidos foi possível concluir que o tratamento integrativo com ozonoterapia aplicado para a resolução de otite por *Malassezia pachydermatis* em cães mostrou ser seguro e foi mais eficaz na melhoria da sintomatologia e na redução da presença da levedura, em comparação com o tratamento convencional.

A Ozonoterapia tem vindo a ser cada vez mais utilizada como tratamento coadjuvante ou até mesmo de rotina em casos clínicos onde as terapias convencionais não obtêm os resultados esperados provando ser eficaz no tratamento de diversas patologias. Esta apresenta vantagens, tanto para o animal como para o tutor: hoje em dia é mais fácil adquirir produtos usados em tratamentos integrativos, pois não necessitam de receita médico-veterinária, tornando-se assim uma comodidade para o tutor uma vez que não necessita de ir recorrentemente a um CAMV para iniciar o

tratamento, para além disso, esta terapêutica pode ser utilizada a longo prazo ou de forma preventiva, sem efeitos secundários associados.

Com a evolução da medicina e a procura por parte dos tutores de novos tratamentos mais conscientes, é expectável que a Medicina Integrativa na prática veterinária ganhe cada vez mais importância.

Referências Bibliográficas

Ajamieh, H. H., Berlanga, J., Merino, N., Sanchez, G. M., Carmona, A. M., Cepero, S. M. & Leon, O. S. (2005). Role of protein synthesis in the protection conferred by ozone-oxidative-preconditioning in hepatic ischaemia/reperfusion. *Transplant international*, 18(5), 604-612.

Almeida, N. R., Beatriz, A., Micheletti, A. C., & De Arruda, E. J. (2012). Ozonized vegetable oils and therapeutic properties: A review. *Orbital: The Electronic Journal of Chemistry*, 4(4).

Angus, J.C. (2004a). Diseases of the Ear. In K. L. Campbell, *Small Animal Dermatology Secrets*. (pp. 364-384). Philadelphia, Pennsylvania: Elsevier Health Sciences.

Angus, J. C. (2004b). Otic cytology in health and disease. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 34(2), 411-424.

Angus, J. C. (2005). Pathogenesis of otitis externa: understanding primary causes. In International Veterinary Information Service, *Proceeding of the North American Veterinary Conference*, Orlando, Florida, 8-12 January, (pp. 807-809).

AVMA (2023). Complementary, alternative, and integrative veterinary medicine. Obtido de American Veterinary Medical Association: <https://www.avma.org/resources-tools/avma-policies/complementary-alternative-and-integrative-veterinary-medicine>

Bensignor, E. (2003). An approach to otitis externa and otitis media. In A.P. Foster & C.S. Foil. *BSAVA Manual of Small Animal Dermatology*, (2nd edition) (pp. 104-111), England: British Small Animal Dermatology Association.

Bocci, V. (2005). How ozone is generated and its concentrations measured?. In A new Medical Drug. Springer. Netherlands. ISBN: 1-4020-3140-8, pp 9-11

Broadfoot, P. J., Palmquist, R. E., Johnston, K., Fougere, B., Wen, J. J., & Roman, M. (2008). *Integrating Complementary Medicine Into Veterinary Practice*. (R. S. Goldstein, Ed.) Wiley- Blackwell.

Coatesworth, J. (2011). Causes of otitis externa in the dog. *Companion Animal*, 16 (6), 35-38.

Cole, L. K. (2004). Otoscopic evaluation of the ear canal. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 34(2), 397-410.

Cole, L. K. (2009). Anatomy and physiology of the canine ear. *Veterinary dermatology*, 20 (5- 6), 412-421.

Cole, L. K. (2012). Otitis externa. In C. E. Greene. *Infectious Diseases of the Dog and Cat: Integumentary Infections*, (885-891) St. Louis, Missouri: Elsevier Health Sciences.

Conceição, J. de S., Pinto, T. de O., Piveta, J. M., & Molinari, B. L. D. (2022). Efeito do óleo de girassol ozonizado no tratamento tópico de quadros de otite em cães: Effect of ozonized sunflower oil on the topical treatment of otitis in dogs. *Brazilian Journal of Development*, 8(11), 72986–73001.

Conway, D. (2019). What is Integrative Veterinary Medicine? Obtido em Junho de 2022, de Ethos Veterinary Health: <https://www.ethosvet.com/blog-post/integrative-veterinary-medicine>

Cunha, Fernando M. et al. (2003). Avaliação clínica e citológica do conduto auditivo externo de cães com otite. *Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP*, São Paulo, v. 6, n. 1/3, p. 07-15, 2003.

Custódio, Clara de Souza et al. (2019). Otite externa em cães: Revisão de Literatura. 43f. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal de Santa Catarina, Curitiba

Delgado, M. Á. H. (2015). Eficacia terapéutica del aceite de girasol ozonizado frente a la infección por *Malassezia pachydermatis* en perros y gatos. *Ozone Therapy Global Journal*, 5(1), 55-74.

Elvis, A. M., & Ekta, J. S. (2011). Ozone therapy: A clinical review. *Journal of natural science, biology, and medicine*, 2(1), 66.

FAO (2021) El Plan de acción de la FAO sobre la resistencia a los antimicrobianos 2021- 2025. Obtido de Food and Agriculture Organization of the United Nations: <https://www.fao.org/documents/card/es/c/cb5545es>

Ferreira, A. G. C. (2019). Otite Média Canina: Avaliação Retrospectiva dos Resultados de Cultura e Susceptibilidade Antimicrobiana em 21 Casos de Ablação Total do Conduto Auditivo E Osteotomia da Bula Timpânica no Cão (Doctoral dissertation, Universidade de Lisboa (Portugal)).

Gotthelf, L. N. (2005). *Small Animal Ear Diseases: An Illustrated Guide*. St. Louis, Missouri: Elsevier Health Sciences.

Gotthelf, LN. (2007). Diagnosis and Treatment of Otitis Externa. Proceeding in 4th Pan Commonwealth Veterinary Conference. Barbados, West Indies.

Harvey, R.G., Harari, J. & Delauche, A.J. (2001). *Ear Diseases of the Dog and Cat*. London: Manson Publishing Ltd.

Harvey, R.G & Paterson, S. (2014). *Otitis Externa: An Essential Guide to Diagnosis and Treatment*. Florida: CRC Press

Harvey, R.G., & Ter Haar, G. (2017). The Ear. In R. G. Harvey & G. Ter Haar, *Ear, nose and throat diseases of the dog and cat*. (pp. 16-221). Boca Raton, Florida: CRC Press.

Hnilica, K. (2011). Otitis extena. In: *Small Animal Dermatology, A color atlas and therapeutic guide* (3a Ed, pp. 395-409). Saunders Elsevier, USA.

ISCO3 (2023). Madrid Declaration on Ozone Therapy (3rd edition, 2020). Obtido de The International Scientific Committee of Ozone Therapy Official website: <https://isco3.org/madrid-declaration-on-ozone-therapy-3rd-edition-isco3/>

Jacobson, L. S. (2002). Diagnosis and medical treatment of otitis externa in the dog and cat. *Journal of the South African Veterinary Association*, 73(4), 162-170.

Joselyn, RW (2007). Preventing acute otitis externa from becoming chronic. *Proceeding in North American Veterinary Conference*, Orlando, Florida.

Kathleen, S.E (2007). The good, the bad and the smelly: otitis externa reviewed. *Proceeding of North American Veterinary Conference*, Orlando, Florida.

Kim, H. S., Noh, S. U., Han, Y. W., Kim, K. M., Kang, H., Kim, H. O., & Park, Y. M. (2009). Therapeutic effects of topical application of ozone on acute cutaneous wound healing. *Journal of Korean medical science*, 24(3), 368-374.

Konig, H.E. & Liebich, H.G. (2016). Orelha (Auris) - Capítulo 17. In: *Anatomia dos animais domésticos: Texto e atlas colorido*. (v.2, ed. 6, pp 601 – 614). Artmed, Alemanha.

Kozat, S., & Okman, E. N. (2019). Has Ozone Therapy a Future in Veterinary Medicine? *Journal of Animal Husbandry and Dairy Science*, 3, pp. 25-34.

Lusa, Fabriele. T. & Amaral, Rodrigo.V. (2010). Otite externa. *PUBVET*, Londrina, 2010, v. 4, n. 24, ed. 129, art. 876

Machado, N., & Navarro, F. (2021). Efecto de la ozonoterapia en comparación al tratamiento tradicional en otitis caninas externas infecciosas.

Machado, V. M. M. C. (2013). Otite externa canina: estudo preliminar sobre a otalgia e factores associados. (Dissertação Mestrado). Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Lisboa, Portugal.

Martins, Edna A. et al. (2011). Estudo clínico e microbiológico de otite externa de cães atendidos em hospital veterinário do noroeste paulista. *Acta Veterinaria Brasilica*, São Paulo, 2011, v. 5, n. 1, p. 61-67

Matos Neto, Antonio; Tiburcio, Mateus; Oliveira, Marivaldo da Silva et al. (2012) O uso do ozônio no tratamento de ferida incisa, suja contaminada e profunda (relato de caso). In: ABRAVEQ, Campinas

Menendez. S., González, R., Ladea, O.E., Hernández, F., León, O.S., y Díaz, M. (2008). Ozono: Aspectos Básicos y Aplicaciones Clínicas. (1ra Ed.) CENIC: La Habana.

Miller, W. H., Griffin, C. E., Campbell, K. L. & Muller, G. H. (2013). Diseases of Eyelids Claws, Anal Sacs and Ears. In W. H. Miller, C. E. Griffin & K. L. Campbell, Muller and Kirk's Small Animal Dermatology (7th edition). (pp. 741-767). St. Louis, Missouri: Elsevier Health Sciences.

Morgan, V. R (2003). Otitis Externa, general information. Acedido em 01 de Julho de 2022 em <http://vin.com/Members/Associate.plx?DiseaseId=952>

Mueller RS, & Jackson H. (2003). Atopy and food adverse reaction In: Foster A. P., Foil C. S., eds. BSAVA Manual of Small Animal Dermatology. Quedgeley: British Small Animal Association. 125-136.

Muller, R. (2007). Pathophysiology of otitis externa. Proceeding of Southern European Veterinary Conference. Barcelona, Espanha.

Murray, B. K., Ohmine, S., Tomer, D. P., Jensen, K. J., Johnson, F. B., Kirsi, J. J. & O'Neill, K. L. (2008). Virion disruption by ozone-mediated reactive oxygen species. Journal of virological methods, 153(1), 74-77.

Nelson, W. R. & Couto, G. C. (2010). Medicina interna de pequenos animais. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier. 1674 p.

Nuttall, T. (2016). Successful management of otitis externa. In Practice, 38(2), 17-21

Oliveira, V. B., Ribeiro, M. G., Almeida, A. C., Paes, A. C., Condas, L. A., Lara, G. H., Franco, M. M., Fernandes, M. C. & Listoni, F. J. (2012). Etiologia, perfil de sensibilidade aos antimicrobianos e aspetos epidemiológicos na otite canina: estudo retrospectivo de 616 casos. Semina: Ciências Agrárias, 33(6), 2367-2374

Ouf, S. A., Moussa, T. A., Abd-Elmegeed, A. M., & Eltahlawy, S. R. (2016). Anti-fungal potential of ozone against some dermatophytes. *brazilian journal of microbiology*, 47, 697-702.

Patel, P. V., Kumar, V., Kumar, S., Gd, V., & Patel, A. (2011). Therapeutic effect of topical ozonated oil on the epithelial healing of palatal wound sites: a planimetric and cytological study. *Journal of investigative and clinical dentistry*, 2(4), 248-258.

Paterson, S. (2017). Topical ear treatments – option, indications and limitations of current therapy. *Journal of small animal practice*, 57(12), 668-678.

Paterson, S. & Tobias, K. (2013). *Atlas of ear diseases of the dog and cat*. Oxford: Wiley- Blackwell.

Peralta, C., Xaus, C., Bartrons, R., Leon, O. S., Gelpí, E., & Roselló-Catafau, J. (2000). Effect of ozone treatment on reactive oxygen species and adenosine production during hepatic ischemia-reperfusion. *Free radical research*, 33(5), 595-605.

Radlinsky, M. G. & Mason, D. E. (2010). Diseases of the ear. In S.J. Ettinger & E.C. Feldamn, *Textbook of veterinary internal medicine: Diseases of the dog and cat*, (7th edition), (pp. 1015-1024). St. Louis, Missouri: Elsevier Health Sciences.

Randall C. T. (2006). Otitis externa: a systematic approach to diagnosis and treatment. *Proceeding or the North American Veterinary Conference*, volume 20, Orlando, Florida.

Rosser EJ, Jr. (2004). Causes of otitis externa. In: Matousek JL (ed), *Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice. Ear disease*. Philadelphia: WB Saunders;34 459-468.

Sadowska J, Johansson B, Johannessen E, Friman R, Broniarz- Press L, Rosenholm JB. (2008). Characterization of ozonated vegetable oils by spectroscopic and chromatographic methods. *Chemistry and Physics of Lipids*, 151(2), 85-91.

Sciorsci, R. L., Lillo, E., Occhiogrosso, L., & Rizzo, A. (2020). Ozone Therapy in Veterinary Medicine: a review. *Research in Veterinary Science*, pp. 240-246.

Scott, D. W.; Miller, W. H. JR.; Griffin, C. E. (2001). Diseases of Eyelids, Claws, Anal Sacs, and Ears. *Muller and Kirk's small Animal Dermatology*. 6 ed. Philadelphia: WB Saunders Co, p. 1203- 1232.

Shmalberg, J. (2016). Integrative Medicine: The evidence, Economics, & Logistics of an Emerging Field. *Today's Veterinary Practice*.

Silva, N. (2001). Identification and antimicrobial susceptibility patterns of *Staphylococcus* spp. isolated from canine chronic otitis externa. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, n.53, p.1-5.

Song, M., Zeng, Q., Xiang, Y., Gao, L., Huang, J., Huang, J., ... & Lu, J. (2018). The antibacterial effect of topical ozone on the treatment of MRSA skin infection. *Molecular medicine reports*, 17(2), 2449-2455

Steppan, J., Meaders, T., Muto, M., & Murphy, K. J. (2010). A metanalysis of the effectiveness and safety of ozone treatments for herniated lumbar discs. *Journal of vascular and interventional radiology*, 21(4), 534-548.

Valacchi, G., Zanardi, I., Lim, Y., Belmonte, G., Miracco, C., Sticozzi, C., & Travagli, V. (2012). Ozonated oils as functional dermatological matrices: Effects on the wound healing process using SKH1 mice. *International Journal of Pharmaceutics*, 458(1), 65-73.

Viebahn-Haensler, R (2002) Recommended dosages and treatment requeencies depending on indication and application method. In *The use of ozone in medicine*. Fourth edition. Wiley- blackwell.USA. ISBN: 978-0-8138-1223-6, pp 136-143

Zeng, J., Dou, J., Gao, L., Xiang, Y., Huang, J., Ding, S., ... & Lu, J. (2020a). Topical ozone therapy restores microbiome diversity in atopic dermatitis. *International Immunopharmacology*, 80, 106191.

Zeng, J., Lei, L., Zeng, Q., Yao, Y., Wu, Y., Li, Q., ... & Lu, J. (2020b). Ozone therapy attenuates NF- κ B-mediated local inflammatory response and activation of Th17 cells in treatment for psoriasis. *International Journal of Biological Sciences*, 16(11), 1833.

Apêndice I

Ficha clínica de diagnóstico de otite

Resenha:

Nome do animal: Tutor: Data:
Idade: Sexo: Raça: Peso:

Anamnese e História Clínica:

- 1- Motivo da consulta:
- 2- Apresenta historial de otites: O Sim O Não
- 3- Apresenta hábitos de limpeza dos ouvidos: O Diariamente O Semanalmente O Mensalmente O Não
- 4- Existência de doenças concomitantes: O Sim O Não Qual?

Avaliação otológica:

1- Presença de sinais macroscópicos compatíveis com otite:

	Ligeiro (1)	Médio (2)	Severo (3)	Ausente (0)
Prurido				
Dor auricular				
Inflamação (eritema)				
Descamação do pavilhão auricular				
Alopécia do pavilhão auricular				
Ulceração				
Otohematoma				
Exsudado				
Cheiro fétido				

2- Otoscopia:

	O Presente (1)	O Ausente (0)
Excesso de pelos no canal auditivo		
Massa/ Corpo estranho		
Estenose do canal auditivo		
Otite média (extensão para ouvido médio)		
Rutura de tímpano		

3- Citologia auricular

Amostras retiradas:	O Ouvido Esquerdo	O Ouvido Direito	O Ambos
*Presença de leveduras do tipo <i>Malassezia pachydermatis</i>	O Presente (1)	O Ausente (0)	
**Contagem de <i>Malassezias</i>	O < 10/campo	O = ou > 10/campo	

*exame direto de células semelhantes a *M. pachydermatis* sobre microscopia ótica (4X/ 10X/40X);

**contagem de células semelhantes a *M. pachydermatis*/campo perante uma média de 5 campos visualizados sobre microscopia ótica (40X)

Abordagem terapêutica integrativa com ozonoterapia

1- Protocolo terapêutico:

Etapa 1 – Suspensão de limpeza auricular

O Aplicável O Não aplicável

Etapa 2 – Suspensão comercial de óleo ozonizado para aplicação auricular

O 0,2 ml/BID/6 dias → raças mini e pequenas (< 10 kg) O 0,4 ml/BID/6 dias → raças médias (11 a 25 kg)
O 0,8 ml/BID/6 dias → raças grandes (26 a 45 kg) O 1 ml/BID/6 dias → raças gigantes (> 45 kg)
O Não aplicável

2- Consulta de reavaliação:

Dia 7

1- Presença de sinais macroscópicos compatíveis com otite:

	Ligeiro (1)	Médio (2)	Severo (3)	Ausente (0)
Prurido				
Dor auricular				
Inflamação (eritema)				
Descamação do pavilhão auricular				
Alopécia do pavilhão auricular				
Ulceração				
Otohematoma				
Exsudado				
Cheiro fétido				

1- Citologia auricular

Amostras retiradas:	O Ouvido Esquerdo	O Ouvido Direito	O Ambos
*Presença de leveduras do tipo <i>Malassezia pachydermatis</i>	O Presente (1)	O Ausente (0)	
**Contagem de <i>Malassezias</i>	O < 10/campo	O = ou > 10/campo	

Dia 14

1- Presença de sinais macroscópicos compatíveis com otite:

	Ligeiro (1)	Médio (2)	Severo (3)	Ausente (0)
Prurido				
Dor auricular				
Inflamação (eritema)				
Descamação do pavilhão auricular				
Alopécia do pavilhão auricular				
Ulceração				
Otohematoma				
Exsudado				
Cheiro fétido				

Figura 1 (Apêndice I) – Questionário, utilizado neste estudo, na consulta do dia 0 para recolha de informação clínica sobre cada paciente e registo da evolução do protocolo terapêutico integrativo aplicado a cada individuo ao longo do período de tratamento.

Ficha clínica de diagnóstico de otite

Resenha:

Nome do animal: Tutor: Data:
Idade: Sexo: Raça: Peso:

Anamnese e História Clínica:

- 1- Motivo da consulta:
2- Apresenta historial de otites: O Sim O Não
3- Apresenta hábitos de limpeza dos ouvidos: O Diariamente O Semanalmente O Mensalmente O Não
4- Existência de doenças concomitantes: O Sim O Não Qual?

Avaliação otológica:

- 1- Presença de sinais macroscópicos compatíveis com otite:

	Ligeiro (1)	Médio (2)	Severo (3)	Ausente (0)
Prurido				
Dor auricular				
Inflamação (eritema)				
Descamação do pavilhão auricular				
Alopécia do pavilhão auricular				
Ulceração				
Otohematoma				
Exsudado				
Cheiro fétido				

- 2- Otoscopia:

	O Presente (1)	O Ausente (0)
Excesso de pelos no canal auditivo		
Massa/ Corpo estranho		
Estenose do canal auditivo		
Otite média (extensão para ouvido médio)		
Rutura de tímpano		

- 3- Citologia auricular

Amostras retiradas:	O Ouvido Esquerdo	O Ouvido Direito	O Ambos
*Presença de leveduras do tipo <i>Malassezia pachydermatis</i>	O Presente (1)	O Ausente (0)	
**Contagem de <i>Malassezias</i>	O < 10/campo	O = ou > 10/campo	

*exame direto de células semelhantes a *M. pachydermatis* sobre microscopia ótica (4X/ 10X/40X);
**contagem de células semelhantes a *M. pachydermatis*/campo perante uma média de 5 campos visualizados sobre microscopia ótica (40X)

Abordagem terapêutica convencional:

1- Protocolo terapêutico:

Etapa 1 – Suspensão de limpeza auricular

O Aplicável O Não aplicável

Etapa 2 – Suspensão oleosa comercial de gotas auriculares com corticosteroides, antifúngicos e antibiótico:

O 1 ml/SID/6 dias

O Não aplicável

2- Consulta de reavaliação:

Dia 7

- 1- Presença de sinais macroscópicos compatíveis com otite:

	Ligeiro (1)	Médio (2)	Severo (3)	Ausente (0)
Prurido				
Dor auricular				
Inflamação (eritema)				
Descamação do pavilhão auricular				
Alopécia do pavilhão auricular				
Ulceração				
Otohematoma				
Exsudado				
Cheiro fétido				

- 1- Citologia auricular

Amostras retiradas:	O Ouvido Esquerdo	O Ouvido Direito	O Ambos
*Presença de leveduras do tipo <i>Malassezia pachydermatis</i>	O Presente (1)	O Ausente (0)	
**Contagem de <i>Malassezias</i>	O < 10/campo	O = ou > 10/campo	

Dia 14

- 1- Presença de sinais macroscópicos compatíveis com otite:

	Ligeiro (1)	Médio (2)	Severo (3)	Ausente (0)
Prurido				
Dor auricular				
Inflamação (eritema)				
Descamação do pavilhão auricular				
Alopécia do pavilhão auricular				
Ulceração				
Otohematoma				
Exsudado				
Cheiro fétido				

Figura 2 (Apêndice I) – Questionário, utilizado neste estudo, na consulta do dia 0 para recolha de informação clínica sobre cada paciente e registo da evolução do protocolo terapêutico convencional aplicado a cada individuo ao longo do período de tratamento.

Apêndice II

Tabela 1 (Apêndice II) – SCORE – OTITE atribuído a cada orelha afetada com otite no Grupo A, ao longo do período de tratamento, dia 0 (antes do início da terapêutica), 7 (após o início da terapêutica) e 14 (após o início da terapêutica).

Grupo A- Tratamento Convencional (n=22)			
Indivíduos	Dia 0	Dia 7	Dia 14
A1,OE	0,44	0,11	0
A2,OD	2	0,78	0,67
A3,OE	0,89	0,44	0
A3,OD	1,44	0,56	0
A4,OE	0,89	0,33	0,11
A4,OD	0,44	0	0
A5,OE	1,11	0,33	0
A5,OD	1,78	1	0,67
A6,OE	0,89	0,56	0,22
A7,OD	1,33	0,44	0
A8,OE	1,56	0,89	0,33
A8,OD	1,56	0,89	0,33
A9,OD	1,33	0,44	0,11
A10,OD	1,11	0,22	0
A11,OE	2,44	1,22	0,56
A11,OD	1,89	1,11	0,44
A12,OE	1,78	1,56	0,67
A12,OD	1,11	1,11	0,56
A13,OE	0,89	0,33	0,11
A14,OE	0,78	0,56	0,22
A14,OD	0,56	0	0
A15,OE	0,78	0,22	0

Tabela 2 (Apêndice II) – SCORE – OTITE atribuído a cada orelha afetada com otite no Grupo B, ao longo do período de tratamento, dia 0 (antes do início da terapêutica), 7 (após o início da terapêutica) e 14 ((após o início da terapêutica)

Grupo B- Tratamento Integrativo (n=20)			
Indivíduos	Dia 0	Dia 7	Dia 14
B1,OD	1,11	0,33	0
B2,OD	1,11	0,33	0
B3,OE	0,78	0,56	0,11
B4,OE	0,33	0	0
B4,OD	1,22	0,33	0
B5,OD	1,11	0,33	0,11
B6,OD	1,33	0,11	0
B7,OE	0,44	0,11	0
B7,OD	1,11	0,22	0
B8,OD	1,33	0,33	0
B9,OE	0,56	0,11	0
B9,OD	1,33	0,44	0
B10,OD	0,89	0,11	0,11
B11,OD	0,56	0,11	0
B12,OE	1,67	0,56	0,11
B12,OD	2	0,56	0,11
B13,OE	0,67	0,22	0
B13,OD	0,89	0,22	0
B14,OD	0,89	0	0
B15,OE	1,44	0,22	0