

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

Identificação e perfil de resistência a antimicrobianos de *Staphylococcus pseudintermedius* isolados de piodermite canina: intervalo de 10 anos (2012 - 2022)

Camila Aparecida Lopes
Magister Scientiae

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2025**

CAMILA APARECIDA LOPES

Identificação e perfil de resistência a antimicrobianos de *Staphylococcus pseudintermedius* isolados de piodermite canina: intervalo de 10 anos (2012 - 2022)

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Lissandro G. Conceicao

Coorientadores: Luis Augusto Nero
Maria A. S. Moreira

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2025**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

L864i
2025
Lopes, Camila Aparecida, 1996-
Identificação e perfil de resistência a antimicrobianos de
Staphylococcus pseudintermedius isolados de piodermite canina:
intervalo de 10 anos (2012-2022) / Camila Aparecida Lopes. –
Viçosa, MG, 2025.

1 dissertação eletrônica (45 f.): il. (algumas color.).

Inclui anexo.

Inclui apêndice.

Orientador: Lissandro Gonçalves Conceição.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Veterinária, 2025.

Referências bibliográficas: f. 36-43.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2025.196>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Cães - Doenças. 2. Pioderma - Veterinária. 3. Resistência
microbiana a medicamentos. 4. Marcadores genéticos. 5.
Staphylococcus pseudintermedius. I. Conceição, Lissandro
Gonçalves, 1963-. II. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Veterinária. Programa de Pós-Graduação em
Medicina Veterinária. III. Título.

CDD 22. ed. 636.7089651

CAMILA APARECIDA LOPES

Identificação e perfil de resistência a antimicrobianos de *Staphylococcus pseudintermedius* isolados de piodermite canina: intervalo de 10 anos (2012 - 2022)

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 12 de fevereiro de 2025.

Assentimento:

Camila Aparecida Lopes
Autora

Lissandro Goncalves Conceicao
Orientador

Essa dissertação foi assinada digitalmente pela autora em 11/04/2025 às 13:26:27 e pelo orientador em 16/04/2025 às 12:56:25. As assinaturas têm validade legal, conforme o disposto na Medida Provisória 2.200-2/2001 e na Resolução nº 37/2012 do CONARQ. Para conferir a autenticidade, acesse <https://siadoc.ufv.br/validar-documento>. No campo 'Código de registro', informe o código **5H2U.LXS3.8D91** e clique no botão 'Validar documento'.

AGRADECIMENTOS

À Deus.

Aos meus pais, Maria Dalva e Pedro, e ao meu esposo, Rayllander pelo incentivo e apoio incondicional.

Ao meu orientador, pela orientação, incentivo e ensinamentos ao longo destes quatro anos em residência e mestrado.

Aos funcionários, pós-graduandos e professores do Departamento de Microbiologia e Inspeção, especialmente à Paula e à Nívea, que me acolheram e me ensinaram com tanto carinho e paciência.

Aos amigos que fiz durante estes anos, especialmente Cecília, Verônica e Thamara, que me acolhem e me incentivam todos os dias.

Aos residentes e professores do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Viçosa (UFV) que auxiliaram na execução deste estudo.

Aos laboratórios de Microbiologia e de Doenças Bacterianas do Setor de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde e também ao Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO/UFV) pelo apoio para realização das análises.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001. Agradecimentos também ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).

RESUMO

LOPES, Camila Aparecida, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2025. **Identificação e perfil de resistência a antimicrobianos de *Staphylococcus pseudintermedius* isolados de piodermite canina: intervalo de 10 anos (2012 - 2022)**. Orientador: Lissandro Goncalves Conceicao. Coorientadores: Luis Augusto Nero e Maria Aparecida Scatamburlo Moreira.

A piodermite é uma condição inflamatória, infecciosa, bacteriana da pele que pode ocorrer secundariamente a alergias, distúrbios de queratinização e endocrinopatias, gerando lesões superficiais ou profundas, com distribuição variável. Dentre os agentes etiológicos, destaca-se o *Staphylococcus pseudintermedius*. O presente estudo pretendeu investigar a prevalência de *S. pseudintermedius* em cães com piodermite atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Viçosa (UFV) após um período de 10 anos, quando foi realizado estudo similar, além de analisar o perfil de resistência aos antimicrobianos e determinar a prevalência do gene *mecA* nas amostras isoladas. Foram selecionados 35 cães com apresentação de sinais clínicos e/ou citológicos característicos de piodermite, confirmados por reação em cadeia pela polimerase (PCR) e realizado perfil de resistência antimicrobiana. Com resultados, obteve-se que a piodermite superficial foi a mais frequente; a amoxicilina foi o fármaco mais utilizado em tratamentos prévios e 75% das amostras demonstraram ser resistentes a pelo menos um antimicrobiano testado, reforçando a preocupação com o uso indiscriminado dessas drogas. Entretanto, com as mudanças nas práticas de prescrição e o uso mais racional de antimicrobianos, a prevalência de *Staphylococcus pseudintermedius* resistente à metilina (MRSP) foi de 21,9%, significativamente menor do que a observada em estudo anterior. Foi possível confirmar que *S. pseudintermedius* é o principal agente causador de piodermite em cães, tendo prevalência de 91,4% entre os isolados bacterianos.

Palavras-chave: cães; infecções de pele; oxacilina ; *mecA*; MRSP

ABSTRACT

LOPES, Camila Aparecida, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2025. **Identification and antimicrobial resistance profile of *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from canine pyoderma, 10 years interval (2012 - 2022)**. Adviser: Lissandro Goncalves Conceicao. Co-advisers: Luis Augusto Nero and Maria Aparecida Scatamburlo Moreira.

Pyoderma is an inflammatory, infectious, bacterial skin condition that can occur secondary to allergies, keratinization disorders, and endocrinopathies, generating superficial or deep lesions with variable distribution. Among the etiological agents, *Staphylococcus pseudintermedius* stands out. The present study aimed to investigate the prevalence of *S. pseudintermedius* in dogs with pyoderma treated at the Veterinary

Hospital of the Federal University of Viçosa (UFV) after a period of 10 years, when a similar study was performed, in addition to analyzing the antimicrobial resistance profile and determining the prevalence of the *mecA* gene in the isolated samples. Thirty-five dogs with clinical and/or cytological signs characteristic of pyoderma were selected, confirmed by polymerase chain reaction (PCR), and an antimicrobial resistance profile was performed. The results showed that superficial pyoderma was the most frequent; Amoxicillin was the most commonly used drug in previous treatments and 75% of the samples were resistant to at least one antimicrobial tested, reinforcing concerns about the indiscriminate use of these drugs. However, with changes in prescribing practices and more rational use of antimicrobials, the prevalence of Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) was 21.9%, significantly lower than that observed in previous study. It was possible to confirm that *S. pseudintermedius* is the main causative agent of pyoderma in dogs, with a prevalence of 91.4% among bacterial isolates.

Keywords: dogs; skin infections; oxacillin; *mecA*; MRSP

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Distribuição racial dos 35 cães selecionados para o estudo, detalhando a quantidade de indivíduos de cada raça presente na população analisada.....	24
Figura 2 – Resultado do teste de PCR para identificação de gene <i>mecA</i> em 96 amostras de <i>S. pseudintermedius</i> de cães com piodermite.....	25
Figura 3 – Perfil geral de resistência a antimicrobianos de 96 isolados de <i>S. pseudintermedius</i> , de acordo com CLSI (2023).....	27
Figura 4 – Formação dos <i>clusters</i> baseados nos resultados do antibiograma pela ferramenta <i>Sgplot Procedure</i>	28

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Perfil geral de resistência a antimicrobianos de 96 isolados de <i>S. pseudintermedius</i>	26
Tabela 2 – Caracterização dos <i>clusters</i> baseados nos resultados do antibiograma....	28

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AZI	Azitromicina
BHI	<i>Brain Heart Infusion</i>
Bp	Pares de bases
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CIP	Ciprofloxacina
CLI	Clindamicina
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
DNAse	Desoxirribonuclease
DOX	Doxiciclina
DVT	Departamento da Veterinária
ENR	Enrofloxacin
GEN	Gentamicina
HVT	Hospital Veterinário
I	Intermediário
MALDI-TOF	Dessorção a Laser Assistida por Matriz/ionização-Tempo de Voo
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente à metilina
MRSP	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i> resistente à metilina
n	Número amostral
OXA	Oxacilina
PBP2a	Proteína Ligadora de Penicilina Alterada
PCR	Reação em Cadeia pela Polimerase
PEN	Penicilina
pH	Potencial hidrogeniônico
R	Resistente
Rpm	Rotação por minuto
S	Sensível
S.	<i>Staphylococcus</i>
SAS	<i>Statistical Analysis System</i>
SRD	Sem raça definida
SCCmec	Cassete Cromossômico Estafilocócico <i>mec</i>
SIG	<i>Staphylococcus intermedius group</i>
SUL	Sulfametoxazol-trimetoprima

UFV

Universidade Federal de Viçosa

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVOS.....	13
2.1. Objetivo geral.....	13
2.2. Objetivos específicos.....	13
3. REVISÃO DE LITERATURA	14
4. MATERIAIS E MÉTODOS	20
4.1. Aspectos éticos.....	20
4.2. Amostras.....	20
4.3. Isolamento e identificação fenotípica dos isolados	20
4.4. Avaliação genotípica.....	20
4.4.1 Extração de DNA	20
4.4.2 Identificação genotípica de <i>S. pseudintermedius</i>	21
4.4.3 Identificação do gene <i>mecA</i>	21
4.5. Antibiograma	22
4.6. Análise estatística	22
5. RESULTADOS.....	24
5.1. Caracterização da população.....	24
5.2. Histórico de uso de antimicrobianos.....	24
5.3. Identificação dos isolados.....	25
5.4. Relação de terapia antimicrobiana prévia com o antibiograma	26
5.5. Perfil de resistência a antimicrobianos e relação com MRSP	26
5.6. Análise de <i>cluster</i>	27
6. DISCUSSÃO	29
7. CONCLUSÕES.....	35
REFERÊNCIAS.....	36

APÊNDICE – Perfis de resistência antimicrobiana dos 96 isolados de *S. pseudintermedius* e presença do gene *mecA*.44

ANEXO – Certificado de Aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA).....45

1. INTRODUÇÃO

A piodermite é uma condição inflamatória, infecciosa, bacteriana da pele que pode ocorrer secundariamente a uma variedade de condições subjacentes, incluindo alergias, distúrbios de queratinização e endocrinopatias. Trata-se de uma das doenças cutâneas mais comuns em cães, se não a principal dermatose na espécie (Beco et al., 2013).

Entre os agentes etiológicos, *Staphylococcus pseudintermedius* destaca-se como a espécie mais relevante em casos de piodermite em cães e pode representar risco de transmissão para humanos e contribuir para a disseminação de genes de resistência entre outras espécies de estafilococos (Sasaki et al., 2007; Weese; Dijkereen, 2010).

Nos últimos 10 anos, por exemplo, observou-se aumento na prevalência de *S. pseudintermedius* resistente à meticilina (MRSP) em vários países, incluindo o Brasil (Lopes et al., 2015; Botoni et al., 2016; Bourguignon et al., 2016). Esse fenômeno tem gerado preocupações significativas quanto à emergência da resistência antimicrobiana, resultando em desafios terapêuticos com as drogas atualmente disponíveis e, sendo assim, ressalta-se a necessidade monitoramento contínuo e do desenvolvimento de estratégias de controle mais eficazes (Hillier et al., 2014).

A compreensão aprofundada dos padrões de resistência locais e regionais é crucial, pois permite a seleção apropriada de terapias e promove um uso mais responsável dos antimicrobianos, garantindo assim uma abordagem mais eficaz no combate à resistência (Hillier et al., 2014). No entanto, há uma escassez de estudos que comparem essas prevalências ao longo do tempo no mesmo local, o que limita a análise das tendências e o impacto das mudanças nas práticas de manejo e prescrição de antimicrobianos. Nesse contexto, o estudo de Bourguignon (2012), realizado no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Viçosa (HVT/DVT), serve como base para o estudo atual, que visa avaliar a evolução da prevalência de *S. pseudintermedius*, incluindo MRSP, na mesma região, permitindo uma análise comparativa num período de 10 anos.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Determinar a prevalência de *S. pseudintermedius* nos cães com piodermite atendidos no serviço do Hospital Veterinário da UFV entre novembro de 2022 e fevereiro de 2023.

2.2. Objetivos Específicos

- Investigar a prevalência de *S. pseudintermedius* de amostras de cães com piodermite.
- Determinar o perfil de resistência antimicrobiana dos isolados de *S. pseudintermedius*.
- Determinar a prevalência do gene *mecA* nos isolados de *S. pseudintermedius*.
- Comparar a prevalência, o perfil de resistência antimicrobiana e a presença do gene *mecA* com os resultados obtidos por Bourguignon (2012), após um intervalo de 10 anos.

3. REVISÃO DE LITERATURA

A pele é um órgão extenso e complexo que desempenha uma variedade de funções fundamentais à vida. É atribuída a ela a formação de uma barreira eficiente e protetora entre o animal e o ambiente externo contra diversos tipos de agressões, dentre elas as infecções bacterianas (Moreira, 2020).

Os pelos juntamente com a camada córnea formam a primeira barreira de defesa física da pele. Tal camada é composta por queratinócitos bem justapostos entremeados por uma emulsão de sebo e suor que, aliada às propriedades químicas da pele, impedem a entrada de agentes mais patogênicos ou nocivos, enquanto retém umidade e nutrientes dentro do corpo (Miller; Griffin; Campbell, 2012). Somado a isso, a pele abriga um meio diversificado de microrganismos – incluindo bactérias, fungos e vírus – bem como ácaros, conhecidos coletivamente como microbiota cutânea (Grice; Segre, 2011; Sander et al., 2019). Essa microbiota também é parte essencial da função de defesa da pele, modulando a resposta imunológica, ocupando nichos microbianos e impedindo a colonização de outros agentes invasores via bacteriocinas. Esses microrganismos, particularmente o componente bacteriano, estão localizados na superfície epidérmica e no infundíbulo dos folículos pilosos (Rhodes, 2014).

O termo piodermite é usado para infecções bacterianas que se instalam na pele, em sua maioria, secundárias a causas primárias tais como alergias, distúrbios de queratinização e endocrinopatias, tendo lesões que variam em profundidade, podendo ser superficiais, envolvendo apenas a epiderme e infundíbulos foliculares, ou profundas, afetando a derme e o tecido subcutâneo (Miller; Griffin; Campbell, 2012). A foliculite bacteriana superficial é a forma mais frequente de piodermite em cães, cujos sinais clínicos incluem pápulas, pústulas, colarinhos epidérmicos, crostas, alopecia e prurido, com distribuição variável (Beco et al., 2013). A piodermite profunda, por sua vez, apresenta manifestações mais graves, como crostas hemáticas, edema, eritema, nódulos e fístulas (Miller; Griffin; Campbell, 2012). À medida que o processo infeccioso persiste, pode ocorrer o envolvimento do tecido subcutâneo, resultando em celulite e paniculite (Larsson Junior; Henriques, 2020).

O diagnóstico é confirmado pelo exame citológico, e nos casos de recidiva ou resistência microbiana, é recomendado realizar a cultura bacteriana e antibiograma. Adicionalmente, outros testes laboratoriais, como o parasitológico cutâneo, culturas

fúngicas, dosagens hormonais, biópsia de pele e análise histopatológica, podem ser empregados para identificar a causa subjacente (Noli; Morris, 2012).

Na Medicina Veterinária, as principais bactérias envolvidas nas infecções de pele em cães são as do gênero *Staphylococcus* sp., e dentre elas a de maior relevância é *S. pseudintermedius*, visto como principal patógeno isolado de piodermites (Sasaki et al., 2007). Com menor frequência, outras bactérias podem atuar como agentes causais, exemplo de *S. schleiferi* subespécie *schleiferi* e *S. schleiferi* subespécie *coagulans*, respectivamente, coagulase negativa e positiva (Larsson Junior; Henriques, 2020).

No passado, *S. pseudintermedius* apresentava suscetibilidade aos antibióticos betalactâmicos estáveis à penicilinase, porém, desde 2006, MRSP emergiu como um problema de grande relevância (Morris et al., 2006). Assim como acontece com *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), a resistência à meticilina em *S. pseudintermedius* é mediada pelo gene *mecA*, que codifica uma proteína de ligação à penicilina alterada, PBP2a (Weese; Dijkereen, 2010). Esta proteína, reduz a afinidade da bactéria por todos os antibióticos betalactâmicos, incluindo penicilinas, cefalosporinas e carbapenêmicos, que são comumente utilizados no tratamento da piodermite (Weese; Dijkereen, 2010). O gene *mecA* está localizado em um elemento genético móvel conhecido como cassete cromossômico estafilocócico *mec*, (*SCCmec*), que apresenta alta diversidade estrutural e pode ser transferido de forma horizontal entre as espécies de estafilococos (Worthing et al., 2018).

S. pseudintermedius junto a outras duas espécies, *S. intermedius* e *S. delphini*, formam o agrupado sob o epônimo de *S. intermedius* Group (SIG) devido às semelhanças fenotípicas entre eles (Sasaki et al., 2007). Desta forma, para a diferenciação dos membros desse grupo recomenda-se o emprego de técnicas de biologia molecular, a exemplo da PCR, ou a espectrometria de massa, como a técnica de MALDI-TOF MS (Dessorção a Laser assistida por Matriz/Ionização-Tempo de Voo) (Devriese et al., 2005; Guardabassi et al., 2017).

Em 2009, Bannoehr et al., desenvolveram o teste de Polimorfismo e Tamanho do Fragmento de Restrição (PCR-RFLP), baseado em um único sítio de restrição da enzima MboI no gene *pta* de *S. pseudintermedius* que, por sua vez, está ausente nos outros membros do SIG. Outro método utilizado é o teste de PCR Multiplex (mPCR), embasado na amplificação dos genes *nuc* e *hsp60*, codificador de uma termonuclease. Este método mostrou-se sensível (99,8%) e específico (100%) para

identificação de espécies de estafilococos coagulase positiva (Sasaki et al., 2010). Vários outros genes estão disponíveis na literatura com a finalidade de identificar *S. pseudintermedius*, dentre eles o *argD* (Bannoehr et al., 2007; Black et al., 2009), *gap*, *rpoB*, *tuf* (Ghebremedhin et al., 2008), *spa* (Moodley et al., 2009), *kat* (Blaiotta et al., 2010), *cpn60*, *purA*, *fdh*, *sar* e *ack* (Black et al., 2009; Solyman et al., 2013). Outros estudos sugerem a técnica por espectrometria de massa como uma alternativa rápida e precisa para a identificação das espécies dentro do SIG, com sensibilidade e especificidade estimada para *S. pseudintermedius* de 99% e 93%, respectivamente (Decristophori et al., 2011; Nisa et al., 2019). Apesar do baixo custo de execução, a principal desvantagem dessa técnica é o alto custo do equipamento e sua manutenção, o que limita sua aplicação em pequenos laboratórios de diagnóstico (Guardabassi et al., 2017).

Em cães, *S. pseudintermedius* é considerado parte da microbiota cutânea indígena, sendo frequentemente isolado de regiões como narinas, orofaringe, perianal e axilas, tanto em amostras de animais saudáveis quanto daqueles com infecções de pele (Miller; Griffin; Campbell, 2012). Quando há alterações nos mecanismos de defesa da pele, resultantes de doenças cutâneas ou sistêmicas, a proliferação bacteriana pode ser favorecida, levando à conversão para um comportamento patogênico e ao desenvolvimento de piodermite (Morris et al., 2017). Além da pele, *S. pseudintermedius* são responsáveis por quadros de infecção relacionados ao trato geniturinário e infecções cirúrgicas (Weese; Duijkeren, 2010; Viegas et al., 2022).

Este agente é descrito como produtor de diversos fatores de virulência que contribuem para a patogênese da infecção. Dentre esses fatores, destacam-se enzimas como coagulase, termonuclease e proteases, proteínas de superfície como o fator de aglutinação e a proteína A, além de toxinas como citotoxinas, toxina esfoliativa e enterotoxinas, que conferem ao *S. pseudintermedius* a capacidade de aderir, invadir e causar danos às células do hospedeiro, especialmente em condições predisponentes, como dermatite atópica e doenças imunomediadas (Bannoehr; Guardabassi, 2012).

O padrão ouro para o diagnóstico de MRSP é a detecção do gene *mecA* por técnicas de PCR (Bannoehr et al., 2007). Ainda que esta seja considerada a forma mais adequada de diagnóstico, a resistência à meticilina também pode ser determinada pelo uso do antibiograma com disco de oxacilina, com alta correlação com a identificação do gene *mecA* (Bemis et al., 2006; Botoni et al., 2016; Guardabassi

et al., 2017). Portanto, estafilococos resistentes à oxacilina não são sensíveis aos outros beta-lactâmicos (Guardabassi et al., 2017). Este método é mais simples e menos oneroso para a rotina diagnóstica de MRSP (Bemis et al., 2006).

No Brasil, autores demonstram alta prevalência da resistência microbiana em isolados de *S. pseudintermedius* em cães com piodermite (Lopes et al., 2015; Bourguignon et al., 2016; Botoni et al., 2016). Essas infecções representam um desafio considerável, pois podem acarretar falhas terapêuticas (Motta, 2018). Além disso, cães portadores, incluindo assintomáticos, podem atuar como reservatórios de MRSP, facilitando a disseminação dos genes de resistência para outros animais e seres humanos (Weese; Dijkereen, 2010).

Relativamente ao potencial zoonótico, estudos indicam que ocorre a transmissão de MRSP entre responsáveis e profissionais que lidam com cães (Guardabassi; Loeber; Jacobson, 2004; Hanselman et al., 2009). Casos esporádicos de infecção em humanos também foram documentados, frequentemente relacionados ao contato próximo com um cão (Kempker et al., 2009; Chuang et al., 2010; Riegel et al., 2011). Guardabassi, Loeber e Jacobson (2004), observaram que responsáveis de cães com piodermite por *S. pseudintermedius* apresentam maior risco de colonização por esse agente do que outros indivíduos não expostos a cães. É provável que o contato direto com as lesões seja um fator de risco para a aquisição do agente em humanos, fato que pode ser minimizado por meio de medidas básicas de higiene, incluindo a lavagem frequente das mãos; o uso de jalecos, aventais ou luvas descartáveis durante o manejo do animal; a limpeza e desinfecção regular do ambiente e de objetos em contato com o animal; além da implementação de práticas de isolamento até que o tratamento tenha sido iniciado e sinais clínicos de melhora sejam observados (Hanselman et al., 2009; Beco et al., 2013).

A prevalência de MRSP em cães foi estudada em diferentes países, apresentando taxas variáveis. No Canadá, um estudo com 173 cães com piodermite identificou 70 (40,5%) isolados como MRSP (Beck et al., 2012). Investigações na Coreia (Kang; Chung; Hwang, 2017) e na Colômbia (González-Domínguez et al., 2020), encontraram alta prevalência do gene *mecA* em *S. pseudintermedius*, com 41,9% e 62%, respectivamente. Em contraste, estudos na Argentina e na Holanda mostraram prevalências menores, de 10,7% (Vigo et al., 2015) e 8% (Vandamme et al., 2020), respectivamente.

No Brasil, a prevalência de MRSP como causador de piodermites em cães também apresenta ampla variação. O estudo de Bourguignon (2012), realizado na mesma instituição do presente trabalho, destacou-se por reportar uma das maiores prevalências já descritas no país. Foram coletadas amostras de 24 cães com piodermite, resultando em 72 isolados bacterianos identificados como *S. pseudintermedius* e 94,3% apresentaram o gene *mecA*. Outros estudos brasileiros reportaram prevalências menores, como 36,8% descrita por Botoni (2013) e 2% por Carvalho, L. (2020). Essa variação ressalta a importância de se compreender não apenas o perfil de resistência local, mas também as flutuações temporais na prevalência de MRSP para a seleção de opções terapêuticas mais eficazes (Guardabassi et al., 2017).

Além do gene *mecA*, MRSP pode carrear diversos outros genes que conferem resistência a outras classes de antimicrobianos, como tetraciclinas, fluoroquinolonas, aminoglicosídeos e macrolídeos (Quinn et al., 2005; Weese; Dijkereen, 2010). No Brasil, Botoni (2013), identificaram que 28% dos isolados de *S. pseudintermedius* eram resistentes a pelo menos seis antimicrobianos, sendo 62% resistentes à tetraciclina e 67% às sulfonamidas. No Japão, cepas de MRSP resistente a eritromicina, clindamicina, sulfametoxazol-trimetoprim, e levofloxacina foram detectadas em 30% dos cães avaliados. A maioria destes animais havia recebido agentes antimicrobianos nos últimos seis meses (Sasaki et al., 2007). Nienhoff et al. (2011) também encontraram associação relevante entre hospitalização prévia e uso de antibióticos com a prevalência do gene *mecA* em cães admitidos em hospital. Ainda há pouco entendimento sobre os fatores de risco que contribuem para infecções por MRSP. Contudo, estas evidências sugerem que o histórico de antibioticoterapia, a realização de procedimentos cirúrgicos e a internação hospitalar sejam fatores que possam favorecer a seleção de isolados multirresistentes (Sasaki et al., 2007; Nienhoff et al., 2011; Viegas et al., 2022).

Diante do desafio da resistência a MRSP, o tratamento tópico deve ser priorizado, sendo desaconselhado o uso empírico de antimicrobianos sistêmicos (Morris et al., 2017). Há evidências consistentes sobre a eficácia da clorexidina 2% e 4% e, em menor grau, do peróxido de benzoíla no manejo de piodermites caninas (Hillier et al., 2014). Além disso, combinações de clorexidina e miconazol, ácido fusídico, mupirocina e soluções de hipoclorito de sódio demonstraram boa eficácia no tratamento de lesões superficiais causadas por *S. pseudintermedius* (Hillier et al.,

2014; Morris et al., 2017). Esses agentes estão disponíveis em diversas formulações tópicas, como xampus, loções, géis, cremes e pomadas que podem ser escolhidas de acordo com a distribuição e profundidade das lesões (Mueller et al., 2012).

Caso a terapia sistêmica seja necessária, a realização de cultura e antibiograma é recomendada para garantir a escolha adequada do antibiótico e, sempre que possível, deve-se associar a terapia tópica para otimizar o tempo de tratamento (Hillier et al., 2014). Além disso, é fundamental a identificação e controle da causa subjacente para reduzir a incidência de recidivas, e consequentemente o uso indiscriminado de antimicrobianos na rotina dermatológica (Miller; Griffin; Campbell, 2012).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Aspectos éticos

Trata-se de um estudo prospectivo e teve aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA-UFV) sob o número de protocolo 32/2022 (Anexo).

4.2. Amostras

Foram selecionados 35 cães com piodermite superficial e/ou profunda, atendidos no HVT/DVT, entre novembro de 2022 e fevereiro de 2023. O critério de inclusão foi a apresentação de sinais clínicos e/ou citológicos característicos de piodermite superficial e profunda, sendo primária ou secundária, na primoapresentação ou recorrente, apresentando ou não doença concomitante, sem que houvesse predileção por raça, sexo ou idade.

4.3. Isolamento e identificação fenotípica dos isolados

Foram coletadas 35 amostras de lesões dermatológicas, classificadas em colarinho epidérmico, crosta, pústula, fístula e pápula, utilizando *swabs* estéreis, armazenadas em meio de *Stuart* em até 48 horas, sob refrigeração. Posteriormente, as mesmas foram cultivadas em Ágar Sangue de Carneiro 5% e colocadas em estufa a 37°C, durante 24 horas. Três colônias isoladas de cada amostra clínica foram submetidas à análise morfológica, de hemólise e coloração de Gram, além de testes de catalase, coagulase, Voges Proskauer e DNase para sua identificação fenotípica, conforme protocolos descritos por Bannoehr e Guardabassi (2012) e Quinn et al (2005). Os isolados foram armazenados em caldo de infusão de cérebro e coração (BHI, Oxoid) adicionado de 20% de glicerol e mantidos a -22°C para estoque e uso posterior.

4.4. Avaliação genotípica

4.4.1 Extração de DNA

Para extração de DNA, os isolados previamente armazenados a -22°C foram descongeladas à temperatura ambiente (25°C). Os isolados foram então estriados em ágar BHI e incubados a 37°C por 24 horas. Após o crescimento, uma colônia foi coletada com auxílio de uma alça bacteriológica e inoculada em microtubos contendo 20 microlitros de água Mili-Q. Posteriormente este material foi submetido a uma temperatura de 100°C durante 20 minutos para liberação do DNA. Após a fervura, os isolados foram centrifugados a 10.000 rpm durante 5 minutos e o sobrenadante foi transferido para um novo microtubo e armazenado em freezer a -22°C.

4.4.2 Identificação genotípica de *S. pseudintermedius*

A realização de PCR permitiu a confirmação da identidade do *S. pseudintermedius* utilizando a amplificação do gene da termonuclease (*nuc*), conforme descrito por Sasaki et al. (2010). Esse método foi selecionado por ser mais simples e rápido em comparação ao protocolo descrito por Bannoehr et al. (2009), utilizado por Bourguignon (2012), mantendo sensibilidade e especificidade equivalentes para essa identificação (Bannoehr; Guardabassi, 2012).

Os *primers* utilizados foram F2 TRGGCAGTAGGATTTCGTAA e R5 CTTTGTGCTYCMTTTTGG. Cada reação, foi realizada com volume final de 25 microlitros, utilizando-se o kit GoTaq® Green Master Mix (Promega), seguindo-se o protocolo: desnaturação a 95°C durante 2 minutos; 35 ciclos de amplificação, que compreende: desnaturação a 95°C durante 30 segundos, anelamento a 56°C durante 35 segundos e extensão a 72°C durante 60 segundos e, por fim, a extensão final a 72°C durante 2 minutos.

Foi utilizado como controle positivo uma estirpe de referência de *S. pseudintermedius* e, como controle negativo, água Milli-Q estéril. Os produtos amplificados foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1,5% com marcador molecular de 1000 bp (Thermo Scientific) e visualizados sob luz ultravioleta. Os isolados que apresentaram produto de PCR com 926 pb foram classificados como *S. pseudintermedius*.

4.4.3 Identificação do gene *mecA*

Para determinar a presença do gene *mecA* foi usado o método de PCR descrito por Murakami et al. (1991). Os *primers* utilizados foram F AAAATCGATGGTAAAGGTTGGC e R AGTTCTGCAGTACCGGATTTGC. Cada reação de PCR foi realizada com um volume final de 25 microlitros, utilizando o kit GoTaq® Green Master Mix (Promega), seguindo-se o protocolo de desnaturação a 94°C durante 2 minutos, seguido de 39 ciclos de amplificação (desnaturação a 94°C durante 30 segundos, anelamento a 55°C durante 30 segundos e extensão a 72°C durante 60 segundos) e extensão final a 72°C durante 5 minutos.

Os produtos amplificados também foram analisados por eletroforese em gel de agarose a 1,5% com marcador molecular de 100 bp (Thermo Scientific) e visualizados sob luz ultravioleta. O controle positivo utilizado foi uma estirpe de referência de *S. pseudintermedius*, positiva para o gene *mecA*, enquanto o controle negativo foi água Milli-Q estéril. Isolados que apresentaram produto de PCR com 533 pb foram classificados como positivos para o gene *mecA*.

4.5. Antibiograma

Os perfis de resistência antimicrobiana foram determinados para todos os isolados de *S. pseudintermedius* pelo método de difusão em disco em ágar Mueller-Hinton (Oxoid), de acordo com as diretrizes do *Clinical and Laboratory Standards Institute* humano (CLSI, 2023) e veterinário (CLSI VET01S, 2023). Foram utilizados discos de penicilina (10 µg), oxacilina (1 µg), enrofloxacina (5 µg), ciprofloxacina (5 µg), gentamicina (10 µg), clindamicina (2 µg), azitromicina (15 µg), doxiciclina (30 µg) e sulfametoxazol-trimetoprima (1,25/23,75 µg) (Cefar Diagnóstica Ltda). Os agentes foram selecionados por sua relevância para a prática clínica de pequenos animais e como representantes das classes beta-lactâmicos, quinolonas, aminoglicosídeos, macrolídeos, lincosamidas, tetraciclinas e sulfonamidas, segundo as diretrizes do CLSI humano e veterinário (2023). Os resultados foram interpretados de acordo com os diâmetros dos halos de inibição formados e os mesmos foram registrados como sensível (S), intermediário (I) ou resistente (R).

4.6. Análise estatística

Para a análise dos dados foi utilizado o *Statistical Analysis System* (SAS OnDemand). Os dados de frequência foram arranjados em tabelas de contingência e analisados pelo teste exato de Fisher (tabelas 2×2) ou pelo teste de Freeman-Halton (tabelas $l \times c$) (Freq Procedure). O nível de significância adotado foi $\alpha = 0,05$.

Os resultados dos antibiogramas foram dicotomizados (resistência e resistência intermediária = 1; sensível = 0) e foram utilizados em análise de *cluster*. A análise foi efetuada utilizando o método *K-means clustering* (*Fastclus Procedure*). Foram utilizadas, no máximo, 100 iterações para refinar os *clusters* e o procedimento utilizou a métrica de distância euclidiana para avaliar a semelhança entre os pontos de dados.

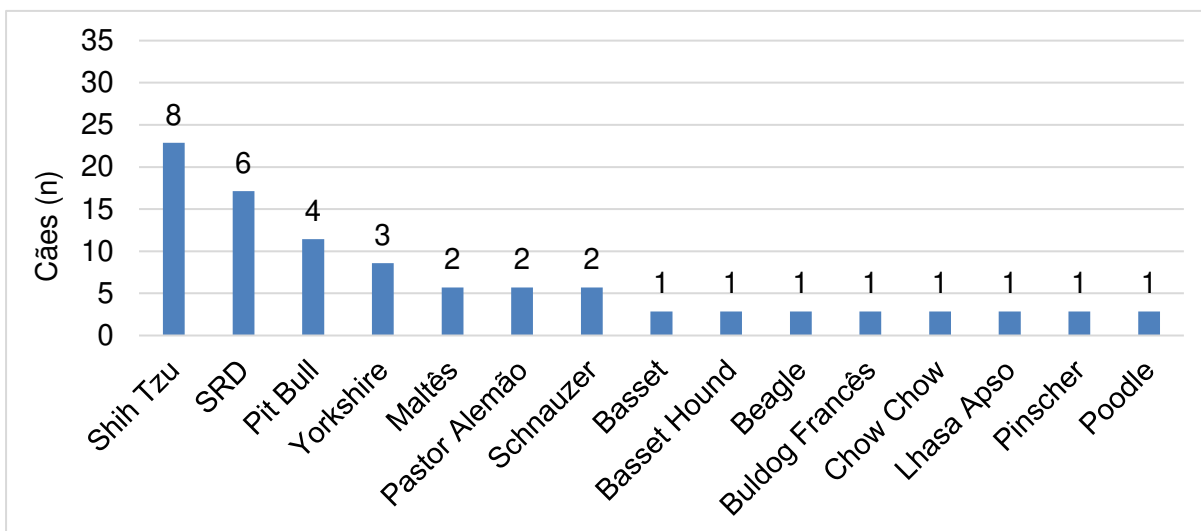
Posteriormente, foi efetuada análise discriminante (*Candisc Procedure*) para avaliar a separação entre os *clusters* identificados. Foi gerado um gráfico de dispersão (*Sgplot Procedure*) para visualizar a separação entre os *clusters*.

5. RESULTADOS

5.1. Caracterização da população

Nos 35 cães incluídos no estudo, a piodermite superficial foi a apresentação clínica mais frequente (91,43%; $n = 32$) seguida pela piodermite profunda (8,57%; $n = 3$). A idade média dos animais foi de 7,35 anos (0,5 – 14) sendo 18 fêmeas (51,42%) e 17 (48,57%) machos. Em 8 cães (22,85%) foi possível identificar a causa subjacente, que incluiu dermatite atópica canina (5,71%; $n = 2$), hipersensibilidade alimentar (2,85%; $n = 1$), hipercortisolismo (2,85%; $n = 1$), reação ao corpo estranho (2,85%; $n = 1$), cisto epidermoide (2,85%; $n = 1$), pênfigo eritematoso (2,85%; $n = 1$) e carcinoma de células escamosas (2,85%; $n = 1$). A figura 1 representa a distribuição racial dos cães selecionados.

Figura 1 - Distribuição racial dos 35 cães selecionados para o estudo, detalhando a quantidade de indivíduos de cada raça presente na população analisada.



Fonte: Elaboração própria.

5.2. Histórico de uso de antimicrobianos

Em 34,29% ($n = 12$) dos cães foi relatado o uso prévio de antimicrobianos em um período de até seis meses precedentes ao estudo, sendo a amoxicilina potencializada, o fármaco mais utilizado (50%; $n = 6$). Também foram mencionados o uso de cefalexina, doxiciclina, clindamicina, enrofloxacina e associação de

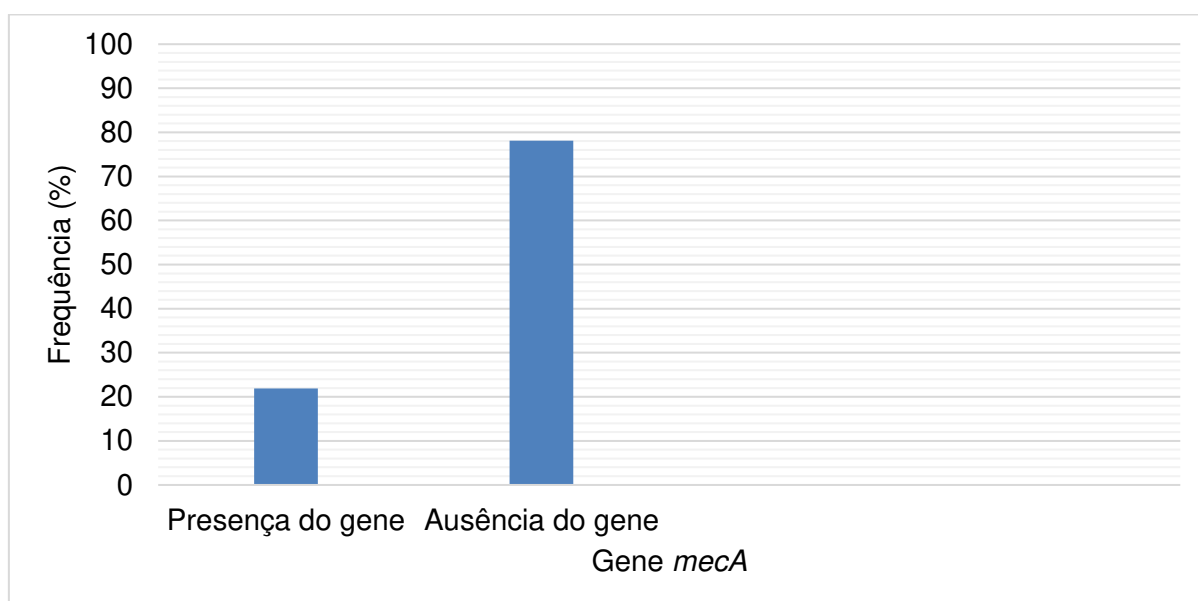
metronidazol e sulfadimetoxina. Embora o estudo tenha investigado o uso de antimicrobianos, não foi possível determinar com precisão os motivos para sua utilização, sugerindo que os fármacos possam ter sido empregados para diversas indicações além do tratamento de piodermites. Nos 23 cães restantes, não foi relatado uso anterior de antimicrobianos.

5.3. Identificação dos isolados

Foram coletados 105 isolados a partir de 35 amostras clínicas para a avaliação fenotípica. Todas as amostras foram positivas para hemólise, coloração de gram, catalase, coagulase e DNase. A produção de acetoina foi positiva em apenas 7,61% (n = 8) das amostras. Com isso, na análise microbiológica, 92,38% (n = 97) das amostras pertenciam ao grupo SIG, enquanto 7,61% (n = 8) apresentaram-se como bactérias diversas, não pertencentes a esse grupo.

Na avaliação genotípica, o gene *nuc* foi detectado em 91,42% (n = 96) das amostras, e em 21,87% (n = 21), foi detectado o gene *mecA* (Figura 2). Dos 35 cães incluídos neste estudo, 37,14% (n = 13) apresentaram pelo menos uma cepa portadora do gene *mecA*. Os 8 isolados não classificados como *S. pseudintermedius* foram excluídos do antibiograma e da pesquisa do gene de resistência.

Figura 2 – Resultado do teste de PCR para identificação de gene *mecA* em 96 amostras de *S. pseudintermedius* de cães com piodermite.



Fonte: Elaboração própria.

5.4. Relação de terapia antimicrobiana prévia com o antibiograma

Não houve associação significativa de terapia antimicrobiana até seis meses prévios ao estudo com a frequência de resistência à gentamicina ($p = 0,0599$), enrofloxacina ($p = 0,1526$) e ciprofloxacina ($p = 0,1201$). Contudo, a terapia antimicrobiana prévia esteve significativamente associada à frequência de resistência à penicilina ($p = 0,0476$), oxacilina ($p = 0,0009$), azitromicina ($p = 0,0005$), clindamicina ($p < 0,0001$), doxiciclina ($p < 0,0001$) e sulfametoxazol-trimetoprima ($p = 0,0094$).

5.5. Perfil de resistência a antimicrobianos e relação com MRSP

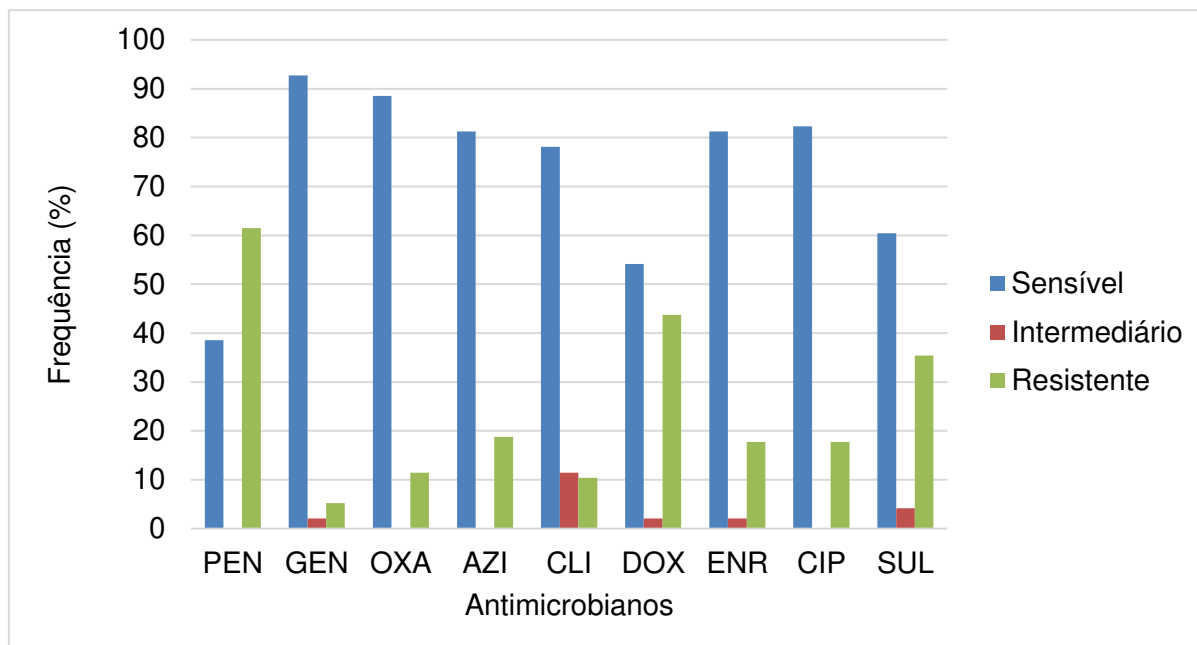
O perfil geral de resistência a antimicrobianos demonstrou que 75% ($n = 72$) das amostras apresentaram resistência a pelo menos um antimicrobiano; destas, 3,12% ($n = 3$) eram resistentes a todos os antimicrobianos testados. A penicilina foi o fármaco que apresentou maior resistência (61,45%; $n = 59$), seguida por doxiciclina (43,75%; $n = 42$) e sulfametoxazol-trimetoprima (35,41%; $n = 34$) (Tabela 1, figura 3). Dos 96 isolados, 88,54% ($n = 85$) foram susceptíveis à oxacilina, e 11,45% ($n = 11$) foram resistentes.

Tabela 1 – Perfil geral de resistência a antimicrobianos de 96 isolados de *S. pseudintermedius*, de acordo com CLSI (2023).

Antimicrobianos	Perfil de sensibilidade		
	Sensível (%)	Intermediário (%)	Resistente (%)
Penicilina	38,54% ($n = 37$)	0%	61,45% ($n = 59$)
Gentamicina	92,70% ($n = 89$)	2,08% ($n = 2$)	5,20% ($n = 5$)
Oxacilina	88,54 % ($n = 85$)	0%	11,45 % ($n = 11$)
Azitromicina	81,25% ($n = 78$)	0%	18,75% ($n = 18$)
Clindamicina	78,12% ($n = 75$)	11,45% ($n = 11$)	10,41% ($n = 10$)
Doxiciclina	54,16% ($n = 52$)	2,08% ($n = 2$)	43,75% ($n = 42$)
Enrofloxacina	81,25% ($n = 78$)	2,08% ($n = 2$)	17,70% ($n = 17$)
Ciprofloxacina	82,29% ($n = 79$)	0%	17,70% ($n = 17$)
Sulfametoxazol-trimetoprima	60,41% ($n = 58$)	4,16% ($n = 4$)	35,41% ($n = 34$)

Fonte: Elaboração própria.

Figura 3 – Perfil geral de resistência a antimicrobianos de 96 isolados de *S. pseudintermedius*, de acordo com CLSI (2023).



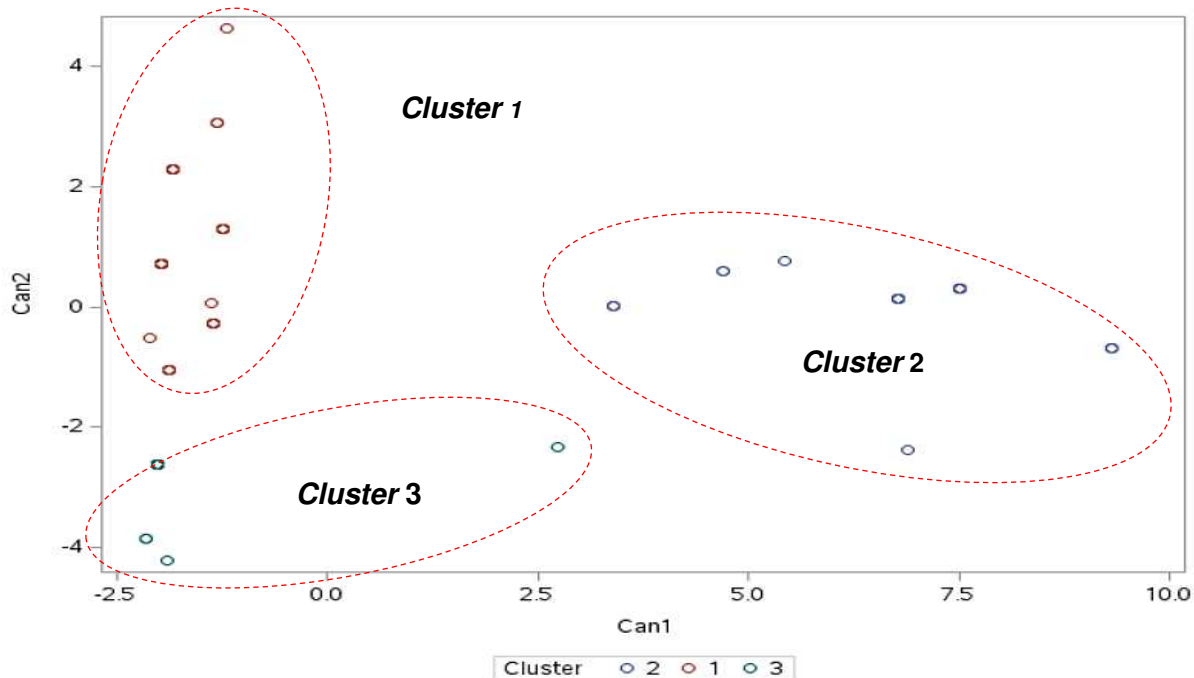
PEN: penicilina; OXA: oxacilina; GEN: gentamicina; AZI: azitromicina; CLI: clindamicina; DOX: doxiciclina; ENR: enrofloxacina; CIP: ciprofloxacina; SUL: sulfametoxazol-trimetoprima. Fonte: Elaboração própria.

Não houve associação significativa entre a presença do gene *mecA* e o histórico de terapia antimicrobiana ($p = 0.1945$). Com relação ao antibiograma, não houve associação significativa da presença do gene *mecA* com a resistência à penicilina ($p = 0,1355$), doxiciclina ($p = 0,3348$) e sulfametoxazol-trimetoprima ($p = 0,1201$) (Figura 2). Por outro lado, a presença do gene *mecA* esteve significativamente associada à resistência à oxacilina ($p < 0,0001$), gentamicina ($p = 0,0006$), azitromicina ($p < 0,0001$), clindamicina ($p = 0,0006$), enrofloxacina ($p < 0,0001$) e ciprofloxacina ($p < 0,0001$).

5.6. Análise de *cluster*

A partir dos dados dos antibiogramas foi possível visualizar a formação de três *clusters* (Figura 4). Ao se avaliar a resistência observada de acordo com cada *cluster* (Tabela 2), nota-se que a presença do gene *mecA* esteve relacionada a diferentes perfis de resistência, embora a maior parte das amostras *mecA* (+) tenham sido agrupadas no *cluster* 2, que foi o *cluster* que apresentou as maiores frequências de resistência aos antimicrobianos avaliados.

Figura 4 – Formação dos *clusters* baseados nos resultados do antibiograma pela ferramenta *Sgplot Procedure*.



Fonte: Elaboração própria.

Tabela 2 – Caracterização dos *clusters* baseados nos resultados do antibiograma.

Característica	Cluster		
	1	2	3
N	58	20	18
<i>mecA</i> (+) (%)	12,07 (n = 7)	55,00 (n = 11)	16,67 (n = 3)
<i>Resistência observada no antibiograma (%)</i>			
Penicilina	36,21	100,00	100,00
Oxacilina	0,00	55,00	0,00
Gentamicina	0,00	35,00	0,00
Azitromicina	0,00	85,00	5,56
Clindamicina	3,45	80,00	16,67
Doxiciclina	41,38	95,00	5,56
Enrofloxacina	0,00	85,00	5,56
Ciprofloxacina	0,00	85,00	0,00
Sulfametoxazol- trimetoprima	32,76	95,00	0,00

Fonte: Elaboração própria.

6. DISCUSSÃO

Ao comparar os resultados deste estudo com os obtidos por Bourguignon (2012) na mesma instituição, observou-se que a piodermite superficial continua sendo a apresentação clínica mais frequente, com 91,43% de prevalência no estudo atual e 96% no estudo anterior, alinhando-se também ao que cita a literatura sobre as dermatopatias de maior ocorrência em cães (Miller; Griffin; Campbell, 2012). A faixa etária média dos animais, 7,35 anos, também está em consonância com os resultados apresentados por Bourguignon (2012), que descreve uma média de 6,62 anos. A piodermite pode afetar cães de todas as idades, embora seja mais frequentemente diagnosticada em animais de meia idade, possivelmente, devido à natureza secundária a outras condições patológicas (Botoni, 2013; Seckerdieck; Mueller, 2018).

Em relação ao sexo, o estudo de Bourguignon (2012) reportou um discreto predomínio de fêmeas (64%), enquanto o presente estudo observou uma distribuição quase equilibrada, com 51,42% de fêmeas. Essa pequena diferença na distribuição de sexo pode ser atribuída a variações amostrais, considerando que estudos, como os de Nienhoff et al. (2011) e Viegas et al. (2022), também não encontraram predisposição sexual clara para a doença.

Quanto à distribuição racial, no estudo de Bourguignon (2012), 32% (n = 8) dos cães eram sem raça definida (SRD), o que pode refletir a prevalência dessa população na área de estudo. O estudo atual também encontrou alta prevalência de cães sem raça definida (17,14%; n = 6), corroborando a relevância dessa população na região. Além disso, o estudo atual observou uma maior prevalência da raça Shih Tzu (22,85%; n = 8), um achado que também foi destacado por M. Carvalho (2020). No entanto, como apontado por Miller, Griffin e Campbell (2012), ainda não é possível afirmar que há uma predisposição racial para a piodermite, uma vez que todas as raças podem ser suscetíveis.

No estudo de Bourguignon (2012), a causa mais comum da piodermite superficial foi a dermatite alérgica à picada de pulga, enquanto a piodermite profunda foi associada à demodicose. No presente estudo, as causas alérgicas, como dermatite atópica canina e hipersensibilidade alimentar, também desempenharam um papel importante no desenvolvimento da piodermite superficial, totalizando 8,56% (n = 3) dos casos com diagnóstico de causas subjacentes. Esses achados corroboram

com outros autores, como Bannoehr et al. (2007) e Seckerdieck e Mueller (2018), que destacam a importância dessas condições na predisposição à piodermite. No entanto, a porcentagem relativamente baixa (22,86%; $n = 8$) de casos com diagnóstico claro da causa subjacente é apoiada pela literatura, que sugere que diversos casos de piodermite podem ter etiologias multifatoriais ou não claramente definidas (Botoni, 2013). Fatores como o tamanho amostral reduzido e a falta de dados completos nos prontuários clínicos podem ter influenciado a baixa identificação da causa subjacente, considerando-se que, pacientes que mantenham acompanhamento veterinário periódico e prolongado, geralmente possuem uma causa identificada ao longo do tempo.

No presente estudo, 34,29% ($n = 12$) dos cães haviam sido tratados com antimicrobianos nos últimos seis meses, com destaque para o uso de amoxicilina potencializada. Resultados semelhantes foram relatados por Bourguignon (2012), estudo no qual 37,4% ($n = 9$) dos cães receberam tratamento com antimicrobianos previamente e, nesse caso, a cefalexina foi o fármaco mais utilizado.

A piodermite é uma das dermatopatias para as quais existe indicação para o uso de antimicrobianos sistêmicos em cães, e, portanto, pacientes encaminhados ao serviço de dermatologia, frequentemente já possuem histórico de uso desses fármacos e apresentam predisposição para ocorrência de infecções recorrentes (Beco et al., 2013; Sousa et al., 2022). Os beta-lactâmicos são recomendados pela literatura como opções de primeira escolha para o tratamento empírico de piodermite em cães (Beco et al., 2013; Hillier et al., 2014), especialmente na ausência de cultura bacteriana, o que justifica sua alta frequência nos estudos consultados.

A prevalência de 91,4% ($n = 96$) de isolados identificados como *S. pseudintermedius* está em consonância com a outros estudos brasileiros, que apresentam variação de 72% a 96% de prevalência do agente (Bourguignon, 2012; Carvalho, L., 2020; Viegas et al., 2022). A predominância dessa bactéria nas infecções cutâneas em cães justifica a alta prevalência observada tanto neste estudo quanto nos estudos comparativos (Sasaki et al., 2007; Bannoehr; Guardabassi, 2012).

A detecção do gene *mecA* em 21,87% ($n = 21$) dos isolados está dentro do intervalo esperado, conforme relatado na literatura brasileira, que apresenta taxas de prevalência de MRSP em cães com piodermite variando de 2% a 94,3% (Bourguignon et al., 2016; Botoni, 2016; Carvalho, L., 2020; Viegas et al., 2022). No entanto, os resultados divergem daqueles encontrados por Bourguignon et al. (2016), que

relataram a presença do gene *mecA* em 94% das suas amostras. Uma possível justificativa para essa discrepância, pode ser atribuída às mudanças nas práticas de prescrição de antimicrobianos sistêmicos nos serviços do HVT/DVT. Nos últimos dez anos, assim como as preocupações sobre a prevalência de MRSP aumentaram, a literatura também passou a refletir uma ênfase crescente na importância do uso racional de antimicrobianos (Kadlec; Schwarz, 2012; Zur; Gurevich; Elad, 2016; Morris et al., 2017).

A implementação das diretrizes internacionais (Beco et al., 2013; Hillier et al., 2014; Morris et al., 2017) para o diagnóstico e tratamento da piodermite em cães atendidos no HVT/DVT foi fundamental para priorizar a terapia tópica, especialmente em casos superficiais, reservando os antimicrobianos sistêmicos a casos de piodermite profunda, infecções disseminadas graves ou situações em que a terapia tópica não era viável. Essa abordagem diminui a exposição sistêmica a antimicrobianos, reduzindo a pressão seletiva sobre a microbiota, o que pode ter contribuído para redução da resistência no local de estudo (Schwarz; Loeffler; Kadlec, 2017).

A associação entre a presença do gene *mecA* e a resistência à oxacilina *in vitro* é amplamente descrita na literatura (Bemis et al., 2006; Botoni et al., 2016; Stein, 2020). Apesar disso, este estudo indica que essa associação não foi consistente em todos os isolados. Similarmente relatado por Bourguignon et al. (2016), uma proporção significativa de isolados que possuem o gene *mecA* (47,61%; n = 10) não expressaram resistência detectável à oxacilina. Esse resultado pode ser atribuído à expressão variável do gene de resistência, influenciada por baixos níveis de expressão ou por regulação dependente de condições ambientais específicas. Essa heterogeneidade representa um desafio clínico e diagnóstico, podendo levar a resultados falso-negativos em testes de suscetibilidade e subestimar o potencial de resistência dos isolados (Kadlec; Schwarz, 2012).

No estudo de Bourguignon (2012), 76,38% dos isolados apresentaram resistência a pelo menos um antimicrobiano, com as maiores taxas de resistência observadas, em ordem decrescente, para amoxicilina, sulfametoxazol, azitromicina e clindamicina. O estudo atual identificou 77,14% de resistência a pelo menos um antimicrobiano, sendo a penicilina o fármaco com maior resistência (61,45%), seguida por doxiciclina (43,75%) e sulfametoxazol-trimetoprima (35,41%). Embora ambos os estudos indiquem alta prevalência de resistência nos isolados, as diferenças nos perfis

de resistência reforçam a hipótese de que alterações nas práticas de prescrição de antimicrobianos podem influenciar a pressão seletiva exercida sobre as bactérias locais. Adicionalmente, outros estudos brasileiros, como os de Botoni (2013) e Carvalho, L. (2020), também reportaram altas taxas de resistência às penicilinas, doxiciclina e sulfametoxazol-trimetoprima.

Embora o gene *mecA* não tenha demonstrado associação direta com essa resistência, *S. pseudintermedius* pode carregar outros genes responsáveis pela resistência a múltiplas classes de antimicrobianos, limitando as opções terapêuticas (Quinn et al., 2005; Weese; Dijkereen, 2010). Genes de resistência à penicilina (*blaZ*), à tetraciclina (*tet*) e à trimetoprima (*dhfrG*) já foram identificados em isolados de *S. pseudintermedius* (Kadlec; Schwarz, 2012; Teixeira et al., 2023).

Não foi identificada associação significativa entre a antibioticoterapia prévia e a presença do gene *mecA*, resultado similar ao encontrado por Botoni (2013) e M. Carvalho (2020). Porém, este histórico foi associado à resistência a diversos antimicrobianos, incluindo penicilina, oxacilina, azitromicina, clindamicina, doxiciclina e sulfametoxazol-trimetoprima. A dependência de informações fornecidas por tutores e médicos veterinários, muitas vezes imprecisas ou incompletas, como sugerido por Botoni (2013), pode limitar a precisão do histórico de antibioticoterapia, impactando a associação entre o uso de antimicrobianos e a presença de determinados genes de resistência. Por outro lado, a associação observada entre a terapia antimicrobiana prévia e a resistência a uma ampla gama de antimicrobianos, sugere que o uso indiscriminado e/ou inadequado desses fármacos, possa favorecer a seleção de isolados multirresistentes, incluindo por outros mecanismos de resistência independentes do gene *mecA* (Guardabassi; Loeber; Jacobson, 2004). Estudos anteriores demonstraram que administração prolongada e frequente de beta-lactâmicos em cães aumentam a probabilidade de infecções subsequentes serem causadas por MRSP, reforçando a necessidade de cautela no uso de antibióticos em animais com histórico de tratamentos anteriores (Guardabassi; Loeber; Jacobson, 2004; Zur; Gurevich; Elad, 2016).

As menores taxas de resistência foram observadas para gentamicina (5,20%; n = 5), clindamicina (10,41%; n = 10), enrofloxacin (17,70%; n = 17), ciprofloxacina (17,70%; n = 17) e azitromicina (18,75%; n = 18), e esses resultados estão alinhados com os encontrados por M. Carvalho (2020). Ao comparar com estudo de Bourguignon (2012), as taxas de resistência para enrofloxacin e ciprofloxacina foram

próximas aos 20%, o que é semelhante aos achados do presente estudo. Por outro lado, estudos como os de Perreten et al. (2010), Bardiau et al. (2013) e Teixeira et al. (2023) relataram taxas de resistência significativamente maiores para esses antimicrobianos, sugerindo que os padrões regionais de uso de antimicrobianos podem influenciar a seleção e disseminação de cepas resistentes.

A baixa resistência observada para esses antimicrobianos neste estudo pode estar relacionada ao uso cauteloso desses antimicrobianos em terapias sistêmicas. Com exceção da clindamicina, esses fármacos não são recomendados como primeira escolha para o tratamento, sendo indicados apenas quando há comprovação de suscetibilidade em antibiogramas, ou nos casos em que opções alternativas são ineficazes ou contraindicadas (Beco et al., 2013; Hillier et al., 2014). Apesar disso, foi observada uma associação entre a presença do gene *mecA* e a resistência a esses antimicrobianos, sugerindo que esse gene pode contribuir para a resistência cruzada entre diferentes classes (Schwarz; Loeffler; Kadlec, 2017).

Neste estudo, a amoxicilina com clavulanato e a cefalexina não foram testados diretamente, sendo a oxacilina utilizada como antimicrobiano para representar a classe dos beta-lactâmicos, conforme as recomendações do CLSI (2023) para *S. pseudintermedius*. A suscetibilidade à oxacilina foi de 88,54%, resultado que também observado por Bourguignon (2012) para esse antimicrobiano e outros beta-lactâmicos.

A análise dos antibiogramas identificou três *clusters* com perfis distintos de resistência antimicrobiana, destacando a heterogeneidade das amostras. O *cluster 2* exibiu o maior nível de resistência, com 55% dos isolados *mecA*-positivos e frequências elevadas de resistência à oxacilina e múltiplas classes de antimicrobianos, sugerindo maior influência de pressão seletiva, possivelmente associada a tratamentos prévios ou fatores ambientais (Schwarz; Loeffler; Kadlec, 2017). Em contraste, os *clusters 1* e *3* apresentaram menores frequências de isolados *mecA*-positivos (12,07% e 16,67%, respectivamente) e perfis de resistência menos amplos, embora o *cluster 3* tenha mostrado resistência à penicilina. Apesar da clara associação entre o gene *mecA* e elevados níveis de resistência, a variabilidade entre os perfis de resistência dos isolados *mecA*-positivos sugere a contribuição de outros mecanismos de resistência, como presença de outros genes de resistência, especialmente nos *clusters 1* e *3*.

Uma das limitações deste estudo foi a dificuldade de obtenção de informações precisas sobre o histórico de antibioticoterapia nos prontuários. Além disso, o número

reduzido de cães limita a generalização dos resultados e a aplicação de critérios humanos a patógenos de origem veterinária nos testes de suscetibilidade antimicrobiana, podendo não refletir com precisão a resistência clínica observada em cães. Além disso, a realização do estudo em um único hospital veterinário, introduz um viés geográfico, restringindo a aplicabilidade dos resultados para outras regiões.

7. CONCLUSÕES

S. pseudintermedius apresentou prevalência de 91,4% entre os isolados de amostras de cães com piodermite.

Os antimicrobianos com as maiores taxas de resistência foram penicilina, doxiciclina e sulfametoxazol-trimetoprima. Apesar disso, os beta-lactâmicos, com exceção da penicilina, mostraram-se ainda como alternativas empíricas viáveis para o tratamento de piodermite canina.

O gene *mecA* foi detectado em 21,9% dos isolados de *S. pseudintermedius*.

A comparação com os resultados obtidos em 2012 mostrou que mudanças nas práticas terapêuticas, como a priorização da terapia tópica e a restrição do uso de antimicrobianos sistêmicos a casos graves, contribuíram para a redução da prevalência de MRSP na mesma instituição.

REFERÊNCIAS

- BANNOEHR, J.; FRANCO, A.; IURESCEIA, M.; BATTISTI, A.; FITZGERALD, J. R. Molecular diagnostic identification of *Staphylococcus pseudintermedius*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 47, n. 2, p.469–471, 2009. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19091817/>. Acesso em: 05 de abr. 2023.
- BANNOEHR, J.; GUARDABASSI, L. *Staphylococcus pseudintermedius* in the dog: taxonomy, diagnostics, ecology, epidemiology and pathogenicity. **Veterinary Dermatology**, v. 23, n. 4, p. 253, 2012. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-3164.2012.01046.x>. Acesso em: 14 de abr. 2023.
- BANNOEHR, J.; ZAKOUR, N. L. B.; WALLER, A. S.; GUARDABASSI, L.; THODAY, K. L.; VANDENBROEK, A. H. M.; FITZGERALD, J. R. Population genetic structure of the *Staphylococcus intermedius* group: insights into *agr* diversification and the emergence of methicillin-resistant strains. **Journal of Bacteriology**, v. 189, n. 23, 2007. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2168937/>. Acesso em: 20 de jul. 2023.
- BARDIAU, M.; YAMAZAKI, K.; OTE, I.; MISAWA, N.; MAINIL, J. G. Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from dogs and cats. **Microbiology and Immunology**, v. 57, n. 7, p. 496-501, 2013. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1348-0421.12059>. Acesso em: 04 de jan. 2025.
- BECK, K. M.; WAISGLASS, S. E.; DICK, H. L. N.; WEESE, S. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) from skin and carriage sites of dogs after treatment of their methicillin-resistant or methicillin-sensitive staphylococcal pyoderma. **Veterinary Dermatology**, v. 23, n. 4, p. 1–9, 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22364707/>. Acesso em: 20 de jul. 2023.
- BECO, L.; GUAGUÈRE, E.; LORENTE MÉNDEZ, C.; NOLI, C.; NUTTALL, T.; VROOM, M. Suggested guidelines for using systemic antimicrobials in bacterial skin infections: part 2 - antimicrobial choice, treatment regimens and compliance. **Veterinary Record**, v.172, n. 6, p.156-60, 2013. Disponível em: <https://bvajournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1136/vr.101070>. Acesso em: 04 de jan. 2025.
- BEMIS, D. A.; JONES, R. D.; HIATT, L. E.; OFORI, E. D.; ROHRBACH, B. W.; FRANK, L. A.; KANIA, S. A. Comparison of tests to detect oxacillin resistance in *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus schleiferi*, and *Staphylococcus aureus* isolates from canine hosts. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 44, n. 9, p. 3374–3376, 2006. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16954277/>. Acesso em: 20 de jul. 2023.
- BLACK, C. C.; SOLYMAN, S. M.; EBERLEIN, L. C.; BEMIS, D. A.; WORON, A. M.; KANIA, S. A. Identification of a predominant multilocus sequence type, pulsed-field gel electrophoresis cluster, and novel staphylococcal chromosomal cassette in clinical isolates of *mecA*-containing, methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*.

Veterinary Microbiology, v. 139, p. 333–338, 2009. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378113509003149>. Acesso em: 10 de abr. 2023.

BLAIOTTA, G.; FUSCO, V.; ERCOLINI, D.; PEPE, O.; COPPOLA, S. Diversity of *Staphylococcus* species strains based on partial *kat* (catalase) gene sequences and design of a pcr-restriction fragment length polymorphism assay for identification and differentiation of coagulase-positive species (*S. aureus*, *S. delphini*, *S. hyicus*, *S. intermedius*, *S. pseudintermedius*, and *S. schleiferi* subsp. *coagulans*). **Journal of Clinical Microbiology**, v. 48, n. 1, p. 192–201, 2010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19889901/>. Acesso em: 24 de out. 2024.

BOTONI, L. S. Prevalência de *Staphylococcus pseudintermedius* resistente à meticilina (MRSP) em cães com piodermite superficial atendidos no Hospital Veterinário da UFMG entre março e julho de 2013. **Dissertação** (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 2013.

BOTONI, L. S.; SHERER, C. B.; SILVA, R. O.; COURA, F. M.; HEINEMANN, M. B.; PAES - LEME, F. O. P.; COSTAL-VAL, A. P. Prevalence and in vitro susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) from skin and nostrils of dogs with superficial pyoderma. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 36, n. 12, p. 1178–1180, 2016. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pvb/a/xCFsBst55VCQR6JcynFwnYt/>. Acesso: 04 de mai. 2024.

BOURGUIGNON, E. D. S. Identificação e perfil de resistência a antimicrobianos de *Staphylococcus pseudintermedius* isolados de piodermite canina. 2012. **Dissertação** (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2012.

BOURGUIGNON, E.; CORSINI, C. M. M.; MOREIRA, M. A. S.; NERO, L. A.; CONCEIÇÃO, L. G. Description of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* from canine pyoderma in Minas Gerais state, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 68, n. 2, p. 299–306, 2016. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abmvz/a/TVHV9Fcw4FF5zjz4m9rQqHr/?format=pdf>. Acesso em: 10 de abr. 2023

CARVALHO, L. G. Ocorrência, identificação de fatores predisponentes e caracterização de *Staphylococcus spp.* resistentes à meticilina em cães. 2020. 100 f. **Dissertação** (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, 2020.

CARVALHO, M. A. Detecção do gene *mecA* e perfil de resistência antimicrobiana em isolados de piodermite caninas no município de Botucatu (Brasil). 2020. 120 f. **Dissertação** (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus Botucatu, Universidade Estadual Paulista – UNESP, Botucatu, SP, 2020.

CHUANG, C. Y.; YANG, Y. L.; HSUEJ, P. R.; LEE, P. I. Catheter-related bacteremia caused by *Staphylococcus pseudintermedius* refractory to antibiotic-lock therapy in a

hemophilic child with dog exposure. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 48, n. 4, p. 1497–1498, 2010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20164279/>. Acesso em: 10 de abr. 2023.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility test for bacteria isolated from animals. 5. ed. Wayne, Pennsylvania: CLSI, 2023. Disponível em: <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m100/>. Acesso em: 01/03/2023.

DECRISTOPHORIS, P.; FASOLA, A.; BENAGLI, C.; TONOLLA, M.; PETRINI, O. Identification of *Staphylococcus intermedius* Group by MALDI-TOF MS. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 34, p. 45–51, 2011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21300509/>. Acesso em: 04 de mai. 2024.

DEVRIESE, L. A.; VANCANNEYT, M.; BAELE, M.; VANEECHOUTTE, M.; DEGRAEF, E.; SNAUWAERT, C.; CLEENWERCK, I.; DAWYNDT, P.; SWINGS, J.; DECOSTERE, A.; HAESEBROUCK, F. *Staphylococcus pseudintermedius* sp. nov., a coagulase positive species from animals. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 55, p. 1569–1573, 2005. Disponível em: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/ijs.0.63413-0>. Acesso em: 10 de abr. 2023.

GHEBREMEDHIN, B.; LAYER, F.; KONIG, W.; KONIG, B. Genetic Classification and Distinguishing of *staphylococcus* species based on different partial *gap*, *16S rRNA*, *hsp60*, *rpoB*, *sodA*, and *tuf* gene sequences. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 46, n. 3, p. 1019–1025, 2008. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/jcm.02058-07>. Acesso em: 10 de abr. 2023.

GONZÁLEZ-DOMINGUEZ, M. S.; CARVAJAL, H. D.; CALLE-ECHEVERRI, D. A.; CHINCHILLA-CÁRDENAS, D. Molecular detection and characterization of the *mecA* and *nuc* genes from *Staphylococcus* species (*S. aureus*, *S. pseudintermedius*, and *S. schleiferi*) isolated from dogs suffering superficial pyoderma and their antimicrobial resistance profiles. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 7, n. 376, p. 1–11, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00376>. Acesso em: 06 de jun. 2023.

GRICE, E. A.; SEGRE, J. A. The skin microbiome. **Nature reviews Microbiology**, v. 9, n. 4, p. 244–253, 2011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21407241/>. Acesso em: 04 de jan. 2024.

GUARDABASSI, L.; DAMBORG, P.; STAMM, I.; KOPP, P. A.; BROENS, E. M.; TOUTAIN, P. L. Diagnostic microbiology in veterinary dermatology: present and future. **Veterinary Dermatology**, v. 28, n. 1, p. 146, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/vde.12407>. Acesso em: 20 de jul. 2023.

GUARDABASSI, L.; LOEBER, M. E.; JACOBSON, A. Transmission of multiple antimicrobial-resistant *Staphylococcus intermedius* between dogs affected by deep pyoderma and their owners. **Veterinary Microbiology**, v. 98, p. 23–27, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2003.10.007>. Acesso em: 05 de jun. 2024.

HANSELMAN, B. A.; KRUTH, S. A.; ROUSSEAU, J.; WEESE, S. Coagulase positive staphylococcal colonization of humans and their household pets. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 50, p. 954–958, 2009. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19949556/>. Acesso em: 08 de jul. 2023.

HILLIER, A.; LLOYD, D. H.; WEESE, J. S.; BLONDEAU, J. M.; BOOTHE, D.; BREITSHWEDT, E.; GUARDABASSI, L.; PAPICH, M. G.; RANKIN, S.; TURNIDGE, J. D.; SYKES, J. E. Guidelines for the diagnosis and antimicrobial therapy of canine superficial bacterial folliculitis (antimicrobial guidelines working group of the international society for companion animal infectious diseases). **Veterinary Dermatology**, v. 25, n. 3, p. 163, 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24720433/>. Acesso em: 2 de ago. 2023.

KADLEC, K.; SCHWARZ, S. Antimicrobial resistance of *Staphylococcus pseudintermedius*. **Veterinary Dermatology**, v. 23, n. 4, p. 276, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3164.2012.01056.x>. Acesso em: 10 de out. 2024.

KANG, J. H.; CHUNG, T. H.; HWANG, C. Y. Clonal distribution of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* isolates from skin infection of dogs in Korea. **Veterinary Microbiology**, v. 210, p. 32–37, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378113517308040?via%3Di> hub. Acesso em: 06 de jun. 2023.

KEMPKER, R.; MANGALAT, D.; KONGPHET-TRAN, T.; EATON, M. Beware of the pet dog: a case of *Staphylococcus intermedius* infection. **The American Journal of the Medical Sciences**, v. 338, n. 5, p. 425–427, 2009.

LARSSON JUNIOR, C. E.; HENRIQUES, D. A. Piodermites. In: LARSSON, C. E.; LUCAS, R. **Tratado de Medicina Externa Dermatologia Veterinária**. 2. ed. São Caetano do Sul: Interbook, 2020. p. 501–540.

LOPES, G. V.; GUERRA, P. R.; MACHADO, V.; DIAS, V.; CARDOSO, M. Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* clonal groups isolated from canine pyoderma in Brazil. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 43, p. 1–8, 2015. Disponível em: <https://www.bvs-vet.org.br/>. Acesso em: 14 de jul. 2023.

MILLER, W.; GRIFFIN, C. E.; CAMPBELL, K. L. **Muller and Kirk's small animal dermatology**. 7. ed. Canada: Elsevier Health Sciences, 2012. p. 938.

MOODLEY, A.; STEGGER, M.; ZAKOUR, N. L. B.; FITZGERALD, R.; GUARDABASSI, L. Tandem repeat sequence analysis of staphylococcal protein A (*spa*) gene in methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*. **Veterinary Microbiology**, v. 135, p. 320–326, 2009. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18995972/>. Acesso em: 06 de jun. 2023.

MOREIRA, M. A. B. Diagnóstico Bacteriológico. In: LARSSON, C. E.; LUCAS, R. **Tratado de Medicina Externa Dermatologia Veterinária**. 2. ed. São Caetano do Sul: Interbook, 2020. p. 73–85.

MORRIS, D. O.; LOEFFLER, A.; DAVIS, M. F.; GUARDABASSI, L.; WEESE, J. S. Recommendations for approaches to methicillin-resistant staphylococcal infections of small animals: diagnosis, therapeutic considerations and preventative measures.

Veterinary Dermatology, v. 28, p. 304, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/vde.12444>. Acesso em: 14 de jul. 2023.

MORRIS, D. O.; ROOK, K. A.; SHOFER, F. S.; RANKIN, S. C. Screening of *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, and *Staphylococcus schleiferi* isolates obtained from small companion animals for antimicrobial resistance: a retrospective review of 749 isolates (2003-04). **Veterinary Dermatology**, v. 17, n. 5, p. 332–337, 2006. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16961819/>. Acesso: 8 de jun. de 2024.

MOTTA, C. C. Ocorrência, resistência, virulência e diversidade genética de *Staphylococcus pseudintermedius* oriundos de processos infecciosos de animais de companhia. 2018. **Tese** (Doutorado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2018.

MUELLER, R. S.; BERGVALL, K.; BENSIGNOR, E.; BOND, R. A review of topical therapy for skin infections with bacteria and yeast. **Veterinary Dermatology**, v. 23, n. 4, p. 330-41, 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22731400/>. Acesso em: 05 de jan. 2025.

MURAKAMI, K.; MINAMIDE, W.; WADA, K.; NAKAMURA, E.; TERAOKA, H.; WATANABE, S. Identification of methicillin-resistant strains of staphylococci by polymerase chain reaction. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 29, n. 10, p. 2240-2244, 1991. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/epdf/10.1128/jcm.29.10.2240-2244.1991>. Acesso em 21 de ago. 2022.

NIENHOFF, U.; KADLECK, L.; CHABERNY, I. F.; VERSPOHL, J.; GERLACH, G. F.; KREIENBROCK, L.; SCHWARZ, S.; SIMON, D.; NOLTE, I. Methicillin resistant *Staphylococcus pseudintermedius* among dogs admitted to a small animal hospital. **Veterinary Microbiology**, v. 150, p. 191–197, 2011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21247709/>. Acesso em: 05 de mar. 2024.

NISA, S.; BERCKER, C.; MIDWINTER, A. C.; BRUCE, I.; GRAHAM, C. F.; VENTER, P.; BELL, A.; FRENCH, N. P.; BENSCHOP, J.; BAILEY, K. M.; WILKINSON, D. A. Combining MALDI-TOF and genomics in the study of methicillin resistant and multidrug resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in New Zealand. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1271, p. 1–13, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30718644/>. Acesso em: 21 de ago. 2022.

NOLI, C.; MORRIS, D. Staphylococcal pyoderma. In: JACKSON, H.; MARSELLA, R. **BSAVA Manual of Canine and Feline Dermatology**. 3. ed. Inglaterra: British Small Animal Veterinary Association, 2012. p. 173-187.

PERRETEEN, V.; KADLEC, K.; SCHWARZ, S.; ANDERSSON, U. G.; FINN, M.; GREKO, C.; MOODLEY, A.; KANIA, S. A.; FRANK, L. A.; BEMIS, D. A.; FRANCO, A.; IURESCIA, M.; BATTISTI, A.; DUIM, B.; WAGENAAR, J. A.; VAN DUIJKEREN, A.; WEESE, J. S.; FITZGERALD, R.; ROSSANO, A.; GUARDABASSI, L. Clonal spread of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in Europe and North America: an international multicentre study, **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 65, n. 6, p. 1145–1154, 2010. Disponível em: <https://academic.oup.com/jac/article->

abstract/65/6/1145/705378?redirectedFrom=fulltext&login=false. Acesso em: 04 de jan. 2025.

QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; CARTER, M. E.; DONNELLY, W. J.; LEONARD, F. C. Gênero *Staphylococcus*. In: QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; CARTER, M. E.; DONNELLY, W. J.; LEONARD, F. C. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Porto Alegre: Artmed, 2005. p. 55–60.

RHODES, K. H. Folliculite Bacteriana e Piodermite Emergente Resistente. In: RHODES, K. H.; WERNER, A. **Dermatologia em Pequenos Animais**. 2. ed. São Paulo: ROCA, 2014. p. 657.

RIEGEL, P.; JESEL-MOREL, L.; LAVENTIE, B.; BOISSET, S.; VANDENESCH, F.; PRÉVOST, G. Coagulase-positive *Staphylococcus pseudintermedius* from animals causing human endocarditis. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 301, p. 237–239, 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1438422110001037>. Acesso em 14 de mar. 2023.

SANDER, M. A.; SANDER, M. S.; ISAAC-RENTON, J. L.; CROXEN, M. A. The cutaneous microbiome: implications for dermatology practice. **Journal of Cutaneous Medicine and Surgery**, v. 23, n. 4, p. 436-441, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30938174/>. Acesso em: 04 de jan. 2025.

SASAKI T.; TSUBAKISHITA, S.; TANAKA, Y.; SAKUSABE, A.; OHTSUKA, M.; HIROTAKI, S.; KAWAKAMI, T.; FUKATA, T.; HIRAMATSU, K. Multiplex-PCR method for species identification of coagulase-positive staphylococci. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 48, p. 765-769, 2010. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/jcm.01232-09>. Acesso em: 12 de ago. 2023.

SASAKI, T.; KIKUCHI, K.; TANAKA, Y.; TAKAHASHI, N.; KAMATA, S.; HIRAMATSU, K. Reclassification of phenotypically identified *Staphylococcus intermedius* strains. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 45, n. 9, p. 2770–2778, 2007. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2045239/>. Acesso em: 7 de ago. 2024.

SCHWARZ, S.; LOEFFLER, A.; KADLEC, K. Bacterial resistance to antimicrobial agents and its impact on veterinary and human medicine. **Veterinary Dermatology**, v. 28, n. 1, p. 82, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27581211/>. Acesso em: 05 de jan. 2023.

SECKERDIECK, F.; MUELLER, R. S. Recurrent pyoderma and its underlying primary diseases: a retrospective evaluation of 157 dogs. **Veterinary Record**, v. 182, n.15, p. 434-434, 2018. Disponível em: <https://bvajournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1136/vr.104420#accessDenialLayout>. Acesso em: 05 de jan. 2025.

SOLYMAN, S. M.; BLACK, C. C.; DUIM, B.; PERRETEEN, V.; DUIJKEREN, E. V.; WAGENAAR, J. A.; EBERLEIN, L. C.; SADEGHI, L. N.; VIDELA, R.; BEMIS, D. A.; KANIA, S. A. Multilocus sequence typing for characterization of *Staphylococcus pseudintermedius*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 51, n. 1, p. 306-310, 2013.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23115265/>. Acesso em: 04 de jan. 2025.

SOUSA, C. A.; CHATFIELD, J.; FILE, T. M.; KOCH, S. N.; LEU, D. B.; LOEFFLER, A.; LOFT, K. E.; SOUZA, C.; WEESE, J. S. Hostage to history - questioning the duration of systemic antimicrobial therapy for the treatment of canine superficial bacterial folliculitis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 260, n. 10, p. 1153-1156, 2022. Disponível em: https://avmajournals.avma.org/view/journals/javma/260/10/javma.22.03.0113.xml?tab_body=pubmed. Acesso em 05 de jan. 2025.

STEIN, C. S. U. Avaliação dos critérios interpretativos de oxacilina em isolados clínicos de *Staphylococcus pseudintermedius*. 2020. **Dissertação** (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2020.

TEIXEIRA, I. M.; ASSUMPÇÃO, Y. M.; PALETTA, A. C. C.; AGUIAR, L.; GUIMARÃES, L.; DA SILVA, I. T.; CÔRTEZ, M. F.; BOTELHO, A. M. N.; JAEGER, L. H.; FERREIRA, R. F.; FERREIRA E. O.; PENNA, B. Investigation of antimicrobial susceptibility and genetic diversity among *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from dogs in Rio de Janeiro. **Scientific reports**, v. 13, n. 1, p. 1-10, 2023. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37980395/>. Acesso em: 04 de jan. 2025.

VANDAMME, C. M. M.; BROENS, E. M.; AUXILIA, S. T.; SCHLOTTER, Y. M. Clindamycin resistance of skin derived *Staphylococcus pseudintermedius* is higher in dogs with a previous antibiotic history. **Veterinary Dermatology**, v. 31, n. 4, p. 1–6, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32323363/>. Acesso em: 03 de set. 2024.

VIEGAS, F. M.; SANTANA, J. A.; SILVA, B. A.; XAVIER, R. G. C.; BONISSON, C. T.; CÂMARA, J. L. S.; RENNÓ, C.; CUNHA, J. L. R.; FIGUEIREDO, H. C. P.; LOBATO, F. C. F.; SILVA, R. O. S. Occurrence and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus spp.* in diseased dogs in Brazil. **PLoS One**, v. 17, n. 6, p. 1–17, 2022. Disponível em: <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0269422>. Acesso em: 14 de jul. 2023.

VIGO, G. B.; GIACOBONI, G. I.; GAGETTI, P. S.; PASTERÁN, F. G.; CORSO, A. C. Resistencia antimicrobiana y epidemiología molecular de aislamientos de *Staphylococcus pseudintermedius* de muestras clínicas de caninos. **Revista Argentina de Microbiología**, v. 47, n. 3, p. 206–211, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ram.2015.06.002>. Acesso em: 20 de jun. 2023.

WEESE, J. S.; DUIJKEREN, E. V. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* in veterinary medicine. **Veterinary Microbiology**, v. 140, p. 418–429, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.01.039>. Acesso em: 23 de jul. 2023.

WORTHING, K. A.; SCHWENDENER, S.; PERRETEN, V.; SAPUTRA, S.; COOMBS, G. W.; PANG, S.; DAVIES, M. R.; ABRAHAM, S.; TROTT, D.; NORRIS, J. M. Characterization of staphylococcal cassette chromosome *mec* elements from methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* infections in Australian

animals. **Clinical Science and Epidemiology**, v. 3, n. 6, p. 1–7, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/mSphere.00491-18>. Acesso em: 06 de jun. 2023.

ZUR, G.; GUREVICH, B.; ELAD, D. Prior antimicrobial use as a risk factor for resistance in selected *Staphylococcus pseudintermedius* isolates from the skin and ears of dogs. **Veterinary Dermatology**, v. 27, n. 6, p. 468, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/vde.12382>. Acesso em: 14 de ago. 2023.

APÊNDICE

Perfis de resistência antimicrobiana dos 96 isolados de *S. pseudintermedius* e presença do gene *mecA*.

ANIMAL		1			2			3			4			5			6			8			9			10			11			12			13			14			15			16			17			20		
ISOLADO		A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C						
GENE MEC4		+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-				
ANTIMICROBIANOS	PEN				R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R				R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R								R	R	R	R	R	R	R	R	R	R					
	OXA							R	R	R													R	R	R			R																								
	GEN							I	I																			R	R																							
	AZI										R	R	R	R	R	R											R	R	R		R																					
	CLI							R	R	R	I	I	I									I	I	I	I																							I				
	DOX							R	R	R	I	R	R	R	R	R	R		R	I				R	R	R				R	R																			R	R	
	ENR							R	R	R	R	R	R											R	R	R			R		R																					
	CIP							R	R	R	R	R	R											R	R	R			R		R																					
SUL							R	R	R	R	R	R	R	R	R									R	R	R			R		R																			I		

ANIMAL		21			22			23			25			26			27			29			31			32			34			35			36			37			38			39										
ISOLADO		A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C								
GENE MEC4		-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-						
ANTIMICROBIANOS	PEN	R	R	R	R	R	R							R	R	R	R	R		R	R	R	R	R	R	R	R	R	R																									
	OXA		R																																																			
	GEN																																																					
	AZI		R																																																			
	CLI		I			I																																																
	DOX	R	R	R	R	R	R													R	R																																	
	ENR	R	R	R																I																																		
	CIP	R	R	R																																																		
SUL	R	R	R	R	R	R																																																

A, B e C: isolados. R: resistente. I: Intermediário. Branco: Sensível. Penicilina (PEN), Oxacilina (OXA), Gentamicina (GEN), Azitromicina (AZI), Clindamicina (CLI), Doxiciclina (DOX), Enrofloxacina (ENR), Ciprofloxacina (CIP) e sulfametoxazol-trimetoprima (SUL).

ANEXO

Certificado de Aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA)



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUA

Campus Universitário – Viçosa, MG, Brasil, 36570-900 – Telefone: (31) 3612-2315

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada **“Identificação e perfil de resistência a antimicrobianos de *Staphylococcus pseudintermedius* isolados de piodermite canina – 10 anos depois”**, registrada com o nº **32/2022**, sob a responsabilidade do Professor Lissandro Gonçalves Conceição do Departamento de Veterinária, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 08/10/2008, do Decreto nº 6.899, de 15/07/2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA, e foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Viçosa, em **09/11/2022**. Após a conclusão do projeto, o relatório final deverá ser submetido à CEUA para emissão de certificado definitivo.

Finalidade	Pesquisa
Vigência da autorização	24 meses
Espécie/linhagem/raça	Cão - Canis lupus familiaris
Nº de animais/sexo	18 machos e 18 fêmeas
Peso/Idade	varia/variado
Origem	Animal de criação ou de casuística hospitalar

CERTIFICATE

We certify that the proposition entitled **“Identification and antimicrobial resistance profile of *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from canine pyoderma – 10 years later”**, registered with the number **32/2022**, under the responsibility of Professor Lissandro Gonçalves Conceição from the Veterinary Department is in accordance with the precepts of Law 11,7794, of 10/08/2008, Decree 6,899, of 07/15/2009, and the rules issued by Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – CONCEA, and was approved by the Ethics Committee in the Use of Animals (CEUA) of Universidade Federal de Viçosa, on **11/09/2022**. Upon completion of the project, the final report must be submitted to CEUA for the issuance of the definitive certificate.

Purpose	Research
Validity of authorization	24 months
Specie/Lineage/Breed	Dog - Canis lupus familiaris
Number of animals/Sex	18 male and 18 female
Weight/Age	miscellaneous/miscellaneous
Origin	Animal of breeding or hospital casuistry

Fabrício Luciani Valente
Coordenador

Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA/UFV