

SORAIA DIAS ALQUEIDÃO

**RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS EM ISOLADOS DE CÃES COM FOLICULITE
SUPERFICIAL BACTERIANA: ESTUDO RETROSPETIVO**

Orientadora: Professora Doutora Margarida Alves

Co-orientadora: Mestre Ana Oliveira

**Universidade Lusófona de Humanidade e Tecnologias
Faculdade de Medicina Veterinária**

Lisboa

2018

SORAIA DIAS ALQUEIDÃO

**RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS EM ISOLADOS DE CÃES COM FOLICULITE
SUPERFICIAL BACTERIANA: ESTUDO RETROSPETIVO**

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 de Humanidades e Tecnologias, no dia 17 de Abril de 2018, segundo o Despacho Reitoral nº114/2018, perante a seguinte composição de Júri:

Presidente: Professora Doutora Laurentina Pedroso

Arguente: Professora Doutora Ana Varandas

Orientador: Professora Doutora Margarida Alves

Vogal: Professor Doutor Rui Pedro Faísca

Universidade Lusófona de Humanidade e Tecnologias

Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa

2018

A happy man is too satisfied with the
present to dwell too much on the future.

— Albert Einstein

Agradecimentos

À minha orientadora, Dr.^a Margarida Alves por toda a ajuda e simpatia.

À minha co-orientadora, Mestre Ana Oliveira, por me ter ajudado a concretizar este projeto, por me ter apoiado em todo o processo e ter cultivado ainda mais este gosto pela dermatologia veterinária.

À Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona de Humanidade e Tecnologias, pela oportunidade de realizar este sonho.

Ao Hospital Veterinário do Restelo, pela oportunidade de ter feito parte da equipa e aos Médicos Veterinários, enfermeiros e auxiliares que o compõem, pela excelência em tudo o que fazem, que em muito contribuiu para a minha progressão e motivação profissional.

A todos os profissionais com que tive o prazer de trabalhar no “HOVET”, por me terem recebido tão bem “fora de casa”, pelas oportunidades e por todos os conhecimentos transmitidos.

Aos meus pais, pela oportunidade e por me terem dado todo o apoio e condições para que pudesse realizar o meu sonho de ser médica veterinária.

Ao melhor que o curso me deu: os meus amigos. Obrigada por todo o apoio ao longo do curso e por me terem ajudado tanto a chegar a este ponto.

Ao Júnior, Joantina, Fiona, Nicky, Prada, Kim e Tobias, por, mesmo sem falarem, me motivarem e me darem força para terminar esta jornada.

Resumo

Staphylococcus pseudintermedius é uma bactéria patogénica oportunista, comensal da pele e membranas mucosas caninas. É, ainda, o agente bacteriano mais frequentemente isolado em casos de foliculite superficial bacteriana (FSB) em cães, representando a principal causa para a prescrição de antibióticos na clínica de pequenos animais.

A presente dissertação foi realizada no âmbito de um estudo retrospectivo, com uma amostra de 56 isolados de *S. pseudintermedius* e respetivos antibiogramas, provenientes de cães apresentados à consulta de referência dermatológica no Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias. O presente estudo teve como objetivos determinar o perfil de resistência dos isolados às diferentes classes de antibióticos testados e sua correlação com a resistência à meticilina, bem como a incidência de multirresistência.

Foi observado que o grupo MRSP compreendia 39,3% dos isolados, enquanto que do grupo MSSP faziam parte 60,7% dos isolados. No grupo MRSP, considerando apenas os isolados testados, verificou-se 100% de resistência à amoxicilina-ácido clavulânico, à cefalotina, à clindamicina, à eritromicina, à tetraciclina, à enrofloxacina, ao florfenicol, à amicacina e à gentamicina, 91,7% à doxiciclina, 72,7% à minociclina 59,1% ao trimetoprim-sulfametoxazol, 54,5% à levofloxacina, 50,0% ao ácido fusídico e ausência de isolados resistentes à pradofloxacina e à rifampicina. Foi, ainda, observado que 64,3% dos isolados eram multirresistentes e que todos os isolados MRSP manifestavam multirresistência.

Estes resultados conferem ao clínico opções de tratamento limitado, reforçando a necessidade de uma escolha e abordagem terapêutica mais meticulosa. Este e outros estudos vêm, ainda, demonstrar a importância de alertar e sensibilizar os profissionais de saúde para uma problemática alarmante e, infelizmente, cada vez mais comum.

Palavras-chave: Resistência a antibióticos; Resistência à meticilina; Multirresistência; *Staphylococcus pseudintermedius*; Foliculite superficial bacteriana canina.

Abstract

Staphylococcus pseudintermedius is an opportunistic pathogenic bacteria, normal resident of the dog skin and mucous membranes. It is also the most frequently isolated bacterial agent in cases of superficial bacterial folliculitis in dogs, representing the major cause for antimicrobial prescription in small animal practice.

The present master's thesis, was made as part of a retrospective study, with 56 *S. pseudintermedius* isolates and antibiograms of dogs presented to the referral consultation at the Scholar Veterinary Hospital of Lusófona University, Lisbon, Portugal. The aim of this study was to determine the resistance profile of the isolates to the tested antibiotics and to correlate methicillin resistance as well as the incidence of multiresistant isolates.

The MRSP group comprised 39,3% of the isolates, while the remaining 60,7% isolates were MSSP. In the MRSP group, considering only the isolates tested, 100% were resistant to amoxicillin-clavulanic acid, cephalothin, clindamycin, erythromycin, tetracycline, enrofloxacin, florfenicol, amikacin and gentamicin, 91,7% were found to be resistant to doxycycline, 72,7% to minocycline 59,1% to trimethoprim-sulfamethoxazole, 54,5% to levofloxacin, 50,0% to fusidic acid and no isolates were found to be resistant to pradofloxacin and rifampicin. It was also observed that 64,3% of the isolates were multiresistant and all the MRSP isolates showed to be multiresistant.

These results, confer limited treatment options to the clinician, reinforcing the need for a more thorough therapeutic choice. It is, therefore, essential to provide training and awareness among health professionals on this problem, which, unfortunately, is increasingly common.

Keywords: Antibiotic resistance; Methicillin resistance; Multidrug resistance; *Staphylococcus pseudintermedius*; Canine superficial bacterial folliculitis.

Lista de abreviaturas, símbolos e acrónimos

% – Percentagem

ADN – Ácido desoxirribonucleico

AF – Ácido fusídico

Agar MH – Agar Mueller-Hinton

AINEs - Anti-inflamatórios não esteróides

AK – Amicacina

AMC – Amoxicilina-ácido clavulânico

ARN - Ácido ribonucleico

BSAVA – “British Small Animal Veterinary Association”

CF – Cefalotina

CIM – Concentração inibitória mínima

CLOR – Cloranfenicol

CLSI – “Clinical and Laboratory Standards Institute”

CLSI-VAST - “CLSI subcommittee on Veterinary Antimicrobial Susceptibility Testing”

CM – Clindamicina

DOX – Doxiciclina

ENR – Enrofloxacin

ERI – Eritromicina

et al. – E outros, do latim “*et alli*”

EUCAST - “European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing”

EUCAST – “European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing”

FFC – Florfenicol

FMV-ULHT – Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

FMVZ-USP – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

FOSF – Fosfomicina

FSB – Foliculite superficial bacteriana

GEN – Gentamicina

HVR – Hospital Veterinário do Restelo

LVF – Levofloxacin

MH – Minociclina

MRS – Estafilococos resistentes à meticilina, do inglês “Methicillin-Resistant staphylococci”

MRSA – *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina, do inglês “Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*”

MRSP – *Staphylococcus pseudintermedius* resistente à meticilina, do inglês “Methicillin-Resistant *Staphylococcus pseudintermedius*”

MSSP – *Staphylococcus pseudintermedius* suscetível à meticilina, do inglês “Methicillin-Susceptible *Staphylococcus pseudintermedius*”

MV – Médico veterinário

OX – Oxacilina

p.e. – Por exemplo

PABA - Ácido paraminobenzóico, do inglês “Paraminobenzoic acid”

PBPs – Proteínas de ligação à penicilina, do inglês “Penicillin binding proteins”

PCR - Reação em cadeia da polimerase, do inglês “Polymerase chain reaction”

pH – Potencial hidrogeniônico

PRAD – Pradofloxacina

R – Resistente

RA – Rifampicina

S – Suscetível

SIG – Grupo dos *Staphylococcus intermedius* do inglês “*Staphylococcus intermedius* group”

spp. – Espécies

TE - Tetraciclina

TS – Trimetoprim-sulfametoxazol

TSA – Teste de sensibilidade a antibióticos

Índice geral

Agradecimentos	2
Resumo	3
Abstract.....	4
Lista de abreviaturas, símbolos e acrónimos	5
Índice geral	7
Índice de Tabelas.....	10
Índice de Gráficos.....	11
I. DESCRIÇÃO DO ESTÁGIO CURRICULAR.....	12
1. Hospital Veterinário do Restelo (HVR)	12
1.1. Casuística na clínica médica.....	13
1.2. Casuística na clínica cirúrgica	14
2. Hospital veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ-USP-HOVET).....	14
2.1. Casuística na clínica médica.....	15
2.2. Casuística em dermatologia.....	16
II. RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS EM ISOLADOS DE CÃES COM FOLICULITE SUPERFICIAL BACTERIANA: ESTUDO RETROSPETIVO.....	17
1. Introdução.....	17
1.1. Foliculite superficial bacteriana (FSB).....	17
1.2. <i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	19
1.3. Métodos de diagnóstico da FSB	20
1.3.1. Lesões clínicas.....	20
1.3.2. Análise citológica	21
1.3.3. Cultura bacteriana e teste de suscetibilidade a antibióticos	22
1.3.3.1. Cultura.....	22
1.3.3.2. Indicações para a realização do teste de sensibilidade a antibióticos....	23
1.3.3.3. Teste de suscetibilidade de Kirby-Bauer (teste de difusão em disco)...	24
1.3.3.4. Teste de microdiluição em caldo.....	26
1.4. Recomendações para o tratamento da FSB	26
1.5. Escolha terapêutica na FSB	28
1.5.1. Terapia antimicrobiana tópica	28
1.5.2. Terapia antimicrobiana sistémica	28

1.5.2.1. Antibióticos de primeira escolha	30
1.5.2.1.1. Betalactâmicos.....	30
1.5.2.1.1.1. Penicilinas	30
1.5.2.1.1.1.1. Meticilina e oxacilina	31
1.5.2.1.1.1.2. Amoxicilina-ácido clavulânico.....	32
1.5.2.1.1.2. Cefalosporinas de primeira geração	32
1.5.2.1.2. Macrólidos e Lincosamidas.....	33
1.5.2.1.2.1. Clindamicina	34
1.5.2.1.2.2. Eritromicina.....	34
1.5.2.1.3. Sulfonamidas potenciadas	35
1.5.2.1.3.1. Trimetoprim-sulfametoxazol.....	35
1.5.2.2. Antibióticos de segunda escolha	36
1.5.2.2.1. Tetraciclinas	36
1.5.2.2.1.1. Minociclina.....	37
1.5.2.2.1.2. Doxiciclina	37
1.5.2.2.2. Fencóis	37
1.5.2.2.2.1. Cloranfenicol	38
1.5.2.2.2.2. Florfenicol	38
1.5.2.2.3. Fluoroquinolonas.....	38
1.5.2.2.3.1. Enrofloxacina (segunda geração).....	40
1.5.2.2.3.2. Pradofloxacina (terceira geração).....	40
1.5.2.2.4. Ansamicinas	41
1.5.2.2.4.1. Rifampicina	41
1.5.2.2.5. Aminoglicosídeos.....	41
1.5.2.2.5.1. Gentamicina.....	42
1.5.2.2.5.2. Amicacina.....	42
1.6. Resistência a antibióticos por <i>S. pseudintermedius</i>	43
1.6.1. Resistência ao ácido fusídico	44
1.6.2. Resistência aos antibióticos betalactâmicos	44
1.6.2.1. <i>S. pseudintermedius</i> resistentes à meticilina (MRSP).....	45
1.6.3. Resistência a macrólidos e lincosamidas.....	46
1.6.4. Resistência a sulfonamidas potenciadas.....	47
1.6.5. Resistência às tetraciclinas	48

1.6.6. Resistência aos fenicóis.....	48
1.6.7. Resistência às fluoroquinolonas	49
1.6.8. Resistência às ansamicinas	50
1.6.9. Resistência aos aminoglicosídeos	50
1.6.10. Conceito de multirresistência	51
2. Objetivos.....	51
3. Material e métodos	53
3.1. Tratamento de dados	54
4. Resultados.....	55
4.1. Descrição da amostra em estudo	55
4.1.1. Sexo	55
4.1.2. Idade	55
4.1.3. Raça	56
4.2. Suscetibilidade a antibióticos e ocorrência de MRSP	57
4.2.1. Resistência aos antibióticos de primeira escolha	57
4.2.1.1. Betalactâmicos.....	58
4.2.1.2. Lincosamidas	60
4.2.1.3. Macrólidos.....	60
4.2.1.4. Sulfonamidas	60
4.2.2. Resistência aos antibióticos de segunda escolha.....	61
4.2.2.1. Tetraciclinas	62
4.2.2.2. Fluoroquinolonas.....	63
4.2.2.3. Fenicóis	63
4.2.2.4. Ansamicinas	64
4.2.2.5. Aminoglicosídeos	64
4.2.3. Resistência aos antibióticos de tratamento tópico	64
4.2.4. Avaliação da multirresistência	65
5. Discussão	67
6. Conclusão	75
7. Referências bibliográficas	77
Apêndice I – Antibiógramas da amostra	I
Apêndice II – Isolados candidatos ao uso dos antibióticos de segunda escolha	IV

Índice de Tabelas

Tabela 1: Avaliação da frequência relativa de raça e sexo observadas na clínica médica.	13
Tabela 2: Avaliação da frequência relativa quanto às especialidades das consultas observadas.	13
Tabela 3: Frequência relativa (%) às espécies e géneros observados na clínica cirúrgica.	14
Tabela 4: Frequência relativa (%) de raça, sexo e especialidades observadas na clínica médica.	15
Tabela 5: Descrição das especialidades observadas na clínica médica quanto à frequência relativa (%).	16
Tabela 6: Frequência relativa (%) de raça e sexo observadas em dermatologia.	16
Tabela 7: Avaliação da resistência à amoxicilina-ácido clavulânico e à cefalotina nos grupos MRSP e MSSP.....	59
Tabela 8: Avaliação da resistência à clindamicina nos grupos MRSP e MSSP.....	60
Tabela 9: Avaliação da resistência à eritromicina nos grupos MRSP e MSSP.....	60
Tabela 10: Avaliação da resistência ao trimetoprim-sulfametoxazol nos grupos MRSP e MSSP.	61
Tabela 11: Avaliação da resistência dos isolados à minociclina, doxiciclina e tetraciclina.	62
Tabela 12: Avaliação da resistência dos isolados à enrofloxacin, pradofloxacin e levofloxacin.	63
Tabela 13: Avaliação da resistência dos isolados ao florfenicol.	63
Tabela 14: Avaliação da resistência dos isolados à rifampicina.	64
Tabela 15: Avaliação da resistência dos isolados à amicacina e gentamicina.	64
Tabela 16: Avaliação da resistência ao ácido fusídico nos grupos MRSP e MSSP.....	65
Tabela 17: Avaliação dos isolados multirresistentes nos grupos MRSP e MSSP.....	66
Tabela 21: Resultado dos antibiogramas para a totalidade da amostra.	I
Tabela 22: Isolados candidatos ao uso dos antibióticos de segunda escolha.	IV

Índice de Gráficos

Gráfico 1: Frequência relativa (%) da amostra quanto ao sexo.....	55
Gráfico 2: Frequência relativa (%) da amostra quanto à idade.	56
Gráfico 3: Frequência relativa (%) da amostra quanto à raça.	57
Gráfico 4: Avaliação da resistência dos isolados aos antibióticos de primeira escolha.	58
Gráfico 5: Avaliação da resistência à oxacilina.....	59
Gráfico 6: Avaliação da resistência dos isolados à totalidade dos antibióticos de primeira escolha.	61
Gráfico 7: Avaliação da resistência à oxacilina dos isolados resistentes aos antibióticos de primeira escolha.....	62
Gráfico 8: Avaliação da resistência ao ácido fusídico.....	65
Gráfico 9: Frequência relativa (%) de isolados multirresistentes e não multirresistentes.....	66

I. DESCRIÇÃO DO ESTÁGIO CURRICULAR

O estágio curricular, desenvolvido como parte da finalização do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, foi realizado na área clínica médica e cirurgia de animais de companhia e exóticos. Este foi dividido em dois períodos, tendo decorrido primeiramente, no Hospital Veterinário do Restelo, em Lisboa, e, numa segunda instância, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, em São Paulo, Brasil.

1. Hospital Veterinário do Restelo (HVR)

O estágio curricular no Hospital Veterinário do Restelo teve uma duração de quatro meses, compreendidos entre 7 de Setembro de 2016 e 31 de Dezembro de 2016. Foi realizado na área de clínica médica e cirurgia de animais de companhia e exóticos, sob a orientação do Doutor Diogo Magno, correspondendo a um plano de rotação quinzenal pelas especialidades existentes no hospital, de modo a maximizar a obtenção de conhecimentos. O plano de rotação consistia em acompanhar um Médico Veterinário (MV) durante quinze dias, desde que esse correspondesse à especialidade pretendida para aquela quinzena, nas áreas de medicina interna, dermatologia, oftalmologia, cardiologia, neurologia, oncologia, imagiologia e internamento.

Os horários efetuados neste estágio corresponderam ao do MV acompanhado no momento, podendo ser noturno ou diurno.

As atividades desenvolvidas consistiram no acompanhamento do MV nas diferentes atividades, incluindo consultas de rotina e especialidade, ajuda na contenção dos pacientes e realização de algumas práticas como colheita de sangue, colocação de cateteres, realização de análises sanguíneas, bem como preparação e requisição de outras análises externas e internas. Aquando da passagem pelo internamento, foi ainda possível auxiliar na higiene, alimentação, passeio, realização de exames complementares de diagnóstico e administração de medicação aos pacientes. Passando pela cirurgia, foi possível fazer o acompanhamento da avaliação pré-anestésica, monitorização anestésica e auxiliar na realização das cirurgias, como assistente do cirurgião.

Seguidamente são apresentadas, de forma discriminada, a casuística da clínica médica, cirurgia e meios complementares de diagnóstico realizados no decorrer do estágio.

1.1. Casuística na clínica médica

A casuística na clínica médica foi descrita quanto à espécie dos animais observados, sexo dos mesmos e especialidades nas consultas presenciadas.

De acordo com a Tabela 1, verificou-se que, de entre os pacientes observados, os cães foram a espécie mais frequente em consulta, seguida dos gatos e animais exóticos. Quanto ao sexo foi revelada maior predominância de machos quer em cães como em gatos e maior número de fêmeas nas espécies exóticas.

Tabela 1: Avaliação da frequência relativa de raça e sexo observadas na clínica médica.

Espécie animal	Frequência relativa (%)	Frequência relativa (%)	
		Fêmeas	Machos
Cão	69,4%	46,2%	53,8%
Gato	25,7%	33,3%	66,7%
Exóticos	4,4%	66,7%	33,3%

Para a classificação das especialidades, todos os casos observados em internamento foram considerados como correspondentes a medicina interna. Os dados obtidos desta análise encontram-se descritos na Tabela 2.

Tabela 2: Avaliação da frequência relativa quanto às especialidades das consultas observadas.

Especialidade	Frequência relativa (%)
Medicina interna	38,9%
Imagiologia	9,3%
Cardiologia	6,2%
Medicina preventiva (doenças infecciosas)	10,4%
Neurologia	2,53%
Ortopedia	9,8%
Oncologia	4,1%
Dermatologia	8,4%

1.2. Casuística na clínica cirúrgica

A casuística na clínica cirúrgica foi descrita quanto à espécie dos animais observados e sexo dos mesmos.

De acordo com a Tabela 3, verificou-se que, de entre os pacientes observados, o cão foi a espécie mais frequentemente submetida a cirurgia, seguida do gato e animais exóticos. Quanto ao sexo foi revelada maior predominância de cães machos, igualdade em gatos e maior número de fêmeas nas espécies exóticas.

Tabela 3: Frequência relativa (%) às espécies e gêneros observados na clínica cirúrgica.

Espécie animal	Frequência relativa (%)	Frequência relativa (%)	
		Fêmeas	Machos
Cão	71,8%	34,6%	65,4%
Gato	19,0%	50,0%	50,0%
Exóticos	9,0%	100%	0%

2. Hospital veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ-USP-HOVET)

O segundo período do estágio curricular foi realizado no Brasil, através do programa *overseas*, no hospital escolar da FMVZ-USP-HOVET, também por um período de quatro meses, compreendidos entre 9 de Janeiro de 2017 e 31 de Abril de 2017. Este foi realizado por três meses na área de clínica médica/medicina interna e por 1 mês no departamento de dermatologia.

Na clínica médica, todos os animais passavam por um processo de triagem, sendo apenas encaminhados cães e gatos, bem como casos mais urgentes selecionados para atendimento, por haver número máximo de atendimentos diários. Neste departamento, foi dada a oportunidade de atuar de forma mais independente e, assim, realizar consultas, incluindo a anamnese, execução de receitas, planejamento de métodos complementares de diagnóstico e tratamentos, administração de medicação e acompanhamento direto dos pacientes. Neste período, o estágio decorreu durante duas semanas no serviço de urgência da clínica médica (PAM-C), onde também houve oportunidade de participar em procedimentos de emergência,

tais como entubação endotraqueal, administração de fármacos de ressuscitação cardiopulmonar ou massagem cardíaca.

Já no departamento de dermatologia, para além dos procedimentos anteriormente descritos para a clínica médica, foram ainda realizados exames complementares de diagnóstico, tais como raspagens e citologias, incluindo a colheita das amostras, coloração e observação microscópica destas.

Em ambas as rotações, apesar de todos estes procedimentos serem executados pela autora desta dissertação, antes de qualquer exame complementar de diagnóstico ou tratamento havia um processo de aprovação por parte do MV responsável pelo serviço.

Quanto aos horários, em ambos os departamentos o horário do expediente era das 8h da manhã às 17h da tarde, de segunda a sexta.

2.1. Casuística na clínica médica

A casuística na clínica médica foi descrita quanto à espécie e sexo dos animais observados, bem como as especialidades nas consultas presenciadas.

De acordo com a Tabela 4, de entre os pacientes observados, o cão foi a espécie mais frequente em consulta, seguida do gato. Quanto ao sexo foi revelada maior predominância de fêmeas, tanto em cães como em gatos.

Tabela 4: Frequência relativa (%) de raça, sexo e especialidades observadas na clínica médica.

Espécie animal	Frequência relativa (%)	Frequência relativa (%)	
		Fêmeas	Machos
Cão	65,0%	66,7%	33,3%
Gato	35,0%	61,9%	38,1%

No caso das especialidades, apesar de este ser um departamento para atendimento de casos de medicina interna, foram classificados de uma forma mais pormenorizada, tal como descrito na Tabela 5.

Na clínica médica não se realizava administração de vacinas, pelo que a medicina preventiva não foi considerada na classificação das especialidades. Para além disso, eram apenas executados procedimentos de consulta e tratamento, sendo os métodos complementares

de diagnóstico realizados noutros departamentos e, por isso, também inexistentes nesta classificação de especialidades.

Na classificação das consultas observadas por especialidades, casos como necrose peniana, efusão pleural idiopática, anemia imunomediada, triadite felina, intoxicações e diagnósticos em curso foram considerados medicina interna.

Tabela 5: Descrição das especialidades observadas na clínica médica quanto à frequência relativa (%).

Especialidade	Frequência relativa (%)
Endocrinologia	6,7%
Gastrentologia	5,0%
Infecciosas	5,0%
Medicina interna	25,0%
Nefrologia	15,0%
Neurologia	10,0%
Oncologia	16,7%
Pneumologia	6,7%
Traumatologia	5,0%
Urologia	1,7%

2.2. Casuística em dermatologia

A casuística no departamento de dermatologia foi descrita quanto à espécie e sexo dos animais observados em consulta.

De acordo com a Tabela 6, de entre os pacientes observados, a espécie canina foi a mais frequente em consulta, seguida da felina. Quanto ao sexo foi também encontrada uma maior predominância de fêmeas na espécie canina e felina.

Tabela 6: Frequência relativa (%) de raça e sexo observadas em dermatologia.

Espécie animal	Frequência relativa (%)	Frequência relativa (%)	
		Fêmeas	Machos
Cão	72,0%	63,2%	36,8%
Gato	28,0%	58,4%	41,6%

II. RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS EM ISOLADOS DE CÃES COM FOLICULITE SUPERFICIAL BACTERIANA: ESTUDO RETROSPETIVO

1. Introdução

A pele é o maior órgão do corpo e constitui uma barreira fisiológica entre o animal e o meio ambiente, sem a qual a vida seria impossível (Loyd e Patel, 2003; Miller *et al.*, 2013). Desempenha uma grande variedade de funções vitais de modo a manter o estado homeostático do corpo e apresenta três camadas principais, classificadas da mais externa para a interna como epiderme, derme e hipoderme (Foster & Foil, 2003; Miller *et al.*, 2013).

As bactérias são os microorganismos mais abundantes na superfície da pele, sendo a totalidade da população definida como microbiota (Cuscó *et al.*, 2017). O microbiota é uma mistura de bactérias que vivem em simbiose, contribuem para a defesa da pele e estão geralmente nas camadas superficiais da epiderme e infundíbulo dos folículos pilosos. De acordo com a literatura *Micrococcus spp.*, estafilococos coagulase-negativos (especialmente *Staphylococcus epidermidis* e *S. xylosus*), *Streptococcus* alfa-hemolíticos, *Clostridium spp.*, *Propionibacterium acnes*, *Actinobacter spp.*, e alguns aeróbios gram-negativos compõem o microbiota da superfície da pele do cão. Adicionalmente, também os pêlos e folículos pilosos aparentam ter o seu próprio biota constituído por *Micrococcus spp.*, aeróbios gram-negativos, *Bacillus spp.* e *Staphylococcus pseudintermedius* (Miller *et al.*, 2013).

Diferentes fatores, tais como o meio ambiente, variação genética do hospedeiro, estilo de vida ou higiene, podem causar mudanças nas comunidades microbianas da pele, levar a um estado de disbiose e, por sua vez, resultar numa afeção dermatológica (Cuscó *et al.*, 2017). No cão, as piодermite, ou seja, as infeções cutâneas bacterianas, desenvolvem-se sempre que o balanço cutâneo ou mecanismos de proteção são afetados (Foster & Foil, 2007).

1.1. Folliculite superficial bacteriana (FSB)

A folliculite superficial bacteriana (FSB) é a forma mais comum de piодermite canina, sendo, a principal causa para a administração de antibióticos na clínica de animais de companhia (Hillier *et al.*, 2014).

É uma infecção bacteriana superficial, que envolve o estrato córneo dos folículos pilosos, epiderme adjacente e espaço interfolicular (Harvey, 2007; Medleau e Hnilica, 2006; Nesbitt e Ackerman, 1998). A apresentação clínica mais comum prende-se com a infecção da porção superficial dos folículos pilosos (Miller *et al.*, 2013).

O agente patogénico mais frequentemente isolado em casos de FSB é *S. pseudintermedius*, sendo, que, a espécie canina pode ainda transportar ou ser colonizada e infetada por *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus schleiferi*, mas estes são agentes muito menos frequentes na manifestação desta patologia (Bajwa, 2016; Beck *et al.*, 2012; Gold *et al.*, 2014; Hillier *et al.*, 2014; Medleau e Hnilica, 2006). Estes microorganismos podem ser introduzidos por trauma local ou como infecção resultante de contaminação devido a falta de higiene do pêlo, seborreia, infestação parasitária (especialmente demodicose), fatores hormonais, irritantes locais ou alergias (Miller *et al.*, 2013).

Os diagnósticos diferenciais da FSB incluem quaisquer causas em que haja envolvimento folicular, como a demodicose, dermatofitose e doenças de pele do foro autoimune (Medleau e Hnilica, 2006; Nesbitt e Ackerman, 1998). Posto isto, deve ser distinguida de outras doenças foliculares inflamatórias por testes complementares de diagnóstico, sendo esta diferenciação especialmente importante quando a história e achados clínicos não são típicos de FSB ou a doença é refratária à antibioterapia (Hillier *et al.*, 2014).

É uma patologia frequentemente diagnosticada em cães e, apesar de ocorrer na forma primária, é mais comumente encontrada como uma complicação de doenças alérgicas ou endócrinas (Bonagura e Twedt, 2014; Harvey, 2007; Medleau e Hnilica, 2006; Nesbitt e Ackerman, 1998). A FSB secundária deve ser considerada principalmente aquando da recorrência das lesões duas a três semanas após a resolução das mesmas com a implementação de um tratamento adequado. Pode tornar-se uma condição crónica e/ou recorrente se a causa primária não for identificada e adequadamente resolvida ou controlada. As causas para recorrência ou persistência desta afeção, incluem ainda tratamento inadequado (dosagem e/ou o tempo de tratamento inadequados), presença de estafilococos resistentes à metilina (MRSP) e fatores diretamente dependentes do paciente (Bajwa, 2016; Nesbitt e Ackerman, 1998).

Na prática, o diagnóstico na maioria dos casos é baseado nos sinais clínicos e presença de lesões características. No entanto, o exame citológico é considerado o método de eleição para identificar a presença de bactérias patogénicas e, conseqüentemente, para o diagnóstico da FSB (Bajwa, 2016; Hillier *et al.*, 2014; Miller *et al.*, 2013).

1.2. *Staphylococcus pseudintermedius*

Staphylococcus pseudintermedius é o agente bacteriano mais frequentemente isolado em casos de foliculite superficial bacteriana (FSB), estando também associado a outras condições clínicas como infecções de ouvidos, trato urinário e feridas cirúrgicas (Hillier *et al.*, 2014; Kjellman *et al.*, 2015; May, 2006).

É uma bactéria anaeróbia facultativa, gram-positiva, beta-hemolítica e produtora de coagulase (coagulase positiva) (Beck *et al.*, 2012; Noli, 2003). É ainda um agente patogénico comensal e oportunista do cão, análogo de *Staphylococcus aureus* em seres humanos (Descloux *et al.*, 2008). Pertence ao grupo *Staphylococcus intermedius* (SIG, do inglês “*Staphylococcus intermedius* group”), juntamente com *S. intermedius* e *S. delphini* (Bonagura e Twedt, 2014; Kjellman *et al.*, 2015).

Staphylococcus pseudintermedius não é facilmente distinguível dos outros membros do SIG (também coagulase positivos) por métodos fenotípicos e a sua especificação requer análise molecular, como a reação de cadeia em polimerase (PCR). No entanto, a identificação de rotina baseia-se no facto das outras espécies do grupo SIG serem virtualmente inexistentes no cão, sendo, por isso, proposto que todos os isolados caninos sejam definidos como *S. pseudintermedius*, a não ser que seja comprovado o contrário através de genotipagem (Guardabassi *et al.*, 2017).

Em cães saudáveis, *S. pseudintermedius* são parte da microflora cutânea, colonizando a pele e folículos pilosos, com maior incidência nas regiões mucocutâneas, como o nariz, boca e ânus. A flora estafilocócica é adquirida da progenitora no período neonatal, sendo os níveis de colonização por *S. pseudintermedius* superiores a 69% em cães saudáveis (Beck *et al.*, 2012; Kjellman *et al.*, 2015).

Este agente não causa doença na pele de indivíduos saudáveis. No entanto, pode atuar como patogénico oportunista e causar infeção no caso de a barreira da pele ser quebrada ou imunossupressão, sendo que estas bactérias se multiplicam excessivamente na pele, tornando-se patogénicas (Beck *et al.*, 2012; Miller *et al.*, 2013).

Estafilococos patogénicos têm a capacidade de produzir enzimas e toxinas, cuja função ainda não é totalmente conhecida. Destas, sabe-se que *S. pseudintermedius* tem a capacidade de produzir a proteína A com potentes efeitos pró-inflamatórios, a enzima coagulase que permite a deposição de fibrina nas células bacterianas, inibindo o seu reconhecimento pelas células fagocíticas, bem como a enzima betalactamase, responsável pela resistência às penicilinas. Quando comparados isolados de *S. pseudintermedius* de animais saudáveis e de animais portadores de FSB, não foram encontradas diferenças

entre as várias toxinas e enzimas proteolíticas, mas foi encontrada diferença quanto à virulência. Um dos fatores mais importantes de virulência é a capacidade de adesão aos tecidos do hospedeiro, tendo sido observada maior capacidade de adesão à matriz extracelular das proteínas, em estafilococos patogênicos (Noli, 2003).

S. pseudintermedius têm ganho considerável importância devido à emergência de isolados resistentes à meticilina (MRSP, do inglês do inglês *Methicillin-Resistant Staphylococcus pseudintermedius*) (Noli, 2003). A resistência à meticilina veio conferir a estas estirpes resistência aos antibióticos betalactâmicos, estando, muitas vezes associada à multirresistência, ou seja, a resistência a pelo menos três classes de antibióticos. Apesar dos escassos estudos, com exceção do uso de antibióticos, não foram identificados outros fatores de risco para o aparecimento de MRSP (Brian *et al.*, 2012; Hillier *et al.*, 2014).

Adicionalmente, apesar de *S. pseudintermedius* não ser um agente zoonótico comum, já foi reportado que MRSP têm a capacidade de colonizar humanos e que, indivíduos com contato regular com animais, estão mais predispostos. Já foi, inclusive, descrita a transmissão nosocomial de MRSP entre animais, em ambiente hospitalar (Borjesson *et al.*, 2012). Estes dados enfatizam a necessidade de aplicar medidas de higiene que limitem a possibilidade de transferência de MRSP entre animais, proprietários e pessoal veterinário que entrem em contato com o animal infetado. Todos os intervenientes devem estar atentos a esse risco e ser aconselhados sobre as medidas necessárias para minimizar o risco de transferência, especialmente indivíduos suscetíveis (idosos ou indivíduos imunosuprimidos) que sejam prováveis de entrar em contato com os animais afetados (Hillier *et al.*, 2014).

A emergência de MRSP e consequente preocupação relativa a resistências antibióticas, levou à criação de linhas de orientação para o diagnóstico e tratamento da FSB canina, desenvolvidas entre 2011 e 2013 pelo grupo de trabalho da “International Society for Companion Animal Infectious Diseases” (ISCAID). Estas foram especificamente desenvolvidas para casos de FSB em cães e serão abordadas e utilizadas como base na realização da presente dissertação.

1.3. Métodos de diagnóstico da FSB

1.3.1. Lesões clínicas

A FSB é uma patologia que não exhibe um padrão de distribuição ou apresentação clínica específicos, estando estes dependentes da causa predisponente. As lesões podem

caracterizar-se por áreas focais, multifocais ou generalizadas de pápulas, pústulas, crostas ou áreas de eritema e alopecia (Bonagura e Twedt, 2014; Hillier *et al.*, 2014; Medleau e Hnilica, 2006; Miller *et al.*, 2013). Em alguns casos, as lesões mais evidentes são os chamados colaretes epidérmicos e lesões “em alvo”, que representam áreas circulares de alopecia, descamação, eritema e hiperpigmentação (Hillier *et al.*, 2014). As chamadas lesões “em alvo”, apesar de altamente sugestivas de FSB, não são, apesar disso, consideradas patognomônicas (Miller *et al.*, 2013).

Independentemente da causa predisponente, as lesões primárias mais comuns são pápulas e pústulas eritematosas, tipicamente associadas a folículos pilosos (Hillier *et al.*, 2014; Miller *et al.*, 2013).

Em cães de pêlo comprido a FSB pode manifestar-se apenas como opacidade do pêlo e seborreia excessiva. Por outro lado, em cães de pêlo curto os primeiros sinais são usualmente múltiplas áreas de alopecia, com porções de pêlo entufados, cujo aspeto parece “roído por traças” (Hillier *et al.*, 2014; Medleau e Hnilica, 2006; Miller *et al.*, 2013; Nesbitt e Ackerman, 1998).

As lesões podem ser pruríticas, ou não e, no caso de o serem, a sua intensidade pode variar. As lesões clínicas, achados histopatológicos e níveis de imunoglobulinas IgE são idênticos nos dois casos, sendo a única diferença entre eles, a existência de prurido. Em alguns casos, o prurido pode apenas dever-se à presença de hipersensibilidade bacteriana (Miller *et al.*, 2013; Medleau e Hnilica, 2006).

1.3.2. Análise citológica

O exame citológico constitui um método de elevada importância como auxiliar no diagnóstico de FSB. É mandatário em casos em que haja ausência de lesões típicas (pústulas) e se mantenha a suspeita de FSB, no caso de se observarem lesões típicas com fraca resposta à terapia antibiótica empírica, bem como em casos em que esteja prevista a realização de uma cultura bacteriana. A citologia é, ainda, essencial no diagnóstico de infeções secundárias por *Malassezia pachydermatis* (frequentemente presente na FSB) ou bactérias em forma de haste (raras em cães com FSB) (Hillier *et al.*, 2014).

A colheita da amostra deve ser realizada por aposição de pústulas intactas ou locais de drenagem, sendo a presença de bactérias cocóides nas citologias de lesões típicas altamente sugestivas de infeção bacteriana. Quando associadas com células inflamatórias e cocos intracelulares, a infeção é confirmada.

A ausência ou escassez de bactérias, bem como a ausência de células inflamatórias ou cocos intracelulares não descartam a presença de infecção bacteriana. É importante salientar que, caso o animal apresente uma doença concomitante imunossupressora, ou tenha sido tratado com agentes imunossupressores, pode-se verificar ausência de células inflamatórias e fagocitose (Hillier *et al.*, 2014).

1.3.3. Cultura bacteriana e teste de suscetibilidade a antibióticos

A cultura bacteriana e a determinação da resistência antibiótica não são realizadas numa primeira abordagem à FSB, estando indicadas na suspeita de infecção mista na realização da citologia, bem como em casos crônicos ou recorrentes (Bajwa, 2016).

Segundo as linhas de orientação atuais, quando possível, os laboratórios devem cumprir os protocolos estabelecidos e interpretar os resultados de acordo com o recomendado pelo “Clinical and Laboratory Standards Institute” (CLSI), incluindo o “CLSI subcommittee on Veterinary Antimicrobial Susceptibility Testing” (CLSI-VAST) ou o “European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing” (EUCAST) e outras organizações públicas reconhecidas internacionalmente (Guardabassi *et al.*, 2017; Hillier *et al.*, 2014). Até à data, apenas o CLSI fornece pontos de interrupção (“breakpoints”) e critérios de interpretação para agentes patogênicos veterinários.

1.3.3.1. Cultura

A realização de cultura bacteriana é mandatária em situações altamente sugestivas de resistência antimicrobiana, tais como, redução da extensão das lesões inferior a 50% após duas semanas de terapêutica antibiótica apropriada; aparecimento de novas lesões (pápulas, pústulas ou colaretos) duas semanas, ou mais, após a instituição da terapêutica antibiótica; presença de lesões residuais seis semanas após o início do tratamento, concomitantemente à presença de cocos na citologia; visualização de bactérias em forma de haste na citologia; haver história de infecção multirresistente no próprio paciente ou num cão coabitante (Hillier *et al.*, 2014).

Um diagnóstico assertivo está dependente do uso de técnicas de colheita apropriadas, sendo a escolha da lesão determinante, devido ao risco de contaminação por sobre crescimento bacteriano, tornando as culturas de difícil interpretação. As pústulas são a lesão de eleição para colheita de material, sendo, que, em alternativa às pústulas, a

amostra também pode ser obtida de crostas, colaretes epidérmicos ou pápulas (Bonagura e Twedt, 2014; Hillier *et al.*, 2014).

Na presença de pústulas, deve ser selecionada uma pústula intacta e ser lancetada com uma agulha estéril. O exsudado purulento contido na agulha deve ser transferido para a ponta de uma zaragatoa e posteriormente colocado num meio de cultura. Para a colheita de amostra a partir de crostas, deve-se levantar o bordo da crosta com uma agulha estéril e o material para cultivo obtido a partir dessa superfície exposta. A desinfecção da pele que cobre as pápulas e crostas não deve ser realizada anteriormente à colheita de material, podendo advir um falso negativo (Bonagura e Twedt, 2014; Hillier *et al.*, 2014; Miller *et al.*, 2013).

O método de colheita desejável no caso das pápulas é através de biópsia. No caso da biópsia, após a administração de anestésico local, deve-se limpar a lesão uma única vez com álcool a 70% e proceder à colheita de uma amostra de tecido utilizando um *punch*. Alternativamente, as pápulas também podem ser superficialmente perfuradas (após desinfecção da superfície), para que seja obtida uma gota de pús (Hillier *et al.*, 2014).

Os colaretes epidérmicos podem ser também cultivados, não se tratando, no entanto, de uma técnica tão sensível como o cultivo de pústulas. A amostra neste caso, deve ser colhida do bordo da lesão por zaragatoa estéril (Bonagura e Twedt, 2014). No entanto, as zaragatoas de crostas e colaretes epidérmicos são desaconselhadas, pois, apresentam maior risco de contaminação com bactérias comensais da superfície da pele (Guardabassi *et al.*, 2017).

É importante salientar que uma cultura positiva da superfície da pele não comprova patogenicidade, sendo que deve ser realizado um exame citológico concomitantemente (Miller *et al.*, 2013). Na presença de uma cultura negativa e citologia positiva, a cultura deve ser repetida. Por outro lado, uma cultura negativa e achado citológico negativo, sugerem uma doença pustular estéril, sendo indicada a realização de biópsia (Bonagura e Twedt, 2014).

1.3.3.2. Indicações para a realização do teste de sensibilidade a antibióticos

O teste de sensibilidade a antibióticos (TSA) é indicado na presença de qualquer agente bacteriano que contribuía para um processo infeccioso, requeira a administração de antibiótico e em que não seja possível predizer a sua suscetibilidade de forma fidedigna, pela identificação do agente bacteriano. São mais frequentemente recomendados quando se julga que o agente isolado pertence a uma espécie bacteriana capaz de possuir

mecanismos de resistência para os antibióticos comumente utilizados. São ainda importantes em estudos da epidemiologia da resistência e em estudos de novos agentes antimicrobianos (CLSI, 2013).

Como o uso de antibióticos tem sido declarado como um fator de risco na infecção por estirpes de MRSP, deve ser tomada especial consideração quanto à cultura bacteriana e TSA em cães com história de infecções recorrentes ou uso repetitivo de antibióticos. Para além disso, como a colonização por MRSP pode persistir mesmo após o tratamento e ocorrer em cães que estiveram em contato com outros infetados por MRSP, nestes casos, deve-se realizar a cultura bacteriana e TSA antes da seleção do tratamento (Hillier *et al.*, 2014). Posto isto, os relatórios microbiológicos devem ser sempre interpretados com cuidado, tendo em consideração a resistência à meticilina e implicações na saúde pública, bem como o estadio da doença clínica e o historial terapêutico do paciente (Bajwa, 2016).

Para a análise da resistência de *S. pseudintermedius* têm sido utilizados diferentes métodos, tais como o de difusão em disco, microdiluição em caldo e em casos selecionados e de agentes antimicrobianos específicos, o E-test. O uso dos diferentes métodos é determinado pelo CLSI, sendo, atualmente, o método de eleição para isolados de *S. pseudintermedius*, o teste de difusão em disco (CLSI, 2013; Kadlec e Schwarz, 2012).

1.3.3.3. Teste de suscetibilidade de Kirby-Bauer (teste de difusão em disco)

O teste de difusão em disco, também conhecido como método de Kirby-Bauer, é realizado com o objetivo de determinar a suscetibilidade de bactérias patogénicas aeróbias ou anaeróbias facultativas a vários antibióticos, de modo a auxiliar o clínico aquando a seleção das opções de tratamento (Hudzicki, 2009).

Em 1966, Bauer *et al.* publicaram um documento que descreve o teste usado hoje em dia, sendo o princípio do teste de difusão em disco utilizado em laboratórios de microbiologia desde os anos 70 (Cavalier *et al.*, 2005). Atualmente, o CLSI é responsável por atualizar e modificar o procedimento original de Kirby-Bauer, assegurando a uniformidade da técnica e reprodutibilidade dos resultados, à medida que os agentes patogénicos desenvolvem novos mecanismo de resistência e que são desenvolvidos novos antibióticos (Hudzicki, 2009).

O teste é simples e prático e apresenta-se bem padronizado (Jorgensen e Ferrano, 2009). É realizado após isoladas as colónias da cultura e identificado um potencial agente patogénico. Devem ser selecionadas três a cinco colónias, de modo a aumentar a

possibilidade de detetar resistências, sendo que estas não devem ter mais de 18-24 horas aquando do cultivo (Cavalier *et al.*, 2005). Após selecionadas as colónias, realiza-se o inóculo na superfície de uma placa de agar Mueller-Hinton (agar MH), seguido da colocação de discos impregnados com antibióticos, comercialmente preparados e de concentração fixa, na superfície da placa inoculada. As placas são posteriormente incubadas 16-24 horas, a 35°C, antes da leitura dos resultados (Hudzicki, 2009).

A interpretação dos resultados é realizada pela medição das zonas de inibição de crescimento em redor de cada disco antibiótico, sendo a presença ou ausência de crescimento em torno dos discos uma forma indireta de medir a capacidade daquele antibiótico em inibir o crescimento do microorganismo em teste. Quando o organismo é suscetível ao antibiótico contido no disco, surge uma zona mais clara em redor do disco em que ocorreu inibição do crescimento (Hudzicki, 2009). O diâmetro da zona está, não só relacionado com a suscetibilidade do isolado ao antibiótico contido no disco, mas, também, com a taxa de difusão do antibiótico no meio de agar (CLSI, 2013; Jorgensen e Ferrano, 2009).

Os resultados deste teste são qualitativos, na medida em que a sua categorização (suscetível, intermédio ou resistente) deriva de um rácio do teste, em vez do valor de CIM (Jorgensen e Ferrano, 2009).

Segundo as linhas de orientação atuais, em todos os isolados de estafilococos devem ser testados a eritromicina, clindamicina, tetraciclina (como marcador de resistência à doxiciclina), trimetoprim-sulfametoxazol, gentamicina, cefalotina (ou cefazolina, representando as cefalosporinas de primeira geração), cefpodoxima (representando as cefalosporinas de terceira geração), amoxicilina-ácido clavulânico, oxacilina (para avaliação de suscetibilidade à meticilina) e a enrofloxacina (como marcador de resistência às fluoroquinolonas). No caso da enrofloxacina não ser o antibiótico de eleição, pode ser considerada a inclusão de outras fluoroquinolonas. Podem ainda ser incluídos outros antibióticos importantes para o tratamento de infeções por MRSP tais como a amicacina, o cloranfenicol, a minociclina e a rifampicina. No caso de ser determinada a resistência à eritromicina e suscetibilidade à clindamicina, deve ser realizado o *D-test* (ou métodos moleculares para deteção de genes *erm*) para determinar a probabilidade de ocorrer resistência induzida (Hillier *et al.*, 2014).

No caso do trimetoprim e das sulfonamidas, é, ainda, importante salientar que o excesso de timidina ou timina no meio agar MH, pode reverter os efeitos inibitórios das

sulfonamidas e trimetoprim, resultando em zonas de inibição menores e menos marcadas, ou mesmo na inexistência destas (Hudzicki, 2009; Riviere e Papich, 2009).

As vantagens deste método são a simplicidade do mesmo, a provisão de resultados categóricos facilmente interpretáveis, a flexibilidade na seleção dos discos e, é ainda considerado o método menos dispendioso. Como desvantagens são referidas a falta de mecanização e automação do teste, bem como conferir resultados apenas qualitativos (Jorgensen e Ferrano, 2009). A principal falha apontada para este teste e o de microdiluição em caldo é elevado tempo de resposta (aproximadamente 48 h), desde a cultura aos resultados (Guardabassi *et al.*, 2017).

1.3.3.4. Teste de microdiluição em caldo

O teste de microdiluição em caldo, é considerado o método “*gold standart*” para a determinação da sensibilidade a antibióticos. O princípio deste método é simples, consistindo na colocação das suspensões com a estirpe a ser testada em poços que contêm duas diluições de antibióticos. Após a incubação, é lida a concentração inibitória mínima (CIM) para cada antibiótico que corresponde à concentração mais baixa, capaz de inibir crescimento bacteriano visível e é utilizada para interpretar a suscetibilidade daquele isolado, ao antibiótico testado (CLSI, 2013; Guardabassi *et al.*, 2017).

Este método apresenta como principais vantagens o resultado na forma quantitativa e reprodutibilidade da técnica. Como desvantagens é possível referir a inflexibilidade na seleção dos antibióticos por estarem padronizados nos painéis comercializados (Bonagura e Twedt, 2014).

1.4. Recomendações para o tratamento da FSB

No passado, a maioria das infecções causadas por *S. pseudintermedius* em cães eram tratadas com sucesso, utilizando antibioterapia empírica. No entanto, o tratamento da FSB tem-se tornado cada vez mais desafiante pois, para além da crescente manifestação de isolados MRSP, estes apresentam cada vez mais resistências a outras classes de antibióticos, adicionalmente aos betalactâmicos (Brian *et al.*, 2012; Gold *et al.*, 2014; Hillier *et al.*, 2014).

Para além das resistências aos antibióticos, existem ainda outros fatores que têm impacto na terapia implementada, tais como a severidade e extensão das lesões, fatores individuais de cada paciente (pêlo, temperamento, ambiente em que vivem), doenças concomitantes e a capacidade ou disponibilidade do proprietário para administrar terapia

tópica ou sistêmica, sendo todos estes fatores determinantes para a eficácia da terapêutica. Como tal, quando se fala do tratamento de FSB é também de extrema importância considerar a origem da doença em cada paciente de modo a determinar a melhor terapêutica a implementar. No caso de existir uma causa subjacente esta deve ser devidamente identificada e controlada, sendo um fator determinante para um tratamento efetivo e prevenção de recorrência (Bryan *et al*, 2012; Hillier *et al.*, 2014; Medleau e Hnilica, 2006; Nesbitt e Ackerman, 1998). Outro fator de extrema importância é a colaboração do proprietário no cumprimento das instruções e período de tratamento para a resolução da infecção e prevenção de recorrência (Bonagura e Twedt, 2014).

Atualmente é indicado para o tratamento de FSB, terapia sistêmica, associada a terapia tópica, especialmente em locais onde já tenha sido reportado a existência de MRSP. A antibioterapia sistêmica deve ser realizada em doses terapêuticas recomendadas por, no mínimo, três a quatro semanas, sendo que o tratamento deve ser ainda ser continuado por mais uma semana após a resolução clínica das lesões de modo a prevenir a recorrência das lesões (Badwa, 2016; May, 2006; Medleau e Hnilica, 2006; Nesbitt e Ackerman, 1998). Apesar de o curso típico de terapia sistêmica ser 21-28 dias, alguns estudos indicam que em alguns casos pode ser necessária por mais de 6 semanas para resolução da infecção (Hillier *et al.*, 2014). Foi relatado que infecções MRSP demoram mais tempo a ser tratadas quando comparadas com infecções MSSP, apesar de nem sempre ser o fator determinante, havendo inúmeras causas em cada paciente que determinam o tempo de terapêutica antibiótica, para a resolução da FSB (Badwa, 2016).

Para além da terapia antibiótica sistêmica, devem ser realizados banhos a cada 2-7 dias, com um champô antibacteriano/antiseborreico, de modo a remover detritos teciduais que causem obstrução do folículo piloso e diminuir a colonização bacteriana na superfície da pele. É ainda recomendado que a terapia tópica seja continuada por uma a duas semanas após a resolução clínica das lesões associadas à infecção, que o tempo de contato seja de pelo menos 10 minutos e que o pêlo seja mantido curto de modo a otimizar o contato dos agentes antimicrobianos com a superfície da pele (Hillier *et al.*, 2014; Nesbitt e Ackerman, 1998).

Caso as lesões reapareçam 7 dias após a descontinuação do antibiótico, remete para uma duração terapêutica inadequada, sendo que devem ser prescritos antibióticos por um período mais longo (Medleau e Hnilica, 2006).

Se as lesões não estiverem completamente resolvidas durante a antibioterapia ou se recidivarem semanas ou meses depois, indica que subsiste uma causa subjacente que tem que ser controlada (Medleau e Hnilica, 2006).

A ausência de resposta à antibioterapia sugere resistência aos antibióticos utilizados ou inexistência de patologia cutânea bacteriana (Medleau e Hnilica, 2006).

1.5. Escolha terapêutica na FSB

1.5.1. Terapia antimicrobiana tópica

A terapia antimicrobiana tópica apresenta vantagens significativas aquando o uso precoce e frequente, que incluem resolução mais rápida das lesões, efeitos adversos menos frequentes e, exposição mínima do microbiota aos agentes antimicrobianos (o que reduz o risco de emergência de estirpes resistentes) devido às elevadas concentrações de antibiótico que são impregnadas diretamente no local de infeção. Outra grande vantagem prende-se com as vantagens não biocidas dos champôs, que incluem a remoção mecânica de crostas, exsudados, detritos teciduais e bactérias da pele, independentemente do princípio ativo presente (Bajwa, 2016; Bonagura e Twedt, 2014; Hillier *et al.*, 2014; Miller *et al.*, 2013).

A terapia tópica sozinha (não associada a terapia sistémica), é uma abordagem desejável para lesões localizadas e estadios iniciais de FSB bem como auxílio na prevenção de recorrência no período em que são realizados procedimentos de diagnóstico para uma doença subjacente (Bajwa, 2016).

Os agentes tópicos mais utilizados incluem a clorhexidina, povidona iodada, etileno lactato, peróxido de benzoílo e vários antibióticos, especialmente o ácido fusídico, mupirocina, sulfadiazina de prata e bacitracina (Bonagura e Twedt, 2014; Medleau e Hnilica, 2006; Miller *et al.*, 2013; Nesbitt e Ackerman, 1998).

1.5.2. Terapia antimicrobiana sistémica

A terapia sistémica é mandatária no tratamento de piodermite generalizada, profunda ou recorrente. Apesar de, em casos de FSB de primeira ocorrência, a abordagem terapêutica poder ser empírica, é recomendado que seja selecionada com base numa citologia positiva, na cultura e no teste de sensibilidade a antibióticos (Bajwa, 2016).

Os antibióticos de primeira escolha, representam o grupo de antibióticos que podem ser selecionados para terapia empírica, aquando a ausência de fatores de risco para desenvolvimento de resistência a drogas antimicrobianas. Neste grupo estão incluídos a

clindamicina ou lincomicina, cefalosporinas de primeira geração como a cefalexina ou o cefadroxil e a amoxicilina-ácido clavulânico. As sulfonamidas potenciadas pelo trimetoprim ou ormetoprim e a eritromicina são também considerados antibióticos de primeira escolha adicionais, que podem ser utilizados para terapia empírica caso seja conhecida a suscetibilidade a estes (Bonagura e Twedt, 2014; Hillier *et al.*, 2014).

Por outro lado, existem os antibióticos de segunda escolha, que devem apenas ser utilizados quando os de primeira escolha e os agentes tópicos não são considerados eficazes, bem como no caso da cultura e TSA indicarem suscetibilidade aos mesmos. Como antibióticos de segunda escolha é possível referir a doxiciclina ou a minociclina, o cloranfenicol, as fluoroquinolonas como a enrofloxacina, marbofloxacina, orbifloxacina, pradofloxacina e ciprofloxacina (devem apenas ser utilizadas quando outras opções não se encontram disponíveis), a rifampicina e os aminoglicosídeos como a gentamicina e a amicacina (Hillier *et al.*, 2014). Bonagura e Twedt (2014), referem que, geralmente, os antibióticos de segunda escolha, só são necessários em infeções multirresistentes.

As cefalosporinas de terceira geração como a ceftazidima e o ceftazidime podem, ainda, ser consideradas como antibióticos de primeira ou segunda escolha, uma vez que não houve consenso na categorização destes agentes (Hillier *et al.*, 2014). Estas são consideradas antibióticos de largo espectro, eficazes contra bactérias gram-negativas. Devem ser apenas utilizadas aquando a comprovação de suscetibilidade no antibiograma e em condições clínicas com pouca ou nenhuma resposta ao tratamento com outras classes de antibióticos, incluindo cefalosporinas de primeira geração (Hillier *et al.*, 2014).

É ainda possível referir os antibióticos de terceira escolha, cujo o uso é fortemente desencorajado, mesmo aquando a suscetibilidade bacteriana, devendo ser apenas considerados no caso de se verificar ineficácia dos antibióticos de primeira e segunda escolha. Inclui-se neste grupo a linezolida, teicoplanina e a vancomicina (Hillier *et al.*, 2014).

A seleção de antibióticos sistémicos deve ainda basear-se na disponibilidade, segurança, custo, prevalência local de estafilococos resistentes e em fatores específicos do paciente, como, por exemplo, presença de doença concomitante, administração de outros fármacos, reações medicamentosas anteriores, entre outros (Hillier *et al.*, 2014).

1.5.2.1. Antibióticos de primeira escolha

1.5.2.1.1. Betalactâmicos

Os betalactâmicos são um grupo de antibióticos que têm em comum a presença de um anel betalactâmico, sendo uma classe de elevada importância devido à sua excelente eficácia terapêutica e baixa toxicidade. São eficazes contra a maioria das espécies estafilocócicas e possuem ação bactericida ao interferirem com a síntese da parede bacteriana (May, 2006; Riviere e Papich, 2009).

Atuam ao se ligarem às proteínas de ligação de penicilinas (PBPs), enzimas que formam a parede celular bacteriana e estão envolvidas nos estádios finais de formação e remodelação da parede celular, durante a divisão celular. A ligação às PBPs, leva à sua inativação, o que interfere na reticulação das cadeias de peptidoglicanos necessárias para a resistência e rigidez da parede celular bacteriana. Consequentemente, ocorre enfraquecimento da parede celular bacteriana e ruptura da bactéria (lise celular) (Cavalier *et al.*, 2005; Meredith, 2015; Riviere e Papich, 2009).

Representam um grupo de antibióticos com atividade tempo-dependente, sendo importante manter as doses acima do CIM para uma elevada percentagem no tempo e, portanto, alcance de sucesso clínico. Em termos práticos, significa que o intervalo de doses é crítico e falhar doses pode comprometer seriamente a eficácia do tratamento (Meredith, 2015; Riviere e Papich, 2009). Segundo Riviere & Papich (2009), em alguns casos, com exceção dos bacilos gram-negativos, as concentrações do fármaco podem cair abaixo do CIM no tratamento de infecções estafilocócicas e ainda assim atingir-se a cura, devido ao efeito pós-antibiótico.

Os antibióticos betalactâmicos podem apresentar sinergismo com antibióticos aminoglicosídeos quando usados concomitantemente *in vivo* (Maddison *et al.*, 2008).

1.5.2.1.1.1. Penicilinas

As penicilinas surgiram pela primeira vez em 1928, quando Alexander Fleming se deparou com a ausência de zonas de crescimento, numa placa cultivada com colônias de estafilococos, contaminada por um fungo, o *Penicillium*. Ao cultivar o fungo contaminante num meio especial, Fleming descobriu que este produzia uma substância com potente ação antibacteriana, relativamente não tóxica para animais e ativa contra várias bactérias gram-positivas, tendo-a denominado “penicilina”. Em 1940, a penicilina G foi isolada e utilizada clinicamente pela primeira vez, sendo considerada o princípio ativo mais poderoso da altura e o primeiro antibiótico introduzido na medicina. Pouco

tempo após a sua introdução clínica, surgiram estirpes de *S. aureus* produtoras de betalactamases, enzimas que hidrolisam o anel betalactâmico das penicilinas, tornando estas bactérias resistentes a esta benzilpenicilina (Riviere e Papich, 2009).

Desde essa altura, foram descobertas mais de 40 penicilinas, algumas naturais e outras semissintéticas. Podem ser divididas em penicilinas naturais, aminopenicilinas e penicilinas antiestafilocócicas. As penicilinas naturais são extraídas de culturas fúngicas, sendo depois modificadas. A única penicilina natural atualmente reconhecida é a penicilina G. Possuem amplo espectro de atividade contra estafilococos não produtores de penicilinas e bactérias anaeróbias, sendo eficazes contra poucas bactérias gram-negativas. Por outro lado, as aminopenicilinas (p.e. amoxicilina) são derivados semissintéticos que possuem um grupo amino livre na posição R do núcleo da penicilina e as penicilinas antiestafilocócicas incluem as isoxazolilpenicilinas (p.e. a oxacilina) e outros derivados semissintéticos da penicilina (p.e. a meticilina) (Riviere e Papich, 2009).

1.5.2.1.1.1.1. Meticilina e oxacilina

O tratamento das infeções estafilocócicas antes dos anos 50 envolvia a administração de penicilina G, sendo que, no fim dos anos 50, surgiram estirpes de *S. aureus* produtoras de betalactamases, tornando-as resistentes a esta benzilpenicilina. Perante este problema, em 1959, foi sintetizado pela primeira vez a meticilina, por possuir atividade contra a maioria dos estafilococos produtores de penicilinas, que normalmente seriam resistentes à penicilina G e às aminopenicilinas. Infelizmente, pouco tempo após o início do uso clínico da meticilina, foram isoladas estirpes de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA), tendo os primeiros surtos surgido na Europa no início dos anos 60 (Stapleton e Taylor, 2002; Riviere e Papich, 2009).

A meticilina é um tipo de penicilina antiestafilocócica que já não é utilizada clinicamente, tendo sido também substituída em laboratório pela oxacilina, por possuir maior estabilidade. Por convenção e segundo as recomendações do CLSI, a resistência à oxacilina é usada como marcador de resistência à meticilina por estafilococos, sendo, que, a resistência *in vitro* à oxacilina implica resistência a todos os betalactâmicos, com exceção de algumas cefalosporinas de nova geração como a ceftobiprol e ceftaprolina (Bonagura e Twedt, 2014). Apesar disso, a deteção *in vitro* de resistência à oxacilina, bem como a resistência às betalactamases, continua a ser definida como “resistência à meticilina”.

A meticilina é um antibiótico do grupo das penicilinas antiestafilocócicas, onde também se inclui a oxacilina, fazendo esta última parte do subgrupo das penicilinas isoxazolil. A meticilina e a oxacilina são penicilinas que possuem características estruturais que lhes conferem estabilidade contra as betalactamases produzidas por estafilococos, sendo eficazes contra bactérias gram-positivas e escassas gram-negativas e espiroquetas (Riviere & Papich, 2009).

1.5.2.1.1.1.2. Amoxicilina-ácido clavulânico

A amoxicilina é uma penicilina semissintética, pertencente ao grupo das aminopenicilinas, sendo ativa contra bactérias gram-negativas e gram-positivas, organismos aeróbios e muitos anaeróbios obrigatórios. Por sua vez, o ácido clavulânico é um produto natural do *Streptomyces clavuligerus* que penetra rapidamente em bactérias gram-positivas e gram-negativas (Maddison *et al.*, 2008; Meredith, 2015).

A amoxicilina associada ao ácido clavulânico, em contraste com a amoxicilina sozinha, apresenta atividade contra estafilococos produtores de betalactamases e aumentou a atividade contra patogênicos gram-negativos. No entanto, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella* spp. e estafilococos resistentes à meticilina, são resistentes a este antibiótico (Maddison *et al.*, 2008; Meredith, 2015).

Em medicina veterinária, a amoxicilina-ácido clavulânico oral é formulada com um rácio de 4:1, respetivamente (Meredith, 2015).

É frequentemente o fármaco de primeira escolha em infeções de pele, tecidos moles, trato urinário e profilaxia cirúrgica (Maddison *et al.*, 2008).

1.5.2.1.1.2. Cefalosporinas de primeira geração

As cefalosporinas foram descobertas pela primeira vez em 1948, a partir de um derivado produzido pelo fungo *Cephalosporium acremonium*, a Cefalosporina C. Em 1962 foi disponibilizada a primeira cefalosporina para uso clínico (Maddison *et al.*, 2008; Riviere e Papich, 2009).

São derivados semissintéticos da cefalosporina C, sendo classificadas e divididas em cefalosporinas de primeira, segunda, terceira e quarta geração, com base no seu espetro de atividade (CLSI, 2013; Maddison *et al.*, 2008; Riviere e Papich, 2009).

As cefalosporinas de primeira geração possuem amplo espetro contra bactérias gram-positivas, incluindo estafilococos produtores de betalactamases e atividade moderada contra aeróbios gram-negativos. Tal como no caso das penicilinas,

estafilococos resistentes à meticilina são também resistentes a estes antibióticos (Maddison *et al.*, 2008; Riviere e Papich, 2009).

Apesar de usadas no tratamento de outras infecções, o uso mais comum das cefalosporinas de primeira geração dá-se no tratamento de infecções de pele (Hillier *et al.*, 2014; Riviere e Papich, 2009; Maddison *et al.*, 2008).

No presente trabalho, foi utilizada como cefalosporina representante desta classe, a cefalotina. A cefalotina é um antibiótico betalactâmico semissintético, pertencente ao grupo das cefalosporinas de primeira geração (Maddison *et al.*, 2008). Não é utilizada clinicamente, sendo testada nos TSAs de modo a prever a resistência a outras cefalosporinas de primeira geração, como a cefalexina e o cefadroxil, apesar de a resistência cruzada não ser relatada em 100% dos casos (CLSI, 2013; Spohr *et al.*, 2013).

1.5.2.1.2. Macrólidos e Lincosamidas

Estes grupos de antibióticos, apesar de estruturalmente diferentes apresentam muitas propriedades em comum (Maddison *et al.*, 2008). Partilham mecanismos de ação semelhantes, sendo o seu uso muitas vezes impossibilitado pela frequência de resistência a estas (May, 2006).

Apesar dos mecanismos de resistência poderem limitar o sucesso aquando o uso desta classe de antibióticos, o benefício clínico obtido como resultado da sua acumulação nos leucócitos e boa distribuição no tecido fibrótico e infecções profundas, tornam-nos uma excelente escolha terapêutica quando baseada nos dados obtidos pela cultura e teste de suscetibilidade (Maddison *et al.*, 2008; May, 2006).

Os macrólidos e as lincosamidas, possuem ação bacteriostática alcançada pela ligação reversível à subunidade ribossômica 50S, inibindo a síntese proteica. São geralmente bacteriostáticos, mas a eritromicina pode ter ação bactericida em doses elevadas (Cavalier *et al.*, 2005; Maddison *et al.*, 2008; Riviere e Papich, 2009).

A eritromicina e a lincomicina são mais efetivas contra estafilococos que as aminopenicilinas, mas não tão efetivas como as penicilinas antiestafilocócicas. Possuem espectro de ação contra bactérias gram-positivas, incluindo anaeróbias e alguns protozoários (Maddison *et al.*, 2008). São utilizadas primariamente no tratamento de infecções por bactérias gram-positivas em casos em que existe resistência às penicilinas (Riviere e Papich, 2009).

A eritromicina e azitromicina são os antibióticos da classe dos macrólidos, usados mais frequentemente. A eritromicina quando usada para infecções estafilocócicas

pode induzir resistência a múltiplas famílias de antibióticos, incluindo as lincosamidas. O uso da azitromicina como tratamento de infecções da pele apresenta ainda poucos dados por ser um antibiótico relativamente novo no mercado, havendo poucos conhecimentos quanto à sua utilização na dermatologia veterinária (May, 2006).

O local de ligação destes antibióticos é próximo ao apresentado pelo cloranfenicol, podendo ocorrer antagonismo quando administrados concomitantemente. É, ainda, desaconselhado que sejam administrados concomitantemente com macrólidos ou outras lincosamidas, visto que esta combinação se demonstrou antagonista *in vitro* (Maddison *et al.*, 2008; Meredith, 2015; Riviere e Papich, 2009).

1.5.2.1.2.1. Clindamicina

A clindamicina é um antibiótico da classe das lincosamidas comumente indicado para o tratamento de infecções por bactérias gram-positivas, incluindo estafilococos resistentes a penicilinas (Meredith, 2015). É mais eficaz que a lincomicina contra todos os agentes patogénicos, sendo especialmente ativa contra anaeróbios obrigatórios (Maddison *et al.*, 2008; Riviere e Papich, 2009). Apresenta ainda maior espectro de ação contra estafilococos que a eritromicina (Maddison *et al.*, 2008)

Pode ter ação bacteriostática ou bactericida, dependendo da suscetibilidade da bactéria presente (Meredith, 2015).

É utilizada como marcador da resistência a outras lincosamidas em testes de suscetibilidade a antibióticos (Spohr *et al.*, 2013).

1.5.2.1.2.2. Eritromicina

A eritromicina foi descoberta no início dos anos 50, a partir do *Streptomyces erythreus*, sendo dos macrólidos com mais vastas aplicações clínicas em medicina veterinária. É utilizada no tratamento de piodermites por estafilococos, bem como em infecções respiratórias e gastrointestinais (Riviere e Papich, 2009).

Apresenta maior espectro de atividade contra estafilococos quando comparada com a lincomicina (Maddison *et al.*, 2008) O seu espectro de ação inclui cocos gram-positivos (algumas espécies estafilocócicas são resistentes), bacilos gram-positivos e alguns gram-negativos (Riviere e Papich, 2009). Segundo Riviere, J. & Papich, M. (2009) é o antibiótico mais efetivo contra bactérias gram-positivas resistentes aos betalactâmicos pela síntese de betalactamases ou modificação do local-alvo nas PBPs.

Pode ter ação bactericida (tempo-dependente) ou bacteriostática, dependendo da concentração da substância ativa e suscetibilidade bacteriana (Meredith, 2015; Riviere e Papich, 2009).

A eritromicina é utilizada nos testes de suscetibilidade como marcador da resistência às lincosamidas (lincomicina e clindamicina) e novos macrólidos (azitromicina e claritromicina). É ainda utilizada para demonstrar a resistência induzida às lincosamidas, pela realização do *D-test* (Spohr *et al.*, 2013)

1.5.2.1.3. Sulfonamidas potenciadas

1.5.2.1.3.1. Trimetoprim-sulfametoxazol

As sulfonamidas representam um dos grupos mais antigos de antibióticos, sendo usadas clinicamente desde os anos 40. Com a emergência de bactérias resistentes, as sulfonamidas simples caíram em desuso e, em 1970, as sulfonamidas potenciadas (com adição do trimetoprim ou ormetoprim) vieram substituí-las, por apresentarem maior espectro de ação e eficácia antibacteriana (Maddison *et al.*, 2008; Riviere e Papich, 2009).

Posto isto, é crucial diferenciar as sulfonamidas, daquelas potenciadas ou combinadas quando se escolhe um antibiótico desta classe, pois a resistência bacteriana é frequente em sulfonamidas simples (May, 2006). Para além disso, as sulfonamidas simples possuem apenas ação bacteriostática, enquanto sulfonamidas combinadas, possuem ação bactericida (May, 2006; Riviere e Papich, 2009).

O trimetoprim e as sulfonamidas são formulados numa proporção de 1:5, respetivamente. No entanto, existem autores que referem ser necessário um rácio de 1:20 (trimetoprim:sulfonamida) para produzir atividade antibacteriana (Meredith, 2015; Riviere e Papich, 2009). Quando combinadas com o trimetoprim, permitem prever, no geral, a sensibilidade às sulfonamidas (Spohr *et al.*, 2013).

Apresentam amplo espectro de ação, no que diz respeito a bactérias aeróbias gram-positivas e gram-negativas, especialmente *Nocardia* e também contra muitos protozoários (Maddison *et al.*, 2008; Riviere e Papich, 2009). Representam uma boa opção no tratamento de infeções multirresistentes, bem como infeções estafilocócicas de pele em pequenos animais, uma vez que, estafilococos resistentes à meticilina são comumente suscetíveis a esta classe de antibióticos (May, 2006).

As sulfonamidas são análogas estruturais do PABA que interferem com a biossíntese bacteriana. Atuam ao bloquear etapas sequenciais da síntese do tetraidrofolato, um cofator necessário para a síntese dos ácidos nucleicos.

Primeiramente, as sulfonamidas bloqueiam a síntese do ácido dihidropteroico, competindo com o ácido para-aminobenzoico (PABA) (metabólito essencial, envolvido na síntese do ácido fólico que é precursor da síntese dos ácidos nucleicos) pela enzima dihidropteroato sintetase. O trimetoprim atua depois da sulfonamida, inibindo a enzima dihidrofolato redutase, prevenindo a redução do ácido dihidrofólico em ácido tetrahidrofólico, a forma ativa do ácido fólico. Este mecanismo de duas etapas garante que a resistência bacteriana se desenvolva mais lentamente do que a qualquer agente sozinho (Cavalier *et al.*, 2005; Meredith, 2015; Riviere e Papich, 2009).

Apesar de todas as vantagens, o seu uso encontra-se limitado pela elevada incidência de efeitos adversos (Maddison *et al.*, 2008; Meredith, 2015; Riviere e Papich, 2009).

1.5.2.2. Antibióticos de segunda escolha

1.5.2.2.1. Tetraciclinas

As tetraciclinas são um grupo de antibióticos descobertos pela primeira vez no final dos anos 40 e início dos anos 50, ao serem isolados a partir de várias espécies de *Streptomyces* (Maddison *et al.*, 2008; Riviere e Papich, 2009). A tetraciclina foi o primeiro antibiótico deste grupo a ser reconhecido, ao ser descoberto em 1952. Desde então têm sido feitas várias modificações estruturais semissintéticas à molécula da tetraciclina de modo a produzir outras com diferentes propriedades farmacocinéticas e antimicrobianas (Riviere e Papich, 2009).

São um grupo composto por quatro anéis anfotéricos, que diferem por substituições químicas específicas em diferentes pontos dos anéis. Possuem amplo espectro de atividade contra a maioria das bactérias aeróbias gram-positivas e gram-negativas, mas a resistência adquirida limita a sua atividade contra espécies como *Staphylococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Enterobacter* spp. ou *Escherichia* spp. (Maddison *et al.*, 2008; Riviere e Papich, 2009). A resistência às tetraciclinas é comum em estafilococos e enterococos (Riviere e Papich, 2009).

Possuem ação tempo-dependente e são antibióticos de ação bacteriostática por inibição da síntese proteica. Esta ação é alcançada ao se ligarem reversivelmente à subunidade ribossômica 30S de organismos suscetíveis, bloqueando a ligação ao ARN transferência (tARN) e, conseqüentemente, impedindo que novos aminoácidos sejam adicionados à cadeia de proteínas em crescimento (Cavalier *et al.*, 2005; Maddison *et al.*, 2008; Riviere e Papich, 2009).

A tetraciclina, apesar de ter sido a primeira tetraciclina a ser introduzida clinicamente, atualmente, é apenas utilizada em testes de suscetibilidade a antibióticos, como marcador de resistência à doxiciclina (Hillier *et al.*, 2014; Riviere e Papich, 2009).

1.5.2.2.1.1. Minociclina

A minociclina é um antibiótico da classe das tetraciclinas, introduzida clinicamente em 1972 e, tal como a doxiciclina, é um produto obtido da manipulação química da tetraciclina (Riviere e Papich, 2009).

Esta é a tetraciclina menos estudada em medicina veterinária. Posto isto, as linhas de orientação atuais referem que não foram avaliadas a farmacocinética e dose em cães, sendo por isso recomendada a prescrição de doxiciclina, na vez deste fármaco (Hillier *et al.*, 2014; Riviere e Papich, 2009).

1.5.2.2.1.2. Doxiciclina

A doxiciclina é a tetraciclina mais utilizada na clínica de pequenos animais, desde a sua descoberta em 1967. É um produto semissintético, obtido a partir da manipulação química da tetraciclina e é sintetizado a partir da oxitetraciclina ou metaciclina (Riviere e Papich, 2009).

Tanto a doxiciclina como a minociclina, diferem da tetraciclina por serem mais lipofílicas, conferindo-lhes melhor capacidade de penetração nos tecidos e intracelular, maior volume de distribuição e melhores propriedades microbianas. A doxiciclina possui ainda maior capacidade de ligação às proteínas plasmáticas, o que resulta numa semivida mais prolongada (Riviere e Papich, 2009).

1.5.2.2.2. Fenicóis

Os fenicóis são antibióticos de ação bacteriostática que inibem a síntese proteica. Atuam ao interferir com a atividade da peptidiltransferase por se ligarem à subunidade ribossômica 50S, impedindo a ligação do aminoácido ao substrato e, conseqüentemente, inibirem a formação da ligação peptídica (Meredith, 2015). O cloranfenicol pode também ligar-se à subunidade 30S do ribossoma (Maddison *et al.*, 2008; Riviere e Papich, 2009).

A grande desvantagem desta classe de antibióticos, prende-se pela possibilidade de causarem supressão da medula óssea dependente da dose (Maddison *et al.*, 2008). Para além disso, em cães, foi demonstrado que elevadas doses por períodos prolongados,

causam vacuolização do sistema nervoso central, toxicidade hematopoiética e dilatação do túbulo renal (Riviere e Papich, 2009).

1.5.2.2.2.1. Cloranfenicol

O cloranfenicol foi isolado pela primeira vez em 1947, a partir do *Streptomyces venezuelae*. Ao longo dos anos foi substituído por alternativas mais seguras, sendo atualmente produzido de forma sintética (Maddison *et al.*, 2008).

Este antibiótico apresenta amplo espectro de atividade contra bactérias gram-positivas (p.e. *Streptococcus spp.* e *Staphylococcus pseudintermedius*), algumas gram-negativas e anaeróbios (Meredith, 2015; Riviere e Papich, 2009).

Pode inibir a atividade de antibióticos bactericidas, tais como os aminoglicosídeos e betalactâmicos. Pode também ter um efeito inibitório se usado em combinação com macrólidos ou lincosamidas (Meredith, 2015; Riviere e Papich, 2009).

1.5.2.2.2.2. Florfenicol

O florfenicol, é um fármaco promissor como substituto de outros antibióticos de largo espectro (Maddison *et al.*, 2008).

É um antibiótico considerado mais eficaz que o cloranfenicol por não ser suscetível à inativação por transacetilases. Como tal, alguns organismos que são resistentes ao cloranfenicol pelo mecanismo descrito, são suscetíveis ao florfenicol. Posto isto, este antibiótico apresenta maior espectro de atividade contra bactérias patogênicas quando comparado com o cloranfenicol, visto que para além de eficaz contra os microorganismos suscetíveis, é-lo também contra algumas bactérias resistentes (Maddison *et al.*, 2008; Riviere e Papich, 2009).

1.5.2.2.3. Fluoroquinolonas

As fluoroquinolonas foram desenvolvidas no início dos anos 80 e representam um grupo de antibióticos sintéticos (Maddison *et al.*, 2008). Têm sido descritas como antibióticos bactericidas de amplo espectro, eficazes no tratamento de infeções bacterianas graves (Kang *et al.*, 2014). São uma classe de antibióticos altamente lipofílicos que atingem altas concentrações dentro das células de muitos tecidos e são particularmente eficazes no tratamento de infeções de tecidos moles, urogenital (incluindo prostático) e de pele (Meredith, 2015).

Estes antibióticos, especialmente a enrofloxacin, são utilizados com base no seu amplo espectro de atividade, facilidade de administração e baixa toxicidade. Apresentam facilidade de penetração e distribuição na maioria dos tecidos, incluindo tecido cicatricial, para além de se acumularem no interior dos leucócitos, aumentando a concentração local no tecido alvo (May, 2006).

Apresentam bom espectro de atividade contra bactérias aeróbias gram-negativas sendo que, em gram-positivas, a suscetibilidade pode ser variável. Apesar disso, geralmente o *S. pseudintermedius* e outras espécies estafilocócicas são suscetíveis (Riviere e Papich, 2009).

Atuam ao interferir com a síntese do ácido nucleico (ADN), por inibição da topoisomerase II, também denominada ADN girase. A ADN girase ajuda a enrolar e desenrolar (superenrolamento) o ADN durante a replicação, catalisando a divisão e união das duas cadeias de ADN na molécula, sendo, por isso, essencial à replicação e transcrição do ADN. A ligação das fluoroquinolonas à ADN girase interrompe a sua atividade enzimática, resultando em morte celular (Cavalier *et al.*, 2005; Kang *et al.*, 2014; Maddison *et al.*, 2008). O mecanismo de ação em bactérias gram-positivas ainda não está totalmente esclarecido, mas pensa-se que o alvo primário seja a topoisomerase IV que também catalisa alterações no enrolamento do ADN (Kang *et al.*, 2014; Maddison *et al.*, 2008).

Apresentam efeito concentração dependente o que significa que precisam de atingir um nível mínimo de concentração intracelular para exercer o seu efeito (Meredith, 2015). Posto isto, quando maior concentração (mais acima da CIM), maior o efeito bactericida e menor a probabilidade de selecionar bactérias resistentes. No entanto, em doses muito elevadas a atividade é inibida pela inibição direta da síntese de ARN e pode ser antagonizada por inibidores da síntese proteica (cloranfenicol) e inibidores da síntese de ARN (rifampicina) (Maddison *et al.*, 2008).

Atualmente, existem quatro gerações: A primeira geração (p.e. ácido nalidíxico), apresenta atividade moderada contra bactérias gram-negativas e é pouco eficaz contra gram-positivos e anaeróbios; A segunda geração (p.e. ofloxacin, ciprofloxacina, enrofloxacin e norfloxacina), apresenta bom espectro de atividade contra bactérias gram-negativas mas é apenas eficaz para algumas gram-positivas; A terceira geração (levofloxacin e pradofloxacin) apresenta bom espectro de atividade contra gram-negativos e gram-positivos; A quarta geração (p.e. moxifloxacin e trovafloxacin)

apresenta bom espectro de atividade contra gram-negativos e anaeróbios obrigatórios e muito boa atividade contra gram-positivos (Sousa, 2006).

1.5.2.2.3.1. Enrofloxacin (segunda geração)

A enrofloxacin, considerada a primeira fluoroquinolona veterinária, é efetiva contra *Mycoplasma* e muitos organismos gram-positivos e gram-negativos, sendo relativamente ineficaz contra anaeróbios obrigatórios (Meredith, 2015). A eficácia da enrofloxacin foi demonstrada especificamente no tratamento da FSB canina (Riviere e Papich, 2009).

A sua absorção pode estar comprometida em certos casos, visto que adsorventes e antiácidos com catiões podem ligar-se às fluoroquinolonas e evitar a sua absorção no trato gastrointestinal (Meredith, 2015).

1.5.2.2.3.2. Pradofloxacin (terceira geração)

A pradofloxacin é uma das novas fluoroquinolonas de terceira geração, relacionada com fluoroquinolonas humanas, tais como a gemifloxacin ou a moxifloxacin. Estes novos medicamentos estão a ser explorados em medicina veterinária e humana, visto que as fluoroquinolonas mais antigas, como a enrofloxacin, apresentam menor atividade contra cocos gram-positivos e bactérias anaeróbias e foram associadas ao desenvolvimento de resistência. Os estudos de suscetibilidade, indicam que a pradofloxacin é mais eficaz contra isolados bacterianos de cães e gatos, quando comparada com as outras fluoroquinolonas, possuindo amplo espectro de atividade contra bactérias gram-negativas e elevado espectro contra bactérias gram-positivas, incluindo anaeróbias. A ampla atividade antibacteriana da pradofloxacin é atribuída à sua capacidade de inibição das duas enzimas alvo das fluoroquinolonas – a topoisomerase II (ADN girase) e a topoisomerase IV (Riviere e Papich, 2009).

Como é ativa contra os dois alvos das fluoroquinolonas (a topoisomerase IV e a ADN girase), existe também menor probabilidade de desenvolvimento de mutações que conferem resistência bacteriana (Riviere e Papich, 2009).

1.5.2.2.4. Ansamicinas

1.5.2.2.4.1. Rifampicina

A rifampicina é um antibiótico sintético, resultado da modificação de produtos de *Streptomyces mediterranei* e que representou um elemento importante no tratamento da tuberculose em humanos (Maddison *et al.*, 2008).

É um antibiótico com ação bactericida, que causa morte celular ao interferir com a síntese dos ácidos nucleicos por se ligar à subunidade da ARN polimerase que catalisa a transcrição do ADN em ARN, inibindo, assim, a síntese do ARN (Cavalier *et al.*, 2005; Meredith, 2015).

Apresenta amplo espectro de atividade, incluindo bactérias (particularmente gram-positivas), *Chlamydomphila*, *Rickettsia*, alguns protozoários, fungos e poxvírus. É, ainda, eficaz contra *Staphylococcus aureus* e *Mycobacterium tuberculosis* mas bactérias aeróbias gram-negativas são resistentes de forma inata (Maddison *et al.*, 2008; Meredith, 2015).

A rifampicina é um antibiótico de elevado interesse e de inclusão recomendada nos testes de suscetibilidade, por ser um antibiótico efetivo contra MRSP. No entanto, tem sido associado ao rápido desenvolvimento de resistência, devido a mutações cromossômicas, devendo ser utilizado em combinação com outro antibiótico para o qual o organismo isolado seja suscetível, de modo a prevenir a emergência de organismos resistentes. No entanto, este processo pode não reduzir o desenvolvimento de uma infecção estafilocócica resistente, havendo autores que referem que a resistência à rifampicina se desenvolve rapidamente mesmo aquando a combinação com outro antibiótico (Hillier *et al.*, 2014; Meredith, 2015; Spohr *et al.*, 2013).

1.5.2.2.5. Aminoglicosídeos

Os aminoglicosídeos são considerados o grupo de antibióticos mais importantes no tratamento de infeções severas causadas por bactérias gram-negativas (Maddison *et al.*, 2008; Riviere e Papich, 2009). Requerem um ambiente rico em oxigénio para serem efetivos, tornando as bactérias anaeróbias obrigatórias e anaeróbias facultativas em organismos resistentes a estes antibióticos (Maddison *et al.*, 2008; Meredith, 2015).

Possuem ação bactericida por inibição da síntese proteica bacteriana pela ligação irreversível do aminoglicosídeo a um ou mais recetores da subunidade 30S ribossômica, causando uma leitura incorreta do ARN mensageiro (mARN). Consequentemente dá-se o término na formação da cadeia prematuramente ou incorporação de um aminoácido

errado na proteína (Cavalier *et al.*, 2005; Maddison *et al.*, 2008; Meredith, 2015; Riviere e Papich, 2009).

A sua ação antibacteriana é concentração-dependente, permitindo intervalos de dosagem prolongados (o que pode reduzir a toxicidade). Possuem ainda um efeito pós-antibiótico evidente, ou seja, ocorre supressão do crescimento bacteriano mesmo após a remoção do antibiótico. Neste caso, o efeito bactericida persiste mesmo após as concentrações séricas ficarem abaixo da CIM (Meredith, 2015; Riviere e Papich, 2009).

Os principais efeitos adversos associados à administração desta classe de antibióticos são o desenvolvimento de nefrotoxicidade e ototoxicidade (mesmo com doses terapêuticas recomendadas), se administrados por períodos de tempo prolongados (Riviere e Papich, 2009).

1.5.2.2.5.1. Gentamicina

A gentamicina, foi isolada pela primeira vez em 1963 a partir de compostos produzidos pelo *Micromonospora purpúrea*, sendo o aminoglicosídeo mais estudado até à data (Maddison *et al.*, 2008; Riviere e Papich, 2009).

Apresenta amplo espectro de ação e é ativo contra bactérias gram-negativas aeróbias, algumas espécies de estafilococos e estreptococos (Meredith, 2015).

Atualmente, é provavelmente o aminoglicosídeo mais utilizado em infecções graves causadas por bactérias aeróbias gram-negativas (Maddison *et al.*, 2008). No entanto, a resistência dos microorganismos a este antibiótico tem-se tornado preocupante, apesar de, a maioria das bactérias resistentes à gentamicina, serem suscetíveis à amicacina (Meredith, 2015; Spohr *et al.*, 2013).

1.5.2.2.5.2. Amicacina

A amicacina, é um derivado semissintético da canamicina, introduzido clinicamente nos anos 70. É o aminoglicosídeo com maior espectro de atividade até à data, sendo preferencial em infecções severas resistentes à gentamicina e à tobramicina (Riviere e Papich, 2009).

A amicacina é resistente à maioria das enzimas que inativam os outros aminoglicosídeos, sendo particularmente importante quando se trata de infecções graves em pacientes imunosuprimidos causadas por *Pseudomonas* spp. ou outros organismos gram-negativos (Maddison *et al.*, 2008). É ativa contra muitas bactérias gram-negativas,

Staphylococcus aureus e *Nocardia* spp, incluindo alguns que podem ser resistentes à gentamicina. Estreptococos geralmente são resistentes (Meredith, 2015).

O seu uso é indicado apenas após o teste de sensibilidade a antibióticos ter demonstrado que o organismo isolado é resistente a outros aminoglicosídeos, tais como a gentamicina, visto que a resistência à amicacina é muito menos comum que a resistência à gentamicina (Meredith A., 2015; Spohr *et al.*, 2013). A amicacina é, ainda, considerada útil na presença de organismos multirresistentes (Hillier *et al.*, 2014; Meredith, 2015).

1.6. Resistência a antibióticos por *S. pseudintermedius*

Em 1942, Waksman definiu o termo antibiótico como todos os compostos naturais ou sintéticos, capazes de inibir o crescimento ou causar morte microbiana. Esta descoberta e a sua utilização no tratamento de doenças infecciosas constituiu um dos maiores avanços da Medicina no século XX (Riviere e Papich, 2009). No entanto, atualmente, a saúde está a ser ameaçada por um fenómeno crescente: as bactérias estão a tornar-se cada vez mais resistentes aos antibióticos, pelo que se torna necessário um uso mais prudente e focado dos mesmos (Hillier *et al.*, 2014; Wright e Poinar, 2012). Para além do desenvolvimento de mecanismos de resistência, o uso dos antibióticos também causa a seleção de bactérias. Nesta há eliminação dos organismos suscetíveis, o que facilita a replicação dos isolados resistentes devido à falta de competição com a flora suscetível (Wright e Poinar, 2012).

Uma bactéria é definida como clinicamente resistente a um agente antibiótico quando o fármaco, após a administração da dose recomendada, não atinge uma concentração no local de infeção capaz de inibir efetivamente o crescimento ou causar morte bacteriana. Esta definição tem em consideração os parâmetros farmacológicos relevantes para a terapia sistémica com determinado agente antibiótico e a concentração inibitória mínima (CIM) da bactéria presente (Schwarz *et al.*, 2017).

Em geral, a resistência antibiótica bacteriana pode ser intrínseca ou adquirida. A resistência intrínseca é uma característica específica do género ou espécie bacteriana e é muitas vezes baseada na ausência ou inacessibilidade das estruturas alvo nas respetivas bactérias. A resistência intrínseca também se pode dever à presença de sistemas de exportação (bombas de efluxo) ou à produção de enzimas específicas em determinadas espécies bacterianas (CLSI, 2013; Schwarz *et al.*, 2017). Por outro lado, a resistência adquirida é uma propriedade que pode ser baseada numa grande variedade de mecanismos

de resistência presentes nas diferentes bactérias, podendo dever-se a mutações de genes celulares ou à aquisição de genes de resistência (Schwarz *et al.*, 2017).

1.6.1. Resistência ao ácido fusídico

A resistência bacteriana ao ácido fusídico ocorre quando da presença do gene *fusB*, localizado no plasmídeo. Este confere à bactéria proteínas que protegem o ribossoma da ação antibiótica. A resistência a este antibiótico pode ainda ser conferida por mutações no gene *fusA*, de localização cromossômica, levando à alteração do local alvo do antibiótico e, assim, na inibição da sua ação (Schwarz *et al.*, 2017).

1.6.2. Resistência aos antibióticos betalactâmicos

Em 1944, dois anos após a introdução da penicilina, foi reportado o primeiro caso de resistência a este antibiótico, em humanos. Foi, então, descoberto que *S. aureus* tinham a capacidade de produzir uma enzima que hidrolisava o anel betalactâmico da penicilina, enzima essa, denominada como betalactamase (Cavalieri *et al.*, 2005).

As betalactamases são enzimas produzidas por várias bactérias aeróbias gram-positivas e gram-negativas, bem como algumas bactérias anaeróbias e que causam inibição dos antibióticos betalactâmicos por hidrólise da ligação aminocíclica do anel betalactâmico, tornando-o inativo (Cavalier *et al.*, 2005; Maddison *et al.*, 2008; Riviere e Papich, 2009). Os genes *blaZ*, genes que medeiam a produção de betalactamases, podem manifestar-se devido a mutações cromossômicas ou por transferência de elementos genéticos, como os plasmídeos ou transposões, conferindo resistência às penicilinas (Cavalier *et al.*, 2005; Schwarz *et al.*, 2017; Riviere e Papich, 2009). Estas enzimas, quando produzidas por estafilococos, não inativam as cefalosporinas e penicilinas anti-estafilocócicas (p.e. oxacilina ou dicloxacilina) e podem ainda ser inibidas por inibidores de betalactamases, como o ácido clavulânico (Riviere e Papich, 2009) Nas bactérias gram-positivas, as betalactamases são secretadas extracelularmente, pelo meio circundante à célula e destroem as moléculas betalactâmicas antes de estas terem a possibilidade de entrar na célula e alcançar as PBPs. Quando os betalactâmicos não conseguem alcançar as PBPs, a bactéria é considerada resistente (Cavalier *et al.*, 2005; Maddison *et al.*, 2008).

A indução de produção das betalactamases ocorre, quando as bactérias que possuem estes genes de resistência, são expostas a um agente betalactâmico. A ação do antibiótico na parede celular ativa um mecanismo genético em cascata que inicia a

produção de betalactamases. Esta produção é inativada aquando a ausência do antibiótico ou quando este não está a circundar a célula (Cavalier *et al.*, 2005).

A resistência às penicilinas por inativação enzimática parece ser frequente em isolados de *S. pseudintermedius*, tal como demonstrado num estudo realizado em França, em que, de 50 isolados, 31 eram produtores de betalactamases. (Kadlec e Schwarz, 2012)

1.6.2.1. *S. pseudintermedius* resistentes à meticilina (MRSP)

A resistência à meticilina em *S. pseudintermedius* (na época ainda denominado como *S. intermedius*), foi reportada pela primeira vez a partir de um isolado canino, num estudo publicado em 1999 (Gortel *et al.*, 1999).

A meticilina é uma penicilina semissintéticas, que foi especificamente desenvolvida para o tratamento de infeções causadas por estafilococos produtores de betalactamases, por ser resistente à ação destas enzimas. No entanto, pouco tempo após a sua introdução na prática clínica, foi detetado o primeiro caso de resistência à meticilina. A resistência à meticilina é mediada pela presença do gene *mecA*, que está localizado numa grande cassete cromossómica do elemento *mec* (SCC*mec*, do inglês staphylococcal cassette chromosome *mec*) (Borjesson *et al.*, 2012; Cavalieri *et al.*, 2005; Descloux *et al.*, 2008). Este mecanismo de resistência prende-se pelo local de ligação dos betalactâmicos ser as PBPs. Na presença do gene *mecA* é codificada a produção de uma proteína de ligação à penicilina alterada, a PBP2a (do inglês “Penicillin Binding Protein 2a”), que resiste à ligação dos antibióticos betalactâmicos, conferindo resistência a todos os antibióticos deste grupo (Beck *et al.*, 2012; Brian *et al.*, 2012; Bonagura e Twedt, 2014; Cavalieri *et al.*, 2005; Kadlec e Schwarz, 2012).

Tipicamente, antibióticos como a cefalexina, cefadroxilo e amoxicilina-ácido clavulânico (betalactamase estáveis) são excelentes escolhas para tratar infeções pela primeira vez ou quando um paciente já foi tratado para além do período de remissão. No entanto, com a exposição repetida, é aplicada pressão antibiótica, incitando a expressão do gene *mecA*. As estirpes que apresentam resistência à meticilina podem parecer suscetíveis a antibióticos betalactâmicos *in vitro*, mas demonstraram-se resistentes a esta classe de antibióticos *in vivo*. Os chamados estafilococos resistentes à meticilina são, então, considerados resistentes a todas as penicilinas betalactamase-estáveis, incluindo a oxacilina e a meticilina, bem como a todos os outros agentes betalactâmicos (Bonagura, e Twedt, 2014; Cavalieri *et al.*, 2005).

Os testes de diagnóstico *gold standard* para determinação da resistência à meticilina em *S. pseudintermedius* são o PCR para detecção de *mecA* e a serologia para a PBP2a. No entanto, podem também ser utilizados métodos fenotípicos, como o teste de difusão em disco com a oxacilina ou a cefoxitina, como marcadores de resistência à meticilina por *S. pseudintermedius* e *S. aureus*, respectivamente (Bemis *et al.*, 2009; Riviere & Papich, 2009).

Os estafilococos resistentes a meticilina representam grandes desafios clínicos no tratamento da FSB canina (Beck *et al.*, 2012). Em isolados MRSP, para além da resistência aos betalactâmicos, têm sido reportados casos de resistência a múltiplas classes de antibióticos, incluindo fluoroquinolonas, tetraciclina, macrólidos e aminoglicosídeos (Beck *et al.*, 2012; Bryan *et al.*, 2012; Cavalieri *et al.*, 2005; Kadlec e Schwarz, 2012). Um estudo realizado na Europa e América do Norte, demonstrou que os isolados de MRSP, são comumente resistentes a todas as classes de antimicrobianos aprovados para uso em cães, com 90% dos isolados resistentes à ciprofloxacina, clindamicina, eritromicina, canamicina, estreptomicina e trimetoprim e 57% resistentes ao cloranfenicol (Gold *et al.*, 2014)

1.6.3. Resistência a macrólidos e lincosamidas

A resistência aos macrólidos e às lincosamidas pode ocorrer por modificação do local alvo como resultado da metilação da subunidade ribossômica 50S, mediada pela produção de uma enzima ARN-metilase, o que impede que o fármaco se consiga ligar ao alvo. Este tipo de resistência, ocorre aquando a presença de genes *erm* que se encontram codificados em plasmídeos (Cavalier *et al.*, 2005; May, 2006; Schwarz *et al.*, 2017). Isolados que possuem genes *ermA*, *ermB* ou *ermC* tipicamente são resistentes à eritromicina, mas, quando inicialmente testados, podem parecer suscetíveis à clindamicina (especialmente estirpes *ermC*). Nestes isolados, a resistência à clindamicina expressa-se após a indução com eritromicina (Cavalier *et al.*, 2005).

Um segundo mecanismo de resistência que ocorre apenas em estafilococos, é mediado pelos genes *msr(A)* no caso dos macrólidos e pelos genes *vga(A)*, *vga(C)*, *vga(E)*, *lsa(E)* e *sal(A)*, no caso das lincosamidas. Em ambos, os genes estão codificados em plasmídeos e resultam na ativação de um sistema efluxo que resulta no efluxo ativo do antibiótico para o espaço periplasmático (Cavalier *et al.*, 2005; Schwarz *et al.*, 2017).

Em estafilococos, pode ainda ocorrer inativação enzimática pela presença dos genes *mph(A-E)*, codificados no plasmídeo, cromossoma ou transposição, que resulta na

fosforilação dos macrólidos pela produção de enzimas fosfotransferases. Por outro lado, a inativação das lincosamidas ocorre na presença dos genes *Inu(A)* e *Inu(B)* também localizados nos plasmídeos, com conseqüente nucleotidilação destes pela produção de enzimas nucleotidiltransferases (Schwarz *et al.*, 2017).

A resistência aos macrólidos pode ainda ocorrer por clivagem hidrolítica por produção de esterases, mediada pelos genes *ere(A)* e *ere(B)*, localizados nos plasmídeos (Schwarz *et al.*, 2017).

Geralmente existe resistência cruzada entre a lincomicina e a clindamicina, assim como é bastante comum a resistência cruzada induzível entre lincosamidas e macrólidos (Maddison *et al.*, 2008). Segundo Meredith A. (2015) a clindamicina apresenta resistência cruzada completa com a lincomicina e parcial com a eritromicina.

1.6.4. Resistência a sulfonamidas potenciadas

A resistência às sulfonamidas ocorre por mecanismos mediados por cromossomas ou plasmídeos. A resistência mediada por plasmídeos é a forma de resistência bacteriana mais comum, ocorre rapidamente e manifesta-se pelo comprometimento no mecanismo de penetração das sulfonamidas e na produção de enzimas dihidropteroato sintetase resistentes. A resistência mediada por cromossomas, geralmente desenvolve-se de forma lenta e gradual e resulta da incapacidade de penetração do fármaco na célula microbiana, produção de enzimas dihidropteroato sintetase resistentes à ação deste antibiótico, sendo também possível referir o aumento da produção de PABA (Maddison *et al.*, 2008; Riviere e Papich, 2009).

A produção de enzimas dihidropteroato sintetase resistentes à ação das sulfonamidas é mediada pela presença dos genes de resistência *sul1*, *sul2*, *sul3*. Por outro lado, a resistência ao trimetoprim ocorre pela presença dos genes de resistência *dfrA*, *dfrB*, *dfrG*, *dfrK* com aumento da produção de enzimas dihidropteroato redutase ou síntese de enzimas resistentes à ligação por este fármaco (Riviere e Papich, 2009; Schwarz *et al.*, 2017). Os genes que controlam a resistência bacteriana às sulfonamidas estão comumente ligados aqueles que controlam a resistência à estreptomicina (Maddison *et al.*, 2008).

A resistência cruzada completa verifica-se entre sulfonamidas, ou seja, se um organismo adquirir resistência a uma sulfonamida, geralmente, torna-se também resistente a todas as outras sulfonamidas (Riviere e Papich, 2009).

1.6.5. Resistência às tetraciclina

A resistência a este grupo de antibióticos ocorre em espécies bacterianas (Riviere e Papich, 2009). Atualmente são reconhecidos dois mecanismos de resistência adquirida às tetraciclina, por parte dos estafilococos. É, então, possível referir as bombas de efluxo e as proteínas citoplasmáticas de proteção ribossômica (Maddison *et al.*, 2008; May, 2006; Riviere e Papich, 2009; Schwarz *et al.*, 2017).

Riviere e Papich (2009) referem ainda a existência de um terceiro mecanismo de resistência em que os antibióticos deste grupo são inativados por enzimas libertadas pela bactéria, não tendo sido, no entanto, bem caracterizado. Este mecanismo foi de novo referido por Schwarz *et al.* (2017) mas como existente apenas em *bacteroides*, não tendo, por isso, relevância na presente dissertação.

Em estafilococos, a resistência às tetraciclina por bombas de efluxo é mediada pelos genes *tet*(A-E, G, H, I, J, K, L, Z), *tetA*(P) e *tet*(30), que são maioritariamente encontrados no plasmídeo do ADN, mas podem também estar presentes nos transposões e cromossoma. Estes genes, ao se manifestarem, vão ativar transportadores, levando à expulsão do antibiótico do interior da célula bacteriana (Maddison. *et al.*, 2008; May, 2006; Schwarz *et al.*, 2017).

Por outro lado, os genes que codificam as proteínas de proteção ribossômica estão tipicamente associados com o ADN cromossômico, sendo estes os genes *tet*(M, O, P, Q, S, T) (May, 2006; Schwarz *et al.*, 2017). Ao se manifestarem vão alterar o local alvo de ligação das tetraciclina, protegendo o ribossoma da ligação por estas. Um estudo recente demonstrou que 90% dos isolados de *S. pseudintermedius* eram resistentes à tetraciclina, com a maioria dos isolados a possuírem genes cromossômicos para a proteína de proteção ribossômica (May, 2006).

Estes mecanismos, em combinação com a natureza bacteriostática desta classe de antibióticos, contribuem para a pouca recomendação do seu uso nos dias de hoje (May, 2006).

1.6.6. Resistência aos fenicóis

O mecanismo de resistência bacteriana ao cloranfenicol, de maior importância é mediado por plasmídeos. Este ocorre na presença dos genes de resistência *catA* e *catB*, que levam à inativação enzimática pela produção de acetiltransferases, que modificam as moléculas antibióticas, impedindo que estas se liguem ao local alvo e, assim, exerçam a sua atividade antimicrobiana (Cavaliere *et al.*, 2005; Maddison *et al.*, 2008; Schwarz *et al.*,

2017). Este mecanismo não tem a capacidade de inibir o florfenicol por este não ser um antibiótico suscetível à inativação por transacetilases (Maddison *et al.*, 2008; Riviere e Papich, 2009).

Em estafilococos, o mecanismo de resistência descrito para o cloranfenicol e para o florfenicol, é mediado pelo plasmídeo que, ao conter o gene de resistência *fexA*, codifica 14 segmentos transmembrana produzindo um efeito de bomba de efluxo. Por outro lado, os genes específicos do cloranfenicol, *blt* e *norA*, codificam 12 segmentos transmembrana levando também ao efluxo do antibiótico para fora da célula bacteriana (Schwarz *et al.*, 2017).

Apesar de, para outros autores, serem apenas descritos dois mecanismos de resistência ao cloranfenicol, segundo Riviere, e Papich (2009), encontram-se descritos quatro mecanismos. Estes são a presença da enzima acetiltransferase, a diminuição da permeabilidade da parede celular bacteriana, alteração da capacidade de ligação à subunidade 50S ribossômica e inativação por nitroreduases (Riviere e Papich, 2009).

A resistência adquirida ao cloranfenicol ocorre em muitas espécies, especialmente naquelas em que o cloranfenicol é frequentemente utilizado (Maddison *et al.*, 2008; Riviere e Papich, 2009).

1.6.7. Resistência às fluoroquinolonas

Com o aumento do uso de fluoroquinolonas na última década, a incidência de isolados resistentes aumentou (May, 2006). Este é um grupo de antibióticos que apresenta extensa resistência cruzada entre as diferentes fluoroquinolonas constituintes (Spohr *et al.*, 2013).

Atualmente, a resistência clinicamente importante às fluoroquinolonas, é mediada pelo cromossoma, visto que a resistência mediada por plasmídeos não tem sido demonstrada clinicamente, podendo ocorrer após décadas de uso intenso destes fármacos. Por este motivo e, também por serem um grupo de antibióticos importantes no tratamento de infecções graves causadas por gram-negativos, devem ser apenas considerados após realização de cultura e TSA (Maddison *et al.*, 2008).

As mutações que resultam na alteração do local alvo são a forma de resistência mais conhecida em várias bactérias gram-positivas e gram-negativas (Cavalier *et al.*, 2005). Estas são mediadas pelos genes *gyrA* e *parC* que codificam a topoisomerase II e a topoisomerase IV, respetivamente (Kang *et al.*, 2014; Maddison *et al.*, 2008; May, 2006). É ainda possível de referir a atuação de bombas de efluxo que ocorre na presença dos

genes *blt* e *norA*, localizados no cromossoma e que codificam 12 segmentos transmembrana (Schwarz *et al.*, 2017).

A resistência cruzada entre fluoroquinolonas é frequente, sendo que algumas mutações que alteram a permeabilidade ou ativam as bombas de efluxo também conferem resistência a outros antibióticos, tais como cefalosporinas e tetraciclinas (Maddison *et al.*, 2008).

A resistência às fluoroquinolonas por estafilococos, apesar de bem documentada, ainda apresenta baixa prevalência (Riviere e Papich, 2009).

1.6.8. Resistência às ansamicinas

As mutações cromossômicas que conferem elevados níveis de resistência às ansamicinas, desenvolvem-se rapidamente na maioria das bactérias. Este mecanismo envolve o desenvolvimento de alterações estáveis no ARN polimerase, o que impede a ligação da rifampicina a este. Como a taxa de mutações é elevada, a rifampicina deve ser sempre utilizada em combinação com outros antibióticos de modo a prevenir a emergência de organismos resistentes (Maddison *et al.*, 2008; Meredith, 2015).

A resistência à rifampicina não é transferível e não estão reportados casos de resistência cruzada com outros antibióticos (Maddison *et al.*, 2008)

1.6.9. Resistência aos aminoglicosídeos

O mecanismo mais difundido de resistência à classe dos aminoglicosídeos, por parte de estafilococos é a inativação por enzimas modificadoras de aminoglicosídeos (AMEs), na maioria das vezes codificadas em plasmídeos (Cavalier *et al.*, 2005; Gold *et al.*, 2014; Maddison *et al.*, 2008). A produção de enzimas é mediada pelos genes *aac*, *aad* e *aph* e resulta na produção das enzimas acetil-, adenilo- e fosfotransferase (Schwarz *et al.*, 2017). É particularmente importante e ocorre mais frequentemente em bactérias aeróbias gram-negativas e gram-positivas, prevenindo a ligação dos aminoglicosídeos ao ribossoma da bactéria (Maddison *et al.*, 2008).

Outro mecanismo de resistência aos aminoglicosídeos inclui a mutação dos organismos, resultando em alterações nos ribossomas que impedem a ligação a estes e diminuição da permeabilidade da bactéria. A deleção ou alteração do recetor proteico na subunidade 30S por mutação cromossômica é menos importante que a resistência mediada pelos plasmídeos, exceto no caso da estreptomicina, em que uma mutação

simples confere elevado nível de resistência e pode ocorrer rapidamente, mesmo durante o tratamento (Maddison *et al.*, 2008).

Assim, apesar de os aminoglicosídeos serem bactericidas, provavelmente têm papel mais importante no tratamento de infecções que ameacem a vida, na vez de infecções causadas por espécies estafilocócicas (May, 2006).

1.6.10. Conceito de multirresistência

Desde a década de 50, a pressão seletiva imposta às bactérias pelo uso de agentes antimicrobianos para diversos fins clínicos e não clínicos aumentou dramaticamente. Como consequência, as bactérias desenvolveram e definiram meios para resistir ou escapar aos efeitos inibitórios dos agentes antimicrobianos. Existem, ainda, patogênicos bacterianos que conseguiram acumular ou desenvolver resistências a várias classes de antibióticos ao mesmo tempo. Estes padrões de resistência causaram, pela primeira vez em décadas, comprometimento do prognóstico em pacientes com infecções causadas por bactérias multirresistentes devido à falta de agentes antimicrobianos eficazes (Schwarz *et al.*, 2017).

A multirresistência bacteriana é reconhecidamente a resistência a vários antibióticos, mais concretamente, definida como a resistência a três ou mais classes de antibióticos (Schwarz *et al.*, 2017).

A resistência à metilina, bem como a multirresistência são mais comumente atribuídas como consequências de um tratamento empírico com múltiplas classes de antibióticos antes da realização da cultura bacteriana (Bonagura e Twedt, 2014).

2. Objetivos

A resistência aos agentes antimicrobianos representa um problema da atualidade, sendo determinante a sua identificação, não só para que seja possível realizar um tratamento de forma eficaz, mas, porque ao ser um problema crescente, também apresenta repercussões na Saúde Pública.

Os isolados empregues na realização do presente trabalho haviam sido previamente submetidos a exame citológico, cultura e teste de difusão em disco de Kirby-Bauer no Laboratório de Microbiologia do Hospital Escolar da FMV-ULHT, tendo os resultados sido gentilmente cedidos para a realização desta dissertação.

O objetivo geral proposto para o presente trabalho, consistiu na identificação do perfil de resistência aos antibióticos que haviam sido testados, em 56 isolados de *S. pseudintermedius*, provenientes de cães com achados clínicos compatíveis com FSB e sua correlação com a resistência à meticilina, bem como a determinação da incidência de multirresistência.

Para o presente estudo foram, ainda, definidos como objetivos:

- 1) Caracterizar a amostra quanto ao sexo, idade e raça;
- 2) Determinar o perfil de resistência dos isolados a um conjunto de antibióticos de primeira escolha, mediante os perfis de resistência apresentados para a amoxicilina-ácido clavulânico, cefalotina, clindamicina, eritromicina e trimetoprim-sulfametoxazol;
- 3) Determinar o perfil de resistência a alguns antibióticos de segunda escolha, utilizando como critério de inclusão a resistência à totalidade dos antibióticos de primeira escolha, de acordo com o recomendado pelas linhas de orientação atuais. A resistência aos antibióticos de segunda escolha foi determinada pela apresentação de resistência à minociclina, doxiciclina, tetraciclina, enrofloxacina, pradofloxacina, levofloxacina, florfenicol, rifampicina, amicacina e gentamicina;
- 4) Determinar a viabilidade de opções de tratamento complementares pela avaliação da resistência ao ácido fusídico;
- 5) Determinar a prevalência de isolados MRSP e MSSP e a sua correlação com a com a resistência dos isolados a cada um dos antibióticos testados;
- 6) Avaliar a prevalência de multirresistência nos isolados da amostra;
- 7) Correlacionar os isolados MRSP e MSSP com os isolados multirresistentes e não multirresistentes, de modo a avaliar a presença de associação entre estes;

3. Material e métodos

O presente estudo consistiu num estudo retrospectivo que compreendeu uma amostra composta por 56 cães, tendo sido considerados fatores de inclusão, terem-se apresentado a primeira consulta no Hospital Escolar da FMV-ULHT, exibirem achados físicos compatíveis com FSB e terem sido sujeitos a citologia, cultura e antibiograma.

Os dados médicos utilizados no presente trabalho foram obtidos pela Mestre Ana Oliveira no Laboratório de Microbiologia do Hospital Escolar da FMV-ULHT, Lisboa, Portugal. Os dados analisados, gentilmente cedidos para a realização desta dissertação, corresponderam aos resultados citológicos, bem como culturas e antibiogramas realizados no período entre Junho de 2015 e Junho de 2017.

A primeira abordagem diagnóstica foi baseada em achados clínicos e citológicos, que incluíram a presença de lesões típicas de FSB, como pápulas, pústulas, colaretes epidérmicos, crostas ou liquenificação. Os critérios citológicos incluíram a presença de cocos, associados a neutrófilos degenerados ou cocos a serem fagocitados por neutrófilos.

A colheita das amostras foi realizada a partir de lesões compatíveis com FSB, utilizando zaragatoa estéril, com posterior cultura e teste de suscetibilidade a antibióticos, realizados pelo método de difusão em disco de Kirby-Bauer (Bauer *et al.*, 1966), de acordo com as recomendações do CLSI (2008).

A identificação dos isolados em amostra, identificados na totalidade como *S. pseudintermedius*, foi realizada por determinação fenotípica, ou seja, pela observação citológica e confirmação dos isolados como coagulase e catalase positivos.

Quanto aos antibiogramas, os antibióticos de primeira escolha testados foram a amoxicilina-ácido clavulânico, cefalotina, oxacilina, clindamicina, trimetoprim-sulfametoxazol e a eritromicina, sendo os de segunda escolha a tetraciclina, doxiciclina, minociclina, levofloxacina, pradofloxacina, enrofloxacina, gentamicina, amicacina, rifampicina e o florfenicol. Foi, ainda, testado um antibiótico de uso tópico, o ácido fusídico.

Relativamente aos critérios para avaliação dos isolados, estes foram classificados como suscetíveis ou resistentes aos antibióticos de acordo com os resultados que haviam sido obtidos nos antibiogramas e com os critérios estabelecidos pelo CLSI. Indo de encontro ao recomendado pelas linhas de orientação atuais, o laboratório considerou os isolados com resultados intermédios como resistentes aos antibióticos testados.

No presente estudo, para a classificação de um isolado como MRSP foi considerada a demonstração de resistência à oxacilina presente no antibiograma. Por outro lado, um isolado MSSP foi assim classificado por demonstrar suscetibilidade à oxacilina.

Para avaliação da resistência aos antibióticos de segunda escolha foram selecionados, apenas, os isolados nos quais se verificou resistência à totalidade dos antibióticos de primeira escolha. A amostra para a qual não foram testados todos os antibióticos de primeira escolha não foi considerada, com exceção dos betalactâmicos em que se considerou a resistência à oxacilina como fator de inclusão.

Quando à multirresistência, esta foi considerada aquando a presença de resistência a três ou mais classes de antibióticos.

3.1. Tratamento de dados

Os dados obtidos foram introduzidos numa folha de dados do programa informático Microsoft Excel 2010 (Microsoft Office, EUA), sendo o mesmo utilizado para a criação de Gráficos e Tabelas, bem como para a obtenção da média e frequências relativas e absolutas dos resultados apresentados mais à frente.

4. Resultados

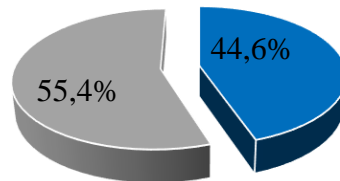
4.1. Descrição da amostra em estudo

Os 56 animais em estudo foram avaliados quanto à sua idade, sexo e raça, sendo os resultados apresentados de seguida.

Os dados obtidos foram submetidos a arredondamentos para uma casa decimal, de modo a facilitar a avaliação dos resultados.

4.1.1. Sexo

Na amostra em estudo verificou-se que, dos 56 cães, 55,4% (31/56) eram machos, enquanto que as fêmeas representaram 44,6% (25/56) da amostra (Gráfico 1).



■ Fêmeas ■ Machos

Gráfico 1: Frequência relativa (%) da amostra quanto ao sexo.

4.1.2. Idade

Na amostra em estudo verificou-se que os 56 cães apresentavam idades compreendidas entre os 6 meses e os 15 anos de idade. A idade mais prevalente foi 1 ano de idade, representando 16,1% (9/56) da amostra. Por outro lado, as idades menos frequentes foram os 13, 14 e 15 anos de idade, com um valor percentual de 1,8%, tal como apresentado na Gráfico 2.

A média de idades da amostra em estudo correspondeu a 5,4 anos de idade.

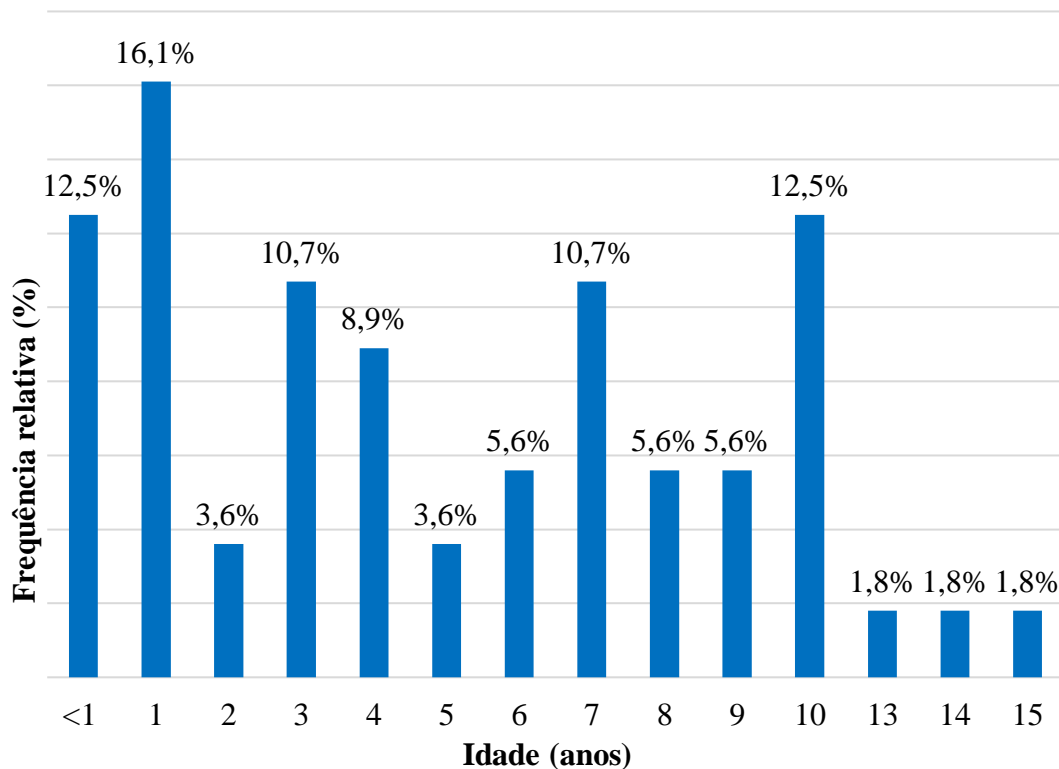


Gráfico 2: Frequência relativa (%) da amostra quanto à idade.

4.1.3. Raça

Relativamente à raça, verificou-se que a maioria dos cães – 46,4% (26/56) – era de raça indefinida. Com apenas um caso, encontravam-se as raças *fox terrier*, pastor belga, *shitzu*, *west highland white terrier*, *sharpei*, serra da estrela, *boxer*, dogue alemão, castro laboreiro, *spitz*, *pinscher*, *pitbull* e braco alemão, com 1,8% de percentil (Gráfico 3).

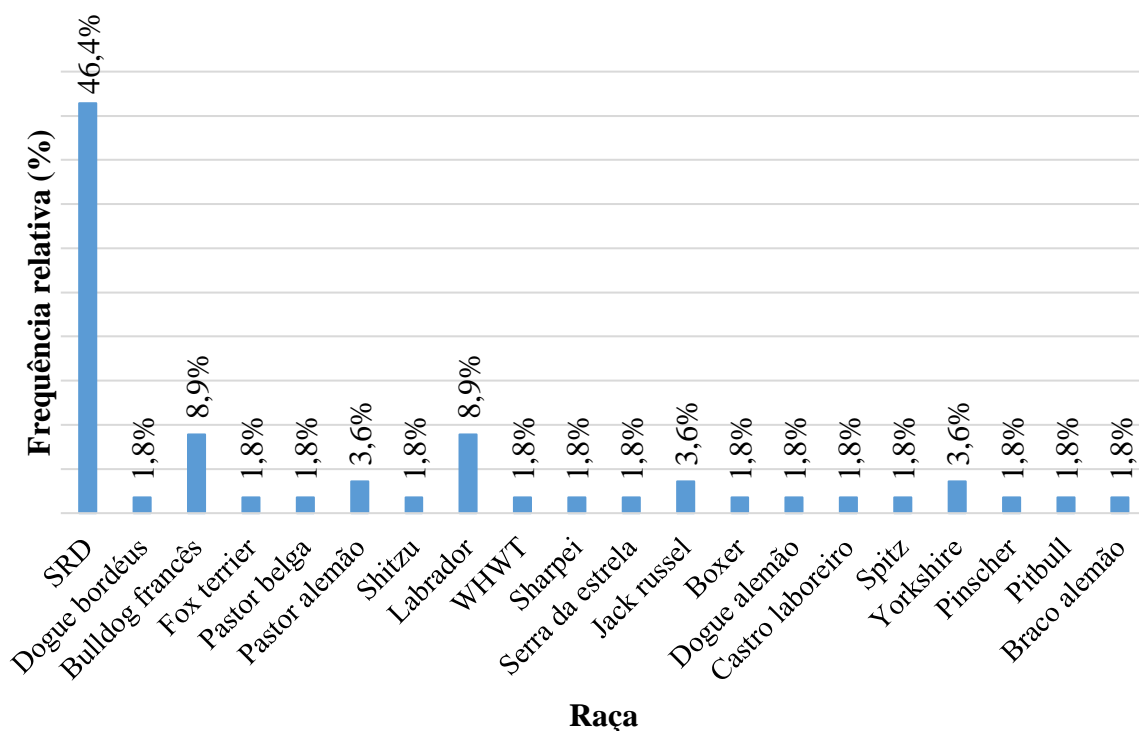


Gráfico 3: Frequência relativa (%) da amostra quanto à raça.

4.2. Suscetibilidade a antibióticos e ocorrência de MRSP

Na determinação da resistência aos antibióticos foram utilizadas a totalidade das amostras, correspondendo a 56 testes de sensibilidade aos antibióticos (Tabela 21, apêndice I).

Os agentes isolados, identificados na totalidade da amostra como *S. pseudintermedius*, foram avaliados quanto aos seus perfis de resistência aos antibióticos testados, de acordo com a classificação “resistente” e “susceptível”.

4.2.1. Resistência aos antibióticos de primeira escolha

Os resultados relativos à avaliação da resistência e susceptibilidade dos isolados em estudo quanto aos antibióticos de primeira escolha, encontram-se discriminados no Gráfico 4.

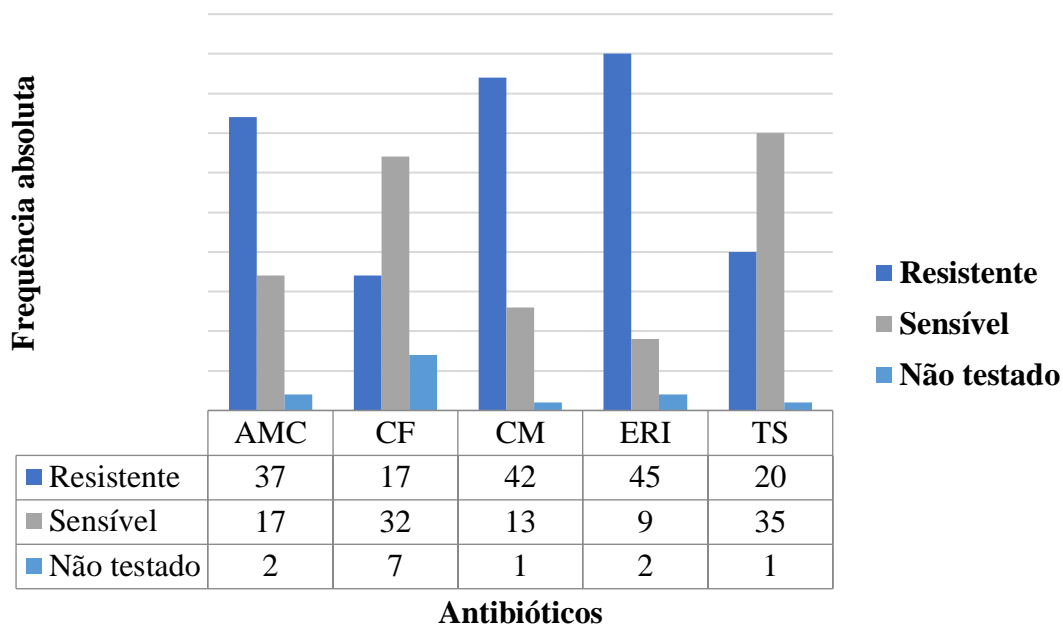
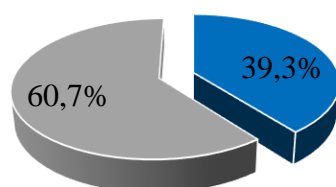


Gráfico 4: Avaliação da resistência dos isolados aos antibióticos de primeira escolha. AMC- amoxicilina-ácido clavulânico; CF-Cefalotina; CM-Clindamicina; TS-Trimetoprim-sulfametoxazol; ERI-Eritromicina.

4.2.1.1. Betalactâmicos

De modo a determinar a resistência aos antibióticos betalactâmicos, usou-se a oxacilina como marcador de resistência a esta classe de antibióticos, sendo que este antibiótico foi testado na totalidade a amostra. Foram considerados MRSP os isolados que apresentaram resistência à oxacilina e MSSP os isolados que apresentaram suscetibilidade à mesma.

A análise dos resultados dos antibiogramas, permitiu aferir que, num total de 56 amostras, 39,3% (22/56) revelaram resistência à oxacilina e 60,7% (34/56) suscetibilidade à mesma. Estes resultados são apresentados no Gráfico 5.



■ MRSP ■ MSSP

Gráfico 5: Avaliação da resistência à oxacilina.

A Tabela 7, foi realizada numa perspectiva de avaliar se, na prática, no caso de resistência à oxacilina, também se verificava resistência aos outros antibióticos betalactâmicos, sendo os resultados desta correlação, apresentados em baixo.

Tabela 7: Avaliação da resistência à amoxicilina-ácido clavulânico e à cefalotina nos grupos MRSP e MSSP.

		MRSP (n=22)	MSSP (n=34)
AMOXICILINA- -ÁCIDO CLAVULÂNICO	Resistente	21	16
	Suscetível	0	17
	Não testado	1	1
CEFALOTINA	Resistente	17	0
	Suscetível	0	32
	Não testado	5	2

Quanto às penicilinas, o antibiótico em estudo foi a amoxicilina-ácido clavulânico (AMC), tendo sido observada resistência em 68,5% (37/54) dos isolados testados (Gráfico 4). Pela correlação com a resistência à oxacilina, observou-se que todos os isolados MRSP e testados para a AMC, apresentavam resistência a este antibiótico. Por outro lado, 48,5% (16/33) dos isolados testados, classificados como MSSP, apresentaram resistência à AMC (Tabela 7).

Relativamente à cefalosporina de primeira geração testada, a cefalotina, verificou-se resistência em 34,7% (17/49) dos isolados testados (Gráfico 4). Por outro lado, os isolados MRSP testados eram resistentes a esta e todos os isolados MSSP testados, apresentavam suscetibilidade a este antibiótico (Tabela 7).

4.2.1.2. Lincosamidas

Quanto a este grupo de antibióticos foi testada a resistência à clindamicina, tendo-se verificado resistência em 76,4% (42/55) dos isolados testados (Gráfico 4). Por outro lado, verificou-se que no grupo MRSP, todos os isolados testados apresentavam resistência à clindamicina, sendo que no grupo MSSP apenas 61,8% (21/34) dos isolados apresentaram resistência (Tabela 8).

Tabela 8: Avaliação da resistência à clindamicina nos grupos MRSP e MSSP.

		MRSP (n=22)	MSSP (n=34)
CLINDAMICINA	Resistente	21	21
	Suscetível	0	13
	Não testado	1	0

4.2.1.3. Macrólidos

O antibiótico testado para este grupo foi a eritromicina, sendo a resistência observada em 83,3% (45/54) dos isolados testados (Gráfico 4). No grupo MRSP verificou-se resistência a este antibiótico em todos os isolados testados. Por outro lado, no grupo MSSP, a resistência verificou-se em 72,7% (24/33) dos isolados testados (Tabela 9).

Tabela 9: Avaliação da resistência à eritromicina nos grupos MRSP e MSSP.

		MRSP (n=22)	MSSP (n=34)
ERITROMICINA	Resistente	21	24
	Suscetível	0	9
	Não testado	1	1

4.2.1.4. Sulfonamidas

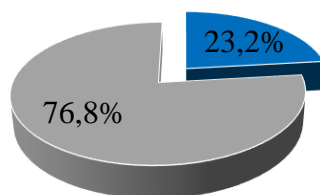
O antibiótico testado nesta classe foi o trimetoprim-sulfametoxazol, tendo sido observada resistência a este antibiótico em 36,4% (20/55) dos isolados testados (Gráfico 4). No grupo MRSP verificou-se resistência em 59,1% (13/22) dos isolados testados e, no grupo MSSP, 21,2% (7/33) de resistência a este antibiótico (Tabela 10).

Tabela 10: Avaliação da resistência ao trimetoprim-sulfametoxazol nos grupos MRSP e MSSP.

		MRSP (n=22)	MSSP (n=34)
TRIMETOPRIM-SULMETOXAZOL	Resistente	13	7
	Suscetível	9	26
	Não testado	0	1

4.2.2. Resistência aos antibióticos de segunda escolha

Para determinar a resistência aos antibióticos de segunda escolha, foi primeiramente avaliada a resistência quanto à totalidade dos antibióticos de primeira escolha. Os resultados seguem-se no Gráfico abaixo (Gráfico 6).



■ Resistência ■ Suscetibilidade

Gráfico 6: Avaliação da resistência dos isolados à totalidade dos antibióticos de primeira escolha.

Para avaliação da resistência aos antibióticos de segunda escolha foram selecionados apenas os isolados nos quais se verificou resistência à totalidade dos antibióticos de primeira escolha, tendo estes representado 23,2% (13/56) da totalidade da amostra (Tabela 22, apêndice II).

De modo a posteriormente se poder correlacionar a resistência à oxacilina com os antibióticos de segunda escolha, foi avaliado quantos dos 13 isolados, eram MRSP. Esta avaliação mostrou que todos os 13 isolados eram MRSP, ou seja, toda a amostra

resistente a antibióticos de primeira escolha, era, também, resistente à oxacilina (Gráfico 7).

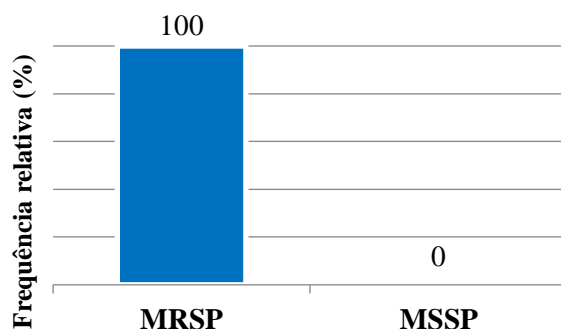


Gráfico 7: Avaliação da resistência à oxacilina dos isolados resistentes aos antibióticos de primeira escolha.

4.2.2.1. Tetraciclina

Neste grupo, os antibióticos testados foram a minociclina, doxiciclina e tetraciclina. Quanto à minociclina, verificou-se resistência em 72,7% (8/11) dos isolados testados. No que se refere à doxiciclina, a resistência verificou-se em 91,7% (11/12) dos isolados testados. Relativamente à tetraciclina, verificou-se resistência na totalidade da amostra testada (Tabela 11).

Tabela 11: Avaliação da resistência dos isolados à minociclina, doxiciclina e tetraciclina.

		Frequência Absoluta
MINOCICLINA	Resistente	8
	Suscetível	3
	Não testado	2
DOXICICLINA	Resistente	11
	Suscetível	1
	Não testado	1
TETRACICLINA	Resistente	5
	Suscetível	0
	Não testado	8

4.2.2.2. Fluoroquinolonas

As fluoroquinolonas testadas foram a enrofloxacin, pradofloxacin e a levofloxacin. Quanto à enrofloxacin foi testado apenas um isolado que apresentou resistênça a este antibiótico. Relativamente à pradofloxacin também foi testado apenas um isolado que demonstrou ser suscetível. Por outro lado, a resistênça à levofloxacin verificou-se em 54,5% (6/11) dos isolados testados (Tabela 12).

Tabela 12: Avaliação da resistênça dos isolados à enrofloxacin, pradofloxacin e levofloxacin.

		Frequência Absoluta
ENROFLOXACINA	Resistente	1
	Suscetível	0
	Não testado	12
PRADOFLOXACINA	Resistente	0
	Suscetível	1
	Não testado	12
LEVOFLOXACINA	Resistente	6
	Suscetível	5
	Não testado	2

4.2.2.3. Fenicóis

O antibiótico testado da classe dos fenicóis foi o florfenicol. Contudo, a resistênça a este antibiótico foi testada em apenas dois isolados, tendo ambos apresentado resistênça a este antibiótico (Tabela 13).

Tabela 13: Avaliação da resistênça dos isolados ao florfenicol.

		Frequência Absoluta
FLORFENICOL	Resistente	2
	Suscetível	0
	Não testado	11

4.2.2.4. Ansamicinas

O antibiótico testado, representante desta classe, foi a rifampicina. Para este antibiótico foram testados, apenas, três isolados que, se apresentaram suscetíveis (Tabela 14).

Tabela 14: Avaliação da resistência dos isolados à rifampicina.

		Frequência Absoluta
RIFAMPICINA	Resistente	0
	Suscetível	3
	Não testado	10

4.2.2.5. Aminoglicosídeos

Os aminoglicosídeos testados foram a amicacina e a gentamicina. Relativamente à amicacina, foi testada a resistência em, apenas, três isolados, tendo-se verificado resistência a este antibiótico, em todos eles. Por outro lado, a resistência à gentamicina foi testada em apenas um isolado, que demonstrou ser resistente (Tabela 15).

Tabela 15: Avaliação da resistência dos isolados à amicacina e gentamicina.

		Frequência Absoluta
AMICACINA	Resistente	3
	Suscetível	0
	Não testado	10
GENTAMICINA	Resistente	1
	Suscetível	0
	Não testado	12

4.2.3. Resistência aos antibióticos de tratamento tópico

Relativamente aos antibióticos tópicos, a amostra foi testada para o ácido fusídico. Na análise da resistência a este antibiótico verificou-se resistência em 27,3% (15/55) dos isolados testados e suscetibilidade em 72,7% (40/55) (Gráfico 8).

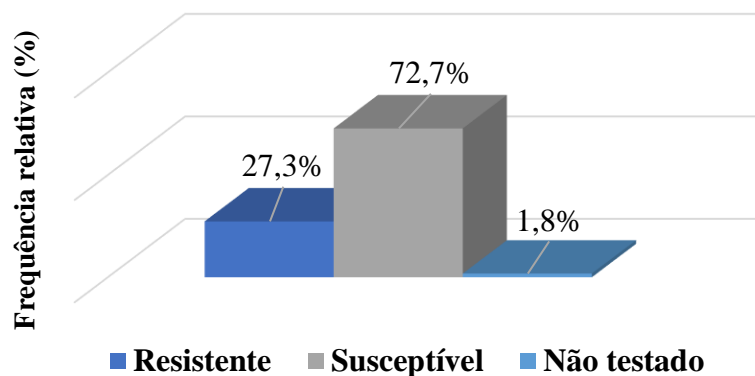


Gráfico 8: Avaliação da resistência ao ácido fusídico.

Seguidamente, correlacionou-se a resistência e suscetibilidade encontradas para este antibiótico na totalidade da amostra, nos grupos de isolados MRSP e MSSP (Tabela 16).

Tabela 16: Avaliação da resistência ao ácido fusídico nos grupos MRSP e MSSP.

		MRSP (n=22)	MSSP (n=34)
ÁCIDO FUSÍDICO	Resistente	11	4
	Suscetível	11	29
	Não testado	0	1

A correlação entre MRSP, MSSP e a resistência ao ácido fusídico demonstrou que 50,0% (11/22) dos isolados MRSP testados também apresentavam resistência ao ácido fusídico, sendo a restante amostra suscetível. Por outro lado, quanto ao grupo MSSP, verificou-se resistência a este antibiótico em 12,1% (4/33) dos isolados.

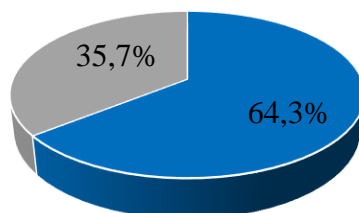
4.2.4. Avaliação da multirresistência

A multirresistência foi considerada quando os isolados apresentaram resistência a três ou mais classes de antibióticos. Nesta análise os isolados foram classificados em multirresistentes e não multirresistentes.

Para esta avaliação foram avaliados os resultados dos antibiogramas relativos à totalidade da amostra (n=56), que se encontram detalhados no apêndice I. Nesta avaliação não foi considerado o ácido fusídico.

Dos isolados em estudo, apenas 35,7% (20/56) correspondiam a isolados de *S. pseudintermedius* resistentes a dois ou menos antimicrobianos, enquanto que 64,3%

(36/56) dos mesmos apresentavam multirresistência. Estes valores estão representados no Gráfico 9.



■ Multirresistentes ■ Não multirresistentes

Gráfico 9: Frequência relativa (%) de isolados multirresistentes e não multirresistentes.

Posteriormente, foram comparados os isolados multirresistentes e não multirresistentes com MRSP e MSSP, de modo a determinar se existia uma eventual correlação entre estes (Tabela 17).

Tabela 17: Avaliação dos isolados multirresistentes nos grupos MRSP e MSSP.

	MRSP (n=22)	MSSP (n=34)
Isolados multirresistentes	22	14
Isolados não multirresistentes	0	22

No que diz respeito à multirresistência, determinou-se que, dos isolados multirresistentes, 61,1% (22/36) eram MRSP e 38,9% (14/36) MSSP. No grupo de isolados não multirresistentes, verificou-se que a totalidade da amostra era MSSP.

5. Discussão

O presente trabalho consistiu num estudo retrospectivo que compreendeu uma amostra de 56 cães com lesões clinicamente compatíveis com FSB, dos quais haviam sido obtidos isolados de *S. pseudintermedius*. A identificação dos isolados, bem como as respetivas culturas e antibiogramas, haviam sido realizados no laboratório do Hospital Escolar da FMV-ULHT e, gentilmente cedidos para a realização da presente dissertação.

Os isolados foram classificados quanto à existência de resistência aos diferentes antibióticos testados nos grupos MRSP e MSSP, bem como quanto à existência de multirresistência, no caso de resistência a três ou mais classes de antibióticos.

Won *et al.*, (2010) referem que *S. pseudintermedius* é o microorganismo responsável por mais de 90% dos casos clínicos de FSB canina. *S. pseudintermedius*, juntamente com *S. intermedius* e *S. delphini* formavam um grupo de espécies estafilocócicas coagulase positiva, denominado SIG. Através de estudos moleculares de análise de ADN, isolados caninos fenotipicamente identificados como *S. intermedius* foram reclassificados como *S. pseudintermedius*. Consequentemente, a não ser que seja provado o contrário por testes moleculares, isolados provenientes de cães, identificados por testes padrão, devem ser considerados *S. pseudintermedius* e pertencentes ao SIG (Kadlec e Schwarz, 2012; Devriese *et al.*, 2005). Similarmente, na amostra da presente dissertação, os isolados foram assumidos como sendo *S. pseudintermedius*, apenas por determinação fenotípica, ou seja, pela observação das características citológicas e confirmação de que eram coagulase e catalase positivos. À semelhança do presente estudo, também Chrobak *et al.* (2011) classificaram todos os isolados como *S. pseudintermedius*, usando, apenas, métodos discriminatórios.

Foster e Foil (2007), referiram não existir uma predisposição de género para o desenvolvimento de FSB. No entanto, no presente estudo, apesar de ser ligeira a diferença entre os dois sexos, verificou-se maior número de amostras provenientes de cães machos 55,4% (31/56). Relativamente às fêmeas, foram representadas em 44,6% (25/56) da amostra (Gráfico 1).

No que respeita à idade, predominaram isolados provenientes de cães com 1 ano, representando 16,1% (9/56) da amostra, sendo a média de idades de 5,4 anos (Gráfico 2). No estudo de Brian *et al.* (2012), no qual foram incluídos 216 casos de cães também diagnosticados com FSB, a média de idades encontrada foi de 6,8 anos, aproximando-se do valor encontrado no presente estudo.

Quanto à caracterização racial da amostra, verificou-se uma predominância de cães sem raça definida, a representarem 46,4% (26/56) da amostra, seguindo-se as raças labrador e bulldog francês com 8,9% (5/56) (Gráfico 3). Este resultado pode ser influenciado por estarmos na presença de uma amostra proveniente de um hospital escolar, onde, a maioria dos doentes são animais provenientes de associações de proteção, podendo levar ao enviesamento dos resultados e, assim, a que a maioria da amostra seja representada por cães sem raça definida. No entanto, à semelhança do presente estudo, Brian *et al.* (2012), com uma população de 216 cães com FSB, demonstraram resultados idênticos ao obterem como raças predominantes os cães SRD (21,8%), seguidos de cães da raça labrador.

De acordo com as linhas de orientação atuais, em isolados de *S. pseudintermedius*, a resistência à meticilina pode ser determinada, apenas, pela avaliação da resistência à oxacilina, sendo esta um marcador de suscetibilidade à meticilina, associada à presença do gene *mecA*, quando não é possível a sua deteção por PCR (Hillier *et al.*, 2014; Kadlec e Schwarz, 2012). No presente estudo, para definição de um isolado como MRSP, foram utilizados dados referentes a métodos discriminatórios, ou seja, esta classificação foi atribuída pela determinação da resistência dos isolados à oxacilina. Abordando este tema, observaram-se 39,3% (22/56) de isolados MRSP na primeira consulta no Hospital Escolar da FMV-ULHT (Gráfico 5). Este resultado, apesar de preocupante, deve ter em conta a população em estudo que, ao ser proveniente de consulta de dermatologia, muitas vezes de referência, pode corresponder a uma população que anteriormente tenha falhado a terapêutica, em que esta não tenha sido eficaz ou serem casos de recorrência. Com uma taxa de resistência tão elevada, o uso de antibióticos de forma empírica, incluindo o uso de antibióticos betalactâmicos seria contraproducente, podendo resultar em períodos de tratamento prolongados e ineficazes. Estes resultados destacam a importância de realizar o perfil de resistência à oxacilina na prática veterinária, bem como a realização da cultura e teste de sensibilidade a antibióticos. Similarmente, Beck *et al.* (2012), ao realizarem um estudo de isolados provenientes de FSB em cães, referiram as estirpes MRSP como a mais importante preocupação de saúde canina, ao obterem uma elevada prevalência de MRSP, patenteado 40,5% (70/173) da sua amostra. Brian *et al.* (2012), demonstraram resultados igualmente concordantes com o isolamento de MRSP em 43,1% (93/216) dos cães do seu estudo.

Ainda, de acordo com as recomendações do CLSI, isolados resistentes à oxacilina são considerados como resistentes aos restantes antibióticos da classe dos

betalactâmicos (Hillier *et al.*, 2014; Kadlec e Schwarz, 2012). Tal foi, também, verificado no presente estudo, em que a correlação entre a resistência à oxacilina e a resistência aos antibióticos betalactâmicos testados, demonstrou que os isolados MRSP eram, também, resistentes à amoxicilina-ácido clavulânico (21/21) e à cefalotina (17/17). No grupo MSSP, 48,5% (16/33) dos isolados testados apresentaram resistência à amoxicilina-ácido clavulânico, sendo que, neste grupo, todos os isolados testados para a cefalotina (32/32), apresentaram suscetibilidade a este antibiótico (Tabela 7).

Quando avaliada a classe dos betalactâmicos, não tendo em conta a resistência à oxacilina, verificou-se 68,5% (37/54) de resistência à amoxicilina-ácido clavulânico e 34,7% (17/49) de resistência à cefalotina, nos isolados testados (Gráfico 4). Este resultado enfatiza a necessidade de recorrer aos métodos recomendados pelas linhas de orientação atuais, pois, como demonstrado, quando não se tem em conta a resistência à oxacilina, podemos ser induzidos em erro e administrar um antibiótico betalactâmico numa afeção na qual existam estirpes MRSP e, portanto, na qual estes antibióticos são ineficazes.

Quanto à classe das lincosamidas e macrólidos, os antibióticos testados foram a clindamicina e eritromicina. A eritromicina, antibiótico representante da classe dos macrólidos neste estudo, apesar de não ser referido nas *guidelines* como antibiótico de primeira escolha, é testado no laboratório da FMV-ULHT como tal, pelas semelhanças com a clindamicina quanto ao mecanismo de ação e mecanismos de resistência. Quanto a este grupo de antibióticos, foram encontrados padrões de resistência semelhantes, com 76,4% (42/55) dos isolados testados resistentes à clindamicina e 83,3% (45/54) resistentes à eritromicina (Gráfico 4). Quando avaliada a resistência no grupo MRSP, foi possível observar que todos os isolados testados apresentaram resistência à clindamicina (21/21) e à eritromicina (21/21). Por outro lado, no grupo MSSP verificou-se resistência à clindamicina em 61,8% (21/34) dos isolados e à eritromicina em 72,7% (24/33) dos isolados testados (Tabelas 8 e 9). Concordantemente, Maluping *et al.* (2014), ao utilizarem amostras provenientes de piodermites, otites, infeções de trato urinário e mastites em cães, observaram que os isolados MRSP apresentavam 100% de resistência à clindamicina e 95% de resistência à eritromicina. Estes resultados, não só, apontam no sentido de desaconselhar o uso destas classes de antibióticos no caso de isolados MRSP, como evidenciam a elevada prevalência de resistência a estes antibióticos em isolados MSSP, levando, também, a limitações na escolha da terapêutica neste segundo grupo.

Segundo Hillier *et al.* (2014), caso o TSA revele resistência à eritromicina e suscetibilidade à clindamicina, deve ser realizado o *D-test* ou testes moleculares para

deteção dos genes *erm*, de modo a determinar se seria provável de ser induzida resistência à clindamicina. No presente estudo, a resistência à eritromicina e suscetibilidade à clindamicina, verificou-se em 9,3% (5/54) dos isolados. Apesar do risco de resistência cruzada nestes casos, não foram realizados testes adicionais para deteção dos genes *erm*, não havendo também conhecimento se nestes doentes foi administrada a clindamicina.

As sulfonamidas potenciadas são utilizadas como antibióticos de primeira escolha no tratamento de FSB no cão (Hillier *et al.*, 2014). No presente estudo, a sulfonamida potenciada usada foi o trimetoprim-sulfametoxazol, tendo sido observada resistência em 36,4% (20/55) dos isolados testados (Gráfico 4) e, no grupo MRSP, resistência em 59,1% (13/22) dos isolados testados. No grupo MSSP, detetou-se resistência em 21,2% (7/33) dos isolados testados (Tabela 10). Mais uma vez, esta correlação demonstra que a resistência é superior no caso do grupo MRSP. Devesa (2015), com uma amostragem também proveniente do Hospital Escolar da FMV-ULHT, observou que 92% (23/25) dos isolados do grupo MRSP e 73% (22/30) do grupo MSSP, a serem resistentes a este antibiótico. Estes padrões de resistência, apesar de, ligeiramente mais marcados, apresentam semelhanças com os encontrados no presente estudo.

No que respeita aos antibióticos de segunda escolha em estudo no presente trabalho, foram testados a minociclina, doxiciclina, tetraciclina, enrofloxacina, pradofloxacina, levofloxacina, florfenicol e a gentamicina. Indo de encontro ao referido nas linhas de orientação atuais, para o estudo dos antibióticos de segunda escolha, foram, apenas, considerados os isolados que apresentavam resistência à totalidade das classes de antibióticos pertencentes à primeira escolha. Nesta avaliação, foi determinado que apenas 13 (23,2%) doentes dos quais provieram os isolados deste estudo eram candidatos ao uso de antibióticos de segunda escolha (Gráfico 6).

Posto isto, 76,8% (43/56) dos doentes em estudo, eram candidatos ao uso das classes de antibióticos considerados de primeira escolha no tratamento da FSB (Gráfico 6). Nestes, foram avaliados quais os antibióticos que se poderiam prescrever, tendo sido observado que, em 21,4% (12/56) dos casos, apenas se poderia recorrer ao trimetoprim-sulfametoxazol (este era o único antibiótico para o qual era apresentada suscetibilidade). Também, em 21,4% (12/56) dos casos apenas se poderia prescrever a cefalotina ou o trimetoprim-sulfametoxazol. Em 14,3% (8/56) dos cães, apenas se poderia recorrer aos betalactâmicos ou ao trimetoprim-sulfametoxazol, sendo que igualmente em outros 14,3% (8/56) isolados, se verificou suscetibilidade a todos os antibióticos. Em 7,1% (4/56) dos isolados, existia suscetibilidade, apenas, à cefalotina e em 5,4% (4/56)

suscetibilidade à cefalotina, clindamicina e ao trimetoprim-sulfametoxazol. Noutros 5,4% (4/56) dos isolados verificou-se suscetibilidade à amoxicilina, cefalotina e à clindamicina. Em apenas um isolado (2,3%), poder-se-ia prescrever a eritromicina, a clindamicina ou o trimetoprim-sulfametoxazol; a cefalotina ou a clindamicina; a amoxicilina-ácido clavulânico; a cefalotina, a eritromicina ou a clindamicina; a amoxicilina-ácido clavulânico, cefalotina, eritromicina ou o trimetoprim-sulfametoxazol; a amoxicilina-ácido clavulânico ou a cefalotina e, por fim, num único doente, apenas se poderia recorrer à clindamicina (Apêndice II).

Dos isolados de cães identificados como candidatos ao uso de antibióticos de segunda escolha, foram, ainda, determinados quantos eram MRSP, tendo este padrão de resistência sido determinado para a totalidade da amostra (23,2%; 13/56) (Gráfico 7).

Para a classe das tetraciclinas verificou-se um padrão de resistência marcado com 72,7% (8/11) dos isolados testados resistentes à minociclina, 91,7% (11/12) resistentes à doxiciclina e os 5 isolados testados para a tetraciclina a apresentarem resistência a este antibiótico (Tabela 11). Num panorama geral, quando avaliado o padrão de resistência dos isolados à classe das tetraciclinas, a minociclina foi o antibiótico desta classe a apresentar menor valor percentual. Por isto, de acordo com o presente trabalho, na consideração de prescrever uma tetraciclina a um doente, a minociclina seria a melhor opção a considerar, por ser a que apresentou um padrão de resistência menos marcado. Devesa (2015), utilizando uma amostragem com a mesma proveniência que a do presente estudo, observou que no grupo MRSP, a resistência à tetraciclina foi encontrada em 80% (20/25) dos isolados e à minociclina em 30% (9/30) dos isolados.

Kadlec e Schwarz (2012), num estudo com 301 isolados de *S. pseudintermedius*, identificaram a resistência à tetraciclina em 34,9% (105/301) dos isolados. No entanto, referiram que estudos mais recentes sobre isolados MRSP em cães e gatos revelaram padrões de resistência à tetraciclina marcados, com 69,9% dos cães (72/103) resistentes a este antibiótico.

Segundo as linhas de orientação atuais, a tetraciclina é utilizada como marcador de resistência à doxiciclina. No presente estudo, dos isolados testados, foi identificado, um isolado resistente à tetraciclina e sensível à doxiciclina. Os restantes isolados apresentavam concordância entre estes dois antibióticos, no que toca aos padrões de resistência (Tabela 11). Este resultado reforça a importância de testar os marcadores de resistência recomendados pelas linhas de orientação atuais pois, neste isolado em que foi identificada resistência à tetraciclina e suscetibilidade à doxiciclina, caso fosse testada

apenas a resistência à doxiciclina, não tendo em conta a testagem do marcador, poderíamos cometer o erro de prescrever um antibiótico para o qual existiria resistência.

Relativamente às fluoroquinolonas, determinou-se que o único isolado testado era resistente à enrofloxacina. Por outro lado, o único isolado testado para a pradofloxacina era, também, resistente a este antibiótico. Quanto à levofloxacina encontrou-se um padrão diferente, com 54,5% (6/11) dos isolados testados a apresentaram resistência (Tabela 12). Os resultados relativos à enrofloxacina e à pradofloxacina, ao representarem uma amostra testada de dimensão tão reduzida, limitam qualquer análise que possamos querer fazer sobre a resistência a estes antibióticos. Segundo Riviere e Papich (2009), a resistência às fluoroquinolonas por estafilococos já demonstrou ser um problema em humanos, sendo que estirpes resistentes à metilina demonstraram ser, também, resistentes às fluoroquinolonas. Esta premissa não é possível de corroborar com o presente estudo pela reduzida dimensão da amostra estudada para os antibióticos desta classe.

O antibiótico testado da classe dos fenicóis foi o florfenicol. No presente estudo, foram testados, apenas, dois isolados, que apresentaram resistência a este antibiótico (Tabela 13). Mais uma vez, uma grande parte da amostra não foi testada, não sendo possível fazer qualquer consideração quanto ao padrão de resistência dos isolados a este antibiótico. Não foi, também, possível encontrar estudos relativos aos padrões de resistência de *S. pseudintermedius* a este antibiótico sendo, na sua maioria, referentes ao cloranfenicol que, apesar de pertencente à mesma classe de antibióticos, apresenta mecanismos de resistência diferentes do florfenicol.

No que diz respeito à rifampicina, os três isolados testados eram suscetíveis a este antibiótico (Tabela 14). Apesar de, na presente dissertação, a amostra testada ter sido reduzida e, por isso, sem relevância estatística, foram relatados elevados padrões de resistência no estudo realizado por Kadlec *et al.* (2011), que analisaram 103 isolados provenientes de cães. Neste, foi demonstrado a totalidade dos isolados MRSP (103/103) resistentes à rifampicina em isolados previamente tratados, apenas, com rifampicina, reforçando a ideia de que o tratamento apenas com rifampicina é desaconselhado. No presente estudo, a suscetibilidade demonstrada pelos isolados testados, pode levar-nos a supor que a amostra, apesar de obtida em consulta de referência, não terá sido submetida a terapêutica com rifampicina e, por isso, não apresentar resistência a este antibiótico.

Relativamente aos aminoglicosídeos, verificou-se que os três isolados para os quais foi testada a suscetibilidade à amicacina, bem como o isolado testado para a

gentamicina, apresentavam resistência a estes antibióticos (Tabela 15). Gold *et al.* (2014), demonstraram que 36,9% (31/84) dos isolados MRSP apresentavam resistência à amicacina. Quanto à gentamicina, Devesa (2015), observou, no grupo MRSP, resistência em 88,0% (22/25) dos isolados. Devido à reduzida dimensão da amostra testada para estes antibióticos, não é possível comparar os resultados presentes nestes estudos, com os obtidos na presente dissertação.

De modo a complementar as opções de tratamento, na amostragem utilizada para o presente estudo, foi ainda testado um antibiótico tópico, o ácido fusídico. No grupo MRSP observou-se resistência em 50,0% (11/22) dos isolados testados, sendo que, no grupo MSSP, a resistência foi encontrada em 12,1% (4/33) dos casos (Tabela 16). Avaliando a totalidade da amostra, neste caso, os 56 isolados, verificou-se uma predominância de suscetibilidade dos isolados a este antibiótico, representado 72,7% (40/55) (Gráfico 8). Esta avaliação, demonstra que este antibiótico representa uma boa escolha como método complementar na terapêutica de casos de foliculite superficial bacteriana.

A multirresistência, ou seja, a resistência a três ou mais classes de antibióticos, foi, também, avaliada. No presente estudo a multirresistência foi um achado comum, tendo sido detetada em 64,3% (36/56) dos isolados (Gráfico 9). Este resultado pode ser influenciado por estarmos na presença de uma amostra proveniente de consulta de referência de dermatologia, sem conhecimento da existência de consulta de primeira opinião. Tal como referido por Schwarz *et al.* (2017), a predominância de estirpes multirresistentes pode estar relacionada com ciclos anteriores ou repetidos de antibioterapia. Loeffler *et al.* (2007) observaram que 23,5% (12/51) dos isolados submetidos a clínica de referência eram resistentes a, pelo menos, cinco classes de antibióticos. Ganière *et al.* (2005) observaram uma frequência de multirresistência de 42,0% (21/50). Holm *et al.* (2002) observaram, ainda, presença de multirresistência em 47,2% (186/394) em estafilococos isolados de casos de primeira ocorrência e 52,7% (208/394) em casos recorrentes.

Segundo Borjesson *et al.* (2012), o aumento da prevalência de MRSP é um problema de grande importância, em grande parte porque torna as opções de tratamento antimicrobiano limitadas, devido à maioria dos isolados serem multirresistentes. No presente estudo, de modo a determinar se existia analogia entre a multirresistência e a resistência à oxacilina, correlacionou-se multirresistência com MRSP e MSSP. No grupo

MRSP verificou-se que todos os isolados eram multirresistentes, corroborando a premissa referida anteriormente (Tabela 17).

Por outro lado, avaliando o grupo dos isolados multirresistentes, 38,9% (14/36) eram isolados MSSP e, no grupo não multirresistentes, verificou-se que a totalidade da amostra era MSSP (22/22) (Tabela 17). Posto isto, é possível inferir, pelo presente estudo, que isolados não multirresistentes serão MSSP e que isolados multirresistentes podem ser, ou não, MRSP.

Estes padrões de multirresistência exercem pressão no que respeita à escolha da terapêutica antimicrobiana adequada, devido às opções de tratamento limitadas. A terapêutica antibiótica empírica, que geralmente envolve antibióticos betalactâmicos, tornar-se-á inefetiva. Em casos agudos, em que a resposta rápida ao tratamento antimicrobiano é crítica, existe, também, alto risco do doente morrer ou desenvolver quadros mais graves, se o tratamento empírico falhar. Adicionalmente, a terapêutica antibiótica com uma substância à qual a bactéria multirresistente seja resistente, vai favorecer o seu crescimento durante o tratamento e, portanto, a sua propagação. Apesar de investigações demonstrarem que os isolados MRSP são suscetíveis a antibióticos de último recurso em humanos, tais como a vancomicina, linezolida e combinação de quinupristina com dalfopristina, é questionável a utilização veterinária destes fármacos para o tratamento de MRSP (Borjesson *et al.*, 2012).

6. Conclusão

A resistência a antibióticos representa um problema da sociedade atual, sendo um tema de extrema importância pelo aumento alarmante de isolados resistentes. Corremos o risco de, num futuro próximo, infecções outrora de fácil resolução, se tornarem fatais.

Apesar da contínua descoberta de novos antibióticos e da tentativa de combate a infecções resistentes, começam a faltar opções terapêuticas, devido à constante adaptação das bactérias à terapêutica existente. Este tornou-se um problema significativo em medicina humana e veterinária, mediada por uma multiplicidade de mecanismos, em consequência da pressão seletiva exercida sobre patógenos bacterianos como consequência do extenso uso de antimicrobianos. Por isto, é necessário mudar mentalidades. Todos têm um papel a desempenhar e é necessário procurar minimizar este tipo de infecções quer em animais de companhia, quer em humanos, sensibilizando, não só, a classe médica para o uso de antibióticos, apenas quando necessário e de forma adequada, mas também proprietários ou doentes para não tomarem antibióticos por iniciativa própria e cumprirem os períodos e horários do tratamento.

A presente dissertação teve como objetivo, não só melhorar conhecimentos quanto a este tema mas, também, demonstrar, mais uma vez, a necessidade de melhorar o controlo de infecções, bem como a diminuição do uso de antibióticos de forma empírica, quer na medicina veterinária, quer na medicina humana, de modo a limitar a continuação de crescimento de estirpes MRSP e multirresistentes. Com este trabalho, verificou-se que existe uma marcada resistência em isolados bacterianos, neste caso, de *S. pseudintermedius*. Na avaliação dos isolados MRSP foi possível concluir que o uso de antibióticos betalactâmicos, clindamicina e eritromicina é desaconselhado por se ter verificado resistência em 100% dos isolados testados. Por outro lado, apesar de não se ter verificado resistência ao trimetoprim-sulfametoxazol em todos os isolados, este antibiótico já apresenta, também um padrão de resistência marcado, com 59,1% dos isolados MRSP resistentes a este antibiótico.

Relativamente aos antibióticos de segunda escolha, foi determinado que todos os isolados candidatos ao uso dos antibióticos deste grupo, eram MRSP. Quanto aos perfis de resistência aos antibióticos deste grupo, não foi possível obter qualquer conclusão, em virtude da reduzida dimensão da amostra testada. No entanto, é possível referir que a minociclina foi o antibiótico que apresentou resistência menos marcada em isolados MRSP.

Quanto ao antibiótico de tratamento tópico testado, é possível afirmar que deve continuar a ser considerado como método complementar na terapêutica sistêmica instituída, não só pelo padrão de resistência pouco marcado em isolados MRSP, bem como pelas vantagens anteriormente referidas quanto à ação mecânica e de restituição da estrutura da pele.

Foi, ainda, possível concluir que existe uma elevada prevalência de isolados resistentes à oxacilina (MRSP) e que, isolados resistentes à oxacilina se revelaram, também, multirresistentes.

Existe uma elevada prevalência de isolados resistentes aos antibióticos de tratamento empírico e de isolados multirresistentes, o que confere ao clínico opções de tratamento limitadas e reforça a necessidade de uma escolha terapêutica mais minuciosa, mediante a realização de testes que determinem a resistência aos antibióticos, apresentadas pelo agente isolado. Para além disso, estes resultados reforçam a necessidade de combinação da terapêutica tópica e sistêmica, pelas inúmeras vantagens inerentes. Um estudo realizado em Itália, em cães com FSB, demonstrou que o tratamento com produtos de clorexidina resultou na resolução dos sinais clínicos em todos os cães, incluindo aqueles infetados por MRSP. Neste estudo, a terapia tópica com produtos de digluconato de clorhexidina a 4% (champô e solução) revelou-se tão eficaz como a terapia sistêmica com amoxicilina-ácido clavulânico (Bajwa, 2016).

É ainda de extrema importância a implementação, em Hospitais Veterinários, de medidas de higiene e utilização de antissépticos apropriados, bem como a educação dos proprietários quanto aos riscos e medidas a implementar na presença de isolados MRSP no seu animal.

Caminhamos para uma era em que podemos deixar de ter antibióticos eficazes sendo, por isso, essencial uma maior aposta na formação e sensibilização dos profissionais de saúde quanto a este problema e às medidas necessárias de aplicar quando se deparam com a necessidade de utilização de antibióticos.

7. Referências bibliográficas

Bajwa, J. (2016). Canine superficial pyoderma and therapeutic considerations. *The Canadian Veterinary Journal*, 57(2): 204–206.

Beck, K., Waisglass S., Dick H., Weese J. (2012). 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*, 23(4): 369-375.

Bemis, D., Jones R., Frank L., Kania S. (2009). Evaluation of susceptibility test breakpoints used to predict mecA-mediated resistance in *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from dogs. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 21(1): 53-58.

Bonagura, J. & Twedt, D. (2014). Staphylococci Causing Pyoderma, Treatment of Superficial Bacterial Folliculitis, Topical Therapy for Infectious diseases & Methicillin-Resistant Staphylococcal Infections. In: Elsevier Saunders (Eds.). *Kirk's Current Veterinary Therapy XV* (15^a ed., pp. 435-444). St. Louis, Missouri.

Borjesson S., Landén A., Bergström M., Andersson U. (2012). Methicillin-Resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in Sweden. *Microbial Drug Resistance*, 18(6): 597-603.

Brian J., Frank L., Rohrbach B., Burgette L., Cain C., Bemis D. (2012). Treatment outcome of dogs with methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus pseudintermedius* pyoderma. *Vet Dermatology*, 23: 361-e65.

Cavalieri, S. *et al.* (2005). Antimicrobial Modes of Action e Disk Diffusion Testing. In: Coyle, M. (Ed.), *Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing American Society for Microbiology* (pp.8-10; 39-62). Washington: University of Washington.

Chrobak D., Kizerwetter-Świda M., Rzewuska M., Moodley A., Guardabassi L., Binek M. (2011). Molecular Characterization of *Staphylococcus pseudintermedius*

Strains Isolated from Clinical Samples of Animal Origin. *Folia Microbiol* 56(5): 415-422.

CLSI (2013). Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals; Approved Standard-Fourth Edition. CLSI document VET01-A4. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

Cuscó A., Sánchez A., Altet L., Ferrer L., Francino O. (2017). Individual Signatures Define Canine Skin Microbiota Composition and Variability. *Front Vet Sci.*, doi: 10.3389/fvets.

Descloux, S., Rossano A., Perreten V. (2008). Characterization of New Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* (SCCmec) and Topoisomerase Genes in Fluoroquinolone- and 49 Methicillin-Resistant *Staphylococcus pseudintermedius*. *J Clin Microbiol.*, 46(5): 1818-23.

Devesa, J. (2015). RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS EM *Staphylococcus pseudintermedius* DE ISOLADOS CUTÂNEOS DE CÃES COM PIODERMITE SUPERFICIAL (Dissertação de Mestrado). Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Lisboa.

Devriese, L., Vancanneyt M., Baele M., Vanechoutte M., De Graef E., Snauwaert C., Cleenwerck I., Dawyndt P., Swings J., Decostere A., Haesebrouck F. (2005). *Staphylococcus Pseudintermedius* sp. nov., a coagulase-positive species from animals. *International Journal of Systematic Evolutionary Microbiology*, 55: 1569–73.

Gold, R., Cohen N., Lawhon S. (2014). Amikacin Resistance in *Staphylococcus pseudintermedius* Isolated from Dogs. *J Clin Microbiol.*, (10):3641-6.

Gortel, K, Campbell K., Kakoma I., Whitem T., Schaeffer D., Weisiger R. (1999). Methicillin resistance among staphylococci isolated from dogs. *Am J Vet Res*, 60(12): 1526-30.

Guardabassi L., Damborg P., Stamm I., Kopp P., Broens E., Tourtain P. (2017). Diagnostic microbiology in veterinary dermatology: present and future. *Journal of veterinary dermatology*, 28: 146–e30.

Hillier A., Lloyd D., Weese J., Blondeau J., Boothe D., Breitschwerdt E. *et al.* (2014). 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). *Vet dermatology*, 25(3): 163-175.

Hudzicki, J. (2009). Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol. *American Society for Microbiology*. Washington DC.

Jorgensen, J. & Ferrano, M. (2009). Antimicrobial Susceptibility Testing: A Review of General Principles and Contemporary Practices. *Journal of medical microbiology*, 49(11):1749-1755.

Kadlec K., Duijkeren E., Wagenaar J., Schwarz S. (2011). Molecular basis of rifampicin resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* isolates from dogs. *J Antimicrob Chemother*, 66(6):1236-42.

Kadlec, K. e Schwarz, S. (2012). Antimicrobial resistance of *Staphylococcus pseudintermedius*. *Vet dermatology*, 23(4):276-282.

Kang M., Chae M., Yoon J., Lee S., Yoo J., Park H. (2014). Resistance to fluoroquinolones and methicillin in ophthalmic isolates of *Staphylococcus pseudintermedius* from companion animals. *Can Vet J*, 55(7): 678-682.

Kjellman E., Sletteanea J., Small H., Sunde M. (2015). Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) from healthy dogs in Norway – occurrence, genotypes and comparison to clinical MRSP. *Microbiology open*, 4(6): 857-866.

Lloyd D. e Patel A. (2003). Structure and function of the skin. In: Foster A. e Foil C. (Eds.), *BSAVA Manual of Small Animal Dermatology* (2^a ed.; pp. 1-10). Dorset, United Kingdom: British Small Animal Veterinary Association.

Maddison J., Watson A. e Elliott J. (2008). Antibacterial drugs. In: J. Maddison (Eds.), *Small Animal Clinical Pharmacology* (2^a ed., pp. 159-185). Edinburgh, London: Elsevier Saunders.

Maluping R., Paul N. e Moodley, A. (2014). Antimicrobial susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from veterinary clinical cases in the UK. *Br J Biomed Sci.*, 71(2):55-7.

May, E. (2006). Bacterial Skin Diseases: Current Thoughts on Pathogenesis and Management. *Veterinary Clinics Small Animal Practice*, 36(1): 185-202.

Medleau, L. e Hnilica, K. (2006). Superficial Pyoderma. In: Saunders Elsevier (Eds.), *Small Animal Dermatology: A color atlas and therapeutic guide* (2^a Ed., p. 34). St. Louis, Missouri.

Meredith, A. (2015). *Small Animal Formulary* (9^a ed., pp. 21-400). Quedgeley, Gloucester: British Small Animal Veterinary Association.

Miller, W. *et al.* (2013). *Muller and Kirk's Small Animal Dermatology* (7^a ed., pp. 1-13, 81-82, 184-203). St. Louis, Missouri: Elsevier Mosby.

Nesbitt, G. & Ackerman, L. (1998). Superficial Bacterial Folliculitis. In: Nesbitt, G. & Ackerman, L., *Veterinary Learning Systems* (Eds.), *Canine & Feline Dermatology: Diagnosis and Treatment* (Pp. 206-209). Trenton, New Jersey.

Noli, C. (2003). Staphylococcal pyoderma. In: Foster A. e Foil C. (Eds.), *BSAVA Manual of Small Animal Dermatology* (2^a ed.; pp. 1-10). Dorset, United Kingdom: British Small Animal Veterinary Association.

Riviere, J. e Papich, M. (2009). Chemotherapy of Microbial Diseases. In: Riviere J. e Papich M. (Eds.), *Veterinary Pharmacology & Therapeutics* (9^a Ed., pp. 835-983). Iowa, USA: Wiley-Blackwell.

Schwarz S., Loeffler A., Kadlec K. (2017). Bacterial resistance to antimicrobial agents and its impact on veterinary and human medicine. *Vet dermatol*, 28(1): 82-119.

Sousa, J. (2006). Manual de Antibióticos Antibacterianos (2ª ed., pp. 116-134). Porto, Portugal: Universidade Fernando Pessoa.

Spohr A., Schjøth B., Wiinberg B., House G., Willeesen J., Jessen L. *et al.* (2013). Antibiotic Use Guidelines for Companion Animal Practice.

Stapleton, P. e Taylor, P. (2002). Methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*: mechanisms and modulation. *Europe PMC Founders Group*, 85(Pt 1): 57–72.

Watts J., Shryock T., Apley M., Bade D., Brown S., Gray J. *et al.* (2008). Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Test for Bacteria Isolated from Animals; Approved Standard – Third Edition (Vol. 28, Nº 8).

Won Y., Lee K., Lee S., Chae M., Park J., Yoo J., Park H. (2010). Antibiotic Resistance Profiles of *Staphylococcus pseudintermedius* Isolates from Canine Patients in Korea. *J. Microbiol. Biotechnol*, 20(12): 1764–1768.

Wright, G. e Poinar, H. (2012). Antibiotic resistance is ancient: implications for drug discovery. *Trends in Microbiology*. 20(4): 157-159.

Apêndice I – Antibiogramas da amostra

Tabela 18: Resultado dos antibiogramas para a totalidade da amostra.

AB	AMC	CF	DOT	MH	ERI	CM	TS	AF	LVF	OX	AK	FFC	MOX	RA	TE	ENR	CHL	GEN	PRAD
1	R	NT	R	R	R	R	R	R	S	R	NT	NT	NT	NT	R	NT	NT	NT	NT
2	R	NT	R	R	R	R	R	R	S	R	NT	NT	NT	NT	R	NT	NT	NT	NT
3	R	NT	S	S	R	R	S	S	R	R	NT	NT	R	NT	S	NT	NT	NT	NT
4	R	NT	R	R	S	S	S	S	S	S	NT	NT	NT	NT	R	NT	NT	NT	NT
5	R	NT	R	R	R	R	R	S	R	R	NT	NT	NT	NT	R	NT	NT	NT	NT
6	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
7	R	R	S	S	R	R	S	R	S	R	NT	NT	NT	NT	R	NT	NT	NT	NT
8	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	NT	NT	NT	NT	R	NT	NT	NT	NT
9	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
10	S	S	S	NT	S	S	S	S	NT	S	NT	NT	NT	NT	S	S	S	NT	NT
11	R	R	R	NT	R	R	R	S	NT	R	R	NT	NT	S	R	R	NT	NT	NT
12	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
13	R	S	S	S	R	S	S	S	S	S	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
14	R	S	S	S	R	S	S	S	S	S	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
15	R	S	R	R	R	S	R	S	S	S	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
16	S	S	S	S	R	S	R	S	R	S	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
17	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
18	R	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	NT	S	NT	NT	NT	NT	NT
19	R	S	R	R	R	R	S	R	S	S	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
20	R	S	R	R	R	R	S	S	S	S	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
21	S	S	S	NT	S	S	S	S	NT	S	NT	NT	NT	NT	S	S	S	NT	NT
22	R	S	R	R	R	R	S	S	S	S	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
23	S	S	S	S	R	R	S	R	R	S	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
24	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT

25	R	S	R	R	R	R	R	S	S	S	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
26	R	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	NT	S	NT	NT	NT	NT	NT
27	NT	NT	NT	NT	NT	NT	R	S	NT	R	R	R	NT	S	NT	NT	NT	R	NT
28	R	S	R	R	R	R	S	S	S	S	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
29	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
30	NT	NT	NT	NT	NT	R	NT	NT	S	S	S	R	NT	S	NT	NT	NT	S	NT
31	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
32	R	S	R	S	R	R	R	S	S	S	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
33	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
34	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
35	R	S	S	R	R	R	S	S	S	S	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
36	R	S	S	S	R	R	S	S	S	S	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
37	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
38	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
39	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
40	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
41	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
42	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
43	R	S	R	R	R	R	R	R	S	S	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
44	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
45	S	S	R	R	S	S	R	S	S	S	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
46	R	S	R	R	R	R	S	R	S	S	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	S
47	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
48	R	R	S	S	R	R	S	R	S	R	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
49	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	S
50	R	S	S	R	R	R	S	S	S	S	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
51	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
52	S	S	R	R	R	R	S	S	S	S	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
53	R	R	S	S	R	R	S	S	R	R	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
54	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT

55	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
56	S	S	R	R	R	R	R	S	S	S	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT

R-Resistente; S- Suscetível; NT-Não testado. AMC-amoxicilina-ácido clavulânico; CF-Cefalotina; CM-Clindamicina; TS-Trimetoprim-sulfametoxazol; ERI-Eritromicina; MH-Minociclina; DOT-Doxiciclina; TE-Tetraciclina; ENR-Enrofloxacina; PRAD-Pradofloxacina; LVF-Levofloxacina; FFC-Florfenicol; RA-Rifampicina; AK-Amicacina; GEN-Gentamicina.

Apêndice II – Isolados candidatos ao uso dos antibióticos de segunda escolha

Tabela 19: Isolados candidatos ao uso dos antibióticos de segunda escolha.

AB	AMC	CF	DOT	MH	ERI	CM	TS	AF	LVF	OX	AK	FFC	MOX	RA	TE	ENR	CLO	FOSF	GEN	PRAD
1	R	NT	R	R	R	R	R	R	S	R	NT	NT	NT	NT	R	NT	NT	NT	NT	NT
2	R	NT	R	R	R	R	R	R	S	R	NT	NT	NT	NT	R	NT	NT	NT	NT	NT
5	R	NT	R	R	R	R	R	S	R	R	NT	NT	NT	NT	R	NT	NT	NT	NT	NT
8	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	NT	NT	NT	NT	R	NT	NT	NT	NT	NT
9	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
11	R	R	R	NT	R	R	R	S	NT	R	R	NT	NT	S	R	R	NT	R	NT	NT
18	R	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	NT	S	NT	NT	NT	NT	NT	NT
27	NT	NT	NT	NT	NT	NT	R	S	NT	R	R	R	NT	S	NT	NT	NT	R	R	NT
31	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
33	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
40	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
42	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
49	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	S

R-Resistente; S- Suscetível; NT-Não testado. AMC-amoxicilina-ácido clavulânico; CF-Cefalotina; CM-Clindamicina; TS-Trimetoprim-sulfametoxazol; ERI-Eritromicina; MH-Minociclina; DOT-Doxiciclina; TE-Tetraciclina; ENR-Enrofloxacina; PRAD-Pradofloxacina; LVF-Levofloxacina; FFC-Florfenicol; RA-Rifampicina; AK-Amicacina; GEN-Gentamicina.