

**VERA GUILHERMINA ALVES PEREIRA**

**ESTUDO RETROSPECTIVO DA RESISTÊNCIA  
BACTERIANA NA DERMATITE ATÓPICA CANINA**

**Dissertação apresentada 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**

**Orientador: Doutora Alexandra Sanfins**

**Co-orientador: Mestre Ana Oliveira**

**Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias**

**Faculdade de Medicina Veterinária**

**Lisboa**

**2013**

## **Agradecimentos**

À minha co-orientadora, Mestre Ana Oliveira, pela sabedoria transmitida, dedicação e disponibilidade constante.

À minha orientadora, professora Doutora Alexandra Sanfins, pelo apoio e paciência na realização deste trabalho.

À professora Doutora Cláudia Ferreira pela orientação prestada na fase inicial do estudo.

À Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona, especialmente à Professora Doutora Laurentina Pedroso, por ter concedido meios para a realização deste projeto.

Aos meus colegas do Laboratório de Análises Clínicas e Histopatologia da FMV – ULHT, em especial ao professor Doutor Pedro Faísca, à professora Doutora Margarida Alves e à técnica de Anatomia Patológica Marli Anágua.

À minha família, especialmente aos meus pais e ao Francisco, por me terem apoiado na conclusão de mais esta etapa do meu percurso académico, e ao meu Simão obrigada por toda a inspiração.

## Resumo

A piodermite é uma das patologias mais comuns na prática clínica sendo frequentemente tratada com recurso à antibioterapia. O objetivo desta dissertação é caracterizar a presença de estafilococos multirresistentes num grupo de canídeos com piodermite causada por *Staphylococcus* spp.

Este é um estudo retrospectivo e foi elaborado com 36 cães com dermatite atópica e piodermite bacteriana observados na consulta de referência de dermatologia. O grupo de estudo foi dividido em pacientes com piodermite causada por estafilococos não multirresistentes e por estafilococos multirresistentes. A incidência de estirpes resistentes a uma ou duas classes de antibióticos foi de 47% e de multirresistentes foi 53%, o que indica uma maior frequência de estafilococos multirresistentes.

O grupo dos estafilococos multirresistentes distingue-se do grupo dos não multirresistentes pela presença uma incidência superior de resistência à amoxicilina/ácido clavulânico, às cefalosporinas, aos aminoglicosídeos, à enrofloxacina, à eritromicina, ao sulfametoxazol/ trimetoprim e à doxicilina. Verificaram-se altos níveis de resistência à lincomicina em ambos os grupos.

Foram avaliados fatores de risco que poderiam estar associados com a presença de estafilococos multirresistentes. Não se verificou associação entre a multirresistência e os seguintes fatores: idade, género, estado fértil, raça, duração e tipo da piodermite, antibioterapia prévia e área do profissional do proprietário.

Palavras-chave: piodermite, dermatite atópica canina, *Staphylococcus* spp, multirresistência, fatores de risco.

## Abstract

Pyoderma, is one of the most common diseases in clinical practice is often treated with the use of antibiotics. The aim of this work is to characterize the presence of multidrug-resistant staphylococci in a group of dogs with pyoderma caused by *Staphylococcus* spp.

This is a retrospective study and was designed with 36 dogs with atopic dermatitis and bacterial pyoderma that were observed in dermatology's referral consultation. The study group was divided in patients with pyoderma caused by no multiresistant staphylococci and patients with pyoderma caused by multiresistant strains of staphylococci. The incidence of resistant strains to one or two classes of antibiotics and multiresistant was 47% and 53% respectively, which indicates a high frequency of multiresistant staphylococci.

The group of multiresistant staphylococci is distinct from the group of non-multiresistant staphylococci: there was a higher incidence of resistance to amoxicillin / clavulanic acid, cephalosporins, aminoglycosides, enrofloxacin, erythromycin, trimethoprim / sulfamethoxazole and doxycycline in the multiresistant group. We observed high levels of resistance to lincomycin in both groups.

Several risk factors that could be associated with the presence of multiresistant *Staphylococcus* spp. in dog's pyoderma were studied. There was no association between multidrug resistance and the following factors: age, gender, reproductive status, race, duration and type of pyoderma, previous treatment with antibiotics and owner's professional area.

Keywords: Pyoderma, canine atopic dermatitis, *Staphylococcus* spp, multidrug resistance, risk factors.

## Abreviaturas e símbolos

ADN – Ácido desoxirribonucleico  
AMC – Amoxicilina-ácido clavulânico  
AMO – Amoxicilina  
APR – Apramicina  
BSAVA – British small animal veterinary association  
CFT – Cefalotina  
CFP - Cefoperazona  
CIM – Concentração inibitória mínima  
CLSI – Clinical and laboratory standards institute  
DAC – Dermatite atópica canina  
DOT - Doxiciclina  
ENR – Enrofloxacina  
ERY - Eritromicina  
IgE – Imunoglobulina E  
IgG – Imunoglobulina G  
LIN - Lincomicina  
MRSA – Staphylococcus aureus meticilina-resistente  
MRSI – Staphylococcus intermedius meticilina-resistente  
NCCLS – National committee for clinical laboratory standards  
PEN – Penicilina  
PBP – Penicillin binding protein  
PCR – Polimerase chain reaction  
R – Resistente  
S – Susceptível  
SIG – grupo de *Staphylococcus intermedius*  
SPA – Proteína estafilocócica A  
SSCmec – Staphylococcal cassette chromosome mec  
TET - Tetraciclina  
TSA – Teste de suscetibilidade antibiótica  
TSU – Trimetoprima-sulfametoxazole  
ULHT – Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

## Índice Geral

1.	Introdução.....	10
I.	Piodermite bacteriana canina.....	10
II.	Bacteriologia cutânea e mecanismos de defesa (imunologia) .....	11
III.	Tipos de piodermite: superfície, superficial ou profunda .....	13
IV.	Diagnóstico.....	14
V.	Infeção bacteriana na dermatite atópica canina .....	15
VI.	Antibioterapia contra Staphylococcus spp. na piodermite canina .....	17
i.	Antibióticos usados no tratamento da piodermite canina.....	18
ii.	Emergência das resistências e causas associadas .....	21
iii.	Mecanismos de resistência aos vários grupos de antibióticos .....	23
VII.	Objectivos.....	24
5.	Materiais e Método.....	25
I.	Grupo de estudo.....	25
II.	Recolha de amostras para cultura microbiológica .....	25
III.	Cultura bacteriológica.....	26
IV.	Antibiogramas .....	26
V.	Análise Estatística.....	27
6.	Resultados .....	27
I.	Divisão da amostra em grupos de acordo com a sensibilidade aos antibióticos:.....	27
II.	Resistência aos antibióticos das estirpes de Staphylococcus spp. em isolados cutâneos .	28
i.	Resistência à amoxicilina-ácido clavulânico .....	28
ii.	Resistência ao grupo das cefalosporinas .....	28
iii.	Resistência ao grupo das fluoroquinolonas .....	29
iv.	Resistência ao grupo dos aminoglicosídeos .....	29
v.	Resistência ao grupo dos macrólidos .....	29
vi.	Resistência ao grupo das tetraciclinas .....	30
vii.	Resistência às sulfonamidas .....	30
viii.	Resistência ao grupo das lincosamidas.....	30
III.	Fatores de risco para a multirresistência aos antibióticos .....	31
i.	Relação entre a multirresistência aos antibióticos e a idade.....	31
ii.	Relação entre a multirresistência aos antibióticos e o género .....	32
iii.	Relação a multirresistência aos antibióticos e o estado fértil .....	32

iv.	Relação entre a multirresistência aos antibióticos e a raça do paciente .....	32
v.	Relação entre a multirresistência aos antibióticos e a duração da piodermite.....	33
vi.	Relação entre a multirresistência aos antibióticos e o tipo de piodermite .....	33
vii.	Relação entre a multirresistência aos antibióticos e a existência de antibioterapia prévia .....	33
viii.	Relação entre a multirresistência aos antibióticos e a área profissional do proprietário .....	34
7.	Discussão.....	34
8.	Conclusão .....	38
	Referências bibliográficas .....	41
	Apêndice I – Resultados dos antibiogramas.....	47

## **Índice de tabelas**

Quadro 1 – Fatores de risco associados à multirresistência .....	31
--	----

## Índice de figuras

Figura 1 - Citologia dermatológica. Wright-Giemsa – Ampliação 1000x (Fotografia original).....	15
Figura 2 - Recolha de amostra com zaragatoa estéril .....	26
Figura 3 - Frequência relativa das estirpes não multirresistentes (SS) e multirresistentes (SR) ....	27
Figura 4 - Frequência relativa das resistências a antibióticos por grupo .....	30

## 1. Introdução

### I. Piodermite bacteriana canina

A espécie canina é considerada susceptível à piodermite e vários estudos têm especulado acerca das possíveis causas relacionadas com o hospedeiro que predisõem à infecção cutânea. A justificação parece estar nas características da camada córnea nesta espécie, mais fina e pobre em material lipídico intercelular, no pH cutâneo, o qual é mais elevado nesta espécie, e nas escassas defesas existentes nos pontos de abertura dos folículos pilosos (Vercelli, 2009).

A piodermite canina é considerada uma patologia cutânea secundária na qual alterações locais do microambiente cutâneo resultam no desenvolvimento de condições favoráveis para o crescimento e multiplicação de estafilococos patogénicos (Harvey, 2007). As causas subjacentes mais comuns de piodermite são doenças cutâneas alérgicas (dermatite atópica canina (DAC), alergia alimentar e dermatite alérgica à picada de pulga), doenças cutâneas parasitárias (sarna sarcóptica, demodicose, queiletiellose e trombiculose), doenças parasitárias sistémicas (leishmaniose), doenças endócrinas (hipotireoidismo e hiperadrenocorticismo), alterações da queratinização (“seborreia primária”), dermatoses congénitas/ hereditárias (displasia folicular, alopecia da diluição da cor e adenite sebácea), neoplasias (carcinoma espinho-celular e linfoma epitelotrópico), doenças auto-imunes, imunodeficiências (congénitas ou adquiridas) e outras cutâneas de origem infecciosa (dermatite a *Malassezia* spp. e dermatofitose) (Vercelli, 2009).

Os agentes etiológicos mais comuns na piodermite canina são bactérias do género *Staphylococcus* spp. que são também agentes comensais da pele e membranas mucosas (Morris, 2011b).

Os estafilococos isolados mais frequentemente a partir de animais de companhia são os *S. pseudintermedius* (Scott, 2001; Sasaki *et al.*, 2007, Awji *et al.*, 2012). Os agentes previamente identificados como *S. intermedius* foram reclassificados e são agora referidos como *S. pseudintermedius* (Sasaki *et al.*, 2007). Outras espécies de estafilococos têm sido identificadas, algumas das quais coagulase – negativas (Papich, 2011a). Bannoehr *et al.* (2007) indica ser o *S. pseudintermedius*, e não o *S. intermedius*, o agente patogénico envolvido nas piodermites caninas, sendo causa ocasional de infecções zoonóticas em humanos. Estudos mais recentes evidenciam que os isolados identificados fenotipicamente como *S. intermedius* são realmente diferenciados em três espécies diferentes, o *S. intermedius*,

o *S. pseudintermedius* e o *S. delphini*, os quais formam o grupo SIG (grupo de *Staphylococcus intermedius*) (Bannoehr & Guardabassi 2012). Segundo Morris (2011b) o *S. schleiferi* é actualmente o segundo agente mais frequentemente isolado na piодermite canina na sua prática clínica. O *S. schleiferi* foi identificado inicialmente como um estafilococo coagulase negativo em 1988 (subespécie *schleiferi*). No entanto, em 1990 foi isolada uma subespécie coagulase positiva: *S. schleiferi coagulans*. No cão ambas as subespécies de *S. schleiferi* têm sido predominantemente associadas a infeções cutâneas superficiais e otites externas (Morris, 2011b).

Outros agentes implicados menos frequentemente em infeções cutâneas incluem bactérias anaeróbicas, Enterobacteriaceae, *Pseudomonas aeruginosa* e bactérias atípicas como *Mycobacteria* e *Nocardia* (Papich, 2011a).

Relativamente a factores que influenciam o aparecimento de diferentes tipos de piодermite foi identificada predisposição racial como é exemplo a piодermite do Pastor Alemão. A idade é um fator importante: o impetigo é frequente em cachorros, a foliculite idiopática das raças de pelo curto é frequente em jovens adultos e a piодermite do Pastor Alemão é vista em animais a partir dos 4 – 5 anos de idade. No que respeita ao género não se verifica predisposição para o desenvolvimento de piодermite, com exceção da infeção cutânea da prega da vulva nas fêmeas ou quando existe predisposição de género relativamente às causas subjacentes, por exemplo uma endocrinopatia devida a tumor testicular (Noli, 2003).

## **II. Bacteriologia cutânea e mecanismos de defesa (imunologia)**

A pele, o mais extenso órgão do organismo, funciona como barreira protetora através de mecanismos físicos, químicos e biológicos. O pêlo constitui a primeira linha de defesa física que protege a pele do contacto com os agentes patogénicos. A camada córnea que reveste a epiderme forma uma barreira de defesa física básica. Para além disso a pele é considerada um órgão ativo na indução e manutenção de respostas imunitárias, as quais nem sempre são benéficas. Os componentes específicos da resposta imunitária incluem as células de Langerhans epidérmicas, os dendrócitos da derme, os queratinócitos, os linfócitos T intracutâneos, os mastócitos e o endotélio das veias pós-capilares (Scott, 2001).

A microflora normal da pele, que se localiza na epiderme superficial e no infundíbulo dos folículos pilosos, também contribui para a imunidade cutânea. A flora normal da pele é constituída por várias bactérias que vivem em simbiose. A estreita relação entre hospedeiro e microrganismos permite que as bactérias ocupem nichos microbianos e inibam a

colonização da pele por organismos invasores. A flora cutânea normal classifica-se como residente ou transitória, consoante a sua capacidade de multiplicação no microambiente cutâneo. As bactérias residentes são aquelas que se multiplicam com êxito na pele normal. Os organismos transitórios podem ser cultivados a partir da pele mas têm pouca importância, a não ser que participem num processo patológico como invasores secundários, não se multiplicando na pele normal. As bactérias residentes normais da pele dos cães incluem o *Micrococcus sp*; estafilococos coagulase-negativos, principalmente o *S. intermedius* e o *S. xylosum*; estreptococos  $\alpha$ -hemolíticos; e *Actinobacter sp*. As bactérias transitórias do cão são a *E. coli*, o *Proteus mirabilis*, o *Corynebacterium sp.*, o *Bacillus sp.* e a *Pseudomonas sp.* (Scott, 2001).

A colonização e infecção da pele estão dependentes da capacidade de adesão das bactérias que por sua vez está correlacionada com a virulência do agente, com o tropismo tecidual e com a suscetibilidade do hospedeiro aos agentes infecciosos. A proteína A é um exemplo de virulência bacteriana de estafilococos cutâneos tanto em pessoas atópicas como na espécie canina (Scott, 2001).

A flora estafilocócica residente dos cães é adquirida a partir da progenitora no período neonatal (Bannoehr & Guardabassi, 2012). Saijonmaa-Koulumies & Lloyd (2002) indicam que, no ambiente doméstico, o *S. intermedius* se estabelece logo após o nascimento, e que o nível de colonização por *S. intermedius* nas cadelas parece influenciar a colonização por estafilococos patogénicos nas crias. Existe pouca informação na literatura acerca da transmissão horizontal entre cães adultos. Sabe-se que os cães saudáveis que contactam com animais que têm manifestação clínica de uma infeção por *Staphylococcus aureus* metilina resistente (MRSP) possuem um elevado risco de ser contaminados. Além disso, o agente bacteriano por ser isolado com frequência no meio ambiente onde habita o animal doente (Bannoehr & Guardabassi, 2012).

As infeções cutâneas recorrentes por estafilococos são frequentes no cão. Alguns estudos sugerem que uma hipersensibilidade aos antígenos bacterianos poderá estar envolvida na patogénese deste processo, no entanto, o conceito de hipersensibilidade bacteriana continua a ser hipotético (DeBoer & Marsella, 2001; Vercelli, 2009; Lindsay, 2001b).

### **III. Tipos de piodermite: superfície, superficial ou profunda**

A pele apresenta três camadas, a epiderme, formada por epitélio pavimentoso estratificado queratinizado, a derme e a hipoderme. A epiderme compreende, de baixo para cima, a camada basal, de células ainda não-queratinizadas e com capacidade de multiplicação, a camada espinhosa, granulosa e córnea. Na derme, composta por tecido conjuntivo rico em fibras de colagénio e elásticas, inserem-se os anexos da pele: folículos pilosos, glândulas sebáceas e sudoríparas e ainda vasos sanguíneos e linfáticos e terminações nervosas (Marcos *et al*, 2011).

A piodermite é tradicionalmente classificada de acordo com a profundidade da infeção e/ ou de acordo com a sua apresentação clínica em piodermite de superfície, piodermite superficial e profunda (Harvey, 2007). Normalmente, quanto mais profunda for a piodermite mais grave é o processo, embora a gravidade também dependa da extensão das lesões.

A piodermite de superfície é limitada à superfície do estrato córneo, sendo que a dermatite piotraumática é o tipo de piodermite de superfície mais comum nos cães atópicos. Geralmente resulta de um traumatismo exercido sobre a pele devido a prurido intenso e as lesões características são erosões superficiais que não penetram para além da membrana basal da epiderme. O intertrigo é a dermatite das pregas cutâneas sendo comum na região facial de animais de certas raças (braquicefálicos), nos animais de raça Shar-pei, na base da cauda de Bulldogs e na região vulvar de cadelas obesas (Noli, 2003).

A piodermite superficial é uma infeção cutânea de origem bacteriana confinada ao estrato córneo dos folículos pilosos e do espaço interfolicular (Harvey, 2007). As lesões mais frequentes são pústulas que podem ser foliculares, resultando na acumulação de pus nos folículos pilosos, ou não foliculares. As pústulas, pequenas elevações com conteúdo purulento, estão frequentemente localizadas na epiderme (entre os folículos pilosos) ou na abertura dos folículos pilosos. Podem também encontrar-se nos estratos mais superficiais da epiderme, no entanto esta localização é muito menos frequente. As pústulas, sendo lesões muito frágeis podem facilmente romper e formar lesões secundárias como crostas e colaretes epidérmicos (Morris, 2011a).

A foliculite bacteriana (subtipo de piodermite superficial) é a forma mais comum de piodermite da espécie canina. As lesões características são pápulas, pústulas foliculares, colaretes epidérmicos e zonas circulares de alopecia. Esta forma de piodermite é

frequentemente uma complicação secundária a processos alérgicos, ectoparasitas e doenças endócrinas (Noli, 2003).

A piodermite por estafilococos é de longe a causa mais comum de pústulas foliculares e não foliculares. Nas zonas de menor revestimento piloso, se as pústulas não têm relação com os folículos pilosos, a piodermite toma o nome de impetigo. Esta forma de piodermite é mais comum em cachorros ou em animais imunocomprometidos (Morris, 2011a).

Na maioria dos casos, a foliculite superficial canina é causada por *Staphylococcus intermedius* embora também possa ser consequência de outros estafilococos ou mesmo de outros agentes bacterianos (Scott, 2001). O *S. aureus* pode ser isolado em alguns casos de piodermite, assim como os estafilococos coagulase negativos, embora estes muito raramente (Harvey, 2007).

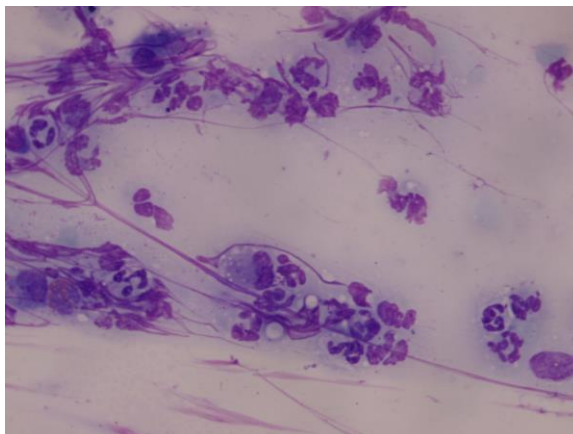
A piodermite profunda atinge os folículos pilosos, a derme e ocasionalmente o tecido subcutâneo. As foliculites profundas e furunculose resultam geralmente do agravamento de foliculites superficiais. Os pacientes com dermatite atópica podem apresentar furunculose como consequência da rotura dos folículos pilosos e contacto do seu conteúdo com a derme, originando uma reação inflamatória piogranulomatosa (Noli, 2003).

Finalmente, a síndrome de sobrecrecimento bacteriano foi recentemente descrita como um tipo de piodermite, na ausência de sinais clássicos tais como pápula, pústula e colaretes epidérmicos. Os sinais clínicos são eritema, liquenificação, hiperpigmentação tipicamente numa zona bem delimitada das axilas e virilhas (Harvey, 2007). A doença é consequência do sobrecrecimento de estafilococos (*S. pseudintermedius*) na superfície cutânea sendo a sua patogenia desconhecida. Os níveis de IgE anti-estafilococos são baixos, o que exclui à partida um processo de hipersensibilidade. Os elevados níveis de IgG sugerem que os animais doentes têm uma infeção por estafilococos. Um aspeto importante é que quando um determinado nível de densidade de estafilococos é excedido, estes microrganismos expressam características particulares e mudam o seu metabolismo de proliferação celular para produção de toxinas (Carlotti, 2011).

#### **IV. Diagnóstico**

O diagnóstico de piodermite pode ser feito através de citologia (Marcos *et al*, 2011). As amostras para análise citológica podem ser colhidas utilizando fita adesiva (lesões da superfície cutânea), através de punção aspirativa (nódulos ou pústulas de grande dimensão) ou

com o auxílio de uma zaragatoa (fístulas). Os achados citológicos geralmente consistem na observação de bactérias intracelulares, normalmente no interior dos neutrófilos (Figura 1). A presença de bactérias extracelulares pode representar apenas contaminação. Nas piodermites superficiais é normalmente observado um número elevado de neutrófilos e bactérias enquanto na piodermite profunda é geralmente encontrado um número variável de neutrófilos, macrófagos, linfócitos e plasmócitos e uma pequena quantidade de bactérias (Noli, 2003).



**Figura 1 - Citologia dermatológica. Wright-Giemsa – Ampliação 1000x (Fotografia original)**

A cultura bacteriana e os testes de sensibilidade a antibióticos (TSA) estão indicados quando na citologia são observados bastonetes, quando a antibioterapia escolhida de forma empírica é ineficaz e em casos de piodermite recorrente (Noli, 2003).

## **V. Infecção bacteriana na dermatite atópica canina**

As infecções cutâneas, em particular as de natureza recorrente, são frequentemente observadas em cães com dermatite atópica (DeBoer & Marsella, 2001).

As infecções cutâneas podem, em alguns casos, ser uma consequência de mudanças na pele induzidas pela inflamação crônica causada pela dermatite atópica. Inversamente, também existe um bom grau de evidência que sugere que estas infecções são uma importante componente da patogênese da dermatite atópica através dos seus efeitos no sistema imunitário e/ou por perpetuarem a resposta inflamatória cutânea (DeBoer & Marsella, 2001).

Os estafilococos podem facilmente colonizar a pele do paciente atópico e os produtos bacterianos podem amplificar a inflamação cutânea através de respostas de hipersensibilidade imediata às bactérias, por ativação de linfócitos mediada por superantígenos ou outros mecanismos não específicos. As evidências de uma relação entre as infecções por

*Staphylococcus* spp. e a dermatite atópica canina podem ser agrupadas em quatro áreas principais:

1. Aumento da aderência e colonização da pele atópica por estafilococos: o *S. intermedius* existe na pele, pêlo, zona anal ou cavidades nasais de vários cães saudáveis. Em animais com DAC, fatores como trauma auto-induzido, corticoterapia e anomalias imunológicas não especificadas, podem facilitar as infecções por estafilococos (DeBoer & Marsella, 2001). McEwan *et al.* (2006) demonstrou que existe maior aderência do *S. intermedius* aos corneócitos, tanto na pele inflamada como na pele não inflamada, de cães atópicos comparativamente a animais saudáveis.
2. Hipersensibilidade bacteriana: foi sugerido que, tal como acontece em humanos, os estafilococos podem funcionar como antigénios estimulando a produção de IgE. No entanto, a existência de uma resposta de hipersensibilidade imediata a componentes dos estafilococos ainda não foi provada e por isso, como já referido, o conceito de hipersensibilidade bacteriana continua a ser hipotético (DeBoer & Marsella, 2001; Vercelli, 2009).
3. Cães com DAC apresentam uma resposta imunitária celular anormal, o que pode predispor a infecções cutâneas (DeBoer & Marsella, 2001).
4. O papel das exotoxinas dos estafilococos nos cães atópicos. Pensa-se que à semelhança do que está descrito no Homem, as exotoxinas poderão funcionar como superantigénios exacerbando a reação alérgica. No entanto, o papel das exotoxinas e de outros componentes como superantigénios na patogénese da DAC ainda não está esclarecido (DeBoer & Marsella, 2001).

White (2009) refere que o *S. pseudintermedius* pode exacerbar ainda mais o estado atópico por induzir a produção de IgE específico para os estafilococos, bem como através da produção de proteína estafilocócica A (SPA), a qual pode estabelecer ligações não específicas a moléculas de IgE nos mastócitos. Por outro lado, o estado atópico pode contribuir para o agravamento da piodermite, através do prurido que reduz fisicamente a barreira que o estrato córneo possui, e aumentando a capacidade do *Staphylococcus intermedius* para aderir aos corneócitos dos cães atópicos, e ainda por desgranulação dos mastócitos que tornam a epiderme mais permeável aos antigénios estafilocócicos.

As infecções por estafilococos são capazes de induzir inflamação e prurido de intensidade moderada a severa, mesmo na ausência de DAC. O estímulo prurítico adicional que ocorre pela infecção secundária que ocorre no cão atópico pode causar ainda mais

desconforto. Assim se explica a razão pela qual a antibioterapia nestes animais produz uma redução significativa nos sinais clínicos (DeBoer & Marsella, 2001).

## **VI. Antibioterapia contra *Staphylococcus* spp. na piodermite canina**

A eliminação das infecções secundárias pode conduzir a uma diminuição do limiar de prurido e consequentemente diminuir o desconforto causado pelas alergias (Ferrer G, 2007).

As piodermites de superfície são geralmente resolvidas com sucesso somente com tratamento tópico. As piodermites superficiais requerem normalmente tratamento sistémico, no entanto, o tratamento tópico pode por si só ser bem-sucedido quanto respeitada a frequência de aplicação. A piodermite profunda requer tratamento sistémico podendo ser administrada terapia tópica em simultâneo (Noli, 2003; Harvey, 2007; Morris, 2011b).

O antibiótico de eleição para o tratamento da piodermite deve respeitar vários requisitos nomeadamente, ter um espectro de ação contra *S. intermedius*, deve atingir altas concentrações na pele, deve ser bactericida, deve ter poucos ou nenhuns efeitos secundários, deve ser fácil de administrar, ou seja, por via oral uma a duas vezes por dia, não deve causar resistência bacteriana e não deve ser dispendioso (Noli, 2003).

Deve ser determinado o peso vivo correto do animal para assegurar que é prescrita a dose correta de antibiótico. Os animais devem ser cuidadosamente monitorizados para garantir o cumprimento do tratamento por parte do proprietário. O tratamento deve continuar durante mais 7-10 dias após ter sido observada remissão clínica (Noli, 2003; Harvey, 2007). No tratamento da piodermite superficial deve ser instituído no mínimo um ciclo de 3 semanas de antibioterapia. Na piodermite profunda, é necessário um tratamento mínimo de 6 semanas, que deve ser continuado pelo menos 2 semanas após a resolução das lesões (Noli, 2003). Os cães que não respondam ao tratamento, ou apresentem piodermite recorrente, devem ser submetidos a um exame bacteriológico e aos testes de sensibilidade a antibióticos (TSA), a uma reavaliação do diagnóstico e a pesquisa de possíveis doenças subjacentes (Harvey, 2007).

A frequência de administração depende do modo de ação do fármaco, ou seja, se é um antibiótico dependente do fator concentração ou do fator tempo. Assim, os antibióticos dependentes do tempo funcionam melhor se a sua concentração permanecer de forma constante acima da concentração inibitória mínima (CIM), por isso devem ser administrados cada 8 ou 12 horas, enquanto os antibióticos dependentes da concentração podem ser administrados apenas a cada 24 horas (Noli, 2003; Papich, 2011a).

### **i. Antibióticos usados no tratamento da piodermite canina**

Como já referido anteriormente a escolha do antibiótico pode ser empírica ou com base em resultados de uma cultura bacteriana e TSA.

A penicilina, amoxicilina e ampicilina não são eficazes no tratamento da piodermite por estafilococos porque são antibióticos sensíveis às  $\beta$  lactamases produzidas pela maioria dos isolados de *S. intermedius*. Os antibióticos recomendados como primeira escolha para o tratamento da piodermite superficial são as associações trimetoprim-sulfonamidas, a eritromicina, a lincomicina e outros macrólidos (Noli, 2003).

Os antibióticos  $\beta$  lactâmicos incluem as penicilinas, cefalosporinas, monobactams e tienamicinas. Estes antibióticos apresentam um anel  $\beta$  lactâmico na sua estrutura química e atuam através da inibição da síntese do peptidoglicano da parede bacteriana, por bloqueio da formação das ligações transpeptidásicas, pelo que a sua actividade é bactericida. Um aspeto importante comum a todos os antibióticos desta classe é a necessidade do anel  $\beta$  lactâmico se manter íntegro para que a actividade antibiótica também seja mantida. Assim, qualquer que seja o antibiótico da classe dos  $\beta$  lactâmicos, a abertura do referido anel, por exemplo através das  $\beta$  lactamases, anula completamente a sua actividade (Garrett & Guimarães, 2001; Lindsay, 2011a).

As penicilinas são antibióticos produzidos por fungos do género *Penicillium* ou obtidos por semi-síntese. Todas as penicilinas são sensíveis à inactivação pelas  $\beta$  lactamases bacterianas, com excepção parcial para as isoxazolpenicilinas e a meticilina que resistem à presença de penicilinases dos estafilococos mas que no entanto são inactivadas pelas  $\beta$  lactamases da maior parte das bactérias gram-negativas. Em consequência do crescente aparecimento de estirpes produtoras de  $\beta$  lactamases surgiram os inibidores das referidas enzimas, como o ácido clavulânico e o sulbactam (Garrett & Guimarães, 2001).

A amoxicilina é uma penicilina de espectro alargado sendo activa sobre a generalidade dos cocos e bacilos gram positivos. No entanto, os estafilococos produtores de  $\beta$  lactamases são resistentes (Garrett & Guimarães, 2001).

No que respeita ao mecanismo de ação as cefalosporinas são muito semelhantes às penicilinas mas mais resistentes às  $\beta$  lactamases e por isso têm em geral um espectro de acção mais amplo. As cefalosporinas de primeira geração, como é o caso da cefalotina, são eficazes contra as bactérias gram positivas e moderadamente eficazes contra as gram negativas. A maioria dos cocos gram positivos (com excepção dos *Enterococci*, dos MRSA e dos *Staphylococcus epidermis*) é susceptível a esta classe de antibióticos. Em geral, as

cefalosporinas de segunda geração são activas contra as estirpes sensíveis às da primeira geração mas abrangem, no seu espectro de acção, mais bactérias gram negativas (Papich, 2011c). No entanto todas as cefalosporinas de segunda geração são menos eficazes contra as bactérias gram positivas, relativamente às de primeira geração. As cefalosporinas de segunda geração são muito mais resistentes à hidrólise pelas  $\beta$  lactamases e assim, mais eficazes do ponto de vista terapêutico contra infeções causadas por agentes produtores dessas enzimas. As cefalosporinas de terceira geração, como é o caso da cefoperazona, além de terem as características das de primeira e segunda, mostram-se activas contra muitas estirpes de *Pseudomonas* spp. (Garrett & Guimarães, 2001).

Os inibidores das  $\beta$  lactamases consistem em substâncias com uma molécula muito semelhante com a dos antibióticos  $\beta$  lactâmicos, mas que quase não possuem atividade antibacteriana. Assim os inibidores das  $\beta$  lactamases têm afinidade para estas últimas e ligando-se a elas têm capacidade para as inibir evitando a inativação dos antibióticos  $\beta$  lactâmicos quando as duas substâncias são administradas em conjunto. O ácido clavulânico tem uma atividade intrínseca antimicrobiana muito reduzida e é utilizado habitualmente, por via oral, em associação com a amoxicilina (Garrett & Guimarães, 2001).

Os aminoglicosídeos são antibióticos formados por dois ou mais aminoaçucres unidos por uma ligação glicosídica a uma hexose aminada (núcleo aminociclitol). Os antibióticos desta classe são rapidamente bactericidas, dependendo da concentração utilizada, ou seja, quanto maior for a concentração mais rapidamente exercem o seu efeito (Papich, 2011a). O espectro de acção dos aminoglicosídeos é, na generalidade, bastante extenso, abrangendo não só bactérias gram positivas e gram negativas como também o bacilo de Koch. O grande interesse destes antibióticos resulta da sua actividade sobre os bacilos gram negativos aeróbios. A grande desvantagem dos aminoglicosídeos são os seus potenciais efeitos tóxicos, particularmente os que se exercem sobre o 8º par craniano e sobre o rim (Garrett & Guimarães, 2001; Papich, 2011c). Exemplos de antibióticos desta classe são a estreptomicina, a gentamicina, a tobramicina, a amicacina e a apramicina entre outros utilizados em medicina veterinária (NCCLS, 2002).

As quinolonas e as fluorquinolonas são a classe dos antibióticos derivados do ácido nalidíxico. As fluorquinolonas resultam da introdução de um átomo de flúor na posição 6 do núcleo quinólico e possuem várias vantagens relativamente às quinolonas: um espectro de acção muito mais largo e uma actividade antibacteriana intrínseca mais intensa, uma melhor difusão para os tecidos e uma toxicidade mais reduzida. As quinolonas de segunda geração,

como é o caso da enrofloxacina ou da ciprofloxacina, possuem a transformação química referida. O seu mecanismo de ação é exercido por inibição da enzima bacteriana ADN girase ou topoisomerase II e da topoisomerase IV, interrompendo a síntese de ADN e provocando quebras letais na cadeia dupla de ADN durante a replicação (Tenover, 2006). Em geral a maioria das bactérias gram positivas e gram negativas são sensíveis a esta classe de antibióticos, com exceção dos estreptococos e dos anaeróbios (Garrett & Guimarães, 2001).

A pradofloxacina pertence à classe das quinolonas e é o antibiótico sobre o qual mais estudos têm sido publicados na área da medicina veterinária nos últimos tempos. Este antibiótico caracteriza-se por atingir altas concentrações na pele, o que pode indicar ser uma boa escolha no tratamento da piodermite (Ferrer, 2007).

As tetraciclinas são o grupo de antibióticos com o mais amplo espectro de ação actuando através do bloqueio da síntese proteica e possuindo ação bacteriostática sobre vários microrganismos. De um modo geral, a doxicilina é a tetraciclina mais ativa. Não é possível definir os limites precisos da eficácia das tetraciclinas sobre os diferentes tipos de estirpe bacteriana (Garrett & Guimarães, 2001).

As sulfonamidas representam todos os derivados da *p*-aminobenzenossulfamida (sulfanilamida). Esta classe consiste num grupo de antibióticos que são antimetabólicos do ácido *p*-aminobenzóico (PABA) e inibem, por isso, a síntese de folatos essenciais para o desenvolvimento dos microrganismos, e têm uma actividade bacteriostática. As sulfonamidas têm uma estrutura química básica muito semelhante à do PABA, com o qual competem para a síntese do diidropteroato, sendo incorporadas em vez dele. O co-trimoxazol, que é uma associação de trimetoprim com uma sulfonamida (sulfametoxazol) constitui uma inovação terapêutica pois actuam em dois passos sequenciais de uma cadeia metabólica necessária à vida das bactérias, intensificando o seu mecanismo de ação. O efeito antibacteriano é, por vezes, sinérgico e bactericida. As sulfonamidas são eficazes contra uma variedade grande de bactérias gram-positivas e gram-negativas, bem como sobre microrganismos dos grupos *Chlamydia*, *Nocardia*, *Plasmodia* e *Toxoplasma* (Garrett & Guimarães, 2001; Tenover, 2006).

Os macrólidos consistem na classe dos antibióticos que possuem um anel macrocítico na sua estrutura molecular. A eritromicina é um macrólido com 14 elementos no anel lactónico macrocítico ao qual estão ligados dois “açúcares”: a desosamina e a cladinose. A eritromicina atua por impedimento da reação da peptidiltransferase ou da translocação ou ambas, evitando a formação ou crescimento de novas cadeias peptídicas. A principal

limitação dos macrólidos no que diz respeito à actividade antimicrobiana é a fraca actividade sobre as bactérias gram-negativas (Garrett & Guimarães, 2001).

As lincosamidas (por exemplo a lincomicina e a clindamicina) são uma classe de antibióticos que se ligam à porção de 23S da subunidade 50S dos ribossomas bacterianos inibindo a replicação precoce da cadeia peptídica através da inibição da reacção da transpeptidase. A clindamicina é um derivado semi-sintético da lincomicina. Esta classe de antibióticos atua de forma semelhante à dos macrólidos (Garrett & Guimarães, 2001; Tenover (2006).

## ii. Emergência das resistências e causas associadas

É evidente uma crescente preocupação mundial no que diz respeito ao aparecimento de estirpes de *Staphylococcus* spp. multiresistentes e meticilina resistentes. Hoje em dia as infeções com estirpes de bactérias multiresistentes difíceis de ceder ao tratamento, como é o caso da *Escherichia coli* e da *Pseudomonas aeruginosa*, são comuns em cães e gatos, e as infeções com MRSA são cada vez mais reconhecidas. Os surtos de infeções com estirpes altamente resistentes de *Acinetobacter baumannii* também têm sido relatados. O facto das espécies mais comuns de estafilococos encontradas nos animais de companhia estarem a desenvolver capacidade de multiresistência, nomeadamente a aquisição do gene *mecA*, e conseqüentemente a resistência aos antibióticos  $\beta$ -lactâmicos, é preocupante. O *S. pseudointermedius* meticilina resistente (MRSP) tem atualmente uma distribuição mundial e elevada prevalência em determinados países. Além disso, desde que foi descrito pela primeira na Alemanha em 2007, tem tido uma propagação rápida na Europa (Lloyd, 2011a).

A resistência à meticilina é baseada na expressão do gene *mecA* o qual codifica para uma PBP (*penicilina binding protein*) alternativa, referida como PBP2a ou PBP2. O gene *mecA* está localizado num elemento genético móvel cuja denominação é *SSCmec* (*staphylococcal cassette chromosome mec*) (Lindsay, 2011c; Kadlec & Schwarz, 2012). A PBP2a produzida pelas bactérias resistentes à meticilina não permite a ligação dos antibióticos  $\beta$ -lactâmicos, tornando estas bactérias resistentes às penicilinas, cefalosporinas e carbapenemos e, frequentemente, resistentes a outras classes de antibióticos (Bryan *et al.* 2012).

As infeções por MRSA constituem um dos principais problemas de controlo de infeções encontrados nos hospitais do Reino Unido. Nos últimos 20 anos tem-se assistido a um crescimento dramático das infeções por MRSA. Atualmente as infeções por MRSA em

animais de companhia têm ganho grande relevo dada a sua importância em medicina humana. A maioria das infecções por MRSA em animais de companhia parecem ser adquiridas por contacto directo com pessoas portadoras e estar associadas a feridas cirúrgicas, outras feridas, hospitalização prolongada e/ ou tratamentos imunossupressores (Duquette & Nuttall, 2004).

O *S. intermedius* raramente causa doença no homem, mas existe um risco potencial de transmissão de genes para resistência entre os *S. intermedius* e os estafilococos patogénicos no Homem. Por exemplo, os genes que conferem resistência à tetraciclina e plasmídeos estruturalmente relacionados com origem em *S. aureus* do Homem têm sido igualmente identificados em estirpes de *S. intermedius* caninas, o que sugere que é possível a troca genética entre estes dois agentes bacterianos (Duquette & Nuttall, 2004).

A existência de estirpes de *S. intermedius* multiresistentes e MRSA é preocupante se tivermos em conta que esta bactéria parece ser comum entre pessoal veterinário em contacto constante com cães (Guardabassi, Schwarz & Lloyd, 2004). Sendo o *S. intermedius* um agente comensal da pele canina e normalmente raro no Homem, tem sido sugerido que a transmissão é feita a partir do cão. Guardabassi, Loeber & Jacobson (2004) também determinaram que os donos de cães afectados por piodermite profunda frequentemente possuem a mesma estirpe de *S. intermedius* dos seus animais, e que estas estirpes podem ser resistentes a uma grande variedade de antibióticos.

Um estudo concluiu que todas as estirpes multiresistentes do grupo de *Staphylococcus intermedius* (SIG) examinadas eram *S. intermedius* e que essas estirpes evoluíram a partir de vários clones por aquisições múltiplas do gene *mecA* (Bannoehr *et al.* 2007).

Foram estabelecidas linhas de orientação pela *British small animal veterinary association* (BSAVA) para lidar com o MRSA relativamente às medidas de controlo e tratamento necessárias para os estafilococos multi-resistentes (BSAVA-Scientific-Committee, Nuttall, Cookson & Ridgeway, 2007). Estas linhas de orientação incluem medidas para prevenir o estabelecimento de disseminação do MRSA nas clínicas e hospitais veterinários. Uma das medidas determinantes na prevenção dos MRSA é uma boa higiene, particularmente das mãos do pessoal veterinário, o que possibilita prevenir a disseminação do MRSA entre animais e entre animais e pessoas. Uma utilização racional dos antibióticos também é importante. Outras medidas consistem na utilização de uniformes que devem ser lavados na própria clínica ou hospital, protecção adequada quando se contacta com materiais

potencialmente contaminados, padrões rigorosos de assepsia em procedimentos invasivos e medidas gerais que permitem a manutenção de uma boa higiene.

### iii. Mecanismos de resistência aos vários grupos de antibióticos

A resistência das bactérias a antimicrobianos ocorre naturalmente e a mutação genética nas bactérias permite que os organismos possam tirar vantagem de situações em que são desafiados por agentes antimicrobianos, isto é, o antibiótico destrói uma grande fração da população de determinada espécie bacteriana que é posteriormente reconstituída em presença do antibiótico, pela proliferação da minoria de organismos resistentes que sobreviveram (Garrett & Guimarães, 2001; Lloyd, 2011a).

São conhecidos vários mecanismos de resistência de microrganismos patogênicos aos antibióticos, entre os quais, a produção de enzimas microbianas inativadoras dos antimicrobianos (como é o caso das  $\beta$  lactamases), a presença de receptores microbianos com baixa afinidade para os antimicrobianos, a presença de baixas concentrações intramicrobianos dos antibióticos (por permeabilidade reduzida ou por saída da bactéria através de transporte ativo), o desenvolvimento de vias metabólicas microbianas que substituem as vias inativadas pelos antimicrobianos e a falta da biotransformação pelo microrganismo de um antimicrobiano num metabolito activo (Garrett & Guimarães, 2001; Tenover, 2006).

Todas as penicilinas são sensíveis à inactivação pelas  $\beta$  lactamases bacterianas com exceção das isoxazolpenicilinas e da meticilina. Mas como referido anteriormente estão relatadas estirpes de estafilococos meticilina-resistentes. A resistência à meticilina é geralmente mediada pelo gene *mecA* que codifica uma PBP que é uma proteína ligante de baixa afinidade para todos os antibióticos  $\beta$  lactâmicos. Assim as bactérias que produzem esta proteína não são afectadas pela meticilina. O gene *mecA* tem sido detetado tanto em estafilococos coagulase positivos como em estafilococos coagulase negativos. Deste modo a resistência à meticilina não está limitada ao *S. aureus* (Duquette & Nuttall, 2004).

No caso dos aminoglicosídeos existem três mecanismos fundamentais de resistência: a falta de acesso do antibiótico ao local de ação (impermeabilidade da membrana citoplasmática), a falta de afinidade para o local de ação (o ribossoma) e a inactivação enzimática (no espaço periplasmático) (Garrett & Guimarães, 2001).

O principal mecanismo de resistência às quinolonas é consequência de uma mutação do gene que codifica o polipéptido da subunidade A da girase do ADN das bactérias, da qual

resulta uma alteração de estrutura dessa subunidade. A subunidade A exerce a função de cortar as fitas da dupla hélice de ADN e é o local de acção das quinolonas (Garrett & Guimarães, 2001; Tenover 2006).

São conhecidos três mecanismos de resistência às tetraciclinas. O primeiro consiste na perda pelas bactérias da capacidade de concentrar a tetraciclina no seu citoplasma, em consequência de uma diminuição do influxo ou a um aumento do efluxo por uma bomba de transporte ativo. O segundo mecanismo é a proteção ribossómica devido à produção de uma proteína que interfere com a ligação da tetraciclina ao ribossoma e por fim a inativação enzimática da tetraciclina. O mecanismo mais importante é o primeiro sendo que a proteína da bomba é codificada num plasmídeo. Dado que estes plasmídeos frequentemente codificam genes de resistência para outros fármacos, a resistência à tetraciclina é um marcador para a resistência a múltiplos fármacos (Garrett & Guimarães, 2001).

O mecanismo de resistência às sulfonamidas consiste na utilização de uma via metabólica alternativa: a utilização de folatos exógenos. A resistência também pode ser adquirida por seleção das estirpes que produzem grande quantidade de PABA (para inibição reversível) ou por inativação das sulfonamidas (acetilação). Os microorganismos podem adquirir resistência à trimetoprima através de redutases do diidrofolato, codificadas por plasmídeos e por transposões, sem afinidade para a trimetoprima (Garrett & Guimarães, 2001; Tenover, 2006).

O desenvolvimento de resistências pelas bactérias à eritromicina é pouco frequente. A resistência pode dever-se à modificação da estrutura-alvo que diminui a sua afinidade para a eritromicina e pode ser mediada por plasmídeos ou resultar de mutação cromossómica. A resistência é sobretudo a estafilococos e a estreptococos, estando muitas vezes associada a resistência cruzada com antibióticos da classe das lincosamidas. As lincosamidas são geralmente bactericidas e a resistência à clindamicina, que não tem atingido proporções preocupantes, parece resultar de mutações. No entanto, o mecanismo bioquímico de resistência não está completamente esclarecido (Garrett & Guimarães, 2001).

## **VII. Objectivos**

A resistência aos antibióticos representa um risco severo na remissão da doença e até um risco para a saúde pública. Este problema é cada vez mais observado em cães atópicos com piodermite na consulta de referência de dermatologia.

Os objetivos da presente dissertação foram identificar e documentar as resistências apresentadas pelos estafilococos multirresistentes às diferentes classes de antibióticos, e avaliar a relação entre fatores que possam contribuir para o aparecimento de estafilococos multirresistentes, nomeadamente: idade, estado reprodutivo, raça, duração da piodermite, área profissional do proprietário e existência de antibioterapia prévia.

## **2. Materiais e Método**

### **I. Grupo de estudo**

A amostra é constituída por trinta e seis animais (n=36) que se apresentaram à consulta de referência de dermatologia no Instituto Médico Veterinário em Lisboa e no Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias (ULHT). Os pacientes foram selecionados de acordo com os seguintes critérios: espécie canina, diagnóstico de dermatite atópica e presença de piodermite bacteriana. Os testes laboratoriais essenciais para inclusão no estudo foram a cultura bacteriana com isolamento de *Staphylococcus* spp. e antibiograma. A amostra incluía animais com e sem raça determinada. Estiveram representadas várias raças puras: Bichon Maltês, Boxer, Bulldog Francês, Bulldog Inglês, Cão D'Água, Cão de crista chinês, Chow Chow, Dog Argentino, Fox Terrier, Golden Retriever, Labrador, Pastor Alemão, Pastor Belga, American Stafforshire Terrier, Rafeiro Alentejano, Serra da Estrela, Shar Pei e Yorkshire Terrier. O grupo de estudo foi selecionado após consulta das fichas clínicas e dos resultados laboratoriais. A amostra foi dividida em pacientes com piodermite causada por estafilococos não multirresistentes (grupo SS) e por estafilococos multirresistentes (grupo SR), isto é, que apresentaram resistência a três ou mais classes de antibióticos diferentes (Schwarz *et al* 2010).

### **II. Recolha de amostras para cultura microbiológica**

As amostras para cultura microbiológica foram recolhidas de pústulas (no caso de piodermite superficial) ou de áreas de furunculose intactas (no caso de piodermite profunda). As amostras foram recolhidas de lesões não traumatizadas para evitar a contaminação bacteriana existente na superfície da pele. A recolha foi feita após assepsia da área com álcool a 70% seguida de rutura da lesão com uma agulha estéril de 25G1/2. A amostra obtida foi

recolhida com uma zaragatoa estéril (zaragatoa em meio Stuart, Deltalab) com meio de transporte e entregue no mesmo dia no laboratório (Figura 2).



**Figura 2 - Recolha da amostra com uma zaragatoa estéril**

### **III. Cultura bacteriológica**

Foi efetuada a cultura bacteriológica de todas as zaragatoas cutâneas segundo as normas padrão. As amostras foram semeadas através de sementeira direta por estria na superfície de um meio não seletivo, agar Columbia com 5% de sangue de carneiro, e de um meio seletivo para bacilos Gram negativos, o agar Mac Conkey (BioMérieux, Lisboa, Portugal). Ambas as placas de agar semeadas foram incubadas a 37°C, em aerobiose, durante 18 a 24 horas. O resultado foi considerado positivo quando ocorreu crescimento em cultura pura. A identificação dos agentes bacterianos responsáveis pela piodermite foi efetuada atendendo às características morfológicas das colónias em placa, presença de crescimento em meio seletivo, morfologia microscópica, coloração Gram e prova da catalase.

### **IV. Antibiógramas**

Foram utilizadas as galerias ATBVET (BioMérieux, Marcy-l'Etoile, France), de acordo com as concentrações recomendadas pelo National committee for clinical laboratory standards (NCCLS), para avaliar a resistência antimicrobiana dos agentes isolados. Foram testados os seguintes antimicrobianos em concentrações individuais: apramicina, gentamicina, penicilina, amoxicilina - ácido clavulânico, amoxicilina, cefoperazona, cefalotina, enrofloxacina, eritromicina, sulfametoxazol + trimetoprim, tetraciclina, doxiciclina e lincomicina. As estripes de referência *E. coli* ATCC 25922 e *S. aureus* ATCC 25923 foram utilizadas para o controlo de qualidade dos ensaios de susceptibilidade aos antibióticos efetuados pelo método já referido. O teste foi realizado de acordo com as instruções do fabricante e os resultados foram lidos e interpretados visualmente.

## V. Análise Estatística

Todos os dados obtidos foram introduzidos numa base de dados do Microsoft Office Excel<sup>®</sup> 2010. A análise estatística foi realizada através dos programas Microsoft Office Excel<sup>®</sup> 2010 e Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) (IBM SPSS Chicago, IL). para Windows 16.0. Foram utilizados os seguintes testes: binomial, Fisher e não paramétrico Wilcoxon-Mann-Whitney. Para a análise inferencial deste estudo assumiu-se o nível de significância de 95% ( $p = 0,05$ ).

### 3. Resultados

#### I. Divisão da amostra em grupos de acordo com a sensibilidade aos antibióticos:

As estirpes foram classificadas quanto ao tipo de resistência encontrada. Dos trinta e seis animais incluídos na amostra, dezassete indivíduos apresentaram resultados de antibiograma compatíveis com *Staphylococcus* não multirresistentes (grupo SS, 47%, 17/36), isto é, mostraram resistência a uma ou duas classes de antibióticos. Os restantes dezanove indivíduos apresentaram resultados de antibiograma compatíveis com *Staphylococcus* multirresistentes (grupo SR, 53%, 19/36), isto é, apresentaram resistência a três ou mais classes de antibióticos diferentes (Schwarz *et al*, 2010). Os resultados são apresentados na figura 3.

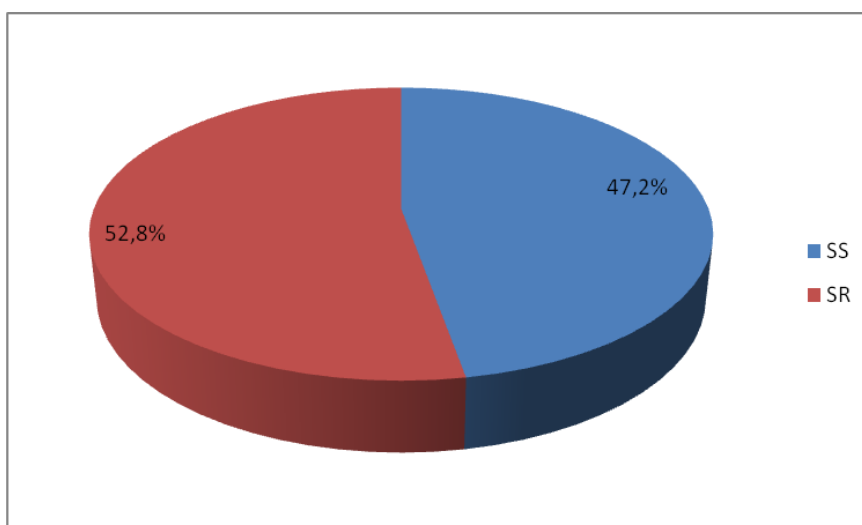


Figura 3 - Frequência relativa das estirpes não multirresistentes (SS) e multirresistentes (SR)

Para avaliar a incidência percentual da multirresistência aos antibióticos recorreu-se ao teste Binomial que revelou que não existem diferenças estatisticamente significativas entre a proporção de pacientes com e sem multirresistência aos antibióticos ( $p= 0,868$ ).

## **II. Resistência aos antibióticos das estirpes de *Staphylococcus* spp. em isolados cutâneos**

A resistência aos antibióticos dos isolados cutâneos foi avaliada para os dois grupos de estudo por classes de antibióticos, com exceção para os antibióticos  $\beta$ -lactâmicos em que se fez uma avaliação particular para as penicilinas e para as cefalosporinas porque as últimas têm em geral um espectro de ação mais amplo relativamente às penicilinas.

Os resultados dos antibiogramas obtidos em cada indivíduo para as estirpes de *Staphylococcus* spp. isoladas de piodermites estão descritos no apêndice I.

### **i. Resistência à amoxicilina-ácido clavulânico**

Para a avaliação do nível de resistência das penicilinas foi tido em conta o padrão de resistência à amoxicilina- ácido clavulânico uma vez que para os outros antibióticos testados deste grupo (penicilina e amoxicilina) é comum a resistência do *S. intermedius* às penicilinas hidrolisáveis através da produção de  $\beta$ -lactamases. Verificou-se resistência à amoxicilina/ácido clavulânico em 42% (8/19) do grupo SR e 6% (1/17) no grupo SS (figura 4).

Para se comparar a resistência à amoxicilina/ácido clavulânico nos dois grupos estudados recorreu-se ao teste de Fisher ( $p=0,002$ ). A análise de estatística inferencial permite afirmar que existem diferenças entre o grupo SS e SR no que respeita à resistência à amoxicilina/ácido clavulânico. Assim, no caso do grupo dos estafilococos multirresistentes verificou-se um elevado nível de resistências à combinação amoxicilina/ ácido clavulânico quando comparado com o grupo dos estafilococos não multirresistentes.

### **ii. Resistência ao grupo das cefalosporinas**

No grupo das cefalosporinas estão representadas cefalotina (1.<sup>a</sup> geração) e a cefoperazona (3.<sup>a</sup> geração). No caso das cefalosporinas verificou-se, como se pode analisar na figura 4, que no grupo SR 63% (12/19) dos isolados eram resistentes a esta classe de

antibióticos, enquanto 37% (7/19) eram suscetíveis. Relativamente ao grupo SS 12% (2/17) dos isolados cutâneos eram resistentes e 88% (15/17) eram suscetíveis (figura 4).

O teste de Fisher ( $p=0,002$ ) foi utilizado para se avaliar a resistência às cefalosporinas nos dois grupos estudados, através do qual se pode afirmar haverem diferenças entre grupos. Verifica-se assim que no grupo SR, 63% dos estafilococos eram resistentes às cefalosporinas enquanto no grupo SS apenas 12% dos estafilococos eram resistentes a esta classe de antibióticos.

### **iii. Resistência ao grupo das fluoroquinolonas**

O antibiótico representante deste grupo é a enrofloxacin. Verificou-se que no grupo SR apresentava 84% (16/19) de isolados resistentes a este antibiótico, enquanto 16% (3/19) eram suscetíveis. Relativamente ao grupo SS, verificou-se que 100% (17/17) dos isolados cutâneos eram suscetíveis à enrofloxacin (figura 4).

Para se avaliar a resistência à enrofloxacin nos grupos SS e SR recorreu-se ao teste de Fisher através do qual se verificou existirem diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos estudados. Assim, no caso do grupo dos estafilococos multirresistentes verificou-se um elevado nível de resistências à enrofloxacin (84%) não tendo sido detetado qualquer estafilococos resistente a esta classe de antibióticos no grupo SS.

### **iv. Resistência ao grupo dos aminoglicosídeos**

Neste grupo estão presentes a apramicina e gentamicina. A percentagem de resistência aos aminoglicosídeos foi de 68 % (13/ 19) no grupo SR, enquanto no grupo SS 100% (17/17) eram suscetíveis a esta classe de antibióticos (figura 4). A análise pelo teste de Fisher permitiu verificar que existem mais casos de resistência aos aminoglicosídeos no grupo dos estafilococcus multirresistentes e que existem diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos estudados.

### **v. Resistência ao grupo dos macrólidos**

O antibiótico representante deste grupo é a eritromicina. A percentagem de resistência à eritromicina foi de 79% (15/19) no grupo SR e 12% (2/17) no grupo SS (figura 4). A análise pelo teste de Fisher permitiu verificar que existem mais casos de resistência à eritromicina no grupo dos estafilococcus multirresistentes.

#### vi. Resistência ao grupo das tetraciclina

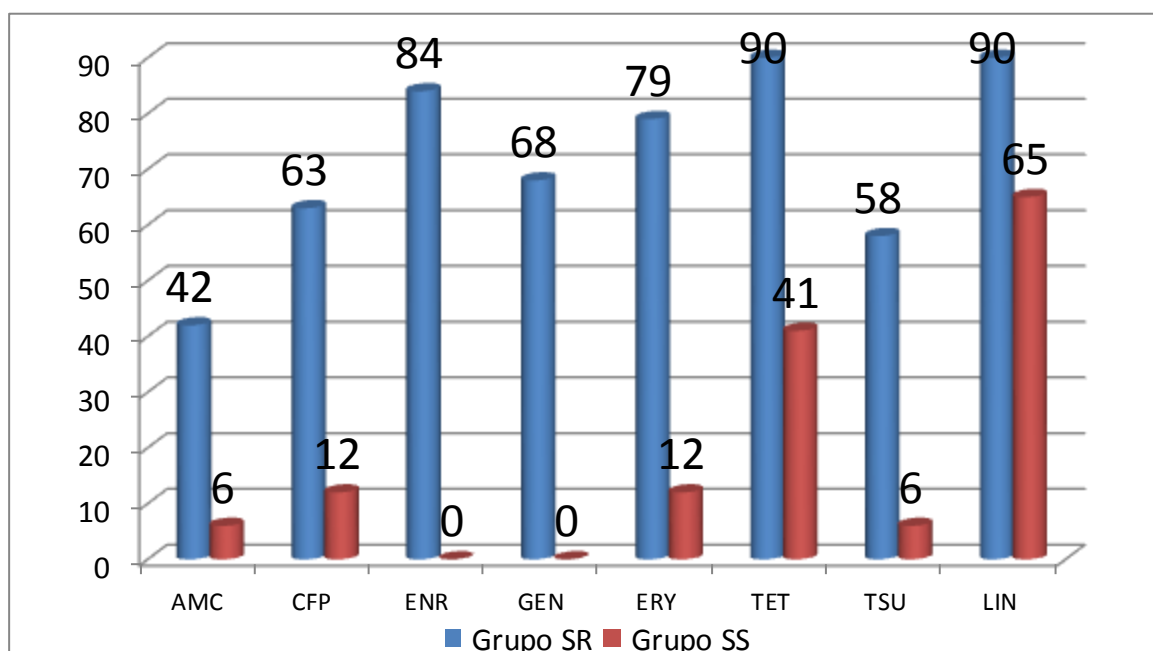
Este grupo compreende a tetraciclina e a doxiciclina. Para efeitos de análise usamos somente os dados referentes à doxiciclina. A percentagem de resistência à doxiciclina foi de 90% (17/19) no grupo SR e 41% (7/17) no grupo SS (figura 4). A análise pelo teste de Fisher permitiu verificar que existem diferenças entre os dois grupos testados ( $p= 0,004$ ).

#### vii. Resistência às sulfonamidas

O antibiótico testado neste grupo foi o sulfametaxol potenciado pelo trimetoprim. A percentagem de resistência a este antibiótico foi de 58% (11/19) no grupo SR e 6% (1/17) no grupo SS (figura 4). A análise pelo teste de Fisher permitiu verificar que existem diferenças entre os dois grupos testados ( $p= 0,001$ ).

#### viii. Resistência ao grupo das lincosamidas

A percentagem de resistência à lincomicina foi de 90% (17/19) no grupo SR e 65% (11/17) no grupo SS (figura 4). A análise pelo teste de Fisher permitiu verificar que não existem diferenças entre os dois grupos testados ( $p= 0,141$ ). A lincomicina é o único antibiótico neste grupo.



**Figura 4 - Frequência relativa (%) das resistências aos antibióticos por grupo. Grupo SS (estafilococos não multirresistentes) e Grupo SR (estafilococos multirresistentes). AMC, amoxicilina-ácido clavulânico; CFP, cefalosporinas; ENR, fluoroquinolonas; GEN, aminoglicosídeos; ERY, macrólidos; TET, tetraciclina; TSU, sulfonamidas; LIN, lincosamidas.**

### III. Fatores de risco para a multirresistência aos antibióticos

Foi avaliada a possibilidade de determinados factores estarem associados com a multirresistência antimicrobiana de estafilococos isolados de piodermites de cães atópicos (quadro 1).

**Quadro 1 – Fatores avaliados versus multirresistência**

Variável	Grupo SS n = 17	Grupo SR n = 19
<b>Idade</b>	Média = 6.8 anos	Média = 5.6 anos
<b>Género</b>	Machos = 47 % Fêmeas = 53 %	Machos = 53 % Fêmeas = 47 %
<b>Estado fértil</b>	Fértil = 53 % Não fértil = 47 %	Fértil = 68 % Não fértil = 32 %
<b>Raça</b>	Pura = 82 % Indeterminada = 18 %	Pura = 68 % Indeterminada = 32 %
<b>Duração da piodermite</b>	Média = 22 semanas	Média = 25 semanas
<b>Tipo da piodermite</b>	Superficial = 94 % Profunda = 6 %	Superficial = 79 % Profunda = 21 %
<b>Tratamento</b>	Sim = 60 % Não = 40 %	Sim = 55 % Não = 45 %
<b>Área profissional do proprietário</b>	Saúde = 13 % Outra = 87 %	Saúde = 22 % Outra = 78 %

Grupo SS (estafilococos não multirresistentes) e Grupo SR (estafilococos multirresistentes)

#### i. Relação entre a multirresistência aos antibióticos e a idade

Para verificar se existe relação entre a idade do paciente e a multirresistência aos antibióticos comparou-se a média de idade entre os dois grupos. No grupo SS, verificou-se que a média de idades dos animais estudados foi de 6.8 anos, com desvio padrão de 2.3 anos e que a idade oscilou entre os 3 e 12 anos. No grupo SR, a média de idades dos indivíduos foi de 6.6 anos, com desvio padrão de 5.6 anos e a idade oscilou entre 1 e 18 anos. A hipótese foi avaliada pelo teste não paramétrico Wilcoxon-Mann-Whitney e as diferenças não foram estatisticamente significativas ( $p=0,463$ ). Concluímos que a idade não parece influenciar o

aparecimento de estafilococos multirresistentes pois a média de idades não difere entre os dois grupos estudados.

## **ii. Relação entre a multirresistência aos antibióticos e o gênero**

O grupo SS apresentava 53% (9/17) de fêmeas e 47% (8/17) de machos, enquanto, o grupo SR era composto por 47% (9/19) de fêmeas e 53% (10/19) de machos. Nesta análise, avaliou-se a relação entre o gênero do paciente e a multirresistência aos antibióticos. Para tal recorreu-se ao teste de Fisher ( $p=1,000$ ). A análise de estatística inferencial permite afirmar que a existência de piodermite por estafilococos multirresistentes é independente do gênero do paciente.

## **iii. Relação a multirresistência aos antibióticos e o estado fértil**

Na presente análise avaliámos a relação entre o estado fértil e a multirresistência aos antibióticos. O grupo SS apresentava 53% (9/17) de animais férteis e 47% (8/17) de animais esterilizados, enquanto o grupo SR era composto por 68% (13/19) de animais férteis e 32% (6/19) de animais esterilizados. A análise segundo o teste de Fisher ( $p=0,495$ ) permite afirmar que a multirresistência aos antibióticos é independente da fertilidade do paciente.

## **iv. Relação entre a multirresistência aos antibióticos e a raça do paciente**

Dos 36 animais incluídos neste trabalho 25% (9/36) não tinham raça definida enquanto 75% (27/36) eram cães de raça pura. As raças mais frequentes na amostra são o Labrador com 18,5% (5/ 27), seguida dos Pastores Belga com 11,1% (3/27) e Alemão com 11,1% (3/27), e American Stafforshire Terrier com 7,4% (2/ 27) de animais. As restantes raças eram representadas apenas por um exemplar cada (3,7% cada).

A análise descritiva do grupo SS revelou 82% (14/17) dos animais eram de raça pura e que 18% (3/17) dos pacientes eram de raça indeterminada, enquanto, no grupo SR 68% (13/19) eram de raça pura e 32% (6/19) não apresentavam raça definida. A análise inferencial pelo teste de Fisher não estabelece relação entre a infeção com estafilococos multirresistentes e a presença de raça pura ( $p=0,451$ ).

**v. Relação entre a multirresistência aos antibióticos e a duração da piодermite**

No grupo SS, verificou-se que a média de duração da piодermite foi de 22 semanas (desvio padrão de 37,6). No grupo SR, a piодermite durou em média 25 semanas (desvio padrão de 25,2). A comparação entre as médias, segundo o teste não paramétrico Wilcoxon-Mann-Whitney permite afirmar que não existe diferença na duração da piодermite entre os grupos analisados ( $p=0,193$ ).

**vi. Relação entre a multirresistência aos antibióticos e o tipo de piодermite**

A amostra era constituída por 89% (32/36) de indivíduos com piодermite superficial e 11% (4/36) de indivíduos com piодermite profunda. Dos animais com piодermite superficial 50% (16/32) pertenciam ao grupo SS e 50% (16/32) pertenciam ao grupo SR, enquanto, dos animais com piодermite profunda 25% (1/4) pertenciam ao grupo SS e 75% (3/4) pertenciam ao grupo SR. A análise inferencial pelo teste de Fisher permite afirmar que não existe relação entre o tipo piодermite e a presença de estafilococos multirresistentes ( $p=0,605$ ).

**vii. Relação entre a multirresistência aos antibióticos e a existência de antibioterapia prévia**

Em trinta e três pacientes em que a informação sobre antibioterapia anterior estava disponível, 61% (20/33) receberam tratamento sendo que os restantes indivíduos não receberam terapêutica antibacteriana (39%, 13/33). Dos pacientes que foram sujeitos previamente a antibioterapia 65% (13/20) receberam tratamento com amoxicilina/ ácido clâvulânico, 40 % (8/20) receberam uma cefalosporina (cefalexina), 20% (4/20) receberam fluoroquinolonas (enrofloxacina ou ciprofloxacina), 10% (2/20) receberam licosamidas (clindamicina ou lincomicina) e 11,5% (3/20) receberam tratamento com ácido fusídico tópico. É ainda de referir que 30% (6/20) dos indivíduos foram tratados com mais de um antibiótico.

No grupo SS, 60% (9/15) dos pacientes receberam tratamento. No grupo SR, verificámos que 55% (11/18) dos pacientes receberam tratamento. Recorremos ao teste de Fisher, para avaliar a relação entre sensibilidade aos antibióticos e a antibioterapia anterior ( $p=1,000$ ). Concluimos que, na nossa amostra o tratamento anterior com antibióticos não está associado à presença de multirresistências aos antibióticos.

### **viii. Relação entre a multirresistência aos antibióticos e a área profissional do proprietário**

Dos trinta e seis animais observados foi apenas possível avaliar a profissão do proprietário em trinta e três indivíduos: 18 % (6/33) apresentavam uma profissão na área da saúde e 82 % (27/33) exerciam profissão noutra área. As profissões exercidas por estes proprietários incluíam médicos, enfermeiros e um padre com visitas hospitalares regulares. No grupo SS, 13% (2/15) apresentavam uma profissão na área da saúde e no grupo SR 87% (13/15) tinha uma profissão noutra área. Quanto aos indivíduos do grupo SR 22 % (4/18) tinham uma profissão na área da saúde e 78 % (14/18) exerciam atividade profissional noutra área. A análise inferencial pelo teste de Fisher permite afirmar que não existe relação entre existência de estafilococos multirresistente e a área profissional do proprietário ( $p=0,665$ ), pese embora, tenhamos o dobro de proprietários da área da saúde no grupo com piodermite com estafilococos multirresistente.

## **4. Discussão**

O estudo compreendeu um total de 36 animais da espécie canina diagnosticados com dermatite atópica e piodermite bacteriana causada por *Staphylococcus* spp. A amostra é composta por canídeos de diferentes idades, raças, géneros e estado reprodutivo observados na consulta de referência de dermatologia. As estirpes de estafilococos isoladas foram classificadas quanto ao tipo de resistência encontrada, tendo sido consideradas como multirresistentes à antibioterapia, as estirpes que possuíam resistência a três ou mais classes de antibióticos.

No presente estudo, a incidência de estirpes resistentes a uma ou duas classes de antibióticos e multirresistentes foi semelhante. Estes dados podem ser diferentes de outros estudos pois deve ser tida em consideração que a amostra é composta por animais observados na consulta de referência de dermatologia, podendo diferir daquilo que é observado na clínica de primeira opinião. Huerta *et al.* (2011) encontrou 32% de estirpes de estafilococos multirresistentes, e Rantala *et al.* (2004) encontrou 29% de estirpes de estafilococos multirresistentes

Verificou-se assim que a multirresistência antibiótica foi um achado comum (53% das estirpes isoladas), o que está de acordo com um estudo anteriormente reportado, onde é descrita uma elevada ocorrência de estirpes de estafilococos multirresistentes (Ganière *et al.*,

2005). Este achado é importante se tivermos em consideração o reconhecido potencial zoonótico de estirpes de *S. pseudintermedius* e o facto de ser aceite que os cães podem ser reservatórios de MRSA importantes para o Homem (Duquette & Nuttall, 2004). A presença de inúmeras estirpes multirresistentes pode estar relacionada com os vários ciclos de antibioterapia a que os animais atópicos com infeção cutânea são normalmente sujeitos na clínica geral.

Neste estudo, o grupo dos estafilococos multirresistentes distingue-se do grupo dos não multirresistentes pela presença uma incidência superior de resistência à associação amoxicilina/ácido clavulânico, às cefalosporinas, aos aminoglicosídeos, à enrofloxacina, à eritromicina, à associação sulfametoxazol/ trimetoprima e à doxicilina. Num estudo efetuado em 2004 em que foi avaliada a resistência aos antibióticos de estafilococos isolados de piodermites caninas os padrões de resistência mais comuns eram penicilina/ associação sulfametoxazol/trimetoprima/ tetraciclina e penicilina/ associação sulfametoxazol/trimetoprim/ tetraciclina/ macrólidos/ lincosamidas (Rantala *et al.*, 2004). Verificaram-se ainda altos níveis de resistência à lincomicina em ambos os grupos: 90% no grupo dos estafilococos multirresistentes e 65% nos restantes isolados. Este achado está em oposição a Pappich (2011a) que refere que os estafilococos são habitualmente sensíveis às lincosamidas (podendo as resistências atingir os 25%). De acordo com Ganière *et al.* (2005), a resistência às lincosamidas tem aumentado nos últimos 10 anos o que parece estar relacionado com a utilização frequente destes antibióticos.

A frequência da resistência à associação amoxicilina-ácido clavulânico (25%) encontrada neste trabalho difere das reportadas anteriormente noutros estudos que indicam que a associação amoxicilina-ácido clavulânico é eficaz para o tratamento da piodermite por estafilococos (Rantala *et al.* (2004); Ganière *et al.* (2005); Hauschild & Wójcik (2007)). No entanto, Pappich (2011b) refere que as estirpes resistentes à meticilina devem ser consideradas resistentes a todos os  $\beta$ -lactâmicos, mesmo aqueles que possuem um inibidor das  $\beta$  lactamases, como é o caso da amoxicilina-ácido clavulânico. Assim, seria interessante determinar num estudo futuro, se as estirpes resistentes a esta associação são resistentes à meticilina. Foram encontrados 39% de estafilococos resistentes às cefalosporinas de primeira ou segunda geração. Resultados semelhantes foram obtidos nos Estados Unidos da América (Morris, *et al.* 2006; Jones *et al.* 2007) e na Europa (Loeffler *et al.*, 2007). Neste trabalho verificou-se que a resistência às fluoroquinolonas era um achado comum com 44% das estirpes resistentes. Estes resultados diferem dos anteriormente obtidos por Ganière *et al.*

(2005) que num estudo com 50 isolados de *S. intermedius* observou apenas um pequeno número de estirpes resistentes às fluoroquinolonas (2%). De acordo com o mesmo autor, o isolamento de estirpes com resistência às fluoroquinolonas tem sido descrito apenas em animais tratados anteriormente com diversos antibióticos, incluindo antibióticos da classe das fluoroquinolonas. Relativamente aos macrólidos foram encontradas 47% de estirpes resistentes à eritromicina. De forma semelhante Rantala *et al.* (2004) e Hauschild & Wójcik (2007) verificaram elevados níveis de resistência para esta classe de antibióticos. Relativamente aos antibióticos da classe das tetraciclina apenas foi testada a doxiciclina. Em clinica de pequenos animais, a tetraciclina carece de estudos clínicos, tendo sido adoptadas a doxiciclina e a minociclina (Papich, 2011d). Foi detectada resistência às tetraciclina em 67% dos estafilococos isolados, a qual é considerada elevada se compararmos com o estudo realizado por Ganière *et al.* (2005) onde foram encontradas 46% de estirpes resistentes à oxitetraciclina. Quanto aos aminoglicosídeos verificou-se que 36% dos isolados eram resistentes, o que não está de acordo com os estudos realizados por Ganière *et al.* (2005) e Hauschild & Wójcik (2007) que referem que os estafilococos mostram pouca resistência a esta classe de antibióticos. Os isolados demonstraram 33% de resistência à associação trimetoprim-sulfametoxazol. Resultados semelhantes foram reportados por Rantala *et al.* (2004) e Hauschild & Wójcik (2007). Por fim foram observadas 78% de estirpes resistentes às lincosamidas. Papich (2011a) refere que os estafilococos são habitualmente sensíveis às lincosamidas no entanto, Ganière *et al.* (2005) refere que as resistências às lincosamidas têm aumentado, o que poderá estar relacionado com o uso frequente destes antibióticos como já referido anteriormente.

Pretendeu-se ainda avaliar e descrever a presença de fatores de risco associados com a multirresistência a antibióticos de estafilococos em piodermites na espécie canina. Não se verificaram diferenças na média de idades entre os dois grupos de estudo (grupo dos estafilococos resistentes a apenas uma ou duas classes de antibióticos e grupo dos estafilococos multirresistentes). Neste campo a bibliografia é escassa, apenas foram encontrados dados relativos à influência da idade no desenvolvimento das piodermites mas não foi encontrada informação acerca da possível relação entre a idade do hospedeiro e o desenvolvimento de estirpes multirresistentes. Num estudo efetuado por Rantala *et al.* (2004) com setenta e oito animais foi observada uma maior prevalência de estafilococos multirresistentes em animais com idade inferior a 5 anos, no entanto refere ainda que são necessários mais estudos para avaliar a relação entre a idade e a infeção por estafilococos

multirresistentes. Em medicina humana verifica-se uma discrepância entre idades. Um estudo efectuado por Tillotson *et al.* (2008) que avaliou a suscetibilidade do *Staphylococcus aureus* isolados da pele e de feridas em indivíduos nos Estados Unidos da América, verificou uma maior prevalência de estafilocos multirresistentes em indivíduos adultos entre os 17 e os 64 anos.

Relativamente ao estado fértil do paciente não se verificou associação entre este parâmetro e a presença de estirpes multirresistentes. Também não foi verificada associação entre raça pura e a existência de piodermite por estafilococos multirresistentes. Não é do conhecimento do autor que tenham sido realizados estudos acerca do papel de fatores específicos do hospedeiro e a presença de estafilococos multirresistentes em piodermite na DAC. Apenas Huerta *et al.* (2011), num estudo com setenta e quatro animais, observou que os estafilococos multirresistentes isolados eram encontrados mais frequentemente em machos.

No estudo foi comparado o tempo de duração da piodermite e o tipo de piodermite com a presença de estirpes multirresistentes. Verificou-se não existir diferença na duração e no tipo da piodermite entre os dois grupos analisados. De facto, os casos clínicos foram apresentados à consulta de referência após várias semanas de duração da piodermite. Provavelmente, o Médico Veterinário assistente tende a referenciar o caso clínico ao especialista algum tempo após a primeira consulta e depois de várias abordagens terapêuticas, pelo que é difícil avaliar através deste estudo se existe relação entre a presença de estirpes multirresistentes e factores como o tempo de duração da piodermite e o tipo de piodermite.

Neste estudo foi verificada uma maior percentagem de animais com piodermite superficial. Este achado está de acordo com o estudo de Noli que refere que a foliculite bacteriana (subtipo de piodermite superficial) é a forma mais comum de piodermite da espécie canina (Noli, 2003). Summers *et al.* (2012) refere ainda que a classificação do tipo de piodermite é importante porque influencia a escolha do antibiótico.

Neste estudo não se verificou associação entre antibioterapia prévia e a presença de estirpes multirresistentes. No entanto, verificou-se que os antibióticos mais utilizados como tratamento de primeira escolha em clinica geral apresentam frequentemente resistências no grupo dos estafilococos multirresistentes (é o caso da associação amoxicilina-ácido clavulânico, das cefalosporinas e da enrofloxacina). De forma semelhante um estudo efetuado por Huerta *et al.* (2011), no qual foram avaliados fatores de risco associados à resistência antimicrobiana de estafilococos isolados de piodermite, verificou que as resistências à amoxicilina-ácido clavulânico, cefalosporinas, enrofloxacina e ciprofloxacina eram mais

comuns nos animais sujeitos a antibioterapia a longo-prazo. No mesmo estudo, foi verificada uma incidência muito mais elevada de estafilococos multirresistentes no grupo de indivíduos sujeitos a tratamento prolongado. No presente trabalho foi ainda verificado que o antibiótico mais prescrito empiricamente correspondeu à associação amoxicilina-ácido clavulânico sendo que 73% dos isolados do grupo SR receberam tratamento anterior com este fármaco para apenas 27% no grupo SS. De acordo com estes resultados podemos especular que o tratamento com determinados antibióticos, nomeadamente com a associação amoxicilina-ácido clavulânico, pode ser um factor predisponente para o aparecimento de estafilococos multirresistentes em piodermites na espécie canina, no entanto seriam necessários mais estudos com uma amostragem maior. Estes resultados sugerem ainda que a cultura bacteriológica e o TSA são recomendados nos casos de piodermite recorrente apesar da eficácia geralmente apresentada pela amoxicilina-ácido clavulânico e cefalosporinas (Rantala *et al*, 2004). Lloyd (2011b) refere ainda que a terapia antibacteriana recorrente é o segundo factor de risco mais importante para a aquisição de MRSA em cães.

Por fim, foi avaliada a relação entre a existência de estafilococos multiresistentes e a área profissional do proprietário (área da saúde *versus* outra área) e não se verificou qualquer associação. No entanto, há que referir que na amostra foi documentado o dobro de proprietários da área da saúde no grupo com estafilococos multirresistentes. Noli (2003) refere que os proprietários de cães afetados com estirpes de estafilococos meticilina resistentes são geralmente funcionários de hospitais ou pacientes em tratamento hospitalar. Além disso facto de uma pessoa ter actividade profissional na área da saúde é um factor de risco para a colonização por MRSA do seu animal de companhia (Boost, O'Donoghue & James, 2008). Dada a importância da associação entre a infecção de cães com MRSA e o contacto com instalações hospitalares ou com indivíduos portadores referida também por Lloyd (2011c) torna-se importante aumentar o tamanho da amostra num projeto futuro para que possa ser analisada a existência de uma associação entre de estafilococos multirresistentes e a área do profissional do proprietário.

## **5. Conclusão**

A introdução de agentes antimicrobianos eficazes trouxe melhorias significativas na saúde animal, no entanto, rapidamente surgiram mecanismos que permitem às bactérias resistir aos antibióticos. A resistência aos efeitos dos agentes antimicrobianos é um fenómeno natural que se pode verificar espontaneamente no seio de uma população de bactérias.

O tratamento das piодermites revela-se cada vez mais exigente dada a capacidade que as bactérias possuem para desenvolver resistências aos antibióticos. Estas podem ser intrinsecamente resistentes a uma ou mais classes de antibióticos ou podem adquirir resistência por mutação ou aquisição de genes de resistência a partir de outro agente bacteriano.

A elevada prevalência de estirpes multirresistentes encontradas nos isolados de piодermites deve ser determinante para adquirir uma atitude de vigilância relativa ao surgimento destas estirpes potencialmente causadoras de morbidade adicional, assim como a utilização empírica dos antibióticos deve ser feita com precaução no sentido de limitar a emergência de estirpes multirresistentes. A utilização prudente dos antibióticos, o diagnóstico precoce e o recurso mais frequente à cultura bacteriana e aos testes de sensibilidade a antibióticos são medidas importantes no sentido de reduzir a emergência de estirpes multirresistentes.

De forma geral a frequência de isolamento de estirpes MRSI em medicina veterinária é considerada baixa. No entanto, atualmente verifica-se sistematicamente que nas estirpes de estafilococos isoladas de pele e outros locais, a resistência à oxacilina aumentou e que este aumento está associado com a existência de multirresistência. Assim, seria interessante verificar em estudos posteriores se existe resistência à metilina, através da avaliação da resistência à oxacilina e pesquisa da presença do gene *mecA*, nas estirpes isoladas no presente estudo.

Os níveis elevados de resistências à enrofloxacina podem estar relacionados com o uso generalizado das fluoroquinolonas em medicina veterinária, muitas vezes utilizados como antibióticos de primeira escolha nas piодermites.

Os fatores de risco associados com a multirresistência dos estafilococos a antibióticos em piодermites na espécie canina parecem estar provavelmente relacionados com a aquisição de resistências pela própria bactéria do que com fatores do hospedeiro, ou outros, no entanto devem ser efetuados mais estudos utilizando uma amostra maior.

Apesar do presente estudo ter sido realizado com amostras de pacientes observados na consulta de referência de dermatologia os seus resultados podem ser aplicados em clínica geral. Ou seja, cães com piодermite recorrente que já tenham sido submetidos a vários tratamentos, nomeadamente a vários ciclos de antibioterapia, devem ser considerados suspeitos de antibioresistência, sendo recomendada cultura bacteriana e antibiograma. Em suma, consideramos que os dados do presente estudo podem ser um potencial auxílio para o

Médico Veterinário Assistente no exercício da clínica geral. Futuramente, este tipo de informação científica poderá tornar-se um contributo para a Saúde Pública no sentido de evitar a emergência de estafilococos multirresistentes, no Homem e nos animais de companhia. Este estudo poderá mesmo ser útil para diminuir a possibilidade de contágio desta infeção entre animais de companhia e o Homem.

## Referências bibliográficas

Awji, E., Tassew, D., Lee, S. Lee, S., Choi, M., Reza, A., Rhee, M. *et al.*, (2012). Comparative mutant prevention concentration and mechanism of resistance to veterinary fluoroquinolones in *Staphylococcus pseudintermedius*. *Veterinary Dermatology*, 23, 376 – e69.

Bannoehr, J., & Guardabassi, L. (2012). *Staphylococcus pseudintermedius* in the dog: taxonomy, diagnostics, ecology, epidemiology and pathogenicity. *Veterinary Dermatology*, 23, 253 – e52.

Bannoehr, J., Zakour, N. L. B., Waller, A. S., Guardabassi, L., Thoday, K. L., Broek, A. H. M. v. d. & Fitzgerald, J. R. (2007). Population genetic structure of the *Staphylococcus intermedius* group: insights into agr diversification and the emergence of methicillin resistant strains. *Journal of Bacteriology*, 189(23), 8685–8692.

Boost, M. V., O'Donoghue, M. M. & James, A. (2008). Prevalence of *Staphylococcus aureus* carriage among dogs and their owners. *Epidemiol Infect*, 136 (7): 953-964.

Bryan, J., Frank, L., Rohrbach, B., Burgette, L., Cain, C., & Bemis, D. (2012). Treatment outcome of dogs with meticilin-resistant and meticilin-susceptible *Staphylococcus pseudintermedius* pyoderma. *Veterinary Dermatology*, 23, 361 – e65.

BSAVA-Scientific-Committee, Nuttall, T., Cookson, B. & Ridgeway, G. (2007). MRSA – Practice Guidelines. Acedido em Setembro 10, 2012, disponível em: <http://www.bsava.com/>.

Carlotti, D. N. (2011). Unusual clinical presentation of infectious diseases in dogs and cats. Comunicação apresentada no 25<sup>th</sup> Annual Congress of the ESVD-ECVD, Bruxelas, Bélgica.

DeBoer, D. J. & Marsella, R. (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XII): the relationship of cutaneous infections to the pathogenesis and clinical course of canine atopic dermatitis. *Veterinary immunology and immunopathology*, 81, 239-249.

Duquette, R. A. & Nuttall, T. J. (2004). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in dogs and cats: an emerging problem? *Journal of Small Animal Practice*, 45, 591-597.

Ferrer, G. P. (2007). Abordaje clinic de la dermatitis atópica canina. Comunicação apresentada no VI Congresso Hospital Veterinário Montenegro subordinado ao tema “Dermatologia”, Santa Maria da Feira, Portugal.

Ganière, J. P., Medaille, C. & Mangion, C. (2005). Antimicrobial drug susceptibility of *Staphylococcus intermedius* clinical isolates from canine pyoderma. *Journal of veterinary medicine. B, Infectious diseases and veterinary public health*, 52(1), 25-31.

Garrett, J.; Osswald, W. & Guimarães, S. (2001). Quimioterapia anti-infecciosa. In: *Terapêutica medicamentosa e suas bases farmacológicas* (4ªEd, pp. 797- 947). Lisboa: Porto Editora.

Guardabassi, L., Loeber, M. E. & Jacobson, A. (2004). Transmission of multiple antimicrobialresistant *Staphylococcus intermedius* between dogs affected by deep pyoderma and their owners. *Veterinary Microbiology*, 98, 23–27.

Guardabassi, L., Schwarz, S. & Lloyd, D. H. (2004). Pet animals as reservoirs of antimicrobialresistant bacteria. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 54, 321–332.

Harvey, R. G. (2007). Pyoderma That No-One Wants. Comunicação apresentada no VI Congresso Hospital Veterinário Montenegro subordinado ao tema “Dermatologia”, Santa Maria da Feira, Portugal.

Hauschild, T. & Wójcik, A. (2007). Species distribution and properties of staphylococci from canine dermatitis. *Research in veterinary science*, 82(2007), 1–6.

Huerta, B., Maldonado, A., Ginel P. J., Tarradas, C., Gómez-Gascón, L., Astorga, R. J., Luque, I. (2011). Risk factors associated with the antimicrobial resistance of staphylococci in canine pyoderma. *Veterinary Microbiology*, 150(3-4), 302-8.

Jones, R. D., Kania, S. A., Rohrbach, B. W., Frank, L. A. & Bemis, D. A. (2007). Prevalence of oxacillin- and multidrug-resistant staphylococci in clinical samples from dogs: 1,772 samples (2001-2005). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 230(2), 221-7.

Kadlec, K., & Schwarz, S. (2012). Antimicrobial resistance of *Staphylococcus pseudintermedius*. *Veterinary Dermatology*, 23, 276 – e55)

Lloyd, D. H., (2011a). *Antimicrobial therapy: new challenges and new approaches*. Comunicação apresentada no 25<sup>th</sup> Annual Congress of the ESVD-ECVD, Bruxelas, Bélgica.

Lloyd, D. H., (2011b). *MRSP in dogs*. Comunicação apresentada no 25<sup>th</sup> Annual Congress of the ESVD-ECVD, Bruxelas, Bélgica.

Lloyd, D. H., (2011c). *MRSA in dogs and cats*. Comunicação apresentada no 25<sup>th</sup> Annual Congress of the ESVD-ECVD, Bruxelas, Bélgica.

Lindsay, J. A., (2011a). *Antimicrobial and antiseptic use and bacterial resistance*. Comunicação apresentada no 25<sup>th</sup> Annual Congress of the ESVD-ECVD, Bruxelas, Bélgica.

Lindsay, J. A., (2011b). *Mechanisms of Staphylococcal Infection – Host Pathogen Interaction*. Comunicação apresentada no 25<sup>th</sup> Annual Congress of the ESVD-ECVD, Bruxelas, Bélgica.

Lindsay, J. A., (2011c). *Transfer of bacterial virulence and resistance*. Comunicação apresentada no 25<sup>th</sup> Annual Congress of the ESVD-ECVD, Bruxelas, Bélgica.

Loeffler, A., Linek, M., Moodley, A., Guardabassi, L., Sung, J. M. L., Winkler, M., Weiss, R. & Lloyd, D. H. (2007). First report of multiresistant, *mecA*-positive *Staphylococcus intermedius* in Europe: 12 cases from a veterinary dermatology referral clinic in Germany. *Veterinary Dermatology*, 18(6), 412–421.

McEwan, N. A., Mellor, D. & Kalna, G. (2006). Adherence by *Staphylococcus intermedius* to canine corneocytes: a preliminary study comparing noninflamed and inflamed atopic canine skin. *Veterinary Dermatology*, 17, 151-154.

Morris, D. O., Rook, K. A., Shofer, F. S. & Rankin, S. C. (2006). Screening of *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, and *Staphylococcus schleiferi* isolates obtained from small companion animals for antimicrobial resistance: a retrospective review of 749 isolates (2003–04). *Veterinary Dermatology*, 17(5), 332–337.

Morris, D. O. (2011a). *The Problem-Oriented Approach to Papular/ Pustular Dermatitis*. Comunicação apresentada no 25<sup>th</sup> Annual Congress of the ESVD-ECVD, Bruxelas, Bélgica.

Morris, D. O. (2011b). *Unusual Pyoderma*. Comunicação apresentada no 25<sup>th</sup> Annual Congress of the ESVD-ECVD, Bruxelas, Bélgica.

NCCLS (2002). Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals; approved standard - second ed., NCCLS document M31-A2. NCCLS.

Noli, C. (2003). Staphylococcal pyoderma. In A. Foster & C. Foil (Eds.) *BSAVA manual of small animal dermatology*, (2<sup>nd</sup> ed). (159-168). Gloucester, UK: British small animal veterinary association.

Papich, G.M. (2011a). Principles of drug therapy for cutaneous infections in small animals. Comunicação apresentada no BVDSG Autumn Meeting, Manchester, Inglaterra.

Papich, G.M. (2011b). Selection of Antibiotics for Treatment of Methicillin-Resistant *Staphylococcus*. Comunicação apresentada no BVDSG Autumn Meeting, Manchester, Inglaterra.

Papich, G.M. (2011c). Selection of Antibiotics for the Treatment of Resistance Bacteria other than Methicillin-Resistant *Staphylococcus*. Comunicação apresentada no BVDSG Autumn Meeting, Manchester, Inglaterra.

Papich, G.M. (2011d). In Saunders Handbook of Veterinary Drugs - Small and Large Animals (3<sup>rd</sup> ed). Saunders Elsevier, Missouri, USA.

Marcos, R., Santos, M., Pissarra, H., Peleteiro, M. C. (2011). Pele, seus Anexos e Tecido Subcutâneo. In: Peleteiro, M. C., Marcos, R., Santos, M., Correia, J., Pissarra, H., Carvalho, T. (Eds), *Atlas de Citologia Veterinária*. (1ªEd., pp. 45-100). Lisboa: Lidel.

Rantala, M., Lahti, E., Kuhalampil, J., Pesonen, S., Järvinen, A. K., Saijonmaa-Koulumies, Honkanen-Buzalski, T. (2004). Antimicrobial resistance in *Staphylococcus* spp., *Escherichia coli* and *Enterococcus* spp. in dogs given antibiotics for chronic dermatological disorders, compared with non-treated control dogs. , 45, 37-45.

Saijonmaa-Koulumies, L. & Lloyd, D. (2002). Adherence of *Staphylococcus intermedius* to canine corneocytes in vitro. *Veterinary Dermatology*, 13(4):169-76.

Sasaki, T., Kikuchi, K., Tanaka, Y., Takahashi, N., Kamata, S. & Hiramatsu, K. (2007). Reclassification of phenotypically identified *Staphylococcus intermedius* strains. *Journal of Clinical Microbiology*, 45(9), 2770–2778.

Schwarz, S., Silley, P., Simjee, S., Woodford, N., Duijkeren, E., Johnson, A., & Gastra, W. (2010). Editorial: assessing the antimicrobial susceptibility of bacteria obtained from animals. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 65, 601 – 604.

Scott, D. W. (2001). Bacterial skin diseases. In D. W. Scott, W. H. Miller & C. E. Griffin (Eds.) *Muller and Kirk's Small Animal Dermatology*, (6<sup>th</sup> ed.). (274-335). Philadelphia: W.B. Saunders.

Summers, J. F., Brodbelt, D. C., Forsythe, P. J., Loeffler, A. & Hendricks, A. (2012). The effectiveness of systemic antimicrobial treatment in canine superficial and deep pyoderma: a systematic review. *Veterinary Dermatology*, 23: 305-e61.

Tenover, F. C. (2006). Mechanisms of Antimicrobial Resistance in Bacteria. *American Journal of Medicine*, 119 (6), 3 – 10.

Tillotson, G. S., Draghi, D. C., Sahm, D. F., Tomfohrde, K. M., Fabro, T. and Critchley, I. A. (2008). Susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from skin and wound infections in the United States 2005–07: laboratory-based surveillance study. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 62 (1): 109-115.

Vercelli, A. (2009). Update on clinical management of pyoderma. Comunicação apresentada no 4<sup>th</sup> International Baytril Symposium, Florença, Itália.

White, S. (2009). Managing difficult pyoderma cases in dogs. Comunicação apresentada no Bayer Pre-Congress Symposium ESVD/ ECVD, Bled, Eslovénia.

## Apêndice I – Resultados dos antibiogramas

ID	PEN	AMO	AMC	CFT	CFP	GEN	APR	ENR	ERY	TET	DOT	TSU	LIN
1	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R
2	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R
3	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R
4	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S
5	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
6	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	S	R	R
7	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
8	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
9	R	R	S	S	S	S	S	R	S	R	R	S	R
10	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R
11	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	R
12	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R
13	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	R
14	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R
15	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
16	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	R
17	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R
18	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
19	S	S	S	S	S	S	R	R	S	R	S	R	R
20	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
21	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S
22	R	R	S	S	S	S	S	R	R	R	R	S	R
23	R	R	S	S	R	S	R	R	R	R	R	S	R
24	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	R
25	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
26	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
27	R	R	S	S	R	S	S	S	S	R	S	R	S
28	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	R	S	R
29	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R
30	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S
31	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	S	R	R
32	R	R	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	R
33	R	R	S	S	S	S	S	S	R	R	R	S	R
34	R	R	S	S	S	S	S	S	R	R	R	S	R
35	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
36	R	R	R	S	S	R	S	R	R	R	S	S	R

Legenda: PEN, Penicilina; AMO, Amoxicilina; AMC, amoxicilina-ácido clavulânico; CFT, Cefalotina; CFP, Cefoperazona; GEN, Gentamicina; APR, Apramicina; ENR, Enrofloxacinina; ERY, Eritromicina; TET, Tetraciclina; DOT, Doxiciclina; TSU, Trimetoprim-sulfametoxazol; LIN, Lincomicina.

R, Resistente; S, susceptível; ID – Paciente